

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	5
THEMATIK DER DISSERTATION	7
Fragestellung und Anliegen der Dissertation	8
1. EINLEITUNG	9
1.1. Die Erkrankung der multiplen Sklerose	9
1.2. Die Histopathologie der multiplen Sklerose	12
1.3. Die Tiermodelle der multiplen Sklerose.....	21
1.4. Pathologie des Rückenmarks bei MS	21
2. ANATOMIE DES RÜCKENMARKS.....	23
2.1. Die graue Substanz des Rückenmarks.....	23
2.2. Die Klassifikation der Neurone	25
2.3. Die weiße Substanz des Rückenmarks.....	29
3. MATERIAL UND METHODE	31
3.1. Die Patienten	31
3.2. Die Kontrollen	35
3.3. Die Gewebepräparation.....	36
3.4. Die Darstellung der Färbungen	37
3.5. Durchführung der Quantifikation der Neurone	47
4. ERGEBNISSE	48
4.1. Veränderung der Neurone.....	48
4.2. Neurone und Axonpathologie.....	59
4.3. Neurone und die Inflammationsreaktion.....	66
4.4. Gliose	67
4.5. Gefäße.....	70
4.6. Quantifizierung von Neuronen im Rückenmark	73

5. DISKUSSION	80
5.1. Neuronale Degeneration und neuronaler Verlust im Rückenmark von MS Patienten.....	81
5.2. Demyelinisierung der grauen Substanz des Rückenmarks	88
5.3. Die Axonpathologie und die neuronale Degeneration.....	94
5.4. Neurone und die Inflammationsreaktion.....	99
5.5. Veränderung der Gefäße im spinalen MS Mark.....	102
6. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	107
7. LITERATURVERZEICHNIS.....	109
8. DANKSAGUNG	121
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	122

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABC	Immunhistochemische Methode zur Darstellung von Antigenstrukturen
APP	Amyloid-Precursor-Protein
AMPA	Amino-3-Hydroxy-Methyl-4-Isoxylpropionsäure
BDNF	Brain-derived-nerve-growth-factor
Ca ²⁺	Calcium
CD	Oberflächenantigen, Cluster of Differentiation
CD68	Oberflächenantigen der Makrophagen/Mikroglia
CNP	zyklische nukleotidische Phosphodiesterase
DAB	Diaminobenzoid
EAE	experimentelle autoimmune Encephalomyelitis
EP	evozierte Potentiale
FGF-1	Fibroblastenwachstumsfaktor
GFAP	Glial-Fibrillary-Acid-Protein, saures Gliafaserprotein
h	Stunde
HE (Färbung)	Hämatoxylin-Eosin Färbung
HIF-1	Hypoxie induzierbarer Faktor 1
HLA	humanes Leukocyten Antigen
HRP	Horse-radish-Peroxidase
IL	Interleukin
INF-beta	Interferon-beta
INF-gamma	Interferon-gamma
LFB	Luxol fast blue
MAG	Myelin assoziiertes Glykoprotein
MBP	Myelin Basic Protein
MHC I	Major Histokompatibility Complex I
min	Minute
MOG	Myelin-Oligodendrocyten Glycoprotein
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
MS	multiple Sklerose
Na ⁺	Natrium
NAA	N-Acetyl-Aspartat
NAWM	normal appearing white matter, normal erscheinende weiße Substanz
Ncl.	Nucleus
NF	Neurofilament
NGF	Nerve-growth-factor
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxid Synthase

NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
ON	Opticus Nerv
ONOO ⁻	Peroxyinitrit
PD	Phosphodiesterase
PBS	Phosphate-buffered Saline
PMCA2	Plasmamembrane Calcium ATPase
PPMS	primär progrediente multiple Sklerose
RGC	Retinale Ganglien Zellen
rrMOG	rekombinantes Ratten Myelin Oligodendrocyten Glykoprotein
RRMS	Remittierende progressive multiple Sklerose
SMI31/32	Antikörper zur Darstellung von Neurofilament
SMI32	Mikrotubuli assoziiertes Protein 2
SPMS	Sekundär progrediente multiple Sklerose
TGF	Tumor growth factor
THh1	T- Helfer Zelle
TNF-alpha	Tumor-Nekrose Faktor alpha
TRAIL	Tumor necrosis related apoptosis inducing ligand
VEGF	Vessel Endothelial Growth Factor
ZNS	Zentrales Nervensystem

Thematik der Dissertation

Die multiple Sklerose (MS), auch Encephalomyelitis disseminata genannt, ist als eine autoimmune chronisch progredient verlaufende demyelinisierende ZNS Krankheit von Gehirn und Rückenmark charakterisiert. Die Histopathologie dieser klinisch vielschichtigen Erkrankung wurde erstmalig von Jean-Martin Charcot (1868) beschrieben. Charcot berichtet von multiplen, in Zeit und Raum auftretenden Entmarkungsherden, welche durch lokale Demyelinisierung, Inflammation, Gliose und reaktive Axonperseveration gekennzeichnet sind (Charcot 1868).

In den vergangenen Jahren konnte zunehmend die Beteiligung neurodegenerativer Prozesse und axonaler Schädigung als ein Kennzeichen der frühen MS Pathologie herausgearbeitet werden (Trapp et al. 1998; Kurnellas et al. 2007). Es kam zu einem Paradigmenshift in der MS Forschung, wobei die Klinik multiple Sklerose Erkrankter zunehmend der Axon- und Neuronpathologie der Erkrankung zugeschrieben wird (Bjartmar et al. 2003; Trapp und Nave 2008). Zahlreiche Studien haben die axonale Schädigung in der weißen Substanz nachweisen können (Ferguson et al. 1997; Trapp et al. 1998; Ganter et al. 1999; Kornek und Lassmann 1999; Bjartmar et al. 2000; Evangelou et al. 2000; DeLuca et al. 2004), wobei nun auch zunehmend die Beteiligung der grauen Substanz und der Aspekt der neuronalen Schädigung Beachtung und Interesse finden (Brownell und Hughes 1962; Kidd et al. 1999; Peterson et al. 2001). Neurologische Defizite bei MS Patienten können auf neurodegenerative Prozesse zurückgeführt werden (Trapp und Nave 2008). Demnach besteht eine absolute Dringlichkeit, neuronale Veränderungen und die Pathologie der Neurone zu verstehen, zu erklären und erfolgreich zu therapieren. Die vorliegende Arbeit bemüht sich, einen histopathologischen Beitrag zur Befundbeschreibung zu liefern, die vielleicht neue Ansatzpunkte für eine erfolgreiche Behandlung multiple Sklerose Erkrankter erbringen könnten.

Der folgende Abschnitt berichtet einleitend über die Erkrankung der multiplen Sklerose, ihre Epidemiologie und Genetik, ihre Diagnose und Verlauf. Zusammenfassend wird der gegenwärtige Kenntnisstand der Histopathologie und Pathogenese der MS dargestellt, mit Fokussierung der Axon- und Neuronpathologie sowie den Veränderungen der grauen Substanz des Rückenmarks.

Fragestellung und Anliegen der Dissertation

Das primäre Ziel der vorliegenden Dissertation lag in der Untersuchung der axonalen Veränderungen nicht nur in MS Herden des Rückenmarks bei Patienten mit spinaler MS. Bereits nach den ersten routinediagnostischen Färbungen richtete sich die gesteigerte Aufmerksamkeit auf die in ihrer Morphologie und Anzahl veränderten Neurone. Es wurde eine Quantifikation der neuronalen Zellen vorgenommen und einer statistischen Auswertung zugeführt. Die mikroskopisch verminderte Zellanzahl fand ihre statistische Bestätigung. In den cervikalen und thorakalen Abschnitten des Rückenmarks wiesen die MS Patienten einen signifikanten Neuronverlust auf.

Wie ist diese neuronale Degeneration erklärbar?

Kann der neuronale Verlust als ein primäres Ereignis angesehen werden, welcher in seiner Konsequenz zu einem Axonverlust führt?

Welchen Einfluss hat hierbei die Lokalisation der betroffenen Neuronen?

Gibt es regionale Unterschiede? Welche Rolle spielen gefäßverändernde Prozesse für das neuronale Überleben?

Ist der neuronale Verlust eine Folge untergegangener Axone im Sinne einer retrograden Degeneration?

Welche Rolle spielt der inflammatorische Aspekt der multiplen Sklerose?

Kann eine Aussage über den zeitlichen Ablauf der neuronalen Schädigung getroffen werden?

Diese Arbeit bemüht sich, die genannten Fragestellungen aus morphologischer und histopathologischer Sicht zu erörtern und sich ebenso von morphometrischer Seite der Problematik zu widmen.

1. Einleitung

1.1. Die Erkrankung der multiplen Sklerose

1.1.1. Epidemiologie und Genetik

Die multiple Sklerose (MS) wird als eine chronisch entzündliche, demyelinisierende Autoimmunerkrankung des Zentralen Nervensystems (ZNS) verstanden, welche bereits im frühen Erwachsenenalter zu dauerhaften und bleibenden neurologischen Beeinträchtigungen führen kann (Trapp et al. 1998; Noseworthy et al. 2000). Mit einem Erkrankungsbeginn zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr (Wiendl et al. 2003) zählt die multiple Sklerose zu einer der häufigsten chronisch entzündlichen ZNS Erkrankungen Europas und Nordamerikas (Keegan und Noseworthy 2002). Weltweit leiden ca. eine Millionen Menschen unter MS, wobei in einem Verhältnis von 2:1 mehr Frauen als Männer betroffen sind (Weinshenker 1996; Noseworthy et al. 2000). Es zeigt sich ein auffälliges geographisches Verteilungsmuster von Nord nach Süd. Während in den südlichen Breitengraden 5-15/100.000 Menschen erkranken (Kurtzke 1980), zeigt sich in den nördlichen Breitengraden eine Inzidenz von 200-300/100.000 Einwohner (Keegan und Noseworthy 2002).

In Mitteleuropa erkranken 30-60/100.000 an MS, hierbei zählt Deutschland mit 100-200/100.000 zu den Ländern erhöhter Prävalenz (Limmroth und Sindern 2004).

Eine weitere Auffälligkeit besteht in der unterschiedlichen Betroffenheit der verschiedenen ethnischen Gruppen. In den USA ist die überwiegende Mehrheit der an MS leidenden Bevölkerung weiß, wohingegen Menschen afrikanischer oder asiatischer Abstammung eine gewisse Erkrankungsresistenz aufweisen (Wiendl et al. 2003). Migrationsstudien konnten die Hypothese stützen, dass die Umwelt infolge spezifischer Umweltreize das Risiko, an multipler Sklerose zu erkranken, maßgeblich beeinflusst, wobei die Kindheit hierbei die vulnerabelste Phase zu sein scheint (Limmroth und Sindern 2004). Bis zum Erreichen des 15. Lebensjahres entspricht das relative Risiko an MS zu erkranken, dem der regionalen Umgebung (Weinshenker 1996). Diese Beobachtungen ließen die Hypothese zu, dass es sich bei der multiplen Sklerose um eine Erreger induzierte Erkrankung handele. Viren könnten eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der MS spielen (Gale und Martyn 1995).

Das beobachtete gehäufte familiäre Auftreten von MS konnte in Verbindung zu bestimmten HLA-Antigenen (HLA A3, B7, DR2) gebracht werden (Ebers et al. 1995;

Haines et al. 1996). Schlussfolgernd scheinen genetische Faktoren einen entscheidenden Einfluss zu haben, so dass man derzeit von einer polygenen Erkrankung ausgeht (Limmroth und Sindern 2004). Ist ein Familienmitglied an MS erkrankt, so steigt das Risiko für Angehörige mit zunehmenden Verwandtschaftsgrad (Robertson et al. 1996; Sadovnick et al. 1999). Monozygote Zwillinge besitzen ein Erkrankungsrisiko von 33%, während die Wahrscheinlichkeit für dizygote Zwillingen bei 3% liegt (Limmroth und Sindern 2004).

1.1.2. Klinik, Verlauf und Diagnose

Die klinischen Symptome der Patienten sind sehr individuell und unterliegen der jeweiligen Lokalisation der Herde. Charcot beschrieb 1868 aufgrund seiner klinischen Beobachtungen die Trias bestehend aus Nystagmus, Intentionstremor und skandierender Sprache. In den meisten Fällen kommt es anfangs zu Sehstörungen, einer Diplopie, Parästhesien und Taubheitsgefühlen in den Extremitäten sowie einer assoziierten Muskelschwäche. Nicht selten bildet sich die initiale Symptomatik rasch und vollständig zurück. Die späteren Schübe zeigen einen unvorhersehbaren Verlauf und hinterlassen meist eine massivere Schädigung mit Progredienz der Behinderung und Einschränkung des Erkrankten. Zu diesen Symptomen zählen die Neuritis optica, eine intraoculäre Ophthalmoplegie, Nystagmus, Miktionsstörungen, Gangstörungen, Lähmungserscheinungen, Sensibilitätsverluste, verstärkte Muskeleigenreflexe, Muskelschwäche sowie psychische Veränderungen verbunden mit kognitiven Einschränkungen, Schmerzen und Fatigue. Unter einem Schub wird ein innerhalb von 24h neu hinzugekommener neurologischer Ausfall verstanden, welcher subjektiv beschrieben oder objektiv klinisch untersucht werden kann (Poser et al. 1983). Nach der neuesten internationalen Konsensusdefinition lassen sich vier verschiedene Verlaufskategorien der multiple Sklerose differenzieren: den schubförmig remittierenden Verlauf (RR-MS), den sekundär chronisch progredienten Verlauf (SP-MS), den primär chronisch progredienten Verlauf und den progredient schubförmigen Verlauf (Limmroth und Sindern 2004).

Bei einem schubförmigen Verlauf können sich die Symptome nach einer akuten Verschlechterung entweder vollständig auf das ursprüngliche Maß zurückbilden (RR-MS), oder aber es kommt zu einer Teilremission. Von einer sekundär progredienten MS spricht man, wenn trotz fehlender Schübe eine unabhängige Krankheitsprogression stattfindet. Die schubförmigen Verläufe sind mit etwa 70% am

häufigsten (Limmroth und Sindern 2004). Bei 15% der Patienten verläuft die Erkrankung von Beginn an primär chronisch progredient, ohne Feststellung von Schüben (Limmroth und Sindern 2004).

Es bestehen noch weitere Varianten der multiplen Sklerose. Hierzu gehört die akute multiple Sklerose (Typ Marburg), die akute demyelinisierende Enzephalomyelitis (ADEM), die Neuromyelitis optica (Devic-Syndrom) und die Balo's konzentrische Sklerose. Der MS Typ Marburg tritt hauptsächlich bei jungen Patienten auf und lässt sich histologisch nicht von einer ADEM unterscheiden. Die Marburg Variante ist durch ihren hochmalignen Verlauf gekennzeichnet, wobei die Sterblichkeit bei bis zu 30% der Erkrankten liegt (Limmroth und Sindern 2004). Die ADEM kann im Gegensatz zur MS durch Infektionen oder Impfungen ausgelöst werden und zeichnet sich durch ihren monophasischen, schubfreien Verlauf aus. Die ADEM beginnt meist unspezifisch mit Fieber, Kopfschmerzen, Erbrechen, Verwirrtheit und vielgestaltigen neurologischen Symptomen. Im Verlauf können oligoklonale Banden nachweisbar sein, die im Gegensatz zur MS jedoch wieder verschwinden können (Limmroth und Sindern 2004).

Beim Devic Syndrom sind in typischer Weise die Sehnerven und das Rückenmark beteiligt. Im spinalen Mark zeigt sich oft nur eine Läsion, welche durch sehr starke Demyelinisierung, nekrotische Veränderungen und einen Axonverlust gekennzeichnet ist. Die doppelseitige akute oder subakute Opticusneuritis folgt häufig innerhalb kurzer Zeit (Limmroth und Sindern 2004). Auch kann es binnen Stunden zu einer Querschnittssymptomatik kommen. Die Mortalität ist mit 20% im Akutstadium sehr hoch. Im Verlauf des Devic Syndroms können die oligoklonalen Banden positiv werden und sind oft transienter Natur (Limmroth und Sindern 2004).

Durch die Einführung standardisierter Diagnosekriterien konnte der oftmals schwierigen Krankheitsbestimmung Abhilfe geschaffen werden. Im Verlauf der Geschichte fanden vielfache Ausarbeitungen dieser Kriterien statt: den Schumacker-(1965) und Rose-Kriterien (1976), welche sich vorwiegend auf die Anamnese und klinische Symptomatik konzentrierten, folgten die Poser-Kriterien (1983), die erstmals auch Laboruntersuchungen, Liquordiagnostik, evozierte Potenziale und die Bildgebung mit einbezogen (Poser et al. 1983). Im Jahre 2001 vom „International Panel on Diagnosis of Multiple Sclerosis“ herausgegeben, erschienen die McDonald-Kriterien (McDonald et al. 2001). Unter Ausschluss differentialdiagnostischer

Erkrankungen sind neben der Anamnese und einem differenzierten Neurostatus, MS typische Symptome und die Häufigkeit auftretender Krankheitsschübe ein fester Bestandteil der McDonald-Kriterien. Hinzugezogen werden diagnostische Marker, wie die oligoklonalen Banden in der Liquordiagnostik, multifokale Läsionen in der weißen Substanz in der Magnetresonanztomographie (MRT), sowie eine Latenzverzögerung bei visuell evozierten Potenzialen (EP). Im Jahre 2005 erfolgte unter Differenzierung der MRT-Kriterien für disseminierten Läsionen über die Zeit und Plaques im Rückenmark eine Revision der McDonald-Kriterien (Polman et al. 2005).

1.2. Die Histopathologie der multiplen Sklerose

1.2.1. Ein geschichtlicher Abriss

Die vielseitigen Aspekte der MS Pathologie wurden stets sehr lebhaft und kontrovers diskutiert. Jean-Marie Charcot beschrieb 1877 erstmals die Histopathologie der multiplen Sklerose und definierte sie als eine demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems unter Berücksichtigung der Axonpathologie. Fromann (1878) konzentrierte sich in seinen Thesen auf die Läsionen im Rückenmark, wobei auch er die Bedeutsamkeit der axonalen Unterbrechung und Trakt-Degeneration hervorhob. Zum Ende des neunzehnten Jahrhunderts beschrieben detaillierte Studien das beobachtete Phänomen der primären Demyelinisierung in MS Läsionen und deklarierten dieses als tragendes Element und Schlüssel der Erkrankung (Charcot 1880; Babinski 1885). Marburg (1906) arbeitete die Demyelinisierung mit einem relativen Erhalt von Axonen heraus. Doinikov (1915) ging von einer zu Beginn der Erkrankung stattfindenden Demyelinisierungsreaktion und gleichzeitig statthabenden Axonschädigung aus. Die Beobachtung von Makrophagen, welche um geschädigte Axone auffindbar waren, unterstrich deren aktive Rolle im degenerativen Prozess (Fraenkel und Jakob 1913). Die Detektion aufgetriebener axonaler Endkolben und aussprossender Fortsätze wurden als Versuch der Regeneration gedeutet (Doinikov 1915; Jakob 1915). Bereits während dieser frühen Studien postulierte man die axonale Schädigung als mögliches Substrat für das permanente funktionelle Defizit bei MS Patienten (Charcot 1880).

Als man in experimentellen Studien entdeckte, dass eine inflammatorische Demyelinisierung ähnlich der bei MS durch autoimmune Reaktionen gegen Bestandteile des Myelins induziert werden kann, geriet in den folgenden Jahren die

Idee der axonalen Schädigung zu Gunsten des autoimmunen demyelinisierenden Aspekts der MS in Vergessenheit.

1.2.2. Die Axonpathologie

Erst Mitte des 20. Jahrhunderts entflammte, aufgrund verbesserter Bildgebung und vermehrter Beweise für axonalen und neuronalen Verlust in Gehirnen von MS Patienten, das Interesse für die Axonpathologie wieder (Kornek und Lassmann 1999). Man suchte nach Erklärungen für die neurologischen Ausfälle bei MS Patienten, dem Zusammenhang zwischen Axonverlust und Demyelinisierung, dem Aspekt der Entzündungsreaktion und des zeitlichen Verlaufs. Hypothesen der historischen Arbeiten wurden aufgegriffen und neu untersucht (Ferguson et al. 1997; Trapp et al. 1998; Ganter et al. 1999; Bjartmar et al. 2000; Evangelou et al. 2000; Lovas et al. 2000; Lassmann 2003a). Pathologische Studien validierten die Existenz axonaler Schädigung und untermauerten die Bedeutsamkeit der Axonpathologie für die MS als ein frühes und substantielles Ereignis (Ganter et al. 1999; Lovas et al. 2000; DeLuca et al. 2004; Beseler 2009). Einen entscheidenden Beitrag für die moderne Untersuchung der axonalen Veränderungen trug hierbei Ferguson mit seiner Darstellung des Amyloid Precursor Proteins (APP) bei. Dieses axonale Transportprotein akkumuliert bei axonaler Unterbrechung oder Transportstörungen in kolbenförmigen Axonaufreibungen (Ferguson et al., 1997). Die Positivität für APP innerhalb von MS Plaques variiert je nach Alter der Läsion. Besonders während der akuten Demyelinisierungsreaktion und akut-chronischen Phase der Erkrankung sind axonale Aufreibungen detektierbar (Ferguson et al. 1997; Kornek et al. 2000; Kuhlmann et al. 2002) und scheinen bereits in der frühen Krankheitsphase der MS aufzutreten (Trapp et al. 1998; Perry und Anthony 1999; Beseler 2009).

Die akute axonale Schädigung korreliert mit dem Ausmaß infiltrierender um Axon detektierbarer Makrophagen (Fraenkel, 1913; Ferguson et al., 1997, Trapp et al. 1998). Kornek et al. (2000) korrelierten das Alter der Läsion und der Quantität der akuten Axonschädigung. Hierbei scheinen Axone in MS Plaques auf zwei verschiedene Weisen zerstört zu werden, zum Einen durch die Einwirkung toxischer inflammatorischer Mediatoren, während der akuten Demyelinisierungsreaktion (Lassmann, 2003) und zum Anderen im Rahmen der langsam fortschreitenden Axondegeneration in stillen inaktiven MS Läsionen. Zudem können zwei molekulare Mechanismen des Axonunterganges voneinander abgegrenzt werden: die

spezifische inflammatorische Immunantwort und die schädigenden pathologischen Umstände, wie sie bei Entzündung, Ischämie oder Trauma bekannt sind (Lassmann, 2003).

Eine axonale Schädigung kann durch direkte T-Zell vermittelte Zytotoxizität initiiert werden (Neumann et al. 2002). MHC I restriktive T-Lymphozyten können in vitro und in antigenabhängigen immunologischen Reaktionen Axone unterbrechen (Medana et al. 2001). Bitsch et al. (2000) berichten von einer schwachen Korrelation zwischen infiltrierenden zytotoxischen T-Zellen und akuter axonaler Schädigung, sowie von CD8+ Zellen, welche eine direkte Axonschädigung bewirken. Eine Differenzierung von angreifenden T-Zell Subpopulationen erschien bisher nicht möglich (Bitsch et al. 2000).

Die Ausschüttung inflammatorischer Cytokine und zytotoxischer Mediatoren sowie die Beteiligung zytotoxischer CD8+ Zellen, die Aktivität von Antikörpern und die Aktivierung von Komplementfaktoren besitzen eine hohe axonschädigende Potenz (Smith et al. 2001). Ehling et al. wiesen bei Patienten mit primär progressiver MS einen erhöhten Titer an anti-Neurofilament Antikörper nach (Ehling et al. 2004). Ob es sich bei der intrathekalen Produktion des Antikörpers um eine primäre Reaktion oder sekundäre Antwort auf die Axonschädigung handelt bleibt unklar.

Ein weiterer interessanter Punkt der axonalen Schädigung ist die Interaktion zwischen Makrophagen und Mikrogliazellen. Eine Vielzahl ihrer Mediatoren wirken toxisch auf Axone, während eine direkte Axonschädigung nur für Proteasen (Anthony et al. 1998) und reaktive Stickstoffspezies (Smith und Lassmann 2002) nachgewiesen werden konnte. Zwischenprodukte des Stickstoffmonoxids (NO) können in kleinen Konzentrationen zu Leitungsblöcken führen, ohne dass eine strukturelle Schädigung erkenntlich ist (Redford et al. 1997). Durch eine enzyminduzierte Heraufregulierung der Stickstoffmonoxid-Synthetase ist eine gesteigerten NO-Radikal-Produktion mit funktioneller und struktureller Schädigung der Axone möglich (Smith et al. 2001). Zudem sind NO-Radikale in der Lage, die mitochondrialen Funktion zu stören und somit die Atmungskette und metabolische Integrität des Axons schädigend zu beeinflussen (Bolanos et al. 1997). Aboul-Enein et al. (2003) berichten von NO-induzierter Hypoxie-ähnlicher metabolischer Störung von Axonen.

Die Schädigung der axoplasmatischen Membranpermeabilität kann als Folge der kaskadenförmig ablaufenden Triggermechanismen angesehen werden. Axonale Unterbrechung involviert den Einstrom von Calciumionen (Ca^{2+}) in die Axolemmata,

die Aktivierung intra-axonaler Proteasen, die Dissolution des Zytoskeletts und in seiner Folge die Auflösung des Axons (Kornek et al. 2001).

Die beschriebenen Mechanismen können in einem als Waller'schen Degeneration bezeichneten Axonuntergang münden. Bei diesem sind die distal des Läsionsorts gelegenen Axonabschnitte, oder aber in retrograder Richtung gelegene Zellkörper, betroffen (Trapp et al. 1998). Die funktionelle Konsequenz der Axonschädigung ist von der Lokalisation, dem Ausmaß und der durch die Läsion hindurch ziehenden Fasern abhängig (Perry und Anthony 1999). Die Schwere der Entzündungsreaktion scheint maßgebend für den axonalen Verlust zu sein.

In chronischen MS Läsionen erscheint der Axonverlust variabel, Größen und Trakt spezifisch (DeLuca et al. 2004). Die axonale Dichte kann zwischen 20% und 80% reduziert sein, je nach Lokalisation: zentral im Plaque, in der periläsional gelegenen weißen Substanz oder entfernt in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) (Bitsch et al. 2000). Chronisch inaktive MS Läsionen weisen eine über Jahre verlaufende Akkumulation axonaler Schädigung auf (Kornek et al. 2000) in Korrelation mit dem Fortschreiten neurologischer Defizite (Prineas et al. 2001). Ein akuter axonaler Schaden ist im Vergleich zu aktiv inflammatorischen Herden weniger stark ausgeprägt, jedoch in einigen Fällen auch bei längerer Erkrankungsdauer detektierbar (Kuhlmann et al. 2002).

1.2.3. Die unterschiedlichen Pathomechanismen

Die multiple Sklerose ist durch eine enorme Heterogenität gekennzeichnet. Es handelt sich bei der MS um eine komplexe Erkrankung mit einer Vielseitigkeit in strukturellen und immunpathologischen Charakterzügen der Läsionen. Diese variieren nach dem Alter des Plaques und dem Stadium der Erkrankung. Vielgestaltige Immuneffektormechanismen können zu Entzündung, fokaler Demyelinisierung und Gewebeschädigung bei der multiplen Sklerose führen (Noseworthy et al. 2000).

Nach gegenwärtigem Kenntnisstand schreibt man die MS Pathologie einer fehlgeleiteten Reaktion des Immunsystems zu, welche sich gegen Bestandteile der Myelinscheide richtet.

Autoreaktive, gegen ZNS-spezifisches Antigen gerichtete T-Zellen werden für die Initiierung eines Krankheitsschubes verantwortlich gemacht, dabei handelt es sich um pro-inflammatorische Zellen vom Th1-Typ. Man geht davon aus, dass zuvor eine

Aktivierung der Zellen außerhalb des ZNS stattfindet, welche sich immunologischen Kontrollmechanismen entzieht (Hohlfeld und Wekerle 2004). Infolge ihrer Aktivierung sind die T-Zellen in der Lage, vermehrte Adhäsionsmoleküle an ihrer Oberfläche zu exprimieren (Butcher und Picker 1996). Hierdurch und unter Einwirkung von spezifischen Zytokinen ist es ihnen möglich, die Blut-Hirn-Schranke zu penetrieren. Im perivaskulären Raum angelangt, treffen sie auf Antigen präsentierende Zellen, wie Makrophagen und dendritische Zellen (Greter et al. 2005). Die autoreaktiven T-Zellen treffen auf ihre spezifischen Antigene, erhalten eine erneute Aktivierung und initiieren eine gegen das Myelin gerichtete Entzündungsreaktion. In deren Folge kommt es zu einer Rekrutierung von B-Zellen, die gegen das Myelin gerichtete Antikörper sezernieren, ebenso zur Beteiligung ZNS-ständiger Mikroglia und der im peripheren Blut kreisenden Makrophagen. T-Zellen und Mikroglia können eine Reihe an toxischen Mediatoren, wie Cytokine, Proteasen, reaktive Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen freisetzen, welche im Stande sind, das Gewebe direkt zu schädigen.

Das summierende Resultat dieser schädigenden Einflüsse besteht in der Demyelinisierungsreaktion, der massiven Zell- und Gewebeschädigung durch die Invasion und Reaktion von Entzündungszellen.

Detaillierte immunopathologische Analysen zahlreicher aktiver MS Herde der weißen Substanz weisen auf unterschiedliche demyelinisierende und gewebezerstörende Mechanismen hin. Es ließ sich eine Einteilung von Subgruppen vornehmen (Lucchinetti et al. 1996). Basierend auf der Geographie der Plaques, der Myelin Protein Expression, der Muster der Oligodendrocytenpathologie und der Präsenz spezifischer immunologischer Moleküle konnten vier Raster von Demyelinisierung identifiziert werden (Lucchinetti et al. 2000).

Alle aktiven Herde zeichneten sich durch ein variables Ausmaß an T-Zell und Makrophageninfiltration aus. Die folgenden Schädigungsmuster gliedern sich in „Pattern I“, der aktiven Läsion mit assoziierter T-Zell und Makrophagenaktivierung; „Pattern II“, der aktiven Läsion mit Ablagerung von Immunglobulinen und Komplementaktivierung am Rand der Myelinschädigung; „Pattern III“, der aktiven Läsion apoptotischen Oligodendrocyten und dem Verlust von Myelin assoziierten Glykoprotein (MAG) und „Pattern IV“, der extensiven Oligodendrocytendegeneration in der Plaque angrenzenden weißen Substanz.

„Pattern I und II“ sind durch scharfe Ränder der Läsionen charakterisiert und des Öfteren um Blutgefäße lokalisiert, während „Pattern III“ eine schlecht definierbare Plaquegrenze aufweist (Lucchinetti et al. 2000).

Die vielfach beschriebene Demyelinisierung kann als Resultat einer direkten Schädigung durch immunologisch gesteuerte Prozesse verstanden werden und/oder möglicherweise wie im „Pattern III“ erläutert, Effekt einer Dysfunktion der Oligodendrocyten sein (Lassmann et al. 2001; Barnett und Prineas 2004). Der selektiven Verlust von Glykoprotein assoziierten Myelin (MAG) und der zyklischen nukleotidischen Phosphodiesterase (CNP) konnte in Zusammenhang mit apoptotischen Zelltod von Oligodendrocyten gebracht werden (Lucchinetti et al. 2000; Barnett und Prineas 2004; Stadelmann et al. 2005). Zudem sind die Oligodendrocyten sehr sensibel gegenüber toxischen Metaboliten, wie dem von aktivierter Mikroglia sezernierten NO, pro-inflammatorischen Cytokinen wie dem Interferon gamma (INF-gamma) und dem Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF-alpha) sowie gegenüber Chemokinen (Hisahara et al. 2001; Tanuma et al. 2006; Xu und Drew 2006). Eine weitere Oligodendrocyten schädigende Komponente stellt die T-Zell vermittelte Ausschüttung von Perforinen und Lymphotoxinen dar (Lucchinetti et al. 2001).

1.2.4. Die Pathologie der grauen Substanz

Die multiple Sklerose wurde bisher als eine klassische Erkrankung der weißen Substanz angesehen. In den vergangenen Jahren der MS Forschung kam es dank verbesserter Bildgebung und zahlreichen MS-MRT Studien zu einem Aufschwung in dem Verständnis um die Pathologie der grauen Substanz.

Auf eine Schädigung der grauen Substanz und Beteiligung der Neurone wiesen bereits Arbeiten von Brownell und Hughes (1962), Lumsden (1970), Kidd et al. (1999), Perry und Anthony (1999) sowie Peterson et al. (2001) hin.

Pathologische Veränderungen der Neurone sind in tiefen cerebralen Kernen (Brownell und Hughes 1962; Cifelli et al. 2002) und auch im Cortex nachweisbar (Lumsden 1970; Kidd et al. 1999; Peterson et al. 2001; Cifelli et al. 2002; Bø et al. 2003; Geurts et al. 2005; Kutzelnigg et al. 2005).

Es konnten drei Haupttypen kortikaler Läsionen differenziert werden. Hierzu zählen: zum Einen leucokortikale Läsionen, welche an der Grenze zwischen Cortex und

weißer Substanz auffindbar sind und beide Substanzen gleichermaßen involvieren, zum Zweiten kleine perivaskuläre intracortikale Läsionen, die nur den Cortex betreffen und drittens die bandförmigen subpial gelegenen demyelinisierten Läsionen, welche vornehmlich die Schicht I bis IV des Cortex betreffen, aber auch die gesamte Dicke des kortikalen Graus mit einbeziehen können (Kidd et al. 1999; Peterson et al. 2001; Bø et al. 2003). Diese subpial gelegenen Herde sind bevorzugt in kortikalen Sulci gelegen, ebenso gehäuft im Gyrus cinguli, in der Temporal- und Inselregion sowie im Cerebellum auffindbar. Subpiale kortikale Läsionen scheinen mit einer Entzündungsreaktion der Meningen assoziiert zu sein.

Die Pathologie der grauen und weißen Substanz unterscheidet sich in maßgeblichen Punkten (Pirko et al. 2007). Die Herde in der grauen Substanz weisen eine verminderte Inflammation auf und sind durch eine dominante Population von verzweigter Mikroglia gekennzeichnet (Peterson et al. 2001). Bø et al. (2003) berichten, dass eine Demyelinisierung innerhalb kortikaler Läsionen auch ohne gesteigerte Lymphozytenanzahl oder Veränderung der Lymphocytenuntergruppen stattfinden und möglicherweise unabhängig von einer T-Zell-gesteuerten Entzündungsreaktion ablaufen kann. Peterson et al. (2001) gehen davon aus, dass die graue Substanz selbst zum Brennpunkt inflammatorischen Geschehens wird. Kutzelnigg et al. (2005) formulieren die These eines dissoziierten Ablaufes von inflammatorischer Demyelinisierung und neuronaler Degeneration.

Die Beeinträchtigung der grauen Substanz wird heutzutage als ein sehr frühes Ereignis in der MS-Pathogenese bewertet (Pirko et al. 2007; Geurts und Barkhof 2008; Rovaris et al. 2008). Neben dem frühzeitigen Auftreten demyelinisierter Plaques und einen neuronalen Verlust imponiert die graue Substanz durch ihre atrophischen Veränderungen (Chard et al. 2002; De Stefano et al. 2003; Dalton et al. 2004; Tiberio et al. 2005). Die Atrophie der grauen Substanz kann unabhängig von pathologischen Veränderungen der weißen Substanz erfolgen. Bozzali et al. konnten nachweisen, dass eine Atrophie der grauen Substanz besonders manifest bei Patienten mit progressiver multipler Sklerose ausgeprägt ist (Bozzali et al. 2002). Bildgebende Studien postulieren die gleiche Betroffenheit von weißer und grauer Substanz (Bakshi et al. 2001), wobei die atrophische Veränderung alle Hirngebiete involvieren kann (Chard et al. 2002). Ge et al. unterstreichen die bevorzugte Atrophie der weißen Substanz (Ge et al. 2001), während De Stefano et al. (2003) die besonderen Gewebeeinbußen der grauen Substanz hervorheben.

Lumsden (1970) formulierte die These einer retrograd bedingten Schädigung der grauen durch Veränderungen in der weißen Substanz. Spätere Untersuchungen bewerten die Beteiligung der grauen Substanz als ein sekundäres, auf Veränderungen der weißen Substanz, axonale Schädigung und Waller'sche Degeneration zurückführbares Ereignis (Simon et al. 2000; Cifelli et al. 2002; Bermel et al. 2003).

In der jüngsten Vergangenheit erschienen eine zunehmende Anzahl an Studien, welche die Beteiligung der grauen Substanz nachweisen und sich um die Pathologie der Neurone bemühen (Rovaris et al. 2008; Gilmore et al. 2008a; Stadelmann et al. 2008b). Dennoch bleibt die Pathogenese der Pathologie der grauen Substanz noch immer ungeklärt.

1.2.5. Die Pathologie der Neurone

Neurodegenerative Prozesse werden gegenwärtig als eine der tragenden Hauptelemente in der Pathogenese der multiplen Sklerose angesehen. Cifelli et al. (2002) beschreiben einen Verlust thalamischer Neurone von 30-35%. Dieser neurodegenerative Aspekt hat einen entscheidenden Einfluss auf Ausprägung permanenter neurologischer Defizite von MS Patienten (Peterson et al. 2001).

Verschiedene molekulare Mechanismen und Signal-Transduktionswege konnten als neuronale Apoptose induzierende Faktoren ausfindig gemacht werden. Der Begriff der Apoptose fand ursprünglich Verwendung als morphologische Beschreibung für sterbende Wirbeltierzellen, welche sich durch Zellschrumpfung und Chromatinkondensation auszeichneten (Kerr et al. 1972). Im Gegensatz zu anderen Sterbensformen einer Zelle, wie der Nekrose, findet die Apoptose in einem disseminierten Muster ohne Hinzuziehung und Mitbeteiligung benachbarter Zellen statt. Der apoptotische Zelltod stellt eine effiziente Strategie dar, ungewollte normale Zellen und Zellen mit Verlust ihrer Funktion wirkungsvoll zu eliminieren. Es ist eines der wichtigsten, während der Entwicklung und der Evolution multizellulärer Organismen auftretendes Phänomen.

In menschlichen autopsischen Hirngewebe MS Erkrankter konnten in chronisch aktiven und chronisch inaktiven Herden apoptotische Neurone detektiert werden (Peterson et al. 2001). Kontrastierend hierzu stehen Neurone in aktiv akuten Herden, welche nicht die morphologischen und intrazellulären Kriterien des apoptotischen neuronalen Zelltods erfüllen. Wie aus der bisherigen Forschung klassischer

neurodegenerativen Erkrankungen, beispielsweise des M. Alzheimer, bekannt ist, fällt die Detektion apoptotischer Neurone aufgrund der schnellen Dynamik und Kinetik intrazellulär ablaufender Signalkaskaden sehr schwer.

Wichtige Beiträge zur Pathologie der Neurone sind auf Seiten der Neuroimmunologie und Studien am Tiermodell der autoimmunen Encephalomyelitis erbracht worden. Kürzlich veröffentlichte Studien berichten von T-Zellen, welche unabhängig von ihrer Antigenpezifität und trotz des Nichtvorhandenseins eines neuronalen MHC Komplexes, Neurone in vivo und in vitro direkt attackieren können (Giuliani et al. 2003). Encephalogene CD4+ T-Lymphocyten konnten nachgewiesen werden, die neben ihrer migratorischen Kapazität innerhalb des ZNS Parenchyms direkt mit dem neuronalen Zellkörper und den Fortsätzen interagieren und partiell zum Tod der Zelle führen können (Nitsch et al. 2004). Es bestehen zunehmende Hinweise für die wichtige Vermittlerrolle des Apoptose induzierenden Todesliganden TRAIL „tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand“ als ein T-Zell-assoziiertes Effektormolekül (Zipp und Aktas 2006). TRAIL wird von CD4+ T-Zellen exprimiert und induziert in Tiermodellen kollateral den Tod von Neuronen während der zerebralen Entzündungsreaktion (Aktas et al. 2005). Zudem konnte bei in vitro kultivierten Neuronen eine Vulnerabilität für CD8+ T-Zellen beobachtet und ein vermittelter neuronaler Zelltod nachgewiesen werden (Medana et al. 2001).

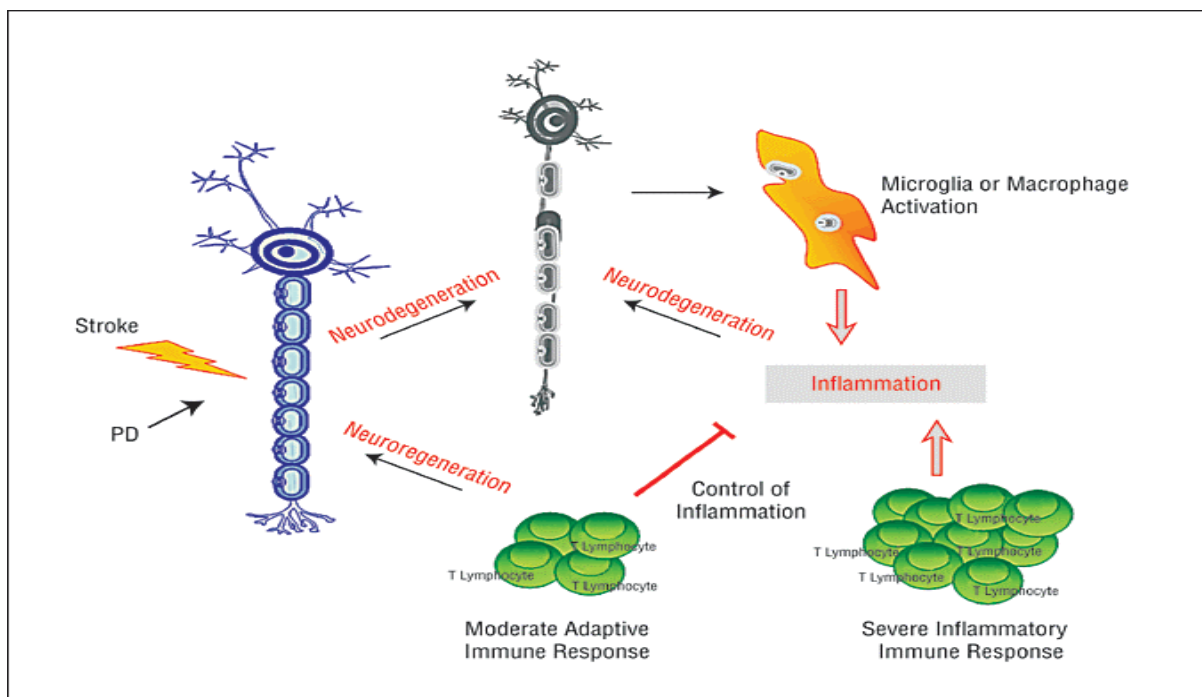


Abb 1. Inflammation bei neurodegenerativen Erkrankungen: primäre Neurodegeneration findet für gewöhnlich bei klassischen nicht entzündlichen Erkrankungen des ZNS, wie dem Stroke oder der Parkinsonerkrankung (PD) statt, diese stehen repräsentativ für den ersten Schritt einer Entzündungskaskade, eingeleitet durch z.B. aktivierte Mikroglia. Die Entzündungsreaktion wird durch das angeborene und erworbene Immunsystem unterhalten, in deren Folge eine neuronale Schädigung möglich erscheint. Demgegenüber steht die Idee einer moderaten Immunantwort, welche durch Kontrolle der Inflammation eine positive Wirkung auf die Neuroregeneration beinhalten könnte (Aktas et al. 2007).

1.3. Die Tiermodelle der multiplen Sklerose

Unter Nutzung verschiedener Agenzien und Arten der Immunisierung, sowie verschiedener Tierstämme ist es möglich, im Tiermodell, der experimentellen autoimmunen Encephalomyelitis (EAE) die verschiedenen neuropathologischen Aspekte der MS Erkrankung nachzuahmen und zu etablieren (Wekerle et al. 1994; Storch et al. 1998; Weissert et al. 1998; Kornek et al. 2000). Der neurodegenerative Aspekt der Erkrankung kann in der EAE durch die aktive Immunisierung von „brown Norway“-Ratten mittels des rekombinanten Ratten Myelin Oligodendrocyten Glykoprotein 1-125 (rrMOG) simuliert werden (Meyer et al. 2001; Diem et al. 2003a). Das Pattern I, die T-Zell- und Makrophagen-assoziierte Demyelinisierung, kann im Mausmodell der EAE durch die Injektion toxischer Produkte aktivierter Makrophagen, wie dem Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF-alpha) oder dem Stickstoffmonoxid (NO), dargestellt werden. Herde, welche dem Pattern II (Antikörper-Komplement-assoziierte Demyelinisierung) entsprechen sollen, lassen sich mittels der Beimpfung mit Encephalitis provozierenden T-Zellen und demyelinisierenden Antikörpern gegen Myelin Oligodendrocyten Glykoprotein (MOG) provozieren (Lucchinetti et al. 2000). Die verschiedenen gewebsschädigenden Mechanismen laufen parallel ab, unterliegen durch die Induktion neuroprotektiver Faktoren einer teilweisen Antagonisierung oder einer spontan ablaufenden Regenerationsreaktion. Trotz des enormen experimentellen Potentials der EAE, bleibt diese jedoch ein Modell der multiplen Sklerose und spiegelt nur in Auszügen die Pathologie und Dynamik der Erkrankung wieder (Lassmann 2008).

1.4. Pathologie des Rückenmarks bei MS

Bisher wurde der Untersuchung des Rückenmarks in der Erforschung der multiplen Sklerose wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Seit kurzem gewinnt die Pathologie des spinalen Marks zunehmendes Interesse (Gilmore et al. 2006; Gilmore et al. 2008a). Die isolierte Beteiligung des spinalen Marks kann bei 15-20% der Patienten mit MS beobachtet werden (Edwards et al. 1986). Die Bildgebung im MRT hat sich als Methode der Wahl etabliert, diese Läsionen zu detektieren (Papadopoulos et al. 1994; Hittmair et al. 1996).

Ein Hauptmerkmal für die multiple Sklerose im Rückenmark ist die auffällig und vielfach betonte Atrophie des Gewebes (DeLuca et al. 2004; Lin et al. 2004; Agosta

et al. 2005; Evangelou et al. 2005). Dabei scheint das Ausmaß der Atrophie positiv mit dem klinischen Defizit zu korrelieren (Lin et al. 2004).

DeLuca et al. (2004) und Evangelou et al. (2005) beschreiben atrophische Erscheinungen des gesamten Rückenmarks (DeLuca et al. 2004) mit besonderer Betonung des lateralen und posterioren Trakts (DeLuca et al. 2004; Evangelou et al. 2005). Im Cortikospinaltrakt ist ein axonaler Verlust entlang des gesamten Rückenmarks detektierbar, wobei die normal erscheinende weiße Substanz (NAWM) eine axonale Reduzierung von bis zu 41% aufweist (DeLuca et al. 2004). Die sensorischen Trakte hingegen zeigen besonders im höheren Cervikalmark eine axonale Dichteminderung um 24%. In beiden Faserbahnen scheint die axonale Schädigung größenspezifisch zu sein, da vornehmlich kleinkalibrige Axone betroffen sind, wohingegen Axone größeren Durchmessers verschont bleiben (DeLuca et al. 2004). Pathologische Studien haben das Ausmaß axonaler Schädigung bei SP-MS Patienten untersucht und verweisen auf eine Reduzierung der axonalen Dichte von 57%-61% für Läsionen im Rückenmark (Bjartmar et al. 2000; Lovas et al. 2000). Dabei können 15-30% der spinalen Axone untergehen, bevor sich klinische Ausfallssymptome bemerkbar machen (Bjartmar et al. 2003).

Eine MRT-Studie des cervikalen Rückenmarks bei Patienten mit PPMS (Agosta et al. 2005) berichtet von diffusen Veränderungen, welche am ehesten auf eine irreversible axonale Schädigung oder die reaktive Gliose zurückzuführen sind und unabhängig von cerebralen Läsionen stattfinden.

Bisher konnte anhand von Querschnittstudien keine direkte Relation zwischen der Anzahl der Herde im Rückenmark und der Anzahl der Läsionen im Gehirn gefunden werden (Kidd et al. 1993; Lycklama et al. 2003). Longitudinalen Studien hingegen verweisen auf eine Verbindung zwischen der Entstehung neuer cerebraler Plaques und einer Entwicklung assoziierter spinaler Läsionen (Thorpe et al. 1996).

Die Laminae II-III oder die Substantia gelatinosa

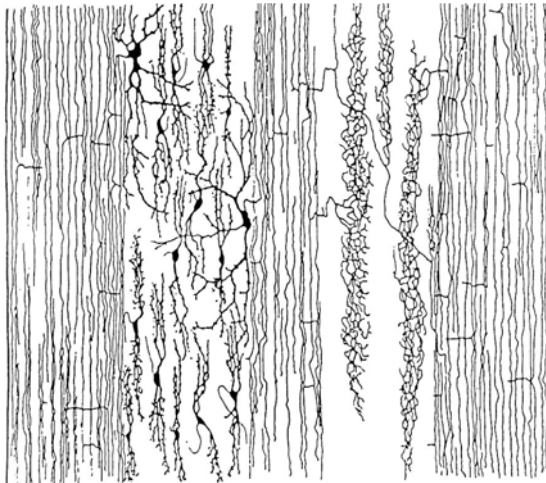


Abb 3. Orientierung der zentralen Zellen und ihrer Dendriten (linke Bildhälfte) und die Abstimmung dorsaler Wurzelendigungen (rechte Bildhälfte) in einem horizontalen Schnitt des dorsalen Horns. Katze; Golgi-Technik. Nach Scheibel und Scheibel, (1968).

Die Substantia gelatinosa imponiert durch die Mehrheit ihrer kleinen Neurone oder Mikroneurone, welche Zentral-Zellen genannt wurden (Ramón und Cajal 1909). Golgi-Imprägnationen dieser Zellen haben weitläufige, in engen Bündeln verlaufende Dendriten darstellen können, welche senkrecht die Substantia gelatinosa durchlaufen. Gobel et al. (1980) differenzierten zwei weitere Zelltypen der Laminae II-III. Dabei handelt es sich um Neurone mit stielartiger Verästelung, die exzitatorischen Interneurone und Neurone mit kegelförmigem Dendritenbaum, die inhibitorischen Interneurone (Gobel et al. 1980).

Die Substantia gelatinosa imponiert durch die Mehrheit ihrer kleinen Neurone oder Mikroneurone, welche Zentral-Zellen genannt wurden (Ramón und Cajal 1909). Golgi-Imprägnationen dieser Zellen haben weitläufige, in engen Bündeln verlaufende Dendriten darstellen können, welche senkrecht die Substantia gelatinosa durchlaufen. Gobel et al. (1980) differenzierten zwei weitere Zelltypen der Laminae II-III. Dabei handelt es sich um Neurone mit stielartiger Verästelung, die

Laminae IV-V, der Nucleus proprius dorsalis



Abb 4. Neuron des spinocervical Trakts in der Lamina IV im dorsalen Horn der grauen Substanz (Katze). Die Dendriten verzweigen sich dorsal in der Substantia gelatinosa, die Axone münden ventral in einem großen lokalen Plexus, bestehend aus zahlreichen Kollateralen und verlassen das dorsale Horn. Intrazelluläre HRP Technik. Aus Rastad et al. (1977).

Die Lamina IV zeichnet sich durch die Präsenz mittelgroßer, großer und pyramidalen Neurone aus (Ramón y Cajal, 1909). Die Dendriten der Lamina IV penetrieren in die Laminae II und III. Ihre Axone weisen einen reichen lokalen Plexus in Lamina V auf (Brown et al. 1977; Rastad et al. 1977) mit Abgang eines Hauptastes zum lateralen Fasciculus. Die Neurone der Lamina IV durchziehen die gesamte Länge des spinalen Marks und projizieren in den spinocervikalen Trakt (Rastad et al. 1977), den dorsalen Funikulus (Brown und Culbertson 1981) und den spinothalamischen Trakt (Willis et al. 1979).

Die Lamina IV zeichnet sich durch die Präsenz mittelgroßer, großer und pyramidalen Neurone aus (Ramón y Cajal, 1909). Die Dendriten der Lamina IV penetrieren in die Laminae II und III. Ihre Axone weisen einen reichen lokalen Plexus in Lamina V auf (Brown et al. 1977; Rastad et al. 1977) mit Abgang eines Hauptastes zum lateralen Fasciculus. Die Neurone der Lamina IV durchziehen die gesamte Länge des spinalen Marks und projizieren in den spinocervikalen Trakt (Rastad et al. 1977), den dorsalen

Physiologische Studien deuten darauf hin, dass der beschriebene lokale axonale Plexus der Spinocervikalneurone für die intersegmentale Beeinflussung spinaler Reflexe verantwortlich sein könnte (Djoughri und Jankowska 1998).

Laminae V und VI bilden die Basis des dorsalen Horns des Rückenmarks. Neurone der Lamina V besitzen im Gegensatz zu den sagittal verlaufenden der Lamina IV einen planar ausgebreiteten Dendritenbaum (Scheibel und Scheibel 1968). Die Dendriten bilden schichtartige Platten, welche transversal entlang des Rückenmarks auffindbar sind (Scheibel und Scheibel 1968).

Während Neurone der Laminae I-IV hauptsächlich Zielpunkt kutaner Afferenzen sind, bilden Neurone der Lamina V einen wichtigen Bestandteil deszendierender cortikospinaler und rubrospinaler Fasertrakte.

2.2. Die Klassifikation der Neurone

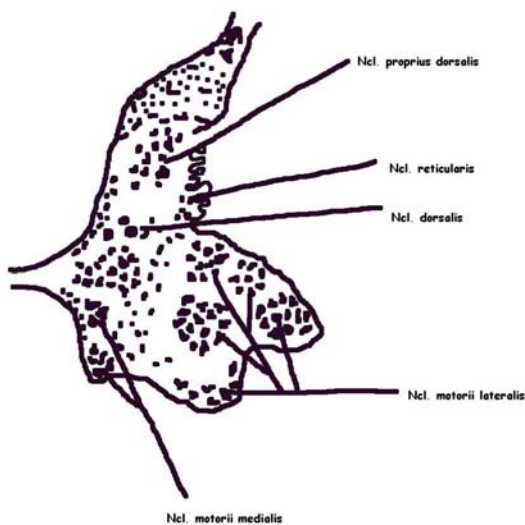


Abb 5. Grafik eines cervikalen Rückenmarkquerschnitts C8 zur Darstellung der Neuronengruppen (modifiziert nach der Photographie aus Human Neuroanatomy 6.Edition, Truex und Carpenter, 1969).

Das ventrale Horn des Rückenmarks weist drei unterschiedliche Klassen von Neuronen mit unterschiedlichen Verbindungen und Funktionen auf. Multipolare Motoneurone, die alpha-Motoneurone, innervieren skelettale Muskeln, während sie in charakteristischen Säulen angeordnet sind. Etwas kleiner als die alpha-Motoneurone treten die gamma-Motoneurone in Erscheinung. Diese innervieren die intrafusalen Muskelspindeln und liegen verstreut zwischen den multipolaren Motoneuronen. Die exzitatorischen und inhibitorischen

Interneurone imponieren durch ihre unterschiedliche Größe. Diese Interneurone sind zusammen mit den Interneuronen des intermediären Grau für die intra- und intersegmentalen Reflexe verantwortlich (Jankowska und Lindstrom 1972).

Alpha Motoneurone zeichnen sich durch ein multipolares Perikaryon aus, wobei mindestens elf, im Median fünf primäre Dendriten abzweigen (Gelfan et al. 1970) und ein dickes planes Geflecht quer durch das gesamte Vorderhorn und das intermediäre Grau bilden. Das Zytoplasma der Motoneurone ist mit Nissl-Substanz gefüllt, welche aus einem mit Ribosomen besetzten endoplasmatischen Retikulum besteht und einen wichtigen Bestandteil der Protein Synthese darstellt. Das Zytoplasma ist reich an Mitochondrien, Golgivesikeln und Zisternen Organellen, die der Energiebereitstellung und der Membranproduktion dienen. Die beeindruckende metabolische Maschinerie des Motoneuron-Perikaryon ist für die Versorgung der extensiven Membranoberfläche und der langen abgehenden Axone verantwortlich. Die Axone der Motoneurone unterscheiden sich von Zelle zu Zelle, wobei dies sich in der Zusammensetzung des Cytoskeletts der Neurofilamente und der Mikrotubuli widerspiegelt und in unterschiedlichem Axonkaliber manifest wird. Alle Komponenten der Neurone, ihrer Perikarya, Dendriten und Axone beinhalten den Neurotransmitter Acetylcholin (Barber et al. 1984). Ein kontinuierlicher anterograder und retrograder axoplasmatischer Fluss sichert die metabolische Integrität der Axone.

Die Säulen und Untersäulen der Motoneurone

Motoneurone des Rückenmarks sind in so genannten mehr oder weniger ausgeprägten Kerngruppen organisiert. Zum Ende des neunzehnten Jahrhunderts entdeckte man, dass diese Kerne in longitudinalen Säulen Anordnung finden (Waldeyer 1888). Heutzutage sind dank aufwendiger rekonstruktiver Studien an Serienschnitten des spinalen Marks die Länge und Zuordnung der Neuronensäulen bekannt. Bruce illustrierte erstmalig die Organisation der Neuronengruppen für die Segmente C1 bis S4 des Rückenmarks (Bruce 1901). Wenig später wurde sie von Ranson und Clarke übernommen und weitergeführt (Ranson und Clarke 1959).

Das heterogene intermediäre Grau

Das intermediäre Grau besitzt zwei großzellige Komponenten, die paraganglionären Motoneurone lateral und die Clarke'sche Säule medial und zusätzlich viele weitere Strukturen, wie das zentrale Grau und ein ausfallendes Feld an Interneuronen

verschiedener Größe und Ausrichtung, welche zwischen dem Vorder- und Hinterhorn enden.

Das zentrale Grau, das zentrale autonome Gebiet, umgibt den Zentralkanal und bildet die Brücke zwischen den Hörnern der grauen Substanz. Das zentrale Grau wird von Fasern des dorsalen und ventralen Horn des Rückenmarks durchzogen und beinhaltet eine unterschiedliche Anzahl kleiner und mittelgroßer Neurone. Viele sensorische Fasern visceraler Organe enden in diesem Bereich (Neuhuber 1982). Die Neurone scheinen auch direkt über nocizeptive Stimuli erregbar zu sein (Nahin et al. 1983). Das zentrale Grau durchzieht das spinale Mark von der Medulla oblongata bis in das Sakralmark und weist neben Projektionen in die meduläre und pontine *Formatio reticularis* (Menétrey et al. 1983) auch Verbindungen zum präaquäduktalen Grau des Mesencephalon (Menétrey et al. 1982), zum Thalamus sowie zum Hypothalamus auf (Burstein et al. 1987).

Mitte des neunzehnten Jahrhunderts beschrieb Jacob Clarke eine paarig angelegte Säule von großen dorsolateral des Zentralkanals gelegene Neuronen (Clarke 1851; Clarke 1859). Das Ausmaß dieser Zellen ist sehr variabel und imponiert durch eine beeindruckende Dichte und Länge der Dendriten. Während ein Großteil von kleinen vieldendritischen Neuronen gebildet wird, zeigen die größeren Neurone eine qualitative Zunahme der Längsausdehnung der neuronalen Fortsätze. Diese erstrecken sich besonders in longitudinale Richtung. Neurone der Clarke'schen Säule erhalten monosynaptischen Input aus Propriozeptoren von Muskeln, Gelenken und Haut (Kuno et al. 1973; Randic et al. 1981), projizieren über den dorsalen Spinocerebellartrakt in den ipsilateralen Vermis cerebelli (Sherrington und Laslett 1903) und erreichen auch die tiefen cerebellaren Kerne (Matsushita und Xiong 1997).

Das intermediäre interneurale Feld

Das intermediäre interneurale Feld wird von kleinen und mittelgroßen Interneuronen gebildet. Experimentelle Studien konnten belegen, dass hier eine große Anzahl dieser Interneurone Quelle von propriospinalen Axonen sind, welche in ihrem Verlauf innerhalb des Rückenmarks enden (Sterling und Kuypers 1968; Rustioni et al. 1971). Interneurone dieses interneuralen Feldes erhalten proprioceptive und exteroceptive Fasern, welche über einen monosynaptischen Kontakt direkt, oder polysynaptisch indirekt, die Erregbarkeit der ventralen Motoneurone regulieren (Jankowska et al.

1973). Diese Interneurone erhalten ebenfalls deszendierende intraspinale Efferenzen (Illert et al. 1981). Unter den Interneuronen gibt es solche mit exhibitorischen und andere mit inhibitorischen Eigenschaften (Hongo et al. 1969; Jankowska et al. 1973). Einige von ihnen besitzen einen monosynaptischen Kontakt zu Motoneuronen, den so genannten „last-order“ oder „Pre-motor Interneuron“ (Hongo et al. 1989; Puskar und Antal 1997).

Zusammenfassend werden die Interneurone als Generatoren zentraler Muster bezeichnet („central pattern generators“). Unter den „central pattern generators“ versteht man einen hypothetischen Schaltkreis von Neuronen, welcher für die gebietliche Generierung, zeitliche Sequenzierung und Ablauf von verschiedenen Aktionen von Motoneurongruppen koordiniert wird. Hierzu zählen Reflexe, motorische Synergismen, wiederholende und zyklische Automatismen sowie die fiktive Lokomotion (Stein 1984).

2.3. Die weiße Substanz des Rückenmarks

Faserbahnen der weißen Substanz

Der folgende Abschnitt widmet sich in knappen Zügen der graphischen Darstellung der anatomischen Fasertrakte und Fasciculi der weißen Substanz des Rückenmarks.

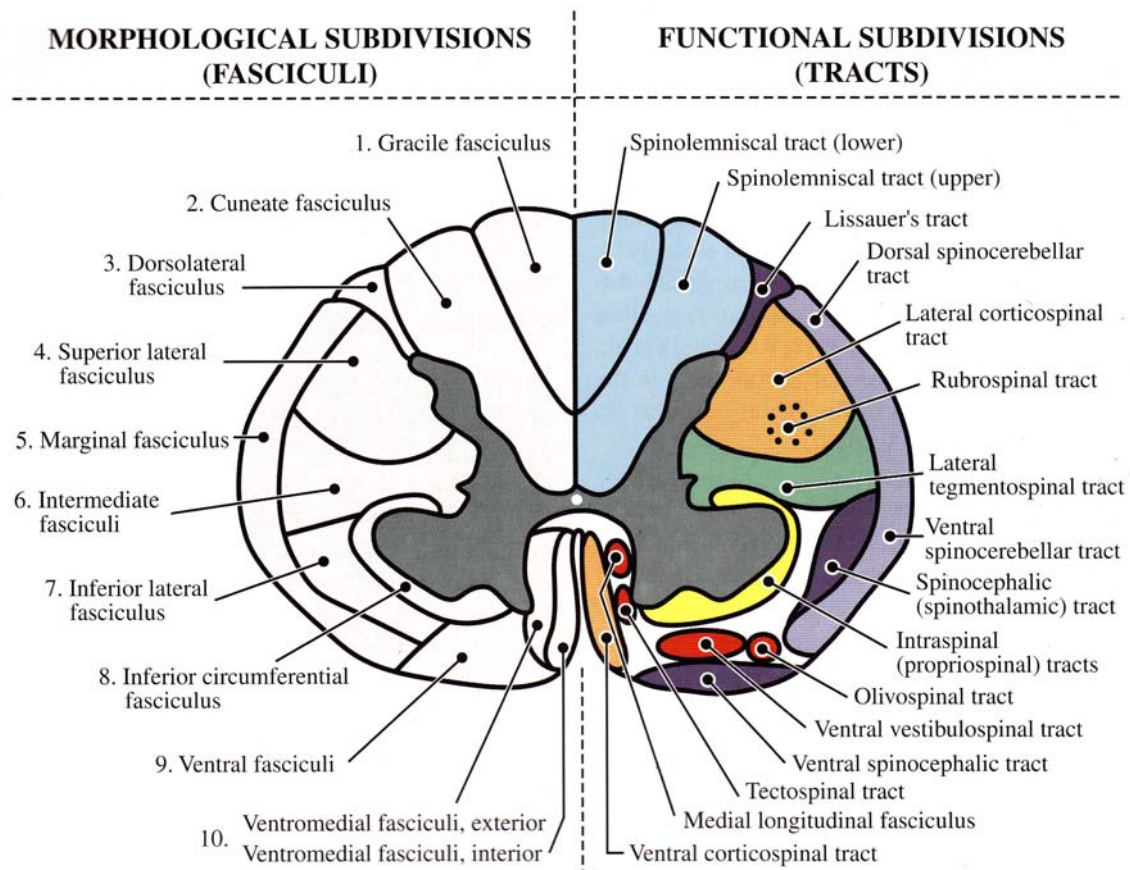


Abb. 6. Fasertrakte der weißen Substanz im spinalen Mark des Menschen (rechte Bildhälfte), die Identifikation der jeweiligen Fasertrakte basiert auf dem gegenwärtigen klinischen Verständnis und experimenteller Datenlage. Die dargestellte Unterteilung der weißen Substanz in Fasciculi beinhaltet ascendierende, descendierende und intraspinale Fasertrakte (linke Bildhälfte) (Altman und Bayer 2001).

Der absteigende Cortikospinal und Rubrospinaltrakt des superioren lateralen Fasciculus

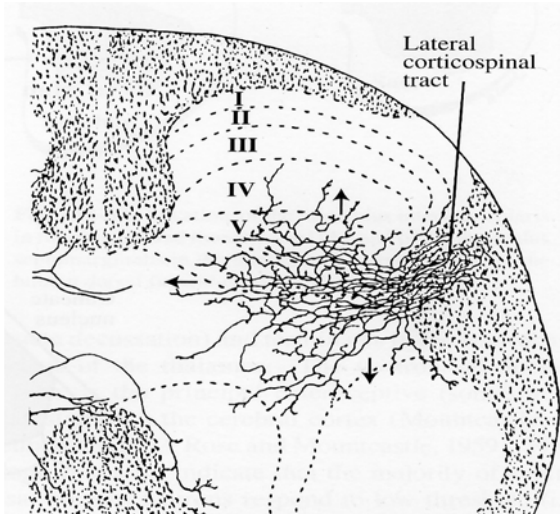


Abb 7. Kollaterale des lateralen Cortikospinaltrakts. Axone dringen in das Rückenmark einer Katze ein und folgen drei verschiedenen Routen. Die dorsale Kollaterale endet im dorsalen Horn, die zentrale Route mündet im intermediären Grau, während die ventrale Kollaterale des ventralen Horns erreicht. Nach Scheibel und Scheibel (1966). Golgi Technik.

Lateral des dorsalen Rückenmarkshorns verlaufen zwei absteigende Bahnen supraspinalen Ursprungs: der massive Cortikospinaltrakt und der wesentlich schmalere Rubrospinaltrakt.

Der Hauptanteil des lateralen Cortikospinaltrakts wird von kleinkalibrigen Fasern gebildet. Während 60% von ihnen eine Myelinscheide besitzen, sind die restlichen hüllenlos (Lassek 1954). Der Großteil der lateralen cortikospinalen Fasern findet seinen Ursprung im präzentralen und prämotorischen Gebiet des Cortex (Lassek 1954). Beim dem

Cortikospinaltrakt des Affen konnte nachweisen werden, dass 29% der Pyramidenbahn im motorischen Cortex, 29% im prämotorischen Cortex und 40% im parietalen Cortex ihren Ursprung haben (Russel und DeMyer 1961). Circa 55% dieser absteigenden Fasern enden im cervikalen Rückenmark, während 20% in thorakalen und 25% in lumbosakralen Höhen münden (Weil und Lassek 1929). Es bestehen mehrere Hinweise, dass unter den verschiedenen Projektionen eine beachtliche segmentale Überlappung besteht (Armand et al. 1974; Hayes und Rustioni 1981). Zudem können cortikospinale Axone sich ebenso transversal verzweigen, bevor sie in verschiedenen Regionen des intermediären Grau und an Interneuronen enden (Scheibel und Scheibel 1966) oder nach ventral biegen und an den ventralen Motoneuronen münden.

Der rubrospinale Trakt ist ventral des lateralen Cortikospinaltrakts gelegen. Kollaterale Fasern des Rubrospinaltrakts ziehen in das intermediäre Grau. Tierexperimentelle Studien an Affen wiesen auf eine direkten monosynaptische Verschaltung mit Mononeuronen hin (Shapovalov et al. 1971).

3. Material und Methode

3.1. Die Patienten

Das untersuchte Rückenmark stammt von 27 obduzierten, an der multiplen Sklerose erkrankten Patienten aus dem Sektionsgut des Instituts für Neuropathologie der Charité Universitätsmedizin Berlin aus den Jahren 1977 bis 2000. Die Fachärzte für Neuropathologie Berlin begutachteten und befundeten die vorliegenden Fälle und entnahmen bei der neuropathologischen Sektion schwerpunktmäßig, aber nicht ausschließlich MS-repräsentative Proben mit makroskopisch erkennbaren Entmarkungsherden. Aufnahmekriterium der Patienten zur Untersuchung der neuronalen Degeneration war die klinische und pathologische Diagnose der MS Erkrankung, wobei keiner der Patienten an einer Sonderform der MS erkrankt sein durfte. Zudem musste von den entsprechenden Fällen Gewebematerial und zur weiteren Bearbeitung Rückenmark vorhanden sein. Zum großen Teil existierten bereits histologische Färbungen des Rückenmarksmaterials, so dass diese ebenfalls gesichtet und je nach Zustand der Präparate in die Untersuchung aufgenommen werden konnten.

Bei der Gruppe der untersuchten Patienten handelt es sich um zwanzig Frauen und sieben Männer im Alter von 29 bis 78 Jahren. Das durchschnittliche Alter bei Tod betrug für die Frauen 57,8 und für die Männer 59,8 Jahre.

Den klinischen Anforderungen der neuropathologischen Befunde ist über die Krankheitsgeschichte der Patienten, des Alters bei Erstmanifestation, der Erkrankungsentwicklung und eines differenzierten Neurostatus sehr wenig zu entnehmen. An dieser Stelle kann keine detaillierte Darstellung der individuellen Krankheitsgeschichte der Patienten erfolgen. Aufgrund des Alters des Materials und der mangelhaften Datenlage bleibt eine klinisch pathologische Korrelation unvollkommen.

Zur Transparenz der rekrutierten Fälle werden im Folgenden die einzelnen MS Fälle tabellarisch aufgelistet und nach rekrutierten Jahren geordnet. Klinische Diagnosen und pathologische Befunde werden dokumentiert.

Auflistung der MS Fälle

Fall	Sex, Alter	Klinische Diagnose	Pathologische Diagnose
205-77	W, 51 Jahre	MS, Hypertonus	Ausgedehnte Encephalomyelitis, Chronisches subdurales Hämatom
536-77	W, 52 Jahre	MS, spastische Tetraparese, Schizophrenie	In Hirnstamm und Spinalmark betonte MS, Hirnödem
298-78	M, 34 Jahre	MS rezidivierende Lungenembolien, Zustand nach Herzstillstand und Reanimation, Halsmarkprozess C7/C8 mit zunehmenden sensorischen und späteren motorischen Ausfällen, Beginn der Symptomatik ca. 2- 3 Monaten nach Schädel-Hirn- Trauma	Encephalomyelitis disseminata mit Schwerpunkt im Spinalmark und Hirnstamm, inkomplette und komplette Nekrosen im gesamten Großhirncortex, Stammganglien und Hippocampus, Nekrose der Purkinjezellschicht des Kleinhirns
341-79	W, 54 Jahre	MS Asthma bronchiale, Herzinsuffizienz, Mamma-Carcinom	Vorwiegend spinal lokalisierte Encephalomyelitis disseminata
19-80	M, 75 Jahre	MS	MS mit frischen und alten Herden im Marklager von Großhirn, Brücke, Kleinhirn und Rückenmark, Veränderung der Nervenzellen durch Atrophie und Fuszinose, kortikale Atrophie, Hydrocephalus internus, geringes Hirnödem
359-81	W, 61 Jahre	MS	MS
399-82	W, 55 Jahre	MS mit Arm und Beinpareesen, seit 26 Jahren Blasen und Darminkontinenz, Hyperthyreose, Tachykardie Pneumonie, Bridenileus	Todesursache: biventrikuläres Herzversagen, MS, Knotige Hyperplasie der Schilddrüse, nicht mehr frische Femurfraktur links, Zustand nach Laparotomie wegen Bridenileus 4 Tage zuvor
140-82	W, 76 Jahre	MS seit 9 Jahren bekannt, Herzrhythmusstörungen, sensibler Querschnitt seit 4 Jahren	Todesursache: Herzversagen, MS mit vorwiegend alten Herden in Großhirn, Kleinhirn, Hirnstamm und Rückenmark
336-82	M, 58 Jahre	MS, rezidivierende Harnwegsinfekte	HerzKreislaufversagen bei abszedierender Pneumonie und Pyelonephrose
109-83	W, 54 Jahre	MS	Klinische MS seit drei Jahren bekannt, chronische Glomerulonephritis seit einem Jahr Todesursache: HerzKreislaufversagen bei Urämie
132-83	W, 65 Jahre	MS	MS

Fall	Sex, Alter	Klinische Diagnose	Pathologische Diagnose
304-83	M, 76 Jahre	MS	Herdförmige Entmarkungsherde ohne Destruktion der Axone, besonders um Bereich der Medulla oblongata und der Brücke, periventrikuläre frontal und occipital in weißer Substanz des Großhirns, kleine perivaskuläre Nekrose in Rinde des Großhirns
384-83	W, 64 Jahre	MS, Paralytischer Ileus, Dysästhesie im Genitalbereich, gestörte Pupillenmotorik	MS
77-85	W, 62 Jahre	MS	MS Arachnoidalzyste frontoparietal bds.
245-85	W, 76 Jahre	MS seit 24 Jahren	MS
390-85	W, 75 Jahre	MS seit 10 Jahren, Pneumonie, Rezidiv evtl. alter Endokarditis	Chronisch verlaufende, überwiegend spinale MS, zahlreiche alte Entmarkungsherde in Großhirn, Kleinhirn und Hirnstamm (Brückenfuß) unscharf begrenzte nahezu symmetrisch verteilte Entmarkungsherde sämtlicher Rückenmarksquerschnitte
20-87	W, 36 Jahre	Seit 7 Jahren bekannte MS, zunehmende neurologische Symptomatik, schubweiser Verlauf seit Diagnose	MS
362-87	M, 74 Jahre	MS seit 35 Jahren, Zustand nach Myokardinfarkt	Alte multiple Sklerose ohne frische Entzündungszeichen, Zeichen der arteriellen Hypertonie, stärkere allg. Arteriosklerose, starke Koronararteriosklerose, frischer Myokardinfarkt Todesursache: Herzversagen bei frischen Myokardinfarkt
580-87	W, 78 Jahre	MS	Alte MS
836-88	W, 36 Jahre	MS	Multiple Sklerose mit unterschiedlich alten Entmarkungsherden und Zeichen eines akuten Schubes
104-89	W, 58 Jahre	MS, Subdurales Hämatom, anschließende Ausräumung, postoperative Einblutung in das Mittelhirn	MS mit ausgeprägten Herden im Großhirn periventrikulär, Hirnstamm am Boden des linken Ventrikels und im Rückenmark, älteres Subduralhämatom links, Mittelhirneinklemmung mit hämorrhagischer Infarzierung beider Occipitallappen, sek. Hirnstammblutung, kleines Meningeom in Dura (Zufallsbefund)

Fall	Sex, Alter	Klinische Diagnose	Pathologische Diagnose
202-89	W, 54 Jahre	MS, atypische Pneumonie	MS mit wenig Anzeichen florider Entmarkung, bevorzugter Befall des cerv. und thorakalen RM, sowie kleiner Befall in Großhirn, Kleinhirn und Hirnstamm
251-90	W, 46 Jahre	MS, Epilepsie, Tod durch aspiratorische Pneumonie	Enzephalomyelitis disseminata mit ausgedehnten Befall der weißen Substanz, sowohl alte astroglial gedeckte Herde als auch Herde mit floriden entzündlichen Zeichen Kortikal die weiße Substanz der rechten Hemisphäre stärker betroffen, es befinden sich jedoch auch Entmarkungen contralateral (weniger stark ausgeprägt) im Kleinhirn in der Brücke, auf Höhe der Olive und betont cervical sowie thorakal auf den Schnittebenen des RM. Es stellen sich frische hypoxische Zellveränderungen dar. Todesursache: Rechtsherzversagen, Bronchopneumonie
673-94	W, 65 Jahre	MS, Trigeminusneuralgie, Tod durch akutes Herzversagen	MS mit pseudosymmetrischen Verteilung von Entmarkungsherde in der Medulla oblongata und im Rückenmark, cervical und thorakal betonter Verlust von motorischen Vorderhornzellen
300-95	M, 29 Jahre	MS chronisch progredient seit 3 Jahren	Enzephalomyelitis mit Neuronophagien im Rückenmark und Hirnstamm sowie perivaskuläre lymphozelluläre Infiltrate in Großhirn, Hirnstamm und Rückenmark, Kleinhirnatrophie und Sklerose sowie Typ 1 Atrophie der Skelettmuskulatur. Der Befund ist bis auf die extreme Kleinhirnatrophie identisch mit den autoptischen Befunden bei progressiver Encephalomyelitis mit Rigidität.
575-97	M, 71 Jahre	MS, Multiple Metastasen und Wirbelsäulenmetastasen, metastasiertes broncho- alveoläres Carcinom	MS, Ausgeprägtes Hirnödem mit Nachweis von mittelgradig ausgeprägten Herniationszeichen, ausgeprägte Stauung der leptomeningealen und intraparenchymatösen Gefäßen
51-00	W, 38 Jahre	MS	MS mit dissimilierten Entmarkungsherden im Großhirn und Kleinhirn sowie im Rückenmark

Tab 1. Die Tabelle dokumentiert alle untersuchten MS Fälle und differenziert nach GZ-Nummer, Geschlecht, Alter sowie klinischer und pathologischer Diagnose.

3.2. Die Kontrollen

Bei den Kontrollen handelt es sich ebenfalls um Fälle aus dem Archiv der Neuropathologie der Charité Universitätsmedizin Berlin. Vergleichende Untersuchungen fanden an Rückenmarksschnitten von 29 Patienten statt, welche nicht an MS erkrankt waren und bei denen das Rückenmark bei Autopsie asserviert wurde. Es handelt sich um achtzehn Männer und zehn Frauen im Alter von 21 bis 84 Jahren. Das Material stammt ebenfalls aus den Jahren 1975 bis 1990. Die folgende Tabelle zeigt eine transparente Darstellung der rekrutierten Kontrollfälle.

Auflistung der Kontrollfälle

Fall	Sex, Alter	Klinische Diagnosen
53/75	M, 11 Jahre	Hirnkontusion, geringgradige intrakranielle Gefäßfüllungen, hochgradiges Hirnödem, frische Subarachnoidalblutungen
168/75	W, 65 Jahre	Chronische Hämodialyse, terminale Niereninsuffizienz, Kreislaufstillstand
195/75	W, 55 Jahre	Ösophagusvarizenblutung bei Leberzirrhose, Zustand nach portokavalen Shunt, portalen Hypertension. Atrophie des Gehirns, Leberglia in Corpora mamillaria, Fibrose der extra und intraspinalen Gefäße
262/75	M, 43 Jahre	Coxitis tuberculosa
299/75	M, 21 Jahre	Multiple petechiale Blutungen, hämolytische Anämie mit Leukocytose
349/75	M, 46 Jahre	CLM, Herzversagen, Bronchopneumonie
410/75	M, 84 Jahre	Plasmocytom, Linksherzinsuffizienz, Pneumonie
566/75	M, 65 Jahre	Larynx-Ca., Blutungen aus Carotis
647/75	W, 79 Jahre	Spinocerebelläre Ataxie, Systematrophie mit Schwerpunkt im Kleinhirn und Hirnstamm
26/76	M, 63 Jahre	SHT mit Kalottenfraktur, apallisches Syndrom
111/76	M, 37 Jahre	Fieberhafter Infekt, Malignom mit Beteiligung der Leber, AML, Hirnödem, frische kleinere Blutungen im Vorderhirn des cerv. Rückenmarks
147/76	M, 45 Jahre	Metastasiertes Leberzell-Ca, kompletter Querschnitt bei Th4, epidurale Metastase
454/76	W, 36 Jahre	Generalisiertes Lymphom, (cytostatisch behandelt), tumoröse Infiltrate in Dura, Arachnoidea, perivaskuläres Substrat, Ablagerung von Substanzen im Marklager des Großhirns, geringgradige Gliazellproliferation
125/77	M, 41 Jahre	Pneumokokkenencephalitis
200/77	W, 72 Jahre	Zustand nach Billroth Magen-Ca Dünndarmfistel Sepsis, Rundzellinfiltrate in lumbalen und sakralen Nerven bei Polyradikulitis
25/78	M, 68 Jahre	Meningoencephalitis, zentrales Kreislaufversagen
158/78	M, 30 Jahre	Rezidiv eines Glioblastoms, Hydrocephalus

Fall	Sex, Alter	Klinische Diagnosen
258/78	M, 33 Jahre	Bronchial-Carcinom, Salmonellose, Resistente Sepsis
294/78	W, 34 Jahre	Metastasiertes Melanoblastom
43/78	M, 77 Jahre	Herz-Kreislaufstillstand, Myocardinfarkt
311/78	M, 58 Jahre	Subfaszialer Abszess Glutealbereich, Erweichungen A. cerebri media
313/78	W, 76 Jahre	Mäßige Atrophie des Gehirns, Liposklerose, Ablatio mammae, Ovarialtumor
264/83	W, 68 Jahre	TBC, multiple ältere Erweichungen occipital beidseits, sowie einseitig frische Infarzierung des alten Narbenbezirks, alter Infarkt im Brückenfuß bei Arteriosklerose
282/83	M, 38 Jahre	Nierenbecken Carcinom, epidural wachsendes Hypernephrom über das lumbosakrale Rückenmark, Hinterstrangdegeneration
313/83	W, 83 Jahre	Verdacht auf Tetanus, Zustand nach Reanimation, Herzkreislaufstillstand, mäßige Arteriosklerose, alter Hinterwand-Infarkt, Mitralklappeninsuffizienz
24/84	M, 54 Jahre	Hirntumor, malignes Lymphom des Gehirns ohne Beteiligung anderer Organe
57/84	M, 37 Jahre	Progressive Muskeldystrophie, groß und kleinherdige Fibrosen im Myokard des linken Herzventrikels, Todesursache: biventrikuläres Herzversagen
78/84		Unklare Sepsis, sensomotorisch, Periarteritis nodosa, hämorrhagische angiopathische Polyneuropathie, Polyneuritis, alter hypoxischer Hirnschaden, Kleinhirn, Verlust Purkinjezellen
499/90	W, 41 Jahre	Meningoenzephalitis unklarer Genese

Tab 2. Die Tabelle dokumentiert alle untersuchten Kontrollfälle und differenziert nach GZ-Nummer, Geschlecht, Alter sowie der klinischen Diagnose bei Sektion.

3.3. Die Gewebepräparation

Das während der Sektion entnommene Gewebe wurde in 5% gepufferten Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Aus den Paraffinblöcken wurden 5 Mikrometer dicke Schnitte angefertigt, welche zunächst zur optimalen Gewebeerarbeitung für wenige Sekunden in einem 50°C warmen Wasserbad verweilten. Im Anschluss konnten die Rückenmarksschnitte auf fettfreie Objektträger aufgezogen werden und verblieben zum Antrocknen für mindestens 24 Stunden im 51°C warmen Trockenschrank.

3.4. Die Darstellung der Färbungen

Für die Routinehistologie wurden folgende Färbungen durchgeführt:

- Darstellung von Zellkernen und Cytoplasma: HE
- Darstellung der Markscheiden: Luxol fast blue (LFB)
Myelin basic Protein (MBP)
Heidenhain-Wölke
- Darstellung der Axone: Bielschowsky
Neurofilament (NF)
SMI32
SMI31
Amyloid Precursor Protein (APP)
- Darstellung der astroglösen Reaktion: Glial Fibrillary Protein (GFAP)
- Darstellung der Mikroglia und Makrophagen: CD68

Liste der verwendeten Antikörper

Antikörper	Hersteller	Katalognummer	Klonalität	Verdünnung	Autoklav
NF	DAKO	M 0762	Monoklonaler Maus Antikörper, Klon 2F11	1:1000	Nein
SMI31	STERNBERGER	SMI31	Monoklonaler Maus Antikörper	1:10000	2 x 5 min
SMI32	STERNBERGER	SMI32	Monoklonaler Maus Antikörper	1:1000	2 x 5 min
APP	CHEMICON INTERNATIONAL	MAB348	Monoklonaler Maus Antikörper	1:3000	2 x 5 min
GFAP	DAKO	M 0762	Monoklonaler Maus Antikörper, Klon 2f11	1:200	Nein
CD68	DAKO	M 0814	Monoklonaler Maus Antikörper, Klon KP1	1:5000	2 x 5 min
MBP	NOVOCASTRA		Monoklonaler Maus Antikörper,	1:1000	2x 5 min

Tab 3. Die Tabelle listet systematisch die verwendeten Antikörper auf, unter Berücksichtigung des Herstellers, der Klonalität, der angewendeten Verdünnung der Antikörper sowie dem Autoklavieren.

3.4. Kurzdarstellung der verwendeten Antikörper

Die NF Darstellung

Das Neurofilament ist ein Mitglied der Familie der Intermediärfilamente. Zu dieser Familie zählen auch die Cytokeratine, Desmin, Vimentin sowie das Glial Fibrillary Acid Protein (GFAP).

Das NF-Heteropolymer besteht aus drei Klassen unterschiedlicher Polypeptidketten verschiedener Molekulargewichte. Diese Untereinheiten bestehen aus dem NF-H (200 kDa), NF-M (160 kDa) und dem NF-L (70 kDa).

Während der Entwicklung werden diese Untereinheiten in unterschiedlich großem Ausmaß exprimiert und zeigen ebenfalls ein variables Verteilungsmuster in der neuronalen Zelle. Vornehmlich dienen die niedermolekularen Elemente dem integralen Aufbau, während die hochmolekulare Untereinheit dieser Struktur außen angelagert ist (Hirokawa et al. 1983).

Die Expression von Neurofilamentpolypeptiden ist im Allgemeinen auf neuronale Zellen beschränkt. Der NF-Antikörper reagiert mit der phosphorylierten Form der 70 kDa-Komponente der drei Hauptpolypeptiduntereinheiten. Markiert werden Neurone, neuronale Fortsätze, sympathische Ganglionzellen und das adrenerge Mark.

Die SMI32 Darstellung

Bei dem SMI31 handelt es sich um einen gegen Neurofilament gerichteten monoklonalen Antikörper. Dieser reagiert mit phosphorylierten Epitopen, dem stark phosphoryliertem Neurofilament H und in einem weniger starken Ausmaß mit dem Neurofilament M. In der Immunhistochemie markiert SMI31 dicke und dünne Axone, sowie Dendriten mit Ausnahme der dendritischen Fortsätze der Purkinjezellen. SMI31 ist auch ein Marker für pathologisch veränderte Neurone.

Die SMI32 Darstellung

Das Mikrotubuli assoziierte Protein 2 (SMI32) reagiert mit den nicht-phosphorylierten Epitopen des Neurofilaments H (Bidmon et al. 1998).

Die Reaktion ist positiv, wenn das Epitop dephosphoryliert ist. SMI32 visualisiert neuronale Zellkörper, Dendriten und kranke Axone des zentralen und peripheren Nervensystems. Die Selektivität von SMI32 stellt sich in der Darstellung von Pyramidenzellen dar, die in Schicht III und V des Cortex markiert werden können (Hof et al. 1990).

SMI32 scheint ebenso neuronale Populationen mit erhöhter Vulnerabilität gegenüber Kinasen darzustellen. Eine besondere Stellung nehmen hier die GABAergen Neurone ein und Neurone, welche durch aktivierte Kinasen einen veränderten Calciumstoffwechsel aufweisen. Studien in der Alzheimerforschung und auf dem Gebiet der Chorea Huntington konnten ebenfalls beweisen, dass SMI32 genau die Regionen markiert, welche im späteren Verlauf einen Verlust von kortikalen Neuronen aufweisen (Hof et al. 1990; Knowles et al. 1998). Eine prominente SMI32-Reaktion zeigt sich auch in angeschwollenen Neuriten nach stattgefundenener Dephosphorylierung der betroffenen Bereiche.

Die APP Darstellung

Immunhistochemische Darstellungen des Beta-Amyloid-Precursor Protein (APP) detektiert sensitiv Axone mit einem gestörten axonalen Transport. Das integrierte funktionierende Axon färbt sich nur dann, wenn die zu transportierenden Proteine, darunter das APP, akkumulieren. Somit wird APP zu einem der sensitivsten Marker für die axonale Unterbrechung. Die Akkumulation von APP imponiert als aufgetriebener Axonkolben und ist noch vor einer axonalen Schädigung detektierbar (Grady et al. 1993; Li et al. 1995). Nach axonaler Transsektion ist eine axonale Auftreibung bereits nach drei bis vier Stunden nachweisbar (Oehmichen et al. 1998).

Die GFAP Darstellung

Das saure Gliafaserprotein, Glial Fibrillary Protein (GFAP) ist ein 50 kD schweres intrazytoplasmatisches Filamentprotein, welches nach Polymerisierung Intermediärfilamente formt. Erstmals von Eng et al. beschrieben, konnte es damals aus multiple Sklerose Plaques isoliert werden (Eng et al. 1971). GFAP ist Teil des Astrocytenskeletts und spezifisch für die Astroglia. Funktionell dient GFAP der astrocytären Motilität und Form sowie der baulichen Stabilität des Zellkörper und der Fortsätze. Da in Oligodendroglia jedoch keine Gliafilamente nachweisbar sind, färben sich diese nicht GFAP-positiv. Während der Entwicklung ist GFAP in der radiären Glia exprimiert und persistiert in der Bergmann-Glia des Kleinhirns und in den Müller Zellen der Retina.

Das saure Gliafaserprotein weist eine spezieabhängige Aminosäuresequenz auf, welche mit einem Molekulargewicht von 48 kD bei der Maus und 51 kD bei der Ratte liegt. Eine markante Eigenschaft des GFAPs liegt in seiner starken Unlöslichkeit in wässrigen Lösungsmitteln, der Tendenz schnell zu aggregieren und einer Empfindlichkeit gegenüber Proteasen (Eng und Lee 1995).

Die CD68 Darstellung

CD68 gehört als hoch glykosyliertes Membranprotein zu der Familie der lysosomalen Glykoproteine. Diese sind eine Klasse von Membranshuttleproteinen, welche eine bedeutende Rolle bei Vorgängen der Endocytose, aber auch der Zytolyse spielen

Besonders prägnant erscheint CD68 in cytoplasmatischen Granula, weniger ausgeprägt ist dieses Membranprotein an der Oberfläche von Makrophagen, Monocyten Neutrophilen, Basophilen, natürlichen Killerzellen und Zellen des peripheren Blutes, wie den B-Zellen.

Die MBP Darstellung

Das basischen Myelin-Protein (MBP) entspricht mit einem Anteil von ca. 30% der im Myelin nachweisbaren Proteine. Von Oligodendrozyten produziert, zeichnet sich das MBP als einzelkettiges flexibles Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 18 kD aus. Es ist im zentralen und peripheren Nervensystem nachweisbar.

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) ermöglicht die Differenzierung anatomischer Strukturen. Hierbei stellen sich die Zellkerne blau und das Zellplasma rot dar.

Die Imprägnation nach Bielschowsky

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts entwickelte Bielschowsky die Silberimprägnationsmethode zur Darstellung von Neurofibrillen. Die Präparate werden zunächst mit Silbernitrat imprägniert, bevor sie mit einer ammoniakalischen Silbernitratlösung versetzt werden. Es entsteht ein Silberdiaminkomplex, der durch den formaldehydhaltigen Entwickler reduziert wird. Im Anschluss fixiert man den schwarzen Silber-Substratkomplex mit Alkohol, Xylol und Harz (Romeis 1989).

Die Luxol-Fast-Blue-Färbung

Der Farbstoff Luxol Fast Blue (Luxolblau, Echtblau), ein Kupfer-Phthalozyanin, zeigt spezifische Affinität für Neurokeratin, so dass sich eine einfache Markscheidenfärbung durchführen lässt.

Die Immunhistochemie

Das Prinzip der ABC-Methode (Avidin-Biotin-Komplex-Technik):

Die ABC-Methode basiert auf der Affinität von Avidin zu Biotin, wobei Avidin ein aus Hühnereiweiß gewonnenes Glykoprotein darstellt und vier Bindungsstellen für Biotin bereithält. Auf Grund der molekularen Konfiguration binden jedoch in der Regel weniger als vier Biotinmoleküle. Derzeitig existieren zwei Methoden der Avidin-Biotin Färbungen, die „Avidin-Biotin-Komplex-Methode“, sowie der markierten Avidin Biotin-Technik (LSAB).

Zur Verbesserung spezifischer Reaktionen wurde auf gentechnischem Weg ein reineres Produkt gewonnen. Das so genannte Streptavidin wird aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii* isoliert.

Für den Avidin-Biotin-Komplex benötigt man einen Biotin markierten Brückenantikörper. Diesem Zweck dient ein wasserlösliches Vitamin, welches sich gut an den Brückenantikörper koppeln lässt und die Verbindung zum ABC-Komplex bewerkstelligt. In unserem Fall wird mit einem Multi-Link-Antikörper gearbeitet, der sich aus biotinylierten Anti-Maus- und Anti-Kaninchen-Immunglobulinen der Ziege zusammensetzt. Der Komplex ist in der Lage, drei von vier möglichen Bindungsstellen des Avidins mit einem Molekül Biotin zu besetzen. Bei dem bindungsfähigen Enzym handelt es sich um eine Peroxidase oder eine alkalische Phosphatase. Als chromogene Substratlösung zum Anfärben des ABC-Komplexes eignet sich im Falle einer enzymgebundenen Peroxidase das Diaminobenzidin (DAB) (Naish, 1989; Romeis, 1989). Im Falle einer enzymgebundenen alkalischen Phosphatase erfolgt die Komplexdarstellung mittels rotem Chromogen.

Um den Kontrast der spezifischen Anfärbung zu optimieren bzw. besser differenzieren zu können, empfiehlt es sich, mit Hämatoxylin gegen zu färben. Der Vorteil dieses Färbprinzips liegt in seiner hohen Sensitivität.

Das ChemMate Detection Kit K 5005

Für die Darstellung der verwendeten Antikörper wurde das ChemMate Detection Kit K 5005 „Alkaline Phosphatase/Red, Rabbit/Mouse“ der Firma Dako verwendet. Das Kit basiert auf der markierten Streptavidin-Biotin-Methode und findet in einem dreistufigen Verfahren Anwendung. Der erste Schritt besteht aus der Inkubation des Gewebes mit entsprechendem verdünnten Kaninchen- oder Mausantikörper, während in der nächsten Phase ein zweiter (AB2), biotinylierter Antikörper aufgetragen wird. Hierbei handelt es sich um eine gebrauchsfertige Lösung mit biotinyliertem Anti-Maus- und Anti-Kaninchen-Ziegen-Immunglobulinen, stabilisierenden Proteinen und Natriumazid. Der dritte Schritt erfolgt während der Inkubation mit dem an alkalischer Phosphatase konjugierten Streptavidin (AP). Rotes Chromogen aus dem ChemMate Detection Kit K 5005 visualisiert die gebundenen Antigen-Antikörper Komplexe.

Folgende Antikörper wurden mit dem ChemMate Detection Kit K 5005 dargestellt:
MBP, NF, CD68, SMI31, SMI32.

3.4.1. Durchführung der histopathologische Routinefärbungen

Die HE-Färbung

1. Entparaffinieren der Schnitte 2x5 min. in Xylol, anschließend kurzes Bad in absteigender Alkoholreihe und Einstellen in Aqua dest.
2. Färbung der Kerne mit Hämalaun für 5-6 min.
3. Spülen in Aqua dest.
4. Bläuen im Wasserbad für 10 min.
5. Färben mit Eosin (0,1% in Aqua dest.) für 10 min.
6. Auswaschen in Wasser für 5 min.
7. Differenzieren in 80% Ethanol
8. Äthanolbad 100% für 2x2 min.
9. Xylol für 3-5 min.
10. Eindecken in Eukitt

Die Imprägnation nach Bielschowsky

1. Entparaffinieren der Präparate 2x5 min. in Xylol, anschließend absteigende Alkoholreihe und Einstellen in Aqua dest.
2. Eintauchen in 20% Silbernitratlösung für ca. 30 min. (bis eine hellbraune Färbung der Schnitte sichtbar wird)
3. Spülen mit Aqua dest.
4. Ammoniakalische Silbernitratlösung für ca. 30 min. (50 ml einer 20% Silbernitratlösung werden solange mit Ammoniak versetzt bis die Lösung eine schwarze Farbe annimmt, sich ein Niederschlag bildet und sich dieser schließlich wieder löst, die Lösung klar erscheint)
5. Spülen in Ammoniak-Aqua dest. (1 Teil Ammoniak auf 4 Teile Aqua dest.)
6. Spülen in sterilem Aqua dest.
7. Versetzen der Schnitte mit 2 Tropfen ammoniakalischer Silberlösung für ca. 2-3 min. bis die Präparate einen gold-braunen Ton annehmen.

Ansatz des Entwicklers:

37% Formaldehyd	20 ml
Steriles Aqua dest.	100 ml
Zitronensäure	0,5 g
65% Salpetersäure	1 Tropfen

8. Spülen in Ammoniak-Aqua dest.
9. Spülen in sterilem Aqua dest.
10. 5% Natriumthiosulfat für 2-3 min.
11. Spülen in Wasser für 5 min.
12. Eintauchen in absteigender Alkoholreihe
13. Eindecken in Eukitt

Die Markscheidenfärbung mit Luxol Fast Blue

1. Entparaffinieren der Präparate 2x5 min. in Xylol, anschließend absteigende Alkoholreihe und Einstellen in Aqua dest.
2. Über Nacht in Luxolblau-Färbelösung (siehe unten) einstellen
3. Abspülen in Aqua dest.
4. Einige Sekunden in 0,05%ige Lithiumcarbonatlösung eintauchen
5. weiter differenzieren in 80%igen Ethanol, 20-30 sek.
6. Abspülen in Aqua dest. Die Schritte 4 und 5 können mehrfach wiederholt werden; man differenziert bis graue und weiße Substanz unterschieden werden können, unter mikroskopischer Kontrolle
7. Nach dem Abspülen in Aqua dest. die Kerne mit HE gegenfärben, 1-2 min.
8. Abwaschen in Aqua dest., bläuen in Leitungswasser.
9. Entwässern in je 2 Portionen 96%igen und 100%igem Ethanol
10. Xylol
11. Eindecken in Eukitt

Herstellen der Färbelösung

1. 0,1 g Luxol Fast Blue MBSN in 100ml 96%igem Ethanol lösen.
2. 0,5 ml 10%ige Essigsäure zusetzen

Die Markscheidenfärbung nach Heidenhain-Wölke

1. Entparaffinieren der Präparate 2x5 min. in Xylol, anschließend absteigende Alkoholreihe und Einstellen in Aqua dest.
2. 2,5% Eisenalaun (Ammoniumeisen-III-Sulfat) – 2 Std. bei 45 °C
3. gut mit Aqua dest. auswaschen
4. Weigerts-Hämatoxylin – 2 bis 3 Std. (Ansatz siehe unten)
5. kurz in Aqua dest. spülen
6. Kernechtrot – 5 min.
7. Kurz in Aqua dest. spülen
8. Aufsteigende Alkoholreihe
9. Xylol
10. Eindecken in Eukitt

Herstellung des Weigerts – Hämatoxylin

1. 10% alk. Hämatoxylin ca. 4 Wochen lang gereift (100 ml)
2. gesättigte Lithiumcarbonatlösung (70 ml)
3. Aqua dest. (830 ml)

3.4.2. Durchführung der immunhistochemischen Färbungen

Die NF und GFAP Darstellung

1. Entparaffinieren: Xylol (5 min.), Xylol (5 min.) absteigende Alkoholreihe jeweils für wenige Sekunden
2. Auftragen des Primärantikörpers in seiner entsprechenden Verdünnung (siehe Liste der verwendeten Antikörper): Inkubation für 25 min.
3. PBS spülen
4. Auftragen des AB2, biotinylierter Sekundärantikörper gegen Maus- und Kaninchen-Antikörper in einer Pufferlösung mit Trägerprotein und Natriumazid: Inkubation für 25 min.
5. Spülen der Schnitte mit PBS
6. Stopp der endogenen Peroxidase: Inkubation für 6 min.
7. HRP Streptavidin/Peroxidase, Streptavidin conj. mit Meerrettichperoxidase in Pufferlösung mit Trägerprotein und Konservierungsmitteln: Inkubation für 25 min.
8. PBS
9. Entwickeln mit Chrom, Diaminobenzidinlösung 5x50 konzentriert 3,3 Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid in organischen. Lösungsmittel (750 µl Puffer : 15 µl DAB)
10. Gegenfärben mit Hämalaun für 3-5 Min, bläuen im Wasserbad für 5 – 10 min.
11. Absteigende Alkoholreihe
12. Eindecken in Eukitt

Die MBP, CD68, SMI31 und SMI32 Darstellung

1. Entparaffinieren den Präparate
2. Vorbehandlung der Schnitte in der Mikrowelle jeweils 2x5 min.
3. Abkühlen der Präparate für ca. 10 min
4. Auftragen des Primärantikörpers
5. Spülen der Schnitte mit PBS
6. Auftragen des AB2, Link biotinylierter sekundärer Anti-Maus- und Anti-Kaninchen-Ziegen-Immunglobuline in gepufferten Lösung mit stabilisierendem Protein und Natriumazid (Inkubation für 25 min.)
7. Auftragen der AP, Streptavidin Alkaline Phosphatase, an alkalische Phosphatase konjugiertes Streptavidin in gepufferten Lösung mit stabilisierendem Protein und Konservierungsmittel (Inkubation für 25 min.)
8. Entwickeln unter mikroskopischer Kontrolle mit rotem Chromogen (das Chrom wird angesetzt durch sorgfältiges Mischen von 25 Teilen AP Substratpuffer mit einem Teil des Chromogen Red 1, einem Teil des Chromogen Red 2, einem Teil des Chromogen Red 3)
9. Gegenfärben mit Hämalaun für 1 min.
10. Bläuen im Wasserbad für ca. 10 min.
11. Kurzes Eintauchen in absteigender Alkoholreihe
12. Eindecken mit Eukitt

Die APP Markierung

In Zusammenarbeit mit dem Labor des Instituts für Neuropathologie der Universitätsmedizin Göttingen, Direktor Prof. Dr. med. W. Brück wurde unter folgenden Protokoll die APP-Markierung vorgenommen:

1. Entparaffinieren der Schnitte: Xylol (20 min.)-Xylol (20 min.)-Ethanol 99% - Ethanol 70% Ethanol 50% - Aqua dest.
2. Vorbehandeln der Schnitte in der Mikrowelle
3. Spülen der Schnitte mit PBS
4. Blockieren der endogenen Peroxidase für 10 min. (10% FCS/PBS)
5. Auftragen des Primärantikörpers (1:3000)
6. Inkubation über Nacht bei 4 °C
7. Waschen mit PBS
8. Avidin-Peroxidase (Sigma) 1:1000 für 1 h bei Raumtemperatur
9. Waschen mit PBS
10. Entwickeln mit Diaminobenzidin (braun) unter mikroskopischer Kontrolle
11. Verstärkung von DAB durch 10-minütiges Eintauchen in Kupfersulfat-Lsg.
12. Gegenfärbung mit Mayer's Hämalaun (30 sec.)
13. Bläuen im Wasserbad für 10 min.
14. Differenzierung in aufsteigender Alkoholreihe
15. Eindecken mit Eukitt

Bildgebende Verfahren

Mit dem Lichtmikroskop Olympus BX50, Japan, ausgestattet mit 2,5x, 10x, 20x, 40x, 60x und 100x vergrößernden Objektiven konnten das Gewebematerial erfolgreich mikroskopiert werden.

Digitale Photoaufnahmen wurden mit der am Lichtmikroskop installierten Kamera der Firma Canon angefertigt, gesteuert mit der Sensicam 3.0 Software. Die als JPG gespeicherten Aufnahmen wurden im Anschluss mit Adobe Photoshop 5.0 bearbeitet.

3.5. Durchführung der Quantifikation der Neurone

Die angefertigten Rückenmarksschnitte wurden mikroskopiert und anhand ihrer Anatomie und Morphologie den cervikalen und thorakalen Höhen zugeordnet. Für das cervikale Rückenmark konnte eine differenzierte Zuordnung der Ebenen von C2-C8 vorgenommen werden, da für diese Abschnitte besonders viel Material zur Verfügung stand. Hingegen wurde für das thorakale Mark mangels vorhandener Schnitte auf eine zuordnende Untergruppierung verzichtet. Die Höhen der lumbalen und sakralen Rückenmarksabschnitte wurden eingehend untersucht, eine Quantifizierung der Neurone konnte hier jedoch aufgrund nicht repräsentativer Fallzahlen nicht stattfinden.

Im Folgenden wurde die graue Substanz zur besseren und übersichtlicheren Neuronquantifikation in Quadrate eingeteilt. Die Auszählung der Neurone erfolgt systematisch am Lichtmikroskop, seitengetreunt und nacheinander unter Berücksichtigung der verschiedenen Neurongruppen unter Vernachlässigung der differenzierten Neuronarten.

Die ermittelten Daten wurden mittels SPSS Programm, Version 10.0, bearbeitet und einer statistischen Analyse unterzogen. Zur Anwendung kamen komplex statistische Testmethoden: Bonferroni-Korrektur, T-Test, Kruskal-Wallis-Test.

In Kooperation mit dem Institut für Biometrie und Statistik der Charité Universitätsmedizin Berlin und der Mitarbeit von Frau A. Stroux konnte die statistische Auswertung vorgenommen, diskutiert und auf ihre Richtigkeit hin überprüft werden.

4. Ergebnisse

Das untersuchte Rückenmarksmaterial der MS Patienten besteht aus den Gewebeteilen, die bei Sektion ausgewählt wurden. Die bevorzugte Entnahme von Gewebe mit makroskopisch erkennbaren Entmarkungsherden ergibt sich aus dem Ziel der Diagnosesicherung.

4.1. Veränderung der Neurone

In der Lichtmikroskopie des Spinalmarks bei MS Erkrankten imponierten die histopathologischen Schnitte durch die in ihrer Anzahl deutlich verminderten und morphologisch veränderten neuronalen Zellen.

Die Neurone weisen Degenerationserscheinungen auf, welche sich durch atrophische Veränderungen und in Form kleiner denser Zellkörper auszeichnen sowie durch Hyperchromasie und dicht gepackte Nisslsubstanz auffällig sind. In einigen Präparaten lässt sich neuronaler Zelldetritus nachweisen. Neuronale Degenerationserscheinungen sind bei einzelnen Zellen, aber auch ganzen Neuronengruppen, beobachtbar. Atrophe Neurone lassen sich gehäuft in der Nähe von Gefäßen auffinden und sind bestimmten Mustern zuzuordnen.

Die Degenerationserscheinungen der Neurone sind in allen Höhen des spinalen Marks zu beobachten, betont betroffen scheinen jedoch die cervikalen und thorakalen Rückenmarksebenen. In der speziellen Untersuchung der einzelnen Neuronengruppen des cervikalen Marks zeigt sich eine Verminderung der großen pyramidenförmigen alpha-Motoneurone des ventralen Rückenmarkshorns, wobei auch die Anzahl der kleinen fusiformen Neurone der Laminae III, IV und V vermindert erscheinen, ein besonders ausgeprägtes Phänomen der spinalen Höhen von C3, C4 und C5. Neben neuronalen Zellen des Ncl. motorii lateralis ist ebenso ein relativer Neuronverlust des Ncl. medialis zu beobachten. Zudem lässt sich eine Verminderung der Zellen des Ncl. dorsalis beschreiben sowie eine Reduktion des Ncl. proprius dorsalis in einigen der untersuchten MS Präparate.

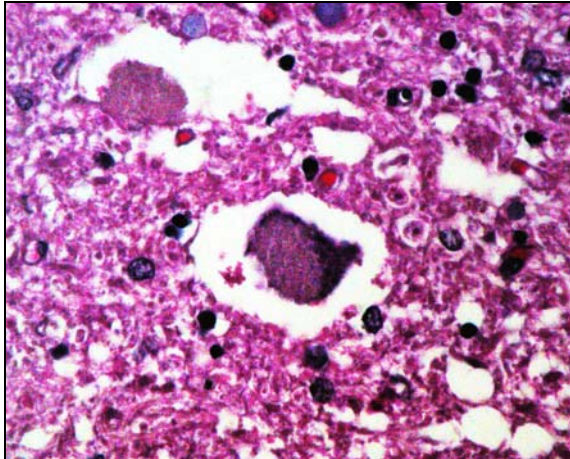


Abb 8. GZ 164-85, Vergr. 40x0,75x2
HE-Färbung. Darstellung eines atroph und degeneriert erscheinenden Neurons in der grauen Substanz des Vorderhorns des cervikalen Rückenmarks.

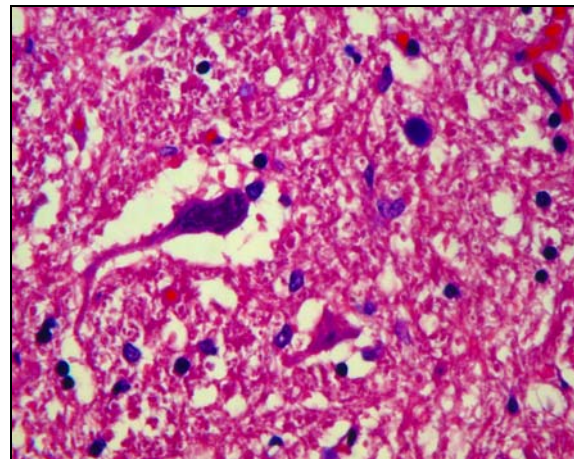


Abb 9. GZ 164-85, Vergr. 40x0,75x2
HE-Färbung. Darstellung von zwei atroph und degeneriert erscheinenden Neuronen in der grauen Substanz des Vorderhorns eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts.

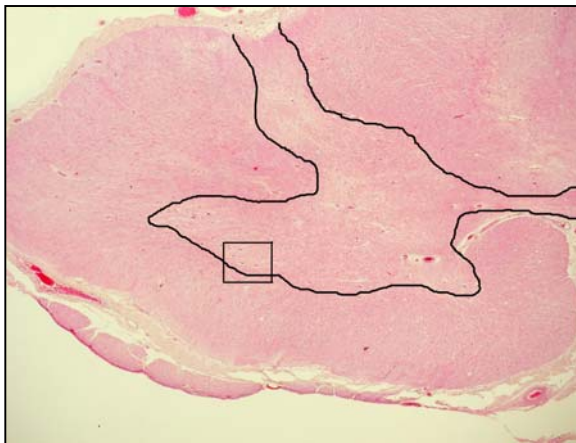


Abb 10. GZ 51-00, Vergr. 4x0,13
HE- Färbung. Querschnitt eines cervikalen Rückenmarks, Vorderhorn in Höhe von C5.

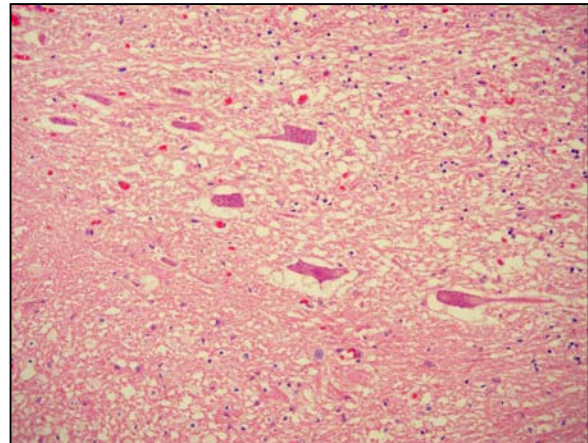


Abb 11. GZ 51-00, Vergr. 20x0,5
HE- Färbung. Querschnitt eines cervikalen Rückenmarks, Vorderhorn in Höhe von C5, atrophe hyperdense neuronale Zellkörper mit Hofbildung. Neuronverlust.

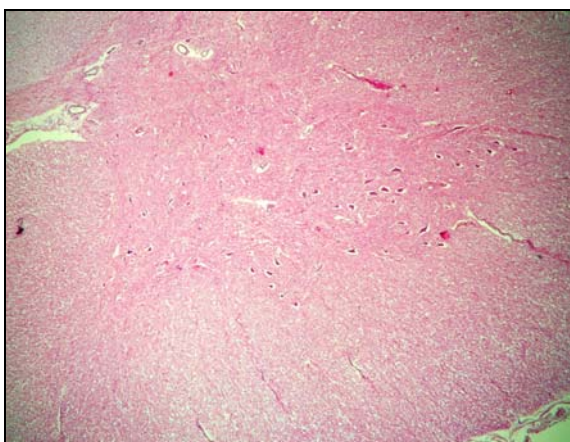


Abb 12. Kontrollschnitt GZ 566-75, Vergr. 4x0,13
HE-Färbung. Darstellung des ventralen Vorderhorns des cervikalen Rückenmarks. Die graue und weiße Substanz präsentiert sich ohne pathologische Veränderungen. Zahlreiche Neurone im Bereich der Ncl. motorii lateralis und Ncl. motorii medialis.

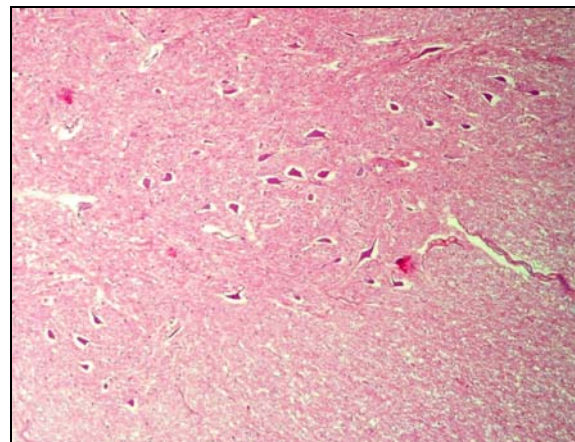


Abb 13. Kontrollschnitt GZ 566-75, Ausschnitt
HE-Färbung. Darstellung des ventralen Vorderhorns des cervikalen Rückenmarks. Zahlreiche Neurone im Bereich des Ncl. motorii lateralis und Ncl. motorii medialis sind beobachtbar.

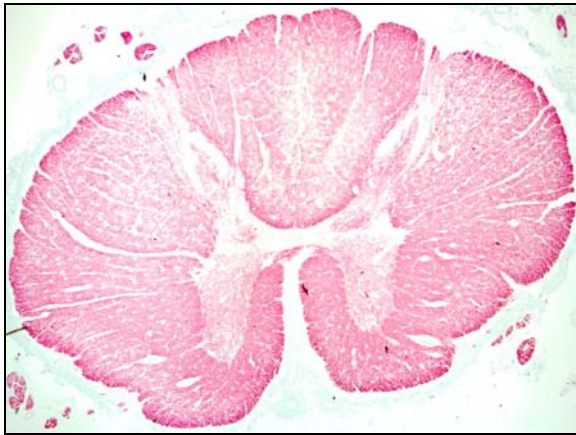


Abb 14. GZ 390-85, Vergr. 1,25x0,04
HE-Färbung. Darstellung eines thorakalen Rückenmark-
querschnitts. Die graue Substanz erscheint atroph und
von einem relativen Zellverlust betroffen zu sein.
Degeneration und Verlust neuronaler Zellen. Die weiße
Substanz imponiert entmarkt.

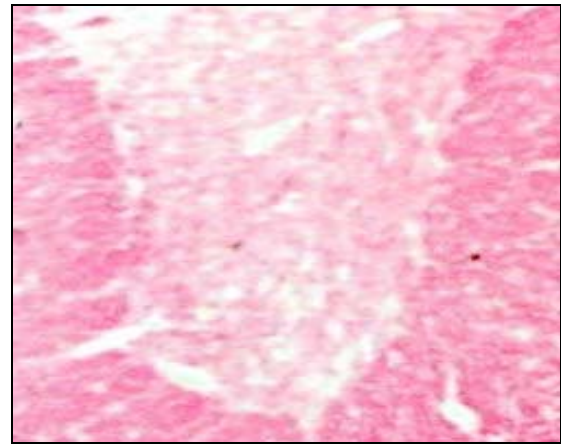


Abb 15. GZ 390-85, Ausschnitt
HE-Färbung. Darstellung eines thorakalen Vorderhorns.
Die graue Substanz erscheint atroph und von einem
relativen Zellverlust betroffen zu sein. Degeneration und
Verlust neuronaler Zelle.

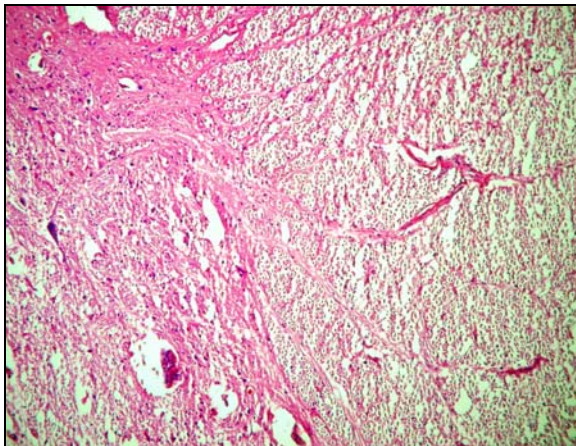


Abb 16. GZ 836-87, Vergr. 10x0,3
HE-Färbung. Darstellung eines thorakalen Vorderhorns.
Die graue Substanz erscheint atroph und von einem
relativen Zellverlust betroffen zu sein. Degeneration und
Verlust neuronaler Zellen, bevorzugt des Ncl. motorius
medialis. Die weiße Substanz imponiert entmarkt.

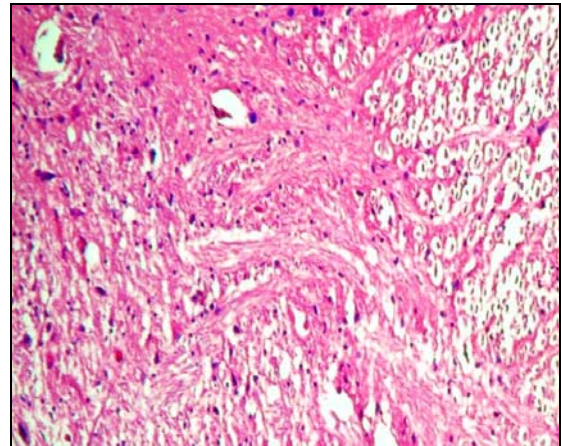


Abb 17. GZ 836-87, Ausschnitt
HE-Färbung. Darstellung eines thorakalen Vorderhorns.
Die graue Substanz erscheint atroph, zellverarmt und von
einem Verlust neuronaler Zellen betroffen. Markierung
zwei kleiner degenerierter Neurone. Die weiße Substanz
scheint spongiös aufgelockert.

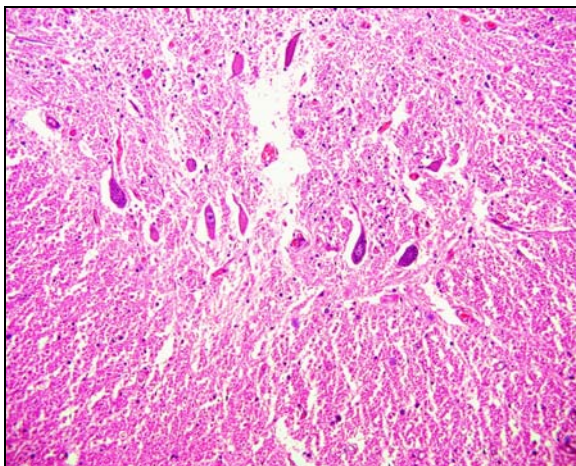


Abb 18. GZ 362-87, Vergr. 20x0,5
HE-Färbung. Darstellung eines cervikalen Rückenmark-
querschnitts. Die Neuronendichte des Ncl. motorius lateralis
erscheint reduziert, die neuronalen Zellen weisen atrophe
Veränderungen auf.

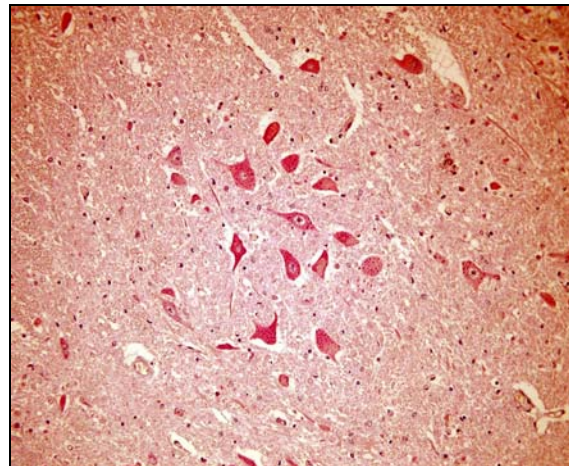


Abb 19. Kontrollschnitt GZ 87-84, Vergr. 20x0,5
HE-Färbung. Darstellung zahlreicher neuronaler Zellkörper
im cervikalen Rückenmark, Zellgruppe des Ncl. motoris
lateralis.

Von ähnlichen Veränderungen ist ebenfalls das thorakale Rückenmark betroffen. Für diese Höhe ist eine Reduktion von Neuronen des Ncl. dorsalis sowie des Ncl. proprius dorsalis auffällig. Aber auch Neurone des Vorderhorns, wie die des Ncl. motorius medialis und Ncl. motorius lateralis, schienen in ihrer Anzahl vermindert. Der Verlust kleinerer Neurone ist offensichtlich, lässt sich jedoch nur schwer darstellen. Die graue Substanz des thorakalen Rückenmarks erscheint zellarm und gelichtet.

Während der allgemeinen Untersuchung der einzelnen Rückenmarksebenen können die neuronalen Veränderungen, bezogen auf ihre Lokalisation und Morphologie, in drei Schädigungsmuster differenziert werden.

Bei dem Typ a (Abb. 20) der Schädigung handelt es sich um den bevorzugten Verlust neuronaler Zellen im zentralen Bereich der grauen Substanz mit hauptsächlichlicher Beteiligung von Interneuronen. Die graue Substanz erscheint hier stark ausgedünnt, vereinzelt imponieren randständige, an der Grenze zur weißen Substanz befindliche Neurone. Typ b (Abb. 21) klassifiziert Läsionen, welche disseminiert einzelne Neuronengruppen umfassen.

Der Typ c (Abb. 22) zeichnet sich durch den Verlust neuronaler Zellen von nur einem Kerngebiet aus (im Besonderen die Zellen des Ncl. motorius lateralis).

Im Bereich der cervikalen Rückenmarksabschnitte der MS Patienten überwogen die Typ a Läsionen mit ca. 60%, während Typ b ca. 10% und Typ c ca. 30% zuzuordnen waren. Für das thorakale Rückenmark bietet sich eine schwierigere Beurteilung bezogen auf die neuronalen Schädigungsmuster, auch begründet in der flächenbezogenen kleineren Repräsentation der grauen Substanz.

Eine differenzierte Verteilung der neuronalen Schädigungsmuster, die einzelnen Höhen des spinalen Marks betreffend, lässt sich nicht vornehmen. Ein Zusammenhang zwischen den dargestellten neuronalen Schädigungsmustern und dem Stadium der MS Erkrankung lässt sich nicht treffen, ebenso ist eine Korrelation zwischen Verlauf und Ausmaß des Zellverlustes der betroffenen Neuronengruppen nicht möglich.

Interessant bezüglich der beschriebenen Schädigungsmuster der neuronalen Zellen erscheinen hierbei die Form und das Ausmaß der Demyelinisierung der grauen Substanz.

Neuronale Schädigungsmuster des Rückenmarks

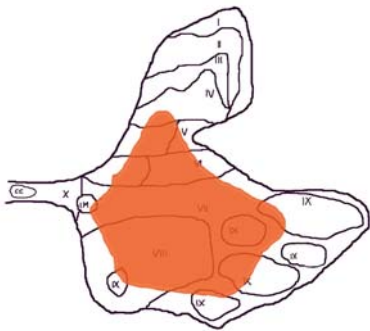


Abb 20. Grafische Darstellung der neuronalen Schädigungsmuster im cervikalen Rückenmark.
Typ a: Schädigung und Verlust neuronaler Zellen im zentralen Bereich der grauen Substanz.

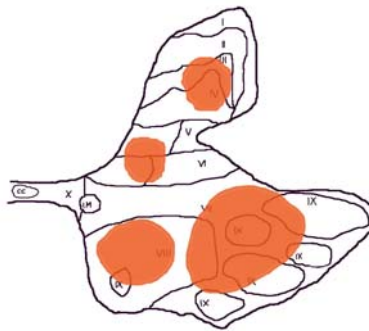


Abb 21. Grafische Darstellung der neuronalen Schädigungsmuster im cervikalen Rückenmark.
Typ b: disseminierte Betroffenheit einzelner Neuronengruppen der grauen Substanz.

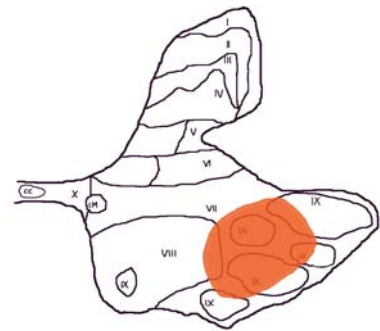


Abb 22. Grafische Darstellung der neuronalen Schädigungsmuster im cervikalen Rückenmark.
Typ c: Schädigung und Verlust neuronaler Zellen von nur einem neuronalen Kerngebiet der grauen Substanz.

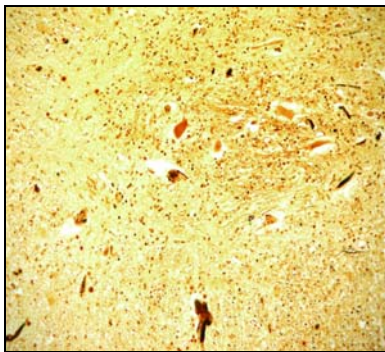
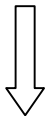


Abb 23. GZ 80-87, Vergr. 20x0,5 Bielschowsky-Imprägnierung. Verlust neuronaler Zellen im zentralen Bereich der grauen Substanz.

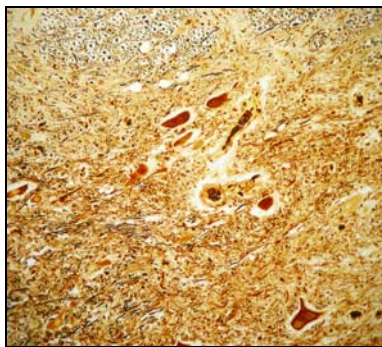
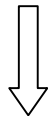


Abb 24. GZ 399-82, Vergr. 20x0,5 Bielschowsky-Imprägnierung. Verlust und Degeneration von Neuronen des Ncl. dorsalis in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks.

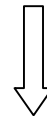


Abb 25. GZ 51-00, Vergr. 10x0,5 Bielschowsky-Imprägnierung. Anteriore laterale Neuronengruppe des cervikalen Rückenmarks, Zellen erscheinen atrophisch und in ihrer Anzahl vermindert.

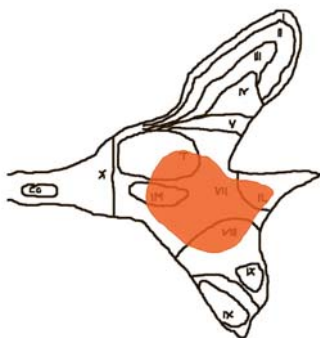


Abb 26. Grafische Darstellung der neuronalen Schädigungsmuster im thorakalen Rückenmark. Typ a.

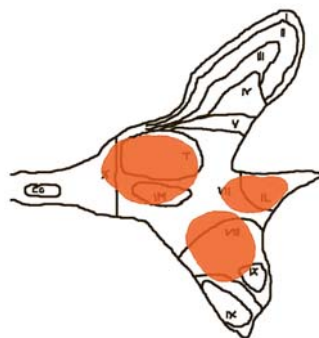


Abb 27. Grafische Darstellung der neuronalen Schädigungsmuster im thorakalen Rückenmark. Typ b.

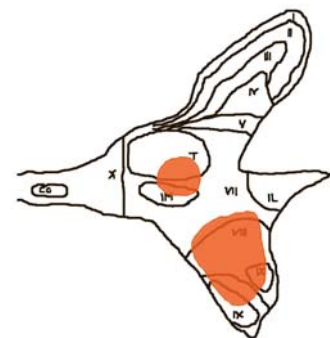


Abb 28. Grafische Darstellung der neuronalen Schädigungsmuster im thorakalen Rückenmark. Typ c.



Abb 29. GZ 164-89, Vergr. 1,25x0,04
Bielschowsky-Imprägnierung. Übersicht eines cervikalen Rückenmarkquerschnitts. Grenzüberschreitender Axonverlust der weißen und grauen Substanz.

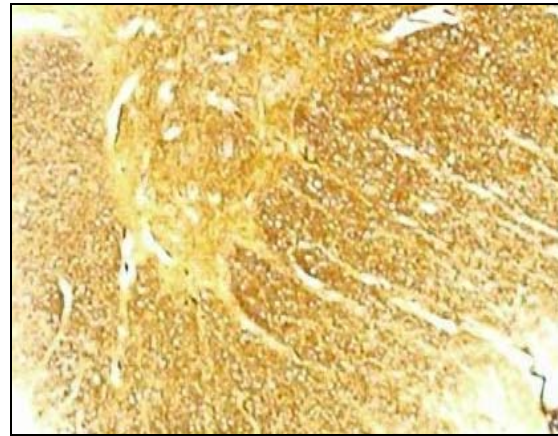


Abb 30. GZ 164-89, Ausschnitt
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung des linken cervikalen Vorderhorns. Beginnender Axonverlust der grauen Substanz, Reduktion der neuronalen Vorderhornzellen.

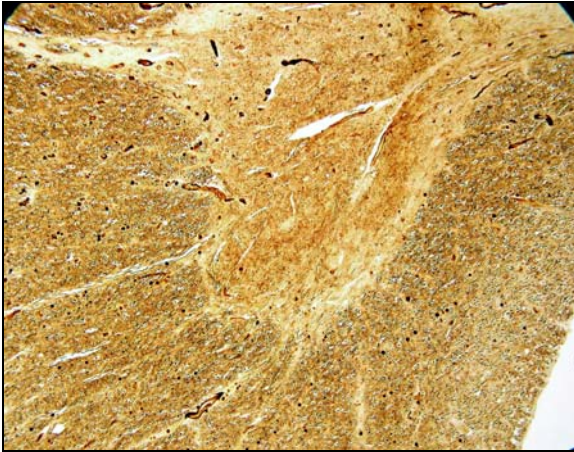


Abb 31. GZ 104-83; Vergr. 10x0,3
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung eines thorakalen Vorderhorns. Die graue Substanz erscheint ausgedünnt. Verlust neuronaler Zellen des Ncl. motorius lateralis.

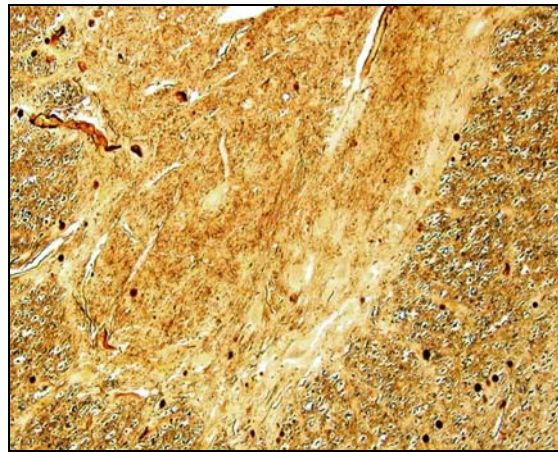


Abb 32. GZ 104-83, Ausschnitt
Bielschowsky-Imprägnierung. Ausschnitt des linksseitig dargestellten thorakalen Vorderhorns. Relativer Gewebe- und Axonverlust der grauen Substanz, besonders in der Randzone zur angrenzenden weißen Substanz. Die neuronalen Zellen erscheinen reduziert.

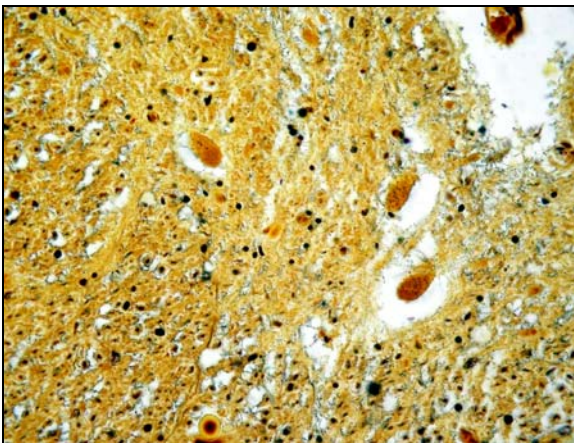


Abb 33. GZ 362-87, Vergr. 20x0,5
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung kleiner atropher Neurone des ventralen Vorderhorns des cervikalen Rückenmarks. Die graue Substanz weist eine relative Gewebeauflockerung mit einem massiven Axonverlust auf.

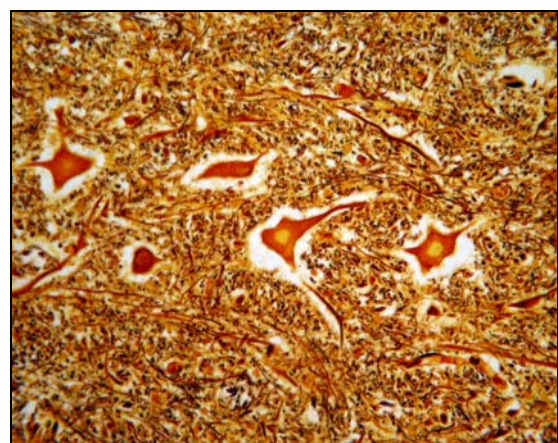


Abb 34. Kontrollschnitt GZ 294-78, Vergr. 20x0,5x2
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung von Neuronen des ventralen Vorderhorns des cervikalen Rückenmarks. Die neuronalen Zellen sind von einem dichten Zellverband und Axonflecht umgeben.

Demyelinisierung in der grauen Substanz

In der LFB-PAS Färbung sind in der grauen Substanz demyelinisierte Herde auffällig. Diese zeichnen sich durch regionale Variabilität und unterschiedliche Myelindichte aus. Die Morphologie der Läsionen kann verschiedenen Demyelinisierungsmustern zugeordnet werden. Der Schädigungstyp I zeichnet sich durch eine Demyelinisierungsreaktion aus, welche die weiße und die graue Substanz gleichermaßen betrifft und in Grenzgebieten der beiden Zonen anzutreffen ist. Diese Art der Demyelinisierung scheint besonders für die dorsalen Abschnitte der Laminae V, VII, X der grauen Substanz und den angrenzenden Faserbahnen der weißen Substanz der Fall zu sein. Ein weiteres Schädigungsmuster besteht im Typ II, einem einzelnen großen demyelinisierten Plaque in der grauen Substanz. Prädestiniert für einen demyelinisierenden Prozess scheint die Lamina X und die Commissura anterior zu sein. In der MBP-Darstellung und im LFB-PAS stellt sich dieser Bereich besonders häufig demyelinisiert dar (Abb. 35 bis 37). Entmarktete Herde sind jedoch ebenso vereinzelt und disseminiert in unterschiedlichen Arealen der grauen Substanz des Rückenmarks auffindbar (Typ III). Im cervikalen Mark betont, sind diese oft um Gefäße der grauen Substanz lokalisiert mit besonderer Ausprägung in der Substantia gelatinosa des Rückenmarks.

Am häufigsten vertreten ist Typ I der Demyelinisierung der grauen Substanz der untersuchten MS Patienten, wobei in einem beinahe gleichen Ausmaß auch ein einzelner, ursprünglicher Entmarkungsherd beobachtet werden kann. Die Demyelinisierungsmuster der grauen Substanz können ineinander übergehen oder simultan auftreten, wobei keine Aussage über den zeitlichen Verlauf oder die gegenseitige Beeinflussung anhand der vorliegenden Untersuchung möglich erscheint.

Regionale Unterschiede intra- und interindividueller Art lassen sich in den einzelnen Rückenmarkshöhen beschreiben. In der Gesamtheit der untersuchten Rückenmarksschnitte imponieren die demyelinisierten Herde der grauen Substanz inaktiv und von keiner frischen Demyelinisierungsreaktion betroffen zu sein. Im Vergleich des Flächenverhältnisses der grauen gegenüber der der weißen Substanz erscheinen die demyelinisierten Herde der grauen Substanz ein größeres Volumen einzunehmen.

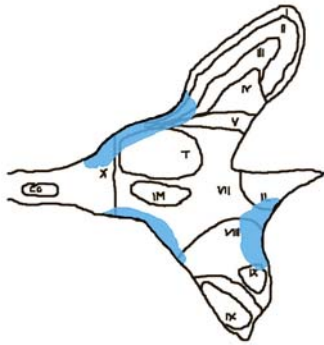


Abb 35. Typ I: Auftreten von demyelinisierten Herden besonders in der Grenzzone zwischen grauer und weißer Substanz.

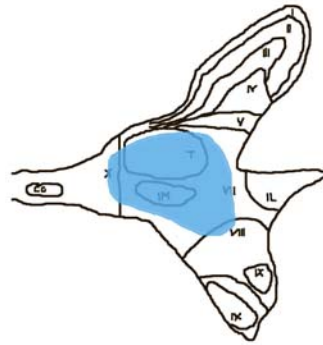


Abb 36. Typ II: Auftreten eines großen demyelinisierten Herdes im zentralen Bereich der grauen Substanz des Rückenmarks.

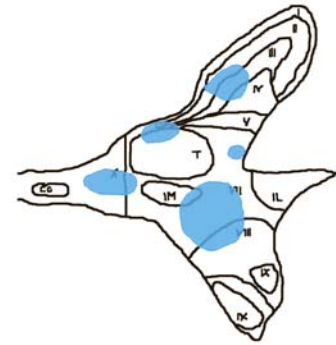


Abb 37. Typ III: Auftreten verschiedener demyelinisierter Herde verteilt in der grauen Substanz des Rückenmarks.

Da es sich bei einem Großteil der Rückenmarksschnitte um alte Herde mit chronischem Krankheitsverlauf handelt, lässt sich keine Aussage über den zeitlichen Hergang des Myelinverlustes treffen.

In der Demyelinisierungsreaktion der grauen Substanz kann eine stärkere und akzentuierter Betroffenheit der cervicalen Rückenmarksabschnitte beobachtet werden, wobei die Erkrankungsdauer des Patienten sowie die Aktivität der multiplen Sklerose berücksichtigt werden sollten.

Die Anzahl neuronaler Zellen ist in demyelinisiertem Gewebe im Vergleich zu Kontrollpatienten und myelinisierter grauer Substanz wesentlich vermindert. Eine Entmarkung der grauen Substanz muss jedoch nicht konsequenter Weise in einen Neuronverlust münden. Trotz des beeindruckenden und massiven Myelinverlustes der grauen Substanz in den untersuchten MS Präparaten, zeigen einige Patienten nur eine geringfügig verminderte Neurondichte auf. Im umgekehrten Fall jedoch, bei einem deutlichen Verlust neuronaler Zellen, zeigt sich begleitend auch eine ausgeprägte Reduktion der Myelinisierung. Eine klare und strikte Trennung zwischen pathologischen Veränderungen der grauen und der weißen Substanz ist nicht möglich.

Im Folgenden werden anhand eines MS Falls exemplarisch die Demyelinisierungsmuster der grauen Substanz eines cervicalen Rückenmarksquerschnitts dargestellt und demonstriert (Abb. 38). Die anschließenden Abbildungen des gleichen Patienten verdeutlichen die regionale Variabilität des demyelinisierenden Geschehens der grauen Substanz des Rückenmarks (Abb. 39 bis Abb. 45).



Abb 38. GZ 399-82, Vergr. 1,25x0,04
 Markscheiden-Färbung. Übersicht eines cervikalen Rückenmarkschnittes.
 Massive Entmarkung der grauen und angrenzenden weißen Substanz,
 regionale Variabilität im Ausmaß der Entmarkung.

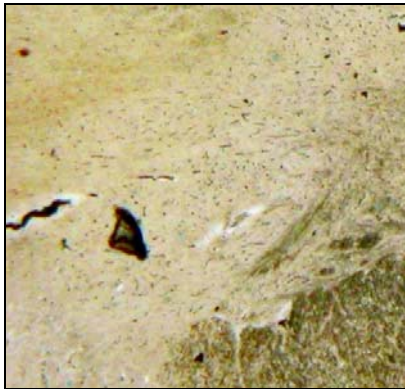


Abb 39. Typ I+II: Auftreten eines großen demyelinisierten Herdes im zentralen Bereich der grauen Substanz des Rückenmarks, Überschreiten der Begrenzung zur weißen Substanz und ihrer begleitenden Strangentmarkung.

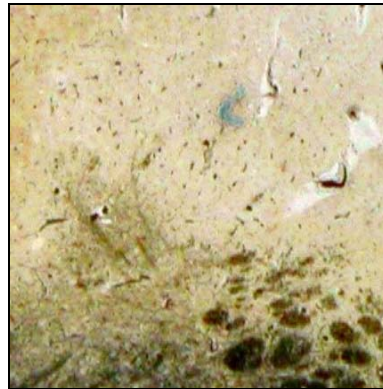


Abb 40. Typ I: Auftreten eines großen demyelinisierten Herdes im zentralen Bereich der grauen Substanz des Rückenmarks, mit besonderer Ausprägung in der Lamina III, IV und V, keine deutliche Abgrenzung zur weißen Substanz möglich.



Abb 41. Typ I: Auftreten eines demyelinisierten Herdes der grauen Substanz in Angrenzung und Mitbeteiligung der weißen Substanz des spinalen Marks.

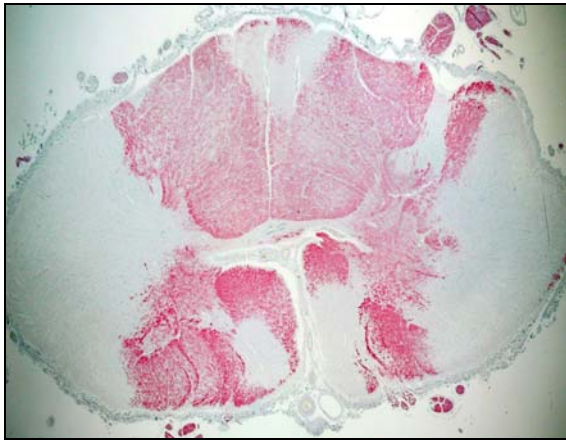


Abb 42. GZ 399-82, Vergr. 1,25x0,04
MBP-Darstellung. Übersicht eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts. Große Demyelinisierung des Cortikospinaltraktes mit Involvierung der grauen Substanz, von der Grenzzone der beiden Substanzen ausgehend (Typ I).

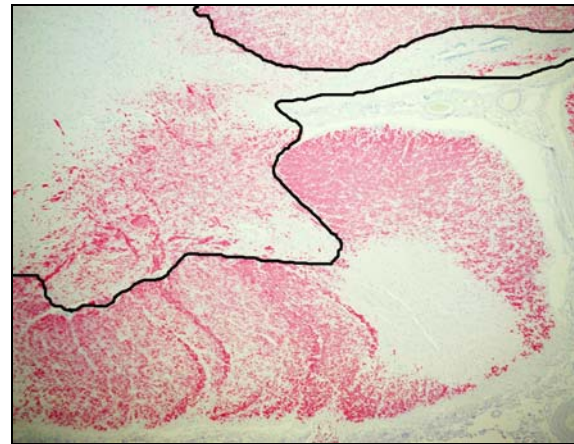


Abb 43. GZ 399-82, Vergr. 4x0,13
MBP-Markierung. Darstellung großflächiger Demyelinisierung im Bereich der weißen mit fast vollständiger Betroffenheit der grauen Substanz und der Commissura anterior (Typ I).

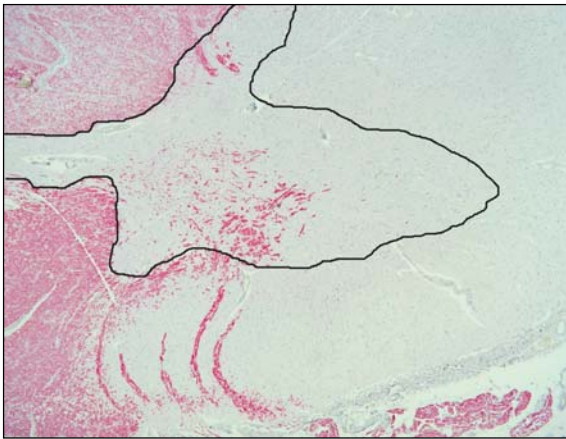


Abb 44. GZ 399-82, Vergr. 4x0,13
MBP-Markierung. Darstellung großflächiger Demyelinisierung im Bereich der weißen und grauen Substanz sowie der Commissura anterior (Typ I).

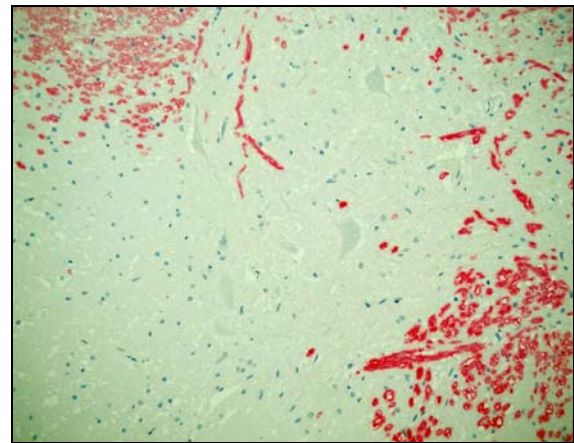


Abb 45. GZ 399-82, Vergr. 40x0,75
MBP-Markierung. Darstellung großflächiger Demyelinisierung im Bereich der grauen Substanz, hofförmige Ausprägung um die degeneriert anmutenden Neurone des Vorderhorns.

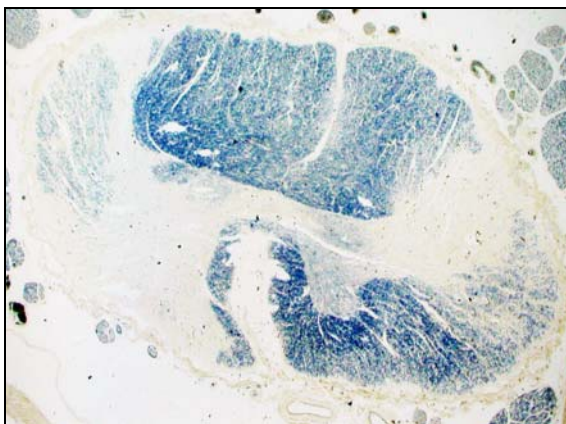


Abb 46. GZ 673-94, Vergr. 1,25x0,04
Markscheiden-Färbung. Übersicht eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts. Massive Demyelinisierung des Cortikospinaltraktes mit Involvierung der grauen Substanz (Typ I).

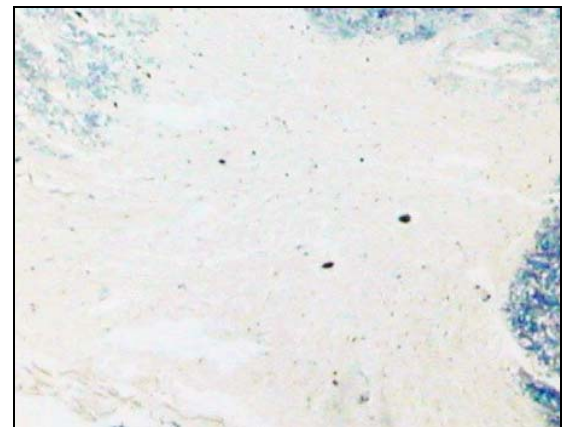


Abb 47. GZ 673-94, Ausschnitt
Markscheiden-Färbung. Darstellung des linken Horns des cervikalen Rückenmarksquerschnitts. Massive Demyelinisierung der grauen Substanz des angrenzenden Cortikospinaltraktes, Verlust neuronaler Zellen des Ncl. motorii lateralis.

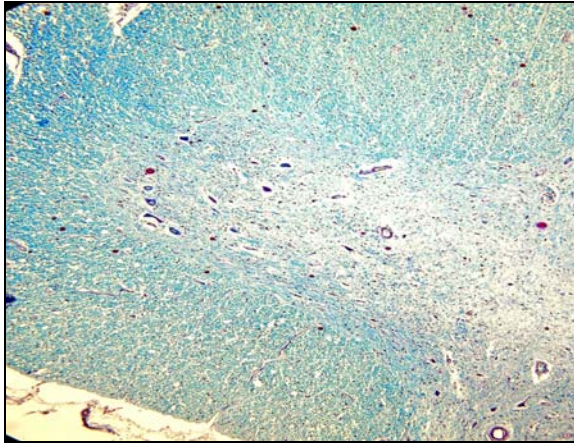


Abb 48. GZ 390-85, Vergr. 10x0,3
LFB-PAS Färbung. Darstellung eines cervikalen Vorderhorns, demyelinisierter Plaque in der grauen Substanz, reduzierte Neuronanzahl des Ncl. motorii lateralis, atroph erscheinendes Gewebe (Typ II).

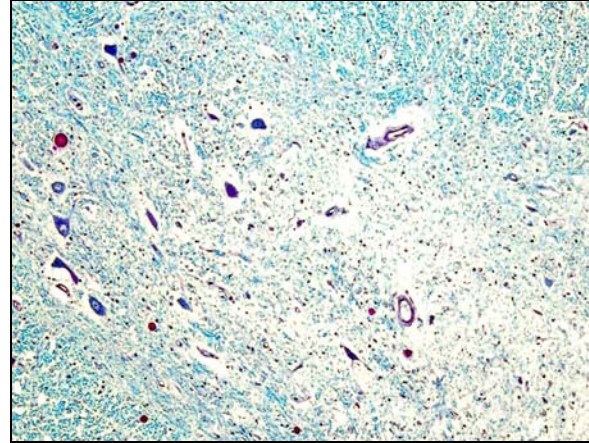


Abb 49. GZ 390-85, Ausschnitt
LFB-PAS Färbung. Darstellung der großflächig demyelinisierten grauen Substanz, reduzierte Neuronanzahl im zentralen Grau und relativer Zell-Verlust (Typ II).



Abb 50. GZ 104-89, Vergr. 1,25x0,04
Marscheiden-Färbung. Übersicht eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts. Massive Demyelinierung der grauen und weißen Substanz.

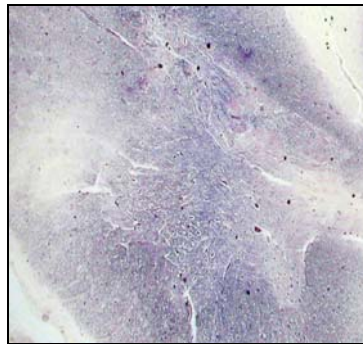


Abb 51. GZ 104-89, Ausschnitt
Marscheiden-Färbung. Demyelinisierte Läsion grenzüberschreitend im Bereich der Pyramidenbahn und der Lamina VII und X (Typ I und II)

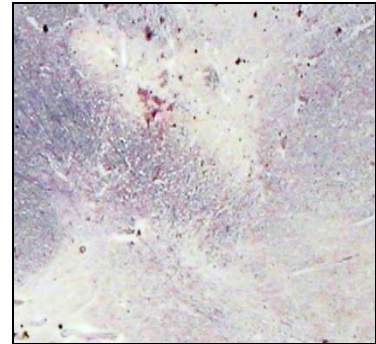


Abb 52. GZ 104-89, Ausschnitt
Marscheiden-Färbung. Demyelinisierte Plaques im Bereich der Lamina IV und V und VI der grauen Substanz (Typ III).

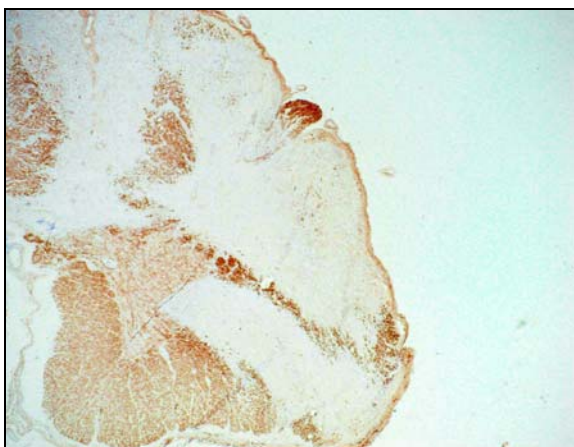


Abb 53. GZ 341-79, Vergr. 1,25x0,04
MBP- Markierung. Darstellung eines cervikalen Vorderhorns. Scharf begrenzter Entmarkungsherd zwischen weißer und grauer Substanz (Typ I). Die Demyelinisierung orientiert sich an keinerlei Strukturen.

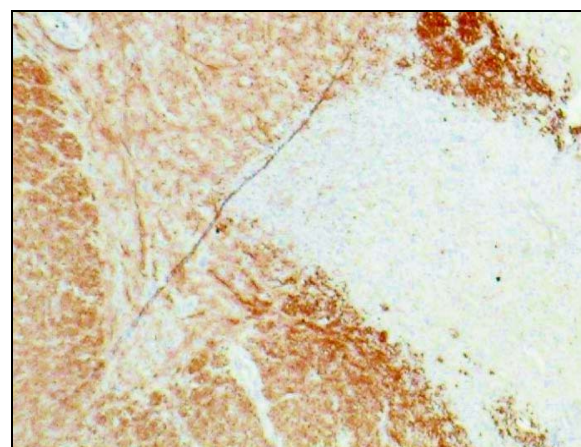


Abb 54. GZ 341-79, Ausschnitt
MBP- Markierung. Vergrößerte Darstellung der wie „ausgestanzt“ wirkenden Entmarkungsherde, mit scharfer Begrenzung zwischen Myelinerhalt und Myelinverlust.

4.2. Neurone und Axonpathologie

Im Vergleich zur Pathologie der grauen Substanz zeichnet sich die weiße Substanz des Rückenmarks durch flächenmäßig größere Herde aus. Hierbei imponiert die Demyelinisierung der Axone als ein vorrangiges Phänomen, wobei es in dessen Folge zu einem Axonverlust zu kommen scheint. Grundsätzlich muss festgestellt werden, dass jedoch ein Axonverlust in einen Myelinverlust mündet. In der Lichtmikroskopie sind verschiedene Verteilungsmuster axongelichteter Herde beobachtbar. Diese sind häufig am deutlichsten durch ihre Demyelinisierung zu erkennen. Bei einem Großteil der Präparate präsentieren sich die subpialen Bereiche bandförmig gelichtet und demyelinisiert, vorzugsweise beidseitig in den lateralen Regionen des spinalen Marks. Die einzelnen Ebenen des Rückenmarks scheinen gleichermaßen betroffen. Herde mit Axonverlust treten disseminiert in der gesamten weißen Substanz auf. In einigen Fällen lassen sich Herde beobachten, welche die weiße und graue Substanz betreffen und eine verminderte Axondichte aufweisen. Für dieses Phänomen scheint besonders das Grenzgebiet der Laminae V, VI und X, die Area gelatinosa, die Hinterstränge sowie der Bereich des anterioren und lateralen Cortikospinaltrakts prädestiniert zu sein.

Ein deutlicher Verlust von Axonen ist mit einem Verlust von Neuronen assoziiert, wobei betont werden kann, dass nicht jede Axonlichtung konsequenterweise zu einem Neuronuntergang führt. Umgekehrt sind jedoch normal erscheinende neuronale Zellen, umgeben von geschädigten Axonen der grauen und weißen Substanz, detektierbar.

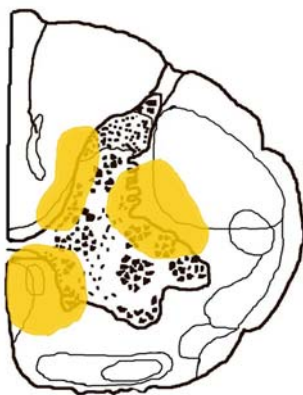


Abb 55. Zentraler Typ

Die dargestellte Grafik zeigt schematisch demyelinisierte Herde, die grenzüberschreitend die graue und weiße Substanz gleichermaßen betreffen.



Abb 56. Strangtyp

Die dargestellte Grafik zeigt schematisch die bevorzugten Demyelinisierungsbereiche in der weißen Substanz mit Betonung des lateralen und anterioren Cortikospinaltrakts.

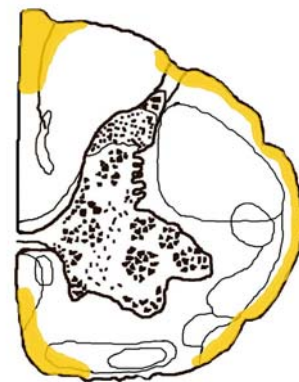


Abb 57. Peripherer Typ

Die dargestellte Grafik zeigt schematisch ein bandförmig verlaufendes demyelinisiertes Gebiet der weißen Substanz im subpialen Bereich.



Abb 58. GZ 20-87, Vergr. 1,25x0,04
Bielschowsky-Imprägnierung. Übersicht eines thorakalen Rückenmarksquerschnitts mit kleineren Entmarkungsherden in der grauen Substanz. Deutlicher Axonverlust im subpialen Bereich des Rückenmarks (peripherer Typ).

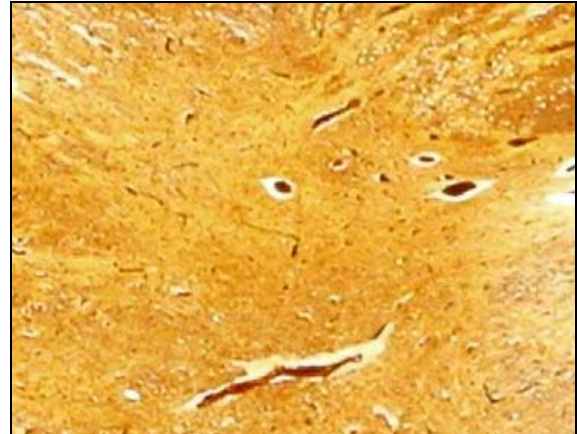


Abb 59. GZ 20-87, Ausschnitt
Bielschowsky-Imprägnierung. Großer Entmarkungsherd in der grauen Substanz, Axonverlust in den Laminae V, VI, und VII, Reduktion der neuronalen Dichte.



Abb 60. Kontrollschnitt GZ 294-78, Vergr. 1,25x0,04
Bielschowsky-Imprägnierung. Übersicht eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts. Die graue Substanz erscheint homogen markiert.

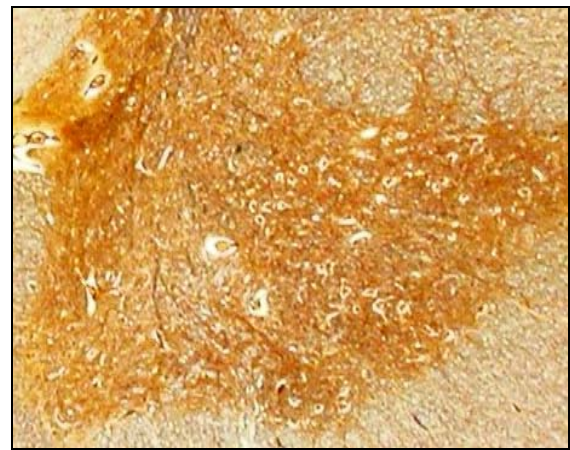


Abb 61. Kontrollschnitt GZ 294-78, Ausschnitt
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung des rechten Vorderhorns des cervikalen Rückenmarks. Die graue Substanz präsentiert sich mit einem dichtem Axongehalt und zahlreichen Neuronen des Ncl. motorius lateralis und Ncl. motorius medialis.



Abb 62. GZ 104-89, Vergr 2x0,08
Bielschowsky-Imprägnierung. Übersicht eines thorakalen Rückenmarksquerschnitts. Axonale Lichtung besonders der grauen Substanz am Übergang zur weißen Substanz, Verlust zentral gelegener Axone.

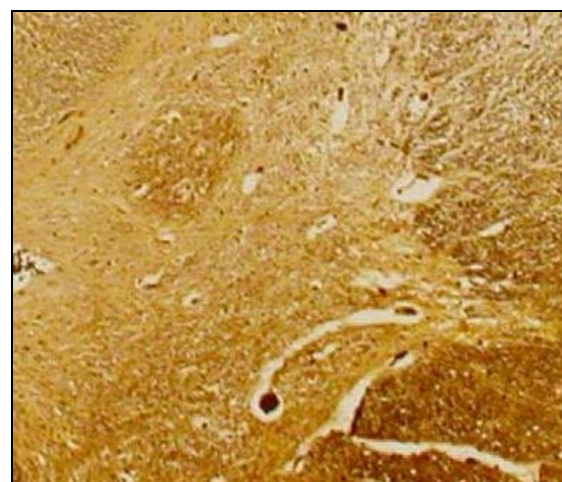


Abb 63. GZ 104 -89, Ausschnitt
Bielschowsky-Imprägnierung. Axonaler Verlust in der zentralen grauen Substanz und im Bereich der Laminae IV und V am Übergang zur weißen Substanz.

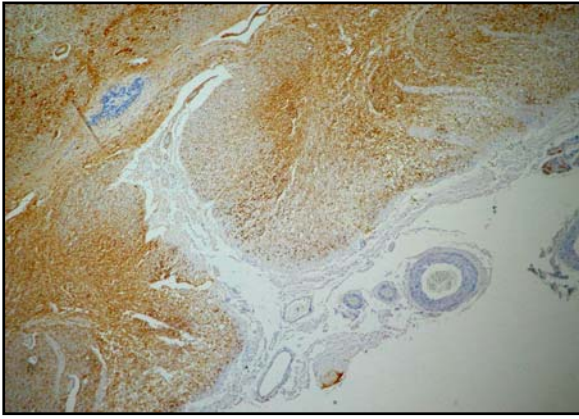


Abb 64. GZ 399-82, Vergr. 4x0,13
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung des Axonverlustes im Areal des Vorderstranges mit bandförmiger Betroffenheit des subpialen Bereichs.

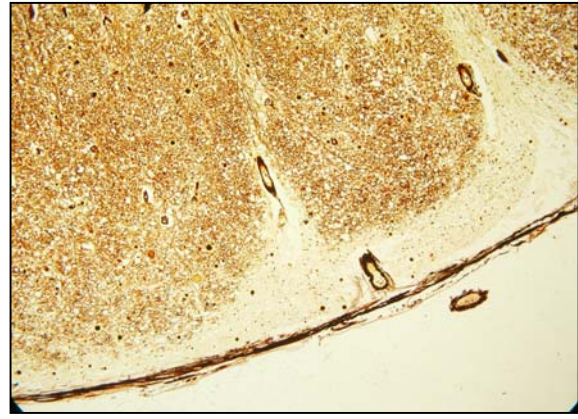


Abb 65. GZ 304-83, Vergr. 4x0,13
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung des Axonverlustes im Areal des Hinterstranges mit bandförmiger Betroffenheit des subpialen Bereichs.

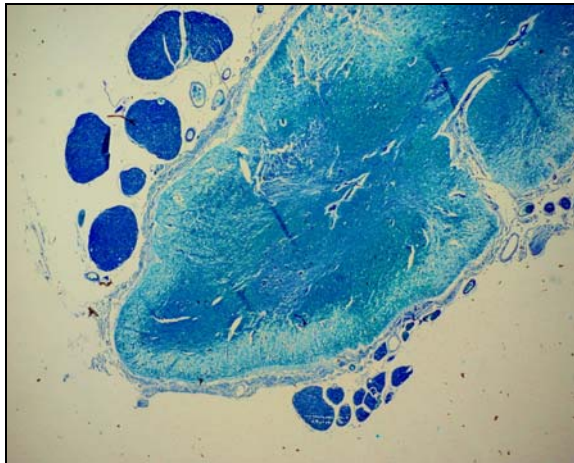


Abb 66. GZ 399-82, Vergr. 2x0,08
LFB-PAS Färbung. Darstellung eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts. Die subpiale Region erscheint bandförmig demyelinisiert und findet gleiche Entsprechung wie die Axonpathologie für diesen Bereich.

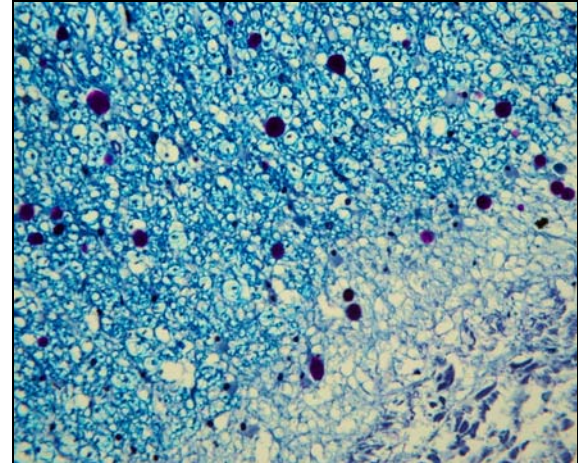


Abb 67. GZ 19-80, Vergr. 40x0,75
LFB-PAS-Färbung. Bandförmig demyelinisiert präsentiert sich der subpiale Bereich eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts. Auffallend sind zahlreiche Corpora amylacea.

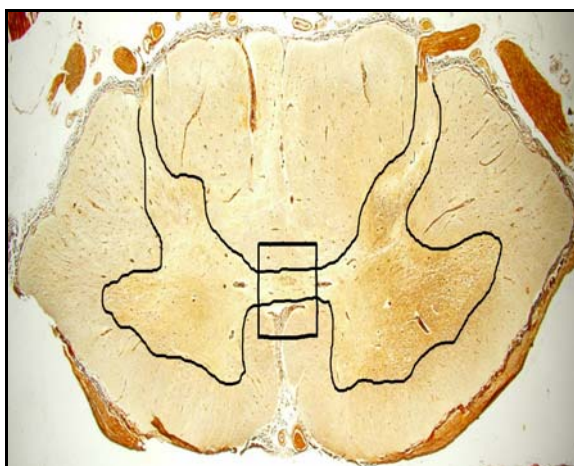


Abb 68. GZ 51-00, Vergr. 1,25x0,04
Bielschowsky – Imprägnierung. Darstellung einer Übersichtsaufnahme des cervikalen Rückenmarks auf der Höhe von C6 mit auffallender Lichtung der medialen Anteile der Vorderhörner, sowie der Commissura anterior.

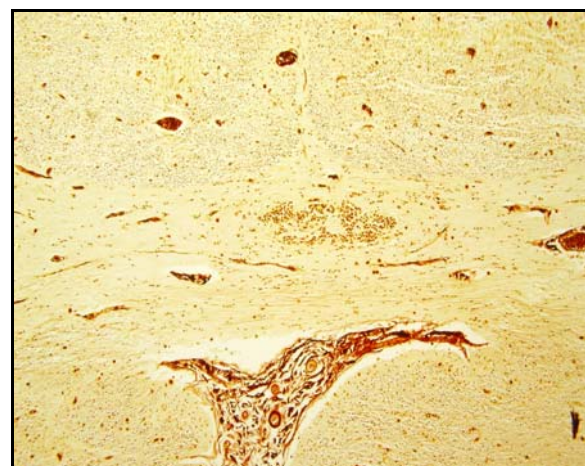


Abb 69. GZ 51-00, Ausschnitt
Bielschowsky – Imprägnierung. Darstellung einer Übersichtsaufnahme des cervikalen Rückenmarks auf der Höhe von C6 mit auffallender axonaler Lichtung der medialen Anteile der Vorderhörner, sowie der Commissura anterior.

Der Cortikospinaltrakt imponiert durch seine massive, bereits makroskopisch erkennbare Demyelinisierung, welche durch einen massiven Axonverlust verursacht wird. Bereits in der HE-Übersicht lässt sich eine Entmarkung beobachten, während die Bielschowsky-Imprägnierung die massive axonale Schädigung in ca. 90% der Fälle offenbart. In den meisten Präparaten zeigt sich eine beidseitige Betroffenheit des Cortikospinaltrakts, wobei sich das Ausmaß der Demyelinisierung und die Quantität des Axonverlust innerhalb eines Schnittes heterogen und unterschiedlich präsentieren können. Besonders auffällig ist diese Erscheinung für die cervikalen Höhen des Rückenmarks, während die thorakalen und lumbalen Ebenen milder involviert erscheinen. Die Pathologie des Cortikospinaltrakts nimmt nicht nur weite Bereiche der weißen Substanz ein. Keilförmig stellt sich eine auslaufende und ausbreitende Demyelinisierung auch der angrenzenden grauen Substanz dar. In einigen Fällen lässt sich gerade in diesen Grenzzonen ein relativer Verlust von Axonen detektieren. Die beschriebenen Veränderungen sind ein Korrelat chronischer Prozesse, wobei frische Axonunterbrechungen mittels APP-Darstellung nicht beobachtbar sind. Die Pathologie des Cortikospinaltrakts der MS Patienten lässt sich auf Plaques in Großhirn und Hirnstamm zurückführen, welche in ihrer Folge eine Axondissektion und Waller'sche Degeneration bedingen. Davon betroffen sind am häufigsten die Pyramidenbahn bzw. der Cortikospinaltrakt (Abb. 56). Die strukturellen Veränderungen des Gehirns haben in dieser Arbeit jedoch keinen Eingang gefunden, so dass korrelierende Bildgebung und die Pathologie des Großhirns einer anschließenden histologischen Analyse bedürfen. Die Ursache der Degeneration der absteigenden Bahnen ist im Gehirn zu suchen, während die Strangdegenerationen der aufsteigenden Bahnen nicht multiple Sklerose spezifisch sind.

Während der lichtmikroskopischen Untersuchung der grauen Substanz des Rückenmarks fällt in der SMI-32 Darstellung eine starke Anfärbung der Neurone auf, welche durch ein unterschiedliches Ausmaß in den einzelnen Präparaten bestimmt ist. In einigen Fällen ist eine positive Darstellung einzelner neuronaler Zellen möglich, während andere wiederum unmarkiert bleiben. In der grauen Substanz des spinalen Marks zeigen sich im Falle SMI-32-positiver Neurone ebenfalls dephosphorylierte Axone, die entweder um die neuronale Zelle auffindbar sind oder auch die ganze graue Substanz langstreckig durchziehen (Abb. 63 bis 66).

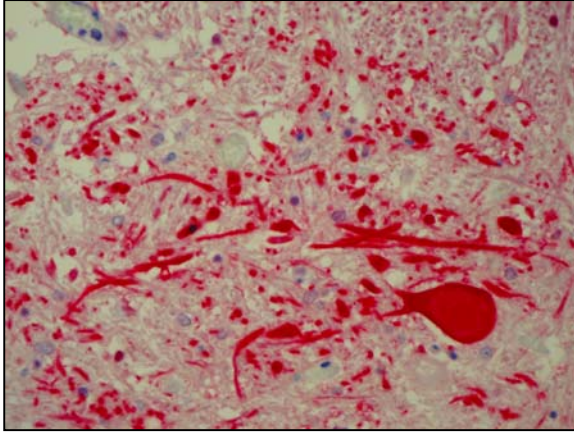


Abb 70. GZ 304-83, Vergr. 40x0,75
SMI32 Darstellung. SMI32 markiertes Neuron des ventralen Vorderhorns mit umliegenden dephosphorylierten Axonen.

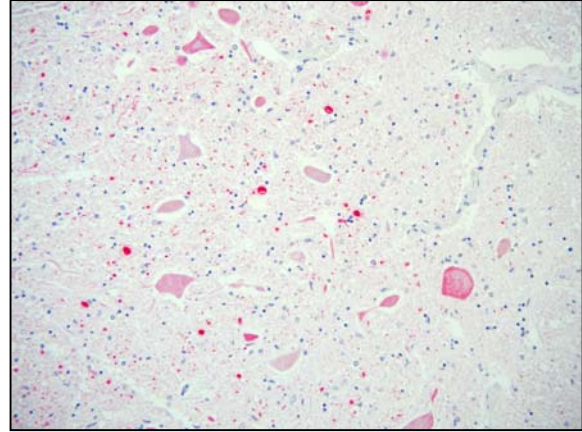


Abb 71. GZ 104-89, Vergr. 20x0,5
SMI32 Darstellung. SMI32-markierte Neurone des ventralen Vorderhorns mit vereinzelt dephosphorylierten Axonen in der Umgebung.

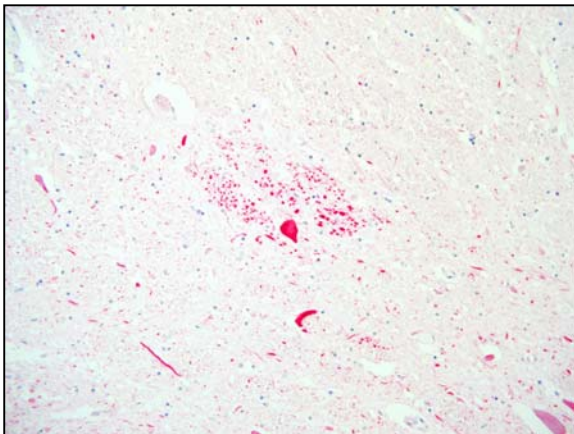


Abb 72. GZ 304-83, Vergr. 10x0,5
SMI32 Darstellung. SMI32-markiertes Neuron des ventralen Vorderhorns mit dephosphorylierter Axongruppierung in der Umgebung.

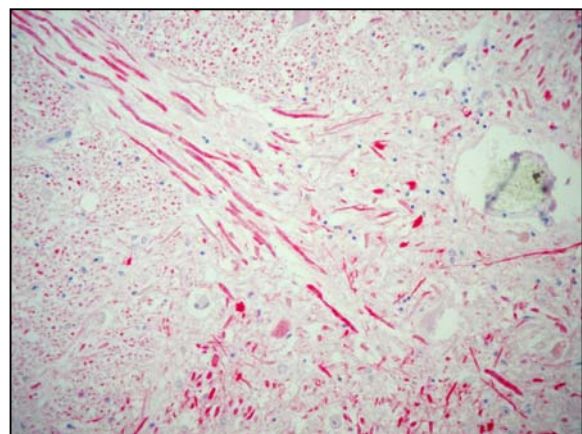


Abb 73. GZ 304-83, Vergr. 20x0,5
SMI32 Darstellung. SMI32--markierte Axone in der grauen Substanz zum Übergang der Comissura anterior.

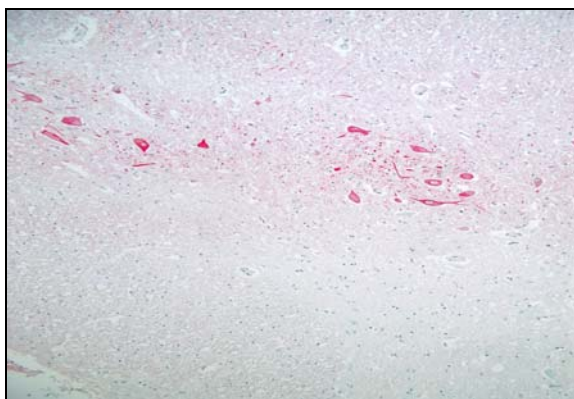


Abb 74. GZ 164-89, Vergr. 40x0,75
SMI32 Darstellung. SMI32 markierte Neurone des ventralen Vorderhorns. Einige Neurone präsentieren sich SMI32-unmarkiert.

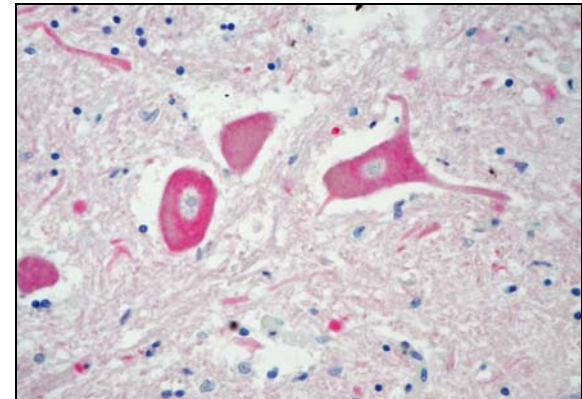


Abb 75. GZ 304-83, Vergr. 10x0,3
SMI32 Darstellung. SMI32 markierte Neurone des ventralen Vorderhorns umgeben von vereinzelt dephosphorylierten Axonen der grauen Substanz.

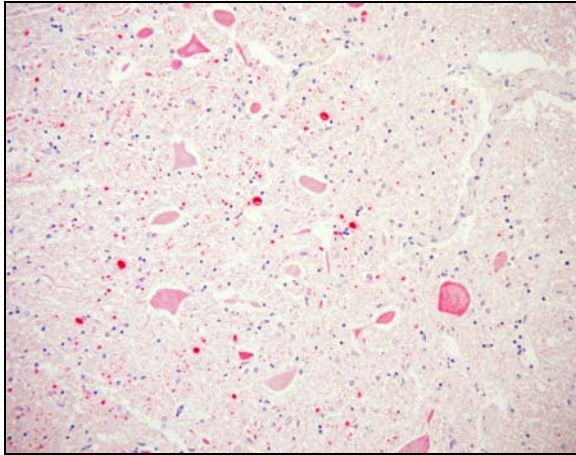


Abb 76. GZ 104-89, Vergr. 20x0,5
SMI32-Markierung. Darstellung SMI32- positiver Neurone in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks, vereinzelt auffindbare dephosphorylierte Axone.

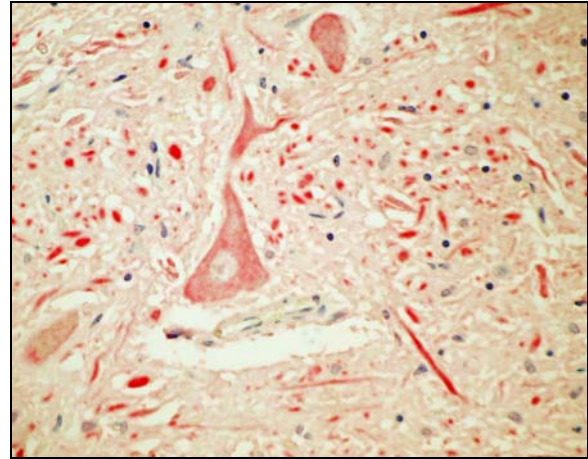


Abb 77. GZ 836-88, Vergr. 20x0,5
SMI32-Markierung. Darstellung SMI32-positiver Neurone in der grauen Substanz umrahmt von zahlreichen dephosphorylierten Axonen in der grauen Substanz eines cervikalen Rückenmarksquerschnitts.

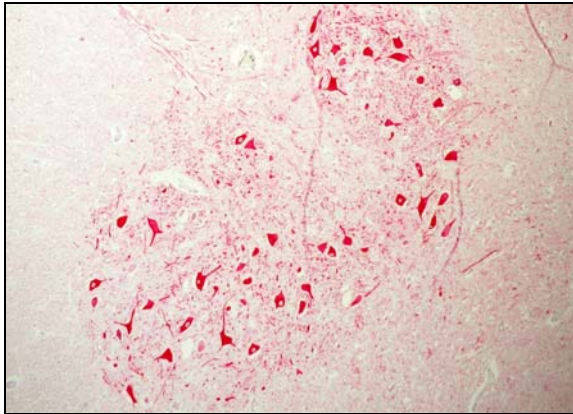


Abb 78. GZ 304-83, Vergr. 10x0,5
SMI32-Markierung. Darstellung eines lumbalen Vorderhorns. Zahlreiche positive neuronale Zellen umgeben von dephosphorylierten Axonen in der grauen Substanz.

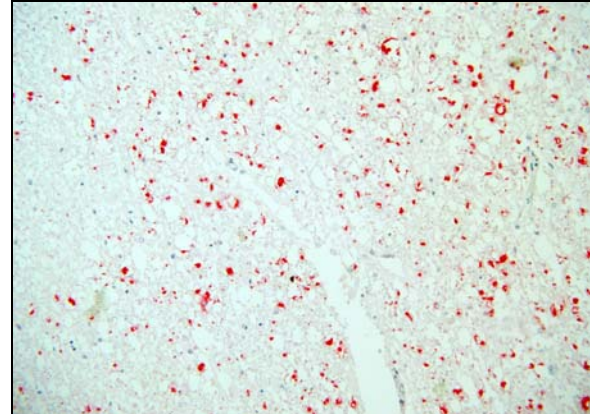


Abb 79. GZ 304-83, Vergr. 20x0,5
SMI32-Markierung. Darstellung zahlreicher dephosphorylierten Axone im Vorderstrang der weißen Substanz einer cervikalen Rückenmarksebene.

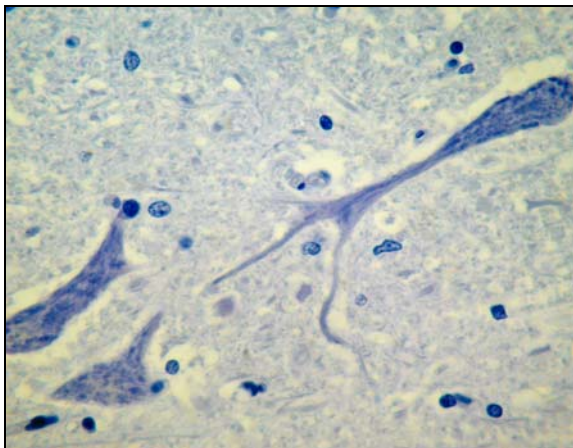


Abb 80. Kontrollschnitt GZ 262-75, Vergr. 40x0,75
SMI32-Markierung. Darstellung neuronaler Zellen eines cervikalen Vorderhorns. Das Neuron ist SMI32-negativ.

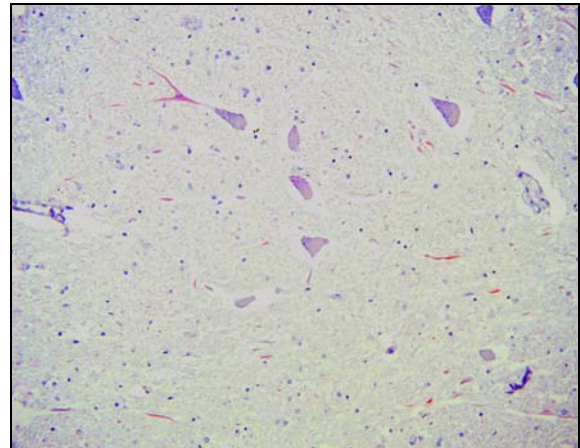


Abb 81. Kontrollschnitt GZ 349-75; Vergr. 10x0,3
SMI32 Markierung. Darstellung neuronaler Zellen in der grauen Substanz eines cervikalen Vorderhorns.

Die beeindruckende Demyelinisierung der weißen Substanz vieler MS Schnitte ist in erster Linie auf die Auswahl der zugeschnittenen Höhen während der Sektion zurückzuführen. Es zeigt sich ein relativer Verlust von Axonen. Je nach Alter der Plaques kann eine reduzierte axonale Dichte festgestellt werden, beeinflusst durch das Ausmaß und die jeweilige Lokalisation der Läsion.

Frische, durch APP markierte axonale Auftreibungen sind nur in wenigen Schnitten auffindbar und in Randzonen bestehender MS Läsionen zu beobachten. Von einer axonalen Degeneration scheinen vor allem dünnkalibrige Axonen der grauen und weißen Substanz betroffen zu sein. Diese weisen ebenso Veränderungen in ihrem Phosphorylierungsstatus auf. Dephosphorylierte Axone treten vornehmlich vereinzelt in der normal erscheinenden weißen Substanz oder in einigen Fällen innerhalb verschiedener Fasertrakte gruppenförmig auf (Abb. 79).

Veränderungen im Phosphorylierungsstatus scheinen gehäuft in der Grenzzone zwischen weißer und grauer Substanz auffindbar (Abb. 73). In diesem Bereich sind dephosphorylierte, aus der grauen Substanz ziehende Axone zu beobachten. Dephosphorylierte Axone sind ein Phänomen der grauen Substanz und in unmittelbarer Umgebung degenerierender Neurone detektierbar. Vornehmlich in der Randzone chronischer Läsionen der grauen Substanz können dephosphorylierte Veränderungen der Axonen auch losgelöst jeglicher Plaquemorphologie disseminiert in der grauen Substanz des Rückenmarks in Erscheinung treten. Zur Präsentation des axonalen Phosphorylierungsstatus akuter MS Herde kann keine Aussage getroffen werden.

Die Dephosphorylierung von Axonen präsentiert sich ohne Nachweis einer inflammatorischen Reaktion. Dephosphorylierung in Zusammenhang mit frischen APP positive axonale Unterbrechungen können nicht dargestellt werden.

4.3. Neurone und die Inflammationsreaktion

Für die Untersuchung der neuronalen Degeneration im spinalen Rückenmark von multiple Sklerose Patienten stand hauptsächlich Rückenmarksmaterial von Patienten mit chronischem Verlauf zur Verfügung. Das Rückenmark zeichnet sich durch zahlreiche alte, ausgebrannte, chronische Plaques und nur vereinzelt chronisch aktive Herde aus. Ca. 80% der Fälle der Rückenmarkquerschnitte imponieren durch eine fehlende oder nur sehr mild ausgeprägte Mikrogliareaktion. In ausgebrannten Läsionen des spinalen Marks lassen sich keinerlei Entzündungszellen nachweisen. Im Rahmen chronisch aktiver Plaques jedoch zeigen sich CD68 positive Zellen, besonders im Randbereich des betroffenen Herdes. Hier scheint das Ausmaß des Entmarkungsprozesses mit der Aktivität mikroglialer Zellen einherzugehen. Kommt es nun zu einer massiven Reaktion mikroglialer Prozesse, so betrifft dies nicht nur die weiße, sondern auch Anteile der grauen Substanz. Die mikrogliale Aktivierung in der weißen Substanz scheint die der grauen jedoch zu übertreffen. Im Rahmen einer mikroglialen Aktivierung in der grauen Substanz zeichnen sich diese durch eine beinahe ubiquitäre Darstellung CD68 positiver Zellen aus. In diesen Schnitten scheinen die Neurone vorerst gegenüber denen anderer MS Fälle relativ in ihrer Anzahl und Morphologie erhalten. Es zeigt sich eine enge Beziehung zwischen Mikroglia und Neuronen. Mikrogliazellen lassen sich in unmittelbarer Nähe neuronaler Zellen nachweisen, während jedoch nicht alle Neurone in einer gleichen Relation zu diesen stehen. Ebenso zeigt sich hierbei eine andersartige Darstellung innerhalb der unterschiedlichen Querschnittshöhen des Rückenmarks bei ein und demselben Patienten. Der Prozess der Mikroglia-Neuron-Interaktion scheint somit regional begrenzt und von supportiven Faktoren des umliegenden Gewebes abhängig zu sein. In Bereichen und Höhen stattgehabter neuronaler Degeneration, welche durch einen Neuronverlust gekennzeichnet sind, lassen sich keinerlei mikrogliale Zellen nachweisen. Auch in Regionen abgelaufener Demyelinisierungsreaktion sind keine CD68 positiven Zellen detektierbar. Dagegen zeichnen sich ablaufende Axontranssektionen durch die vereinzelt auffindbaren mikroglialen Zellen im Bereich der axonalen Unterbrechung aus. Eine räumliche Assoziation zwischen den beiden Prozessen kann nicht beschrieben werden. In der Betrachtung der einzelnen Höhen des Rückenmarks imponieren die cervikalen Höhen durch eine verhältnismäßig häufigere Beteiligung an einer Mikrogliareaktion. .

4.4. Gliose

Vergleicht man die Gliose in den Bereichen des spinalen Marks, so ist diese durch eine weitaus zurückhaltendere Ausprägung in der grauen gegenüber der weißen Substanz bestimmt. Die nur sehr milde Ausprägung von GFAP-positiven Astrocyten in der grauen Substanz kann einen eventuellen Hinweis auf den apoptotischen neuronalen Zelltod geben (Abb. 84).

Die reaktive Gliose in Form von Vermehrung faserbildender Astrocyten ist eine typische und charakteristische Reaktion auf Entmarkung. Astrocyten reagieren jedoch auch auf Hypoxie und Cytokinexposition mit der Produktion intracytoplasmatischer GFAP-positiver Fasern.

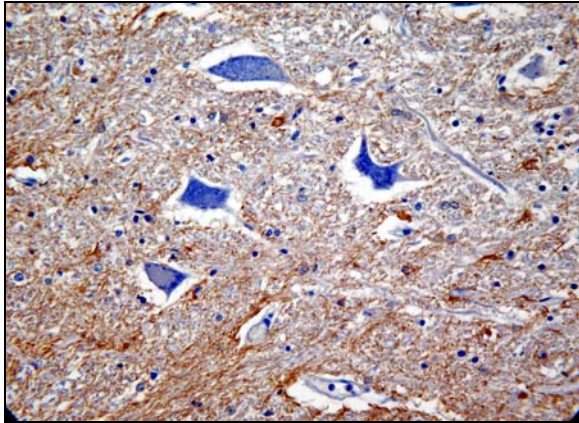


Abb 82. GZ 390-85, Vergr. 40x0,75
GFAP-Markierung. Darstellung der Astrocyten in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Astrocyten verteilen sich um die Neurone des spinalen Vorderhorns.

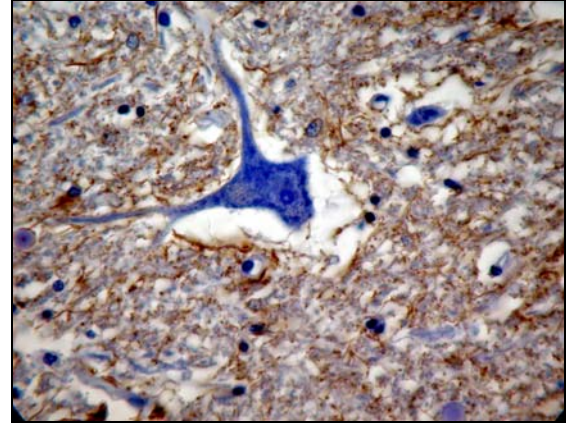


Abb 83. GZ 390-85, Vergr. 40x0,75x2
GFAP-Markierung. Darstellung der Astrocyten in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Astrocyten verteilen sich um ein Neuron des spinalen Vorderhorns.

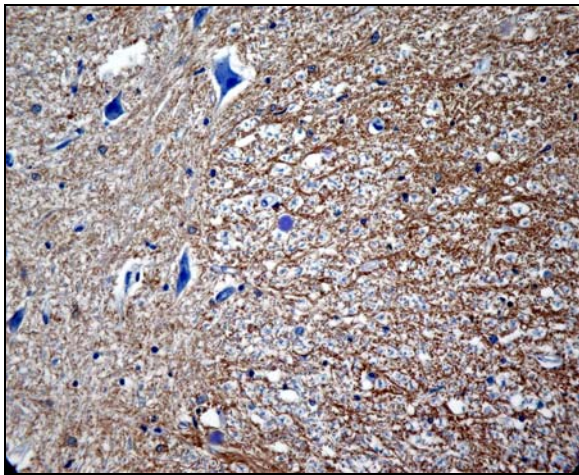


Abb 84. GZ 164-89, Vergr. 20x0,5
GFAP-Markierung. Darstellung der Astrocyten in der grauen und weißen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Die weiße Substanz imponiert durch verstärkte Astrocytendarstellung.



Abb 85. GZ 304-83, Vergr. 10x0,3
GFAP-Markierung. Darstellung der Astrocyten der grauen und weißen Substanz im cervikalen Rückenmark. Im Bereich des Hinterstranges zeichnet sich an der Grenze zwischen den Substanzen ein Astrocytenwall ab.

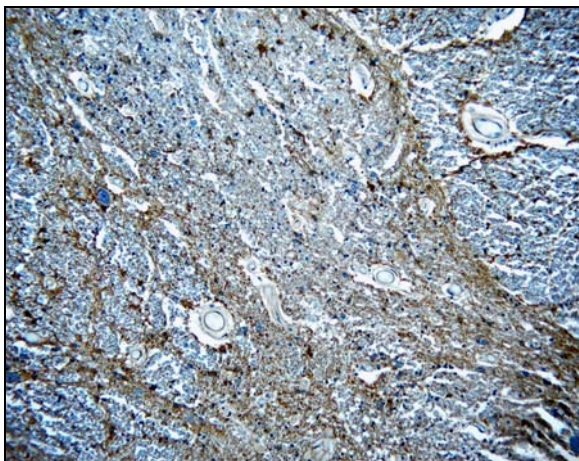


Abb 86. GZ 262-87, Vergr. 20x0,5
GFAP-Markierung. Darstellung der GFAP-Markierung in der grauen Substanz eines cervikalen Rückenmarkerschnitts. Eine reaktive Astrogliose innerhalb der grauen Substanz ist erkennbar.

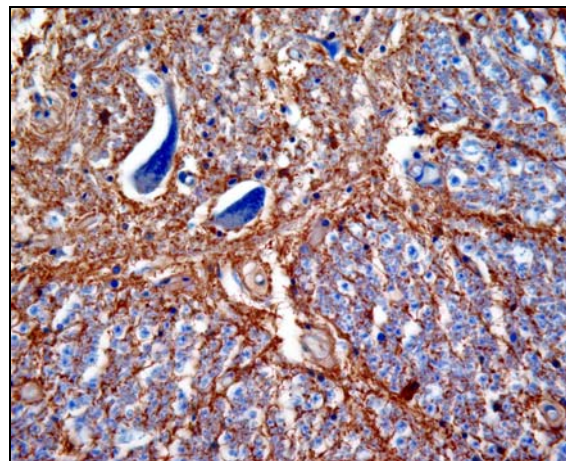


Abb 87. GZ 262-87, Vergr. 20x0,5
GFAP-Markierung. Darstellung der GFAP-Markierung in der grauen Substanz eines cervikalen Rückenmarkerschnitts, reaktive Astrogliose mit deutlicher GFAP-Markierung in der grauen Substanz.

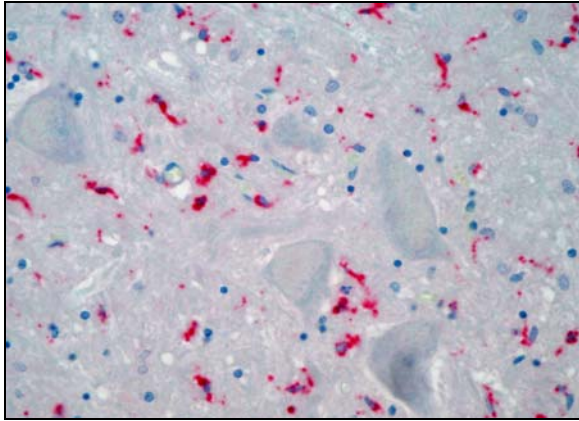


Abb 88. GZ 399-82, Vergr. 40x0,75
CD68-Markierung. Darstellung der Mikrogliaaktivierung in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Zahlreiche Mikrogliazellen sind um Neurone des Vorderhorns beobachtbar.

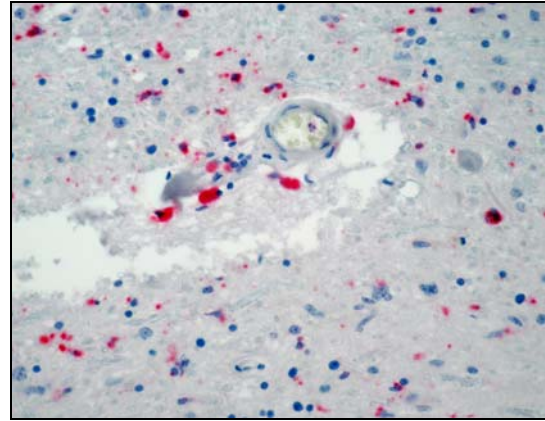


Abb 89. GZ 399-82, Vergr. 40x0,75
CD68-Markierung. Darstellung der Mikrogliaaktivierung in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Aktivierte mikrogliale Zellen lagern sich um ein Gefäß des zentralen Graus.

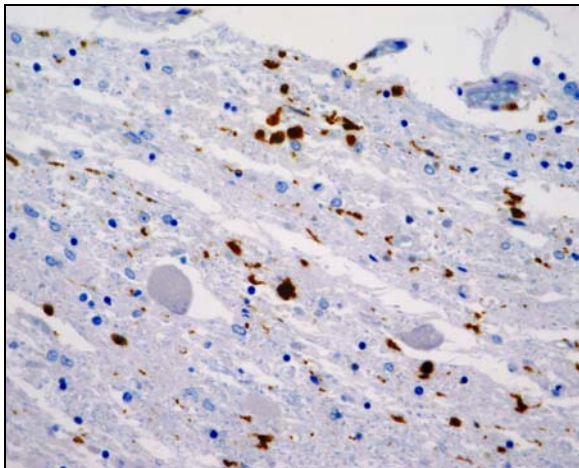


Abb 90. GZ 673-94, Vergr. 40x0,75
CD68-Markierung. Darstellung Mikrogliaaktivierung der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Mikroglia verteilt sich um die Neurone des zentralen Graus.

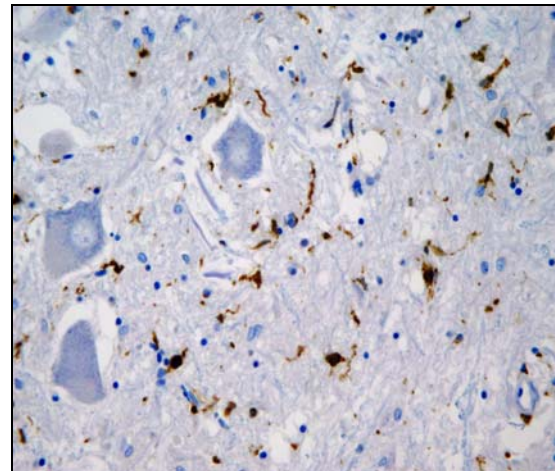


Abb 91. GZ 673-94, Vergr. 40x0,75
CD68-Markierung. Darstellung Mikrogliaaktivierung der grauen Substanz im cervikalen Rückenmark. Mikrogliazellen sind um Motoneurone des Vorderhorns gelegen.

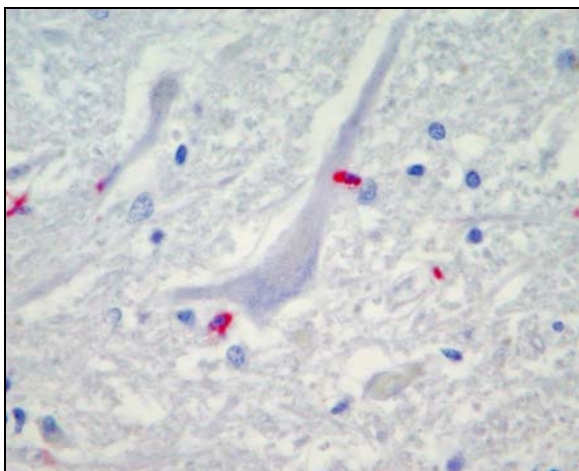


Abb 92. GZ 673-94, Vergr. 40x0,75
CD68-Markierung. Darstellung Mikrogliaaktivierung der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Mikrogliazellen umlagern ein Neuron des Vorderhorns.

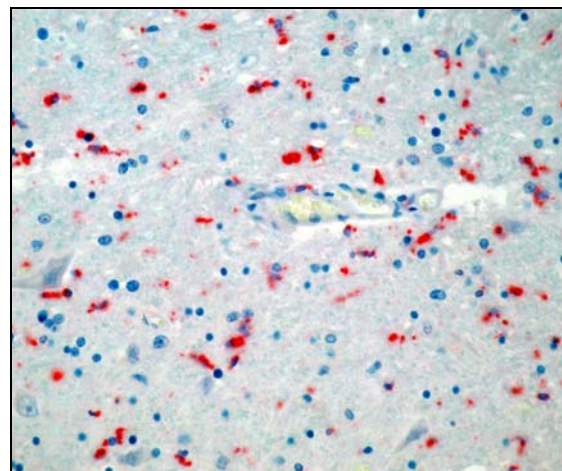


Abb 93. GZ 399-82, Vergr. 40x0,75
CD68-Markierung. Darstellung der Mikrogliaaktivierung in der weißen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Mikrogliazellen sind um Gefäße gelagert.

4.5. Gefäße

In der Mikroskopie des Rückenmarks der multiple Sklerose Patienten fällt die Darstellung multipler prominenter Gefäße auf. Dies betrifft die graue und die weiße Substanz. In der Betrachtung der Gesamtheit aller Rückenmarksquerschnitte der MS Erkrankten lässt sich keine besondere Betroffenheit eines Rückenmarksabschnittes benennen. Eine Differenzierung zwischen den einzelnen Höhen des Rückenmarks ist nicht möglich, auffällig allein ist das häufigere Auftreten von Gefäßquerschnitten im Bereich des cervikalen Rückenmarks.

Im Vergleich zu Kontrollpatienten zeichnen sich die Gefäße bei MS Erkrankten durch eine verdickte Gefäßwand aus. Eine positive Korrelation zum Alter der Patienten bzw. zur Dauer und zum Stadium ihrer MS Erkrankung kann nicht gefunden werden. Besonders intraspinale Venen zeigen verdickte Wände. Dies ist möglicherweise als Folge der Entzündungsreaktion aufzufassen. Das Sterbealter allein erklärt die Gefäßpathologie nicht.

Es besteht keine eindeutige Verbindung zwischen der beschriebenen Gefäßpathologie und den Mustern der neuronalen Schädigung beziehungsweise einer Korrelation zur Art der Demyelinisierung. Hierbei darf jedoch betont werden, dass in Präparaten mit einer verstärkten Gefäßzeichnung der grauen Substanz des Rückenmarks ebenfalls eine Reduzierung neuronaler Zellen ersichtlich ist sowie Demyelinisierungsherde der grauen Substanz sich an dem Verlauf von Gefäßen orientieren.

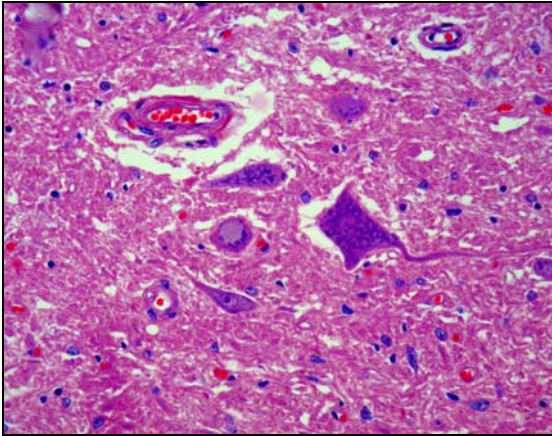


Abb 94. GZ 399-82, Vergr. 40x0,75
HE-Färbung. Darstellung prominenter Gefäße in der grauen Substanz des cervicalen Rückenmarks. Darstellung um Gefäß befindlicher, unterschiedlich großer neuronaler Zellen.

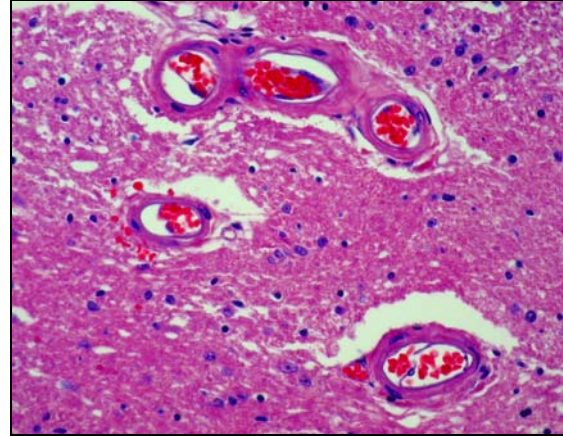


Abb 95. GZ 399-82, Vergr. 40x0,75
HE-Färbung. Darstellung mehrerer prominenter Gefäße in der grauen Substanz des cervicalen Rückenmarks. Die Gefäßwände erscheinen verdickt.

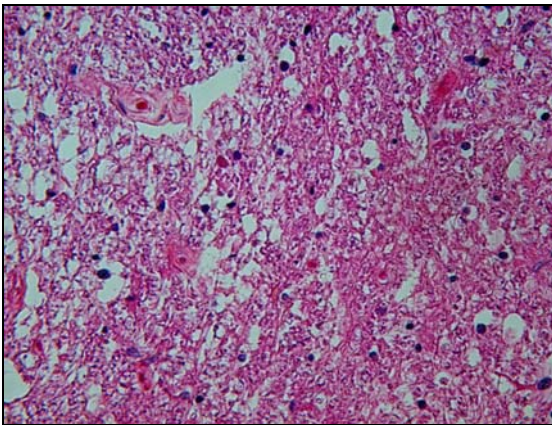


Abb 96. GZ 399-82, Vergr. 20x0,5
HE-Färbung. Gefäße in der weißen Substanz des cervicalen Rückenmarks. Die Gefäßwände erscheinen verdickt, die weiße Substanz ist von Entmarkung und Zellverlust betroffen.

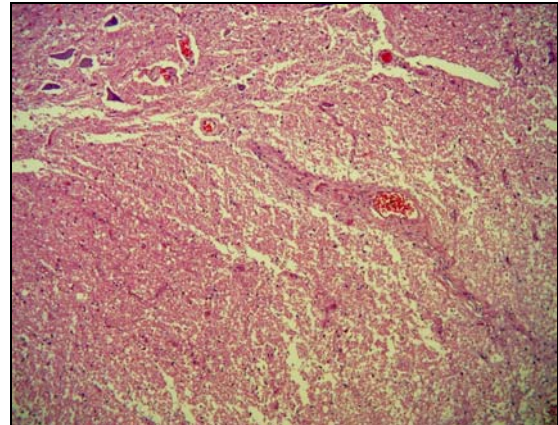


Abb 97. GZ 673-94, Vergr. 10x0,3
HE-Färbung. Gefäße in der grauen und weißen Substanz des cervicalen Rückenmarks. Die Gefäßwände erscheinen verdickt. Darstellung kleinerer, in der Nähe von Gefäßen auffindbarer neuronaler Zellen.

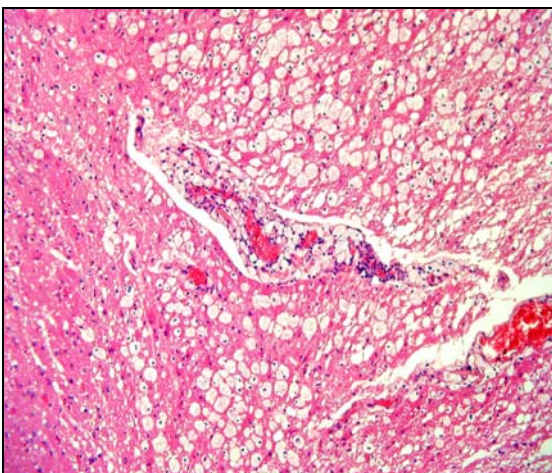


Abb 98. GZ 20-87, Vergr. 20x0,5x2
HE-Färbung. Prominentes Gefäß in der weißen Substanz des cervicalen Rückenmarks. Die Gefäßwände erscheinen verdickt und von Schaumzellen infiltriert. Entmarkung der weißen Substanz.

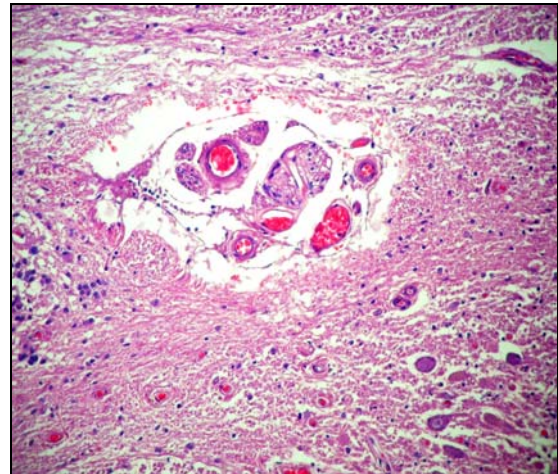


Abb 99. GZ 362-87, Vergr. 20x0,5
HE-Färbung. Prominente Gefäße in der grauen Substanz des cervicalen Rückenmarks. Konglomerat von Gefäßen mit verdickten Gefäßwänden. Das angrenzende Gewebe wirkt zellverarmt.

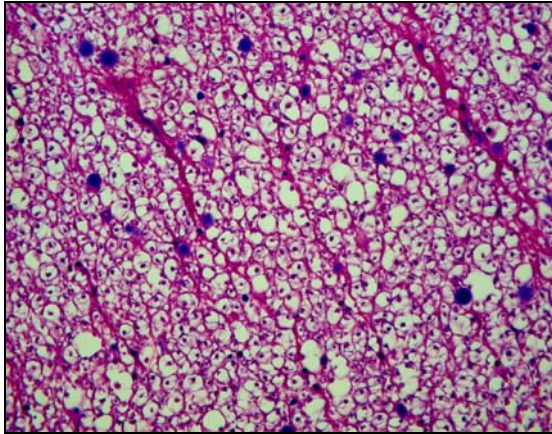


Abb 100. GZ 19-80, Vergr. 40x0,75
HE-Färbung. Darstellung zahlreicher Gefäße in der weißen Substanz des thorakalen Rückenmarks. Die Anzahl der Gefäße erscheint vermehrt.

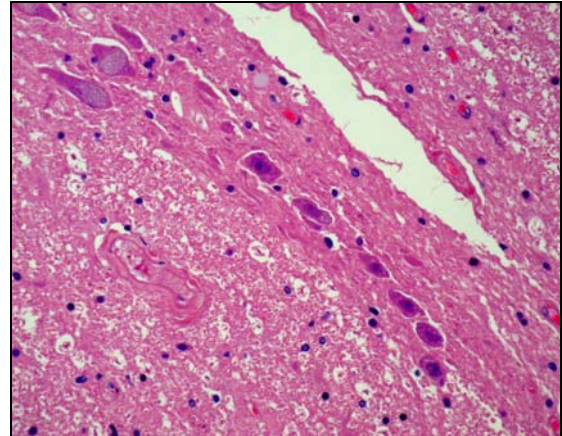


Abb 101. GZ 104-83, Vergr. 40x0,75
HE-Färbung. Darstellung eines prominenten Gefäßes in der weißen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Die Gefäßwände erscheinen verdickt. In der grauen Substanz imponieren bandförmig angeordnete Neurone.

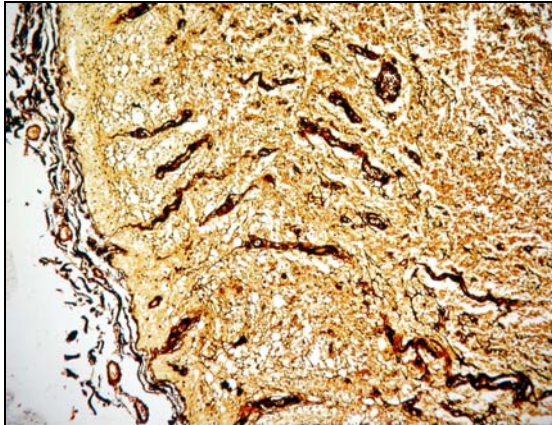


Abb 102. GZ 673-94, Vergr. 10x0,3
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung mehrerer prominenter Gefäße in der weißen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Die Gefäße scheinen in ihrer Anzahl vermehrt, das umliegende Gewebe ist von einer Entmarkung und einem Substanzverlust betroffen.

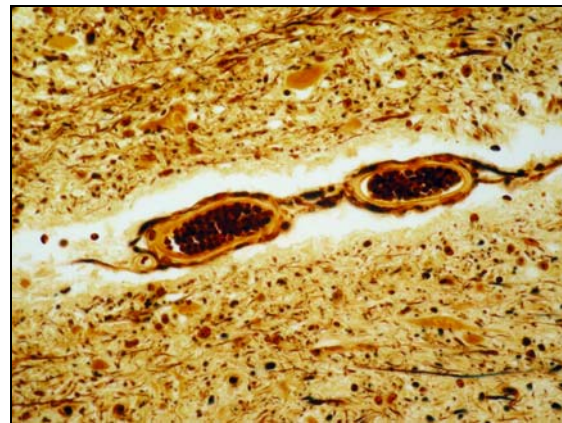


Abb 103. GZ 399-82; Vergr. 40x0,75
Bielschowsky-Imprägnierung. Darstellung zweier dickwandiger Gefäße in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Das umliegende Gewebe erscheint entmarkt und von einem Axonverlust betroffen.

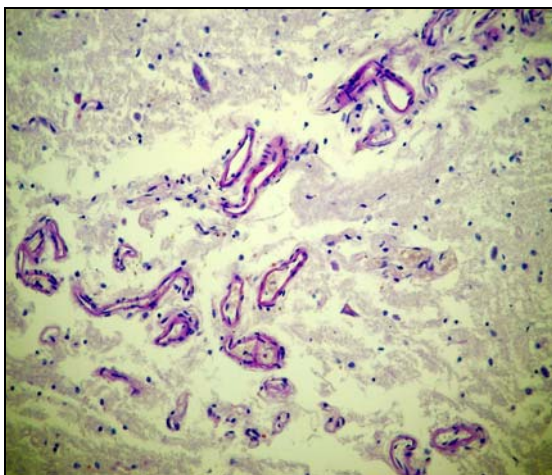


Abb 104. GZ 673-94, Vergr. 20x0,5
LFB-PAS-Markierung. Darstellung zahlreicher prominenter Gefäße in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Das umliegende Gewebe weist einen relativen Zellverlust auf.

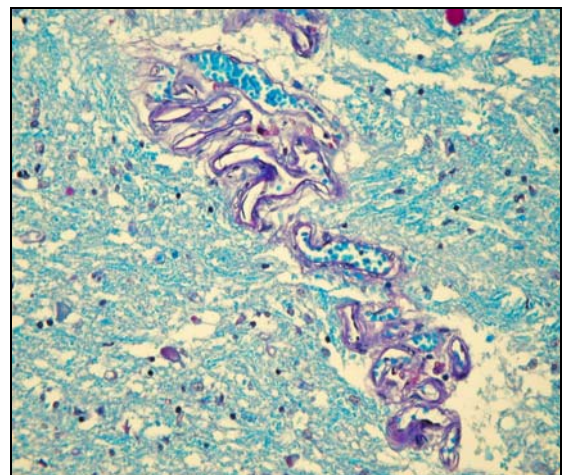


Abb 105. GZ 104-89, Vergr. 40x0,75
LFB-PAS-Markierung. Darstellung mehrerer prominenter Gefäße in der grauen Substanz des cervikalen Rückenmarks. Die Gefäße erscheinen vermehrt, die umgebende graue Substanz demyelinisiert.

4.6. Quantifizierung von Neuronen im Rückenmark

Ergebnisse für die Quantifikation von Neuronen im cervikalen Rückenmark

Die Quantifikation neuronaler Zellen des cervikalen Rückenmarks konnte in 47 Fällen durchgeführt werden. Dieses Kollektiv setzte sich aus 22 multiple Sklerose Erkrankten und 25 Kontrollpatienten zusammen. Die Gruppe der MS Patienten besteht aus 16 Frauen und 8 Männern, während die Gruppe der Kontrollen aus 6 Frauen und 12 Männern gebildet wird. Das durchschnittliche Alter bei Tod der Patienten lag für die MS Erkrankten bei 56,4 und für die Kontrollen bei 56,7 Jahren.

Die Paraffinschnitte der 22 MS Patienten und der 25 Kontrollfälle werden entsprechend ihrer Neuroanatomie den Ebenen von C2 bis C8 zugeordnet und Neuron-quantifiziert. Dies erfolgt wie bereits beschrieben per Auszählung eingeteilter Quadranten am Lichtmikroskop. Es besteht die Möglichkeit, dass für einige der rekrutierten Fälle mehrere Niveaus des cervikalen Rückenmarks vorhanden und zuordbar sind, während bei anderen Patienten wiederum nur einzelne Höhen lokalisierbar erscheinen. Jeder Fall weist in Folge seiner Präparation eine unterschiedliche Anzahl und Verteilung der histologischen Schnitte auf. Der Ebene von C1 konnte präparationsbedingt keine Parafinschnitte zugeordnet werden. Für die thorakale Höhe des Rückenmarks liegen nur wenige Schnitte vor, so dass hier auf eine differenzierte Zuordnung der einzelnen Präparate auf ihrer spezifische Höhe verzichtet wurde. Die statistische Auswertung der gesammelten Daten erfolgte mittels SPSS Version 10.0.

Für das cervikale Rückenmark der MS Patienten zeigt sich im Vergleich zu den Kontrollfällen ein Verlust von 42,7% der neuronalen Zellen, während das thorakale Rückenmark eine Reduktion von 47,3% der Neurone aufweist.

Die größte Anzahl untersuchter Präparate für die MS Patienten liegt mit 14 Schnitten bei C6, während die Kontrollen mit 12 Schnitten bei C7 am häufigsten vertreten sind. Das Minimum an vorhandenen Schnitten ist mit drei Präparaten bei C2 für die MS Erkrankten und mit zwei Gewebeschnitten bei C3 für das Kontrollkollektiv präsent.

Die größte Dichte neuronaler Zellen imponiert für die MS Patienten mit durchschnittlich 23,2 neuronaler Zellen auf dem Niveau von C6. Für die Kontrollfälle sind die meisten Neurone mit durchschnittlich 37,1 Zellen bei C8 vorhanden.

Ebene des cervikalen Rückenmarks		Anzahl der Fälle (N)	Mittelwerte	Standardabweichung	Signifikanz
C2	MS	3	20,1	± 06,2	≤ 0,01
	Kontrollen	4	35,2	± 12,6	≤ 0,01
C3	MS	8	19,5	± 07,8	≤ 0,01
	Kontrollen	2	35,5	± 12,5	≤ 0,01
C4	MS	10	18,6	± 07,2	≤ 0,01
	Kontrollen	7	35,5	± 12,9	≤ 0,01
C5	MS	9	20,1	± 05,9	≤ 0,01
	Kontrollen	7	36,8	± 12,5	≤ 0,01
C6	MS	14	23,2	± 08,2	≤ 0,05
	Kontrollen	4	35,0	± 13,4	≤ 0,05
C7	MS	7	21,2	± 05,9	≤ 0,01
	Kontrollen	12	35,9	± 12,1	≤ 0,01
C8	MS	6	21,0	± 07,0	≤ 0,01
	Kontrollen	5	37,1	± 12,6	≤ 0,01
Cervikales Rückenmark Neuronquantifikation gesamt					
MS		22	20,5	± 05,7	≤ 0,01
Kontrollen		25	35,8	± 11,6	≤ 0,01
Thorakales Rückenmark Neuronquantifikation gesamt					
MS		11	10,3	± 04,5	≤ 0,05
Kontrollen		9	19,6	± 06,0	≤ 0,05

Tab 4. Die Tabelle stellt die cervikalen Ebenen des Rückenmarks von C2 bis C8 dar und fasst die Ergebnisse der neuronalen Quantifikation für das cervikale und thorakale Rückenmark zusammen. Die Tabelle gliedert sich nach MS und Kontroll-Patienten und differenziert nach Anzahl der zugehörigen Fälle, Mittelwerte der jeweils in dieser Ebene quantifizierten Anzahl der Neurone, ihrer statistischen Standardabweichung und der ermittelten Signifikanz der Ergebnisse.

Auswertung der durchschnittlichen Neuronverteilung der cervikalen Rückenmarksebenen

Mittelwerte für die Neuronquantifikation im cervicalen Rückenmark

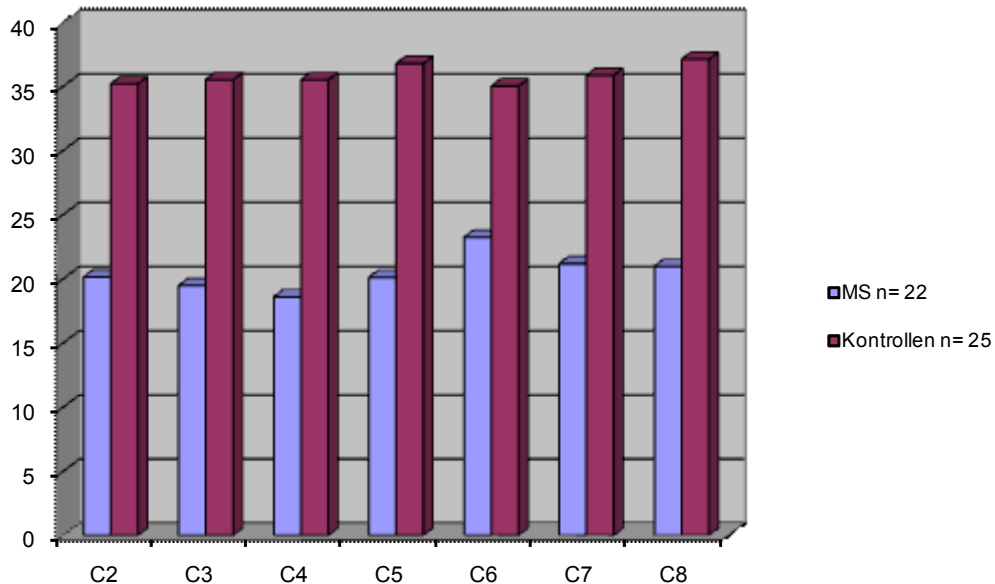


Abb 106. Grafische Darstellung der Mittelwerte der Neuronquantifikation für die cervikalen Höhen von C2 bis C8 des Rückenmarks der untersuchten MS Patienten. Die niedrigste neuronale Dichte der MS Patienten gegenüber den Kontrollfällen weist die Höhe von C4 auf. Die cervikale Höhe von C6 des spinalen MS Marks zeigt eine deutliche Reduzierung der neuronalen Zellanzahl, im Vergleich zu den anderen quantifizierten Rückenmarksebenen, weist diese Höhe jedoch noch die dichteste Neuronanzahl auf.

C2-Auswertung der Neuronquantifikation

Der dargestellte Boxplot verdeutlicht die signifikante Differenz der quantifizierten Neurone für die cervikale Höhe von C2. Die Anzahl der Neurone der MS Patienten erscheint hier, im Gegensatz zu den neuronalen Zellen der Kontrollen, deutlich vermindert. Während die Querschnitte der MS Patienten im Durchschnitt 20,1 Zellen pro Ebene aufweisen, zeigt sich bei der Quantifikation der Kontrollen eine Verteilung von ca. 35,2 Neurone pro Querschnitt. Die neuronalen Zellen der MS Patienten scheinen in der Höhe von C2 um 42,8% reduziert.

C3-Auswertung der Neuronquantifikation

Auch für die Höhe von C3 ist ein signifikanter Verlust neuronaler Zellen für die MS Patienten ablesbar. Diese weisen im Durchschnitt 19,5 Neurone pro Querschnitt auf, während bei den Kontrollfällen für diese Höhe durchschnittlich 35,5 Zellen quantifizierbar sind. Die neuronalen Zellen auf der cervikalen Höhe von C3 scheinen um 45,2% bei den MS Patienten reduziert.

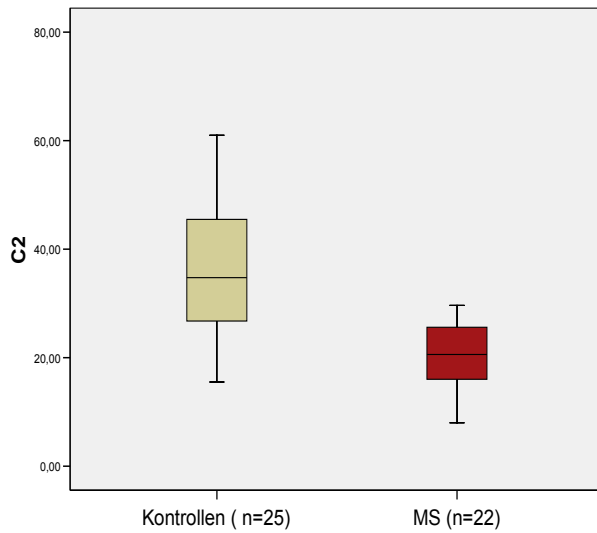


Abb 107. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau von C2 des cervikalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

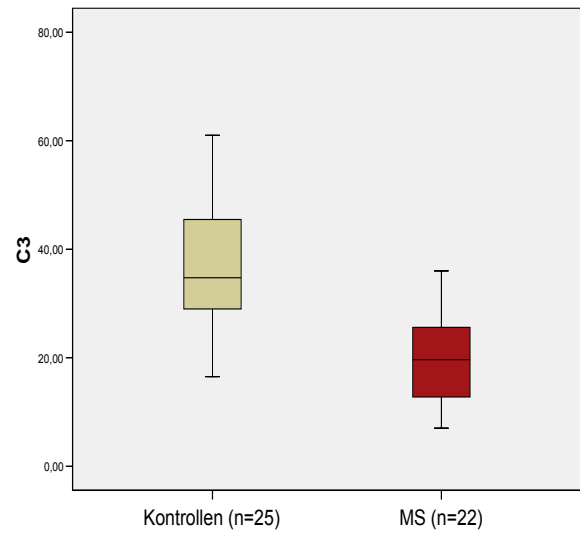


Abb 108. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau von C3 des cervikalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

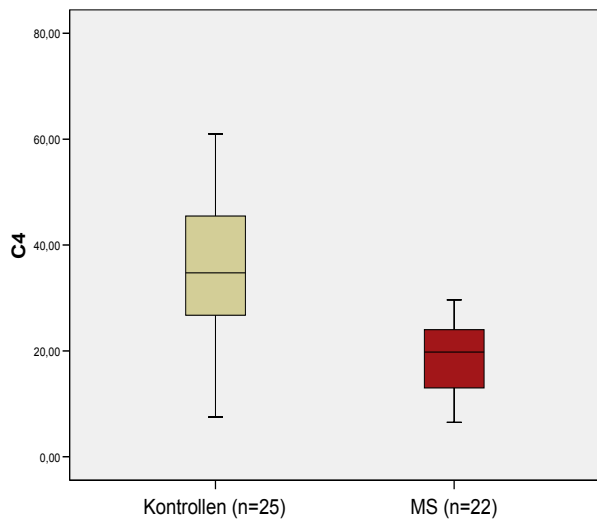


Abb 109. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau von C4 des cervikalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

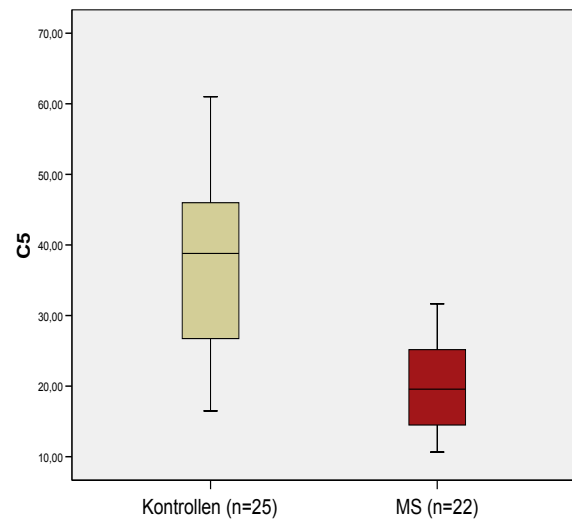


Abb 110. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau von C5 des cervikalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

C4-Auswertung der Neuronquantifikation

Betrachtet man den Boxplot für C4, so weisen auch hier MS Patienten einen signifikanten Verlust von Neuronen auf. Der Mittelwert von 18,6 Zellen pro Querschnitt dieser Ebene liegt eindeutig unter dem der Kontrollpatienten von durchschnittlich 35,3 Neuronen. Auffällig für C4 erscheint die Verteilung der neuronalen Zellen für die Kontrollgruppe. Diese besitzen ein weiteres Spektrum an quantifizierten Zellen (min. 7,5 Zellen, max. 61 Zellen). Die neuronalen Zellen der cervikalen MS Marks von C4 bei MS Patienten weisen eine Reduktion von 47,7% auf.

C5-Auswertung der Neuronquantifikation

Der dargestellte Boxplot verdeutlicht den signifikanten Verlust von Neuronen bei MS Patienten für die Höhe von C5. Im Durchschnitt lassen sich 20,1 Zellen pro Querschnitt quantifizieren, während für die Kontrollpatienten durchschnittlich 36,8 Neurone in dieser Ebene auszählbar sind. Die Dichte der neuronalen Zellen für diese Ebene ist um 45,3% reduziert.

C6-Auswertung der Neuronquantifikation

Für die Höhe von C6 des cervikalen Rückenmarks lassen sich im Durchschnitt 23,22 für MS und 35,0 Neurone für die Kontrollfälle quantifizieren. Auch für diese Ebene zeichnet sich ein signifikanter Verlust neuronaler Zellen der an MS erkrankten Patienten ab. C6 weist im Vergleich zu den anderen cervikalen Ebenen von C2 bis C8 die höchste Dichte an Neuronen für die MS-Patienten auf. Die neuronalen Zellen sind bei den MS Patienten für diese Ebene um 33,7% vermindert.

C7-Auswertung der Neuronquantifikation

Die Auswertung der Neuronquantifikation für C7 weist eine signifikante Differenz ausgezählter Neurone für MS Fälle und Kontrollpatienten. Mit durchschnittlichen 21,2 neuronaler Zellen pro Querschnitt liegen die MS Fälle eindeutig unter denen der Kontrollen mit 35,9. Die MS Patienten wiesen eine Reduktion von 41% der neuronalen Zellen für diesen Bereich auf.

C8-Auswertung der Neuronquantifikation

Die Darstellung des Boxplots für die Ebene von C8 verdeutlicht auch hier die signifikante Abnahme von Neuronen für MS Patienten im Vergleich zu ihren Kontrollfällen. Während im Querschnitt von C8 bei MS erkrankten Patienten durchschnittlich 21 Zellen auszählbar sind, imponierten die Kontrollen mit 37,1 Neurone für diese Höhe. C8 weist im Vergleich zu den anderen cervikalen Höhen von C2 bis C8 die höchste Dichte neuronaler Zellen für die Kontrollen auf. Der Verlust neuronaler Zellen beträgt für die Ebene von C8 bei den MS Patienten 43,5%.

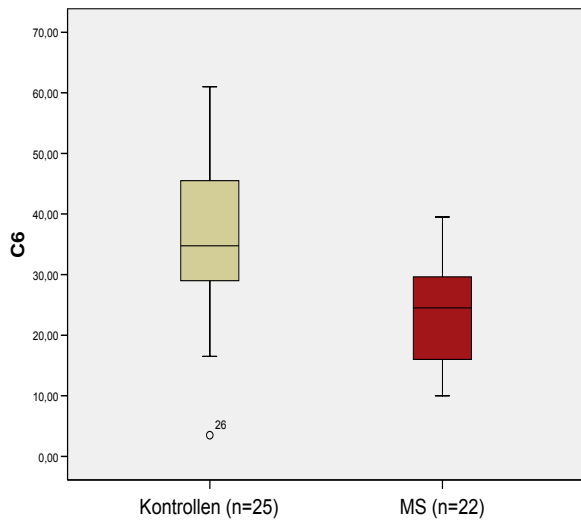


Abb 111. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau von C6 des cervicalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

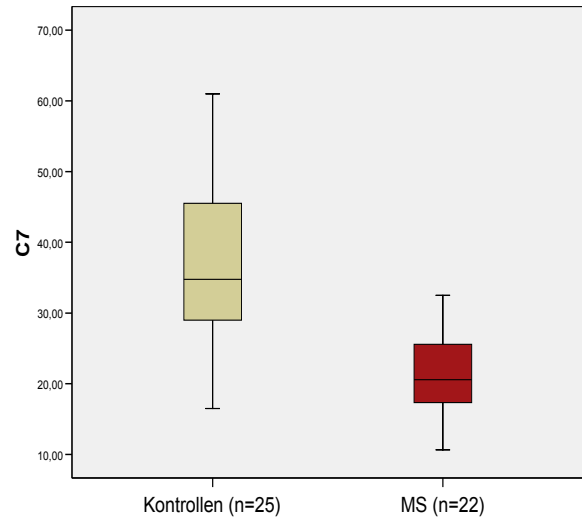


Abb 112. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau von C7 des cervicalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

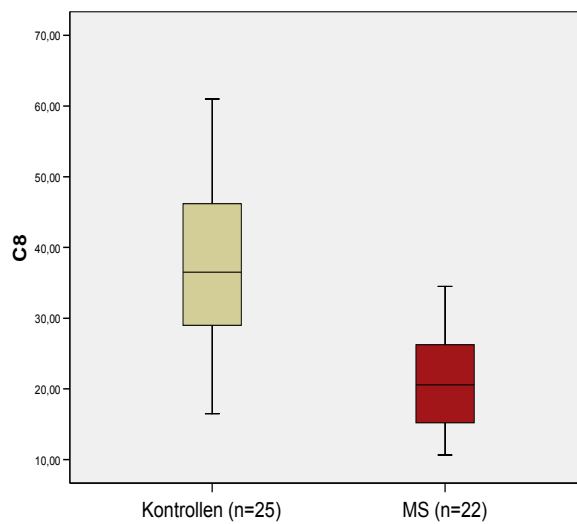


Abb 113. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau von C8 des cervicalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

Auswertung der durchschnittlichen Neuronverteilung der thorakalen Rückenmarksebene

Da es sich im Vergleich zum cervikalen Rückenmark um weitaus weniger Schnitte für MS und Kontrollfälle handelt, soll an dieser Stelle nicht jedes für sich, sondern eine zusammenfassende Gegenüberstellung der Ergebnisse der Neuronquantifikation erfolgen. Insgesamt ist es möglich, 74 Schnitte der MS Fälle und 36 Präparate der Kontrollfälle dem thorakalen Rückenmark zuzuordnen. Die errechnete durchschnittliche Neuronverteilung liegt bei 10,3 Zellen pro Querschnitt für die multiple Sklerose Erkrankten und bei 19,6 Neuronen für die der Kontrollen.

Es lässt sich ein neuronaler Verlust von 47,3% auf Seiten der MS Patienten nachweisen.

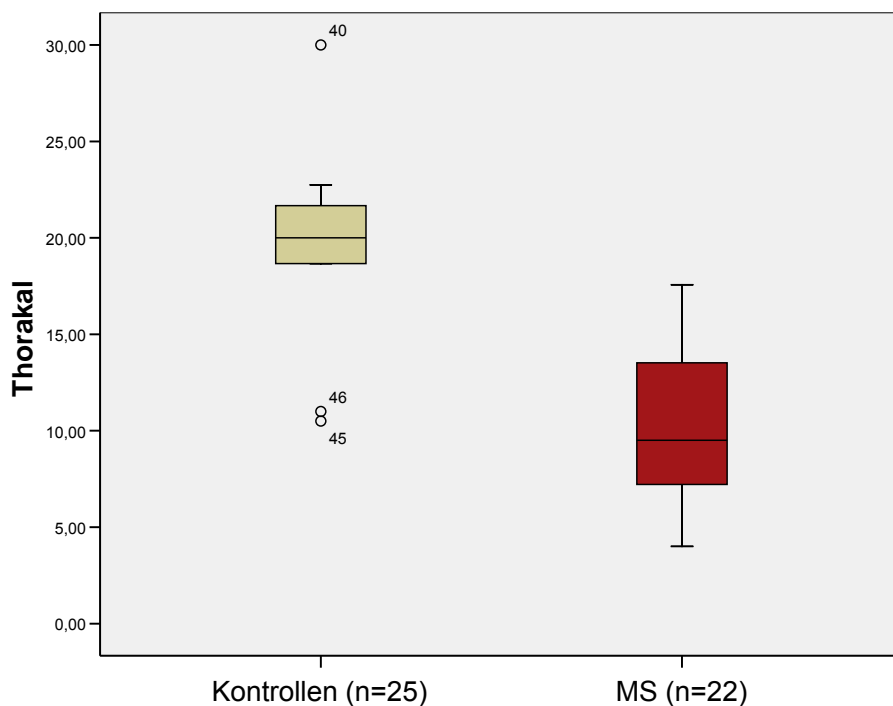


Abb 114. Der Boxplot vergleicht die Anzahl der Neurone auf dem Niveau des thorakalen Rückenmarks der MS und der Kontrollgruppe. Die MS Patienten (n=22) zeigen in dieser Höhe eine signifikant verminderte Anzahl neuronaler Zellen.

5. Diskussion

Das Ziel dieser Studie besteht in der Untersuchung grundlegender Veränderungen des Rückenmarks von multiple Sklerose Patienten. Bei den 27 MS Patienten im Alter von 29 bis 78 Jahren ist ein qualitativer und quantitativer Nachweis für den substantiellen Verlust von neuronalen Zellen im spinalen Mark darstellbar. Für das cervikale Rückenmark der MS Patienten konnte ein neuronaler Verlust von 42,7% beobachtet werden, während die thorakale Höhe eine Reduktion von 47,4% der neuronalen Zellen aufweist.

In der histopathologischen Beobachtung zeichnen sich Veränderungen der grauen Substanz ab. Neben einer massiven Entmarkung und Atrophie mit Zellverlust in diesem Bereich beeindruckt die neuronale Pathologie. Neurone des Rückenmarks stellen sich deutlich vermindert dar und zeichnen sich durch Degenerationserscheinungen aus. Besonders betroffen zeigen sich hierbei die großen neuronalen Zellen des Vorderhorns, während aber auch fusiforme Neurone des zentralen Graus, der Laminae III, IV und V und Interneurone involviert erscheinen. Eine Betonung der Neuronpathologie präsentiert das cervikale Rückenmark und die Ebenen von C3, C4 und C5. Die Neurondegeneration zeigt eine Bevorzugung von Neuronengruppen des Ncl. motorii lateralis, des Ncl. motorii medialis sowie des Ncl. proprius dorsalis. Der beobachtete Neuronverlust für das cervikale und thorakale Rückenmark erfuhr seine statistische Bestätigung.

Die Entmarkung der grauen Substanz zeichnet sich durch unterschiedliche Demyelinisierungsmuster aus. Überwiegend präsentiert sich der Grenzzonentyp mit einem Plaque, der die weiße und graue Substanz des Rückenmarks involviert. Die Demyelinisierung der grauen Substanz imponiert durch ihre milde Astroglieose sowie einer zurückhaltenden Invasion inflammatorischer Zellen.

Das Rückenmark der MS Patienten erscheint atroph und von einem relativen Zell- und Axonverlust betroffen.

Eine Korrelation zwischen neuronaler Degeneration und neuronalem Zellverlust kann bezogen auf den klinische Status der Patienten und Verlauf der MS Erkrankung nicht gezogen werden, da eine gleichzeitige Untersuchung der anderen Strukturen des ZNS nicht Gegenstand dieser Arbeit ist. Eine unterschiedliche Betroffenheit der Geschlechter ist nicht evaluierbar.

5.1. Neuronale Degeneration und neuronaler Verlust im Rückenmark von MS Patienten

In der vorliegenden Untersuchung konnte ein substantieller Verlust neuronaler Zellen im spinalen Mark von 22 MS Patienten beobachtet und statistisch für die cervikalen und thorakalen Ebenen verifiziert werden. Für das lumbale Rückenmark lag keine ausreichende Schnittanzahl vor, so dass für diese Ebene keine statistische Auswertung vorgenommen werden konnte.

Nachdem bisher der Pathologie der grauen Substanz und der neuronalen Veränderung nur wenig Aufmerksamkeit gewidmet wurde, findet seit einigen Jahren zunehmend die Beschreibung neurodegenerativer Veränderungen Erwähnung und Eingang in die MS Literatur (Ferguson et al. 1997; Trapp et al. 1998; Bitsch et al. 2000; Smith et al. 2000; Peterson et al. 2001). Eine kleine Anzahl von post-mortem Studien liefern Beweise für die neuronale Schädigung des cerebralen Cortex, des Thalamus sowie des spinalen Marks (Cifelli et al. 2002; Evangelou et al. 2005; Vercellino et al. 2005; Wegner et al. 2006; Gilmore et al. 2008b). Zudem bieten Untersuchungsergebnisse aus bildgebenden Studien vielseitige Hinweise auf die Neuronpathologie (Cifelli et al. 2002; Chard et al. 2003; Rovira und Leon 2008; Petzold et al. 2009; Shipova et al. 2009).

Bisher sind die Mechanismen, welche die Pathologie der Neurone bedingen, spekulativ, hypothetisch und wenig verstanden. Basierend auf Forschung und Beobachtung am Tiermodell der EAE, Zellkultursystemen und histopathologischen Studien am Gehirn, sind der Kenntnisstand und das Verständnis bezüglich des Neuronverlustes noch immer unvollkommen.

Im Folgenden sollen die Mechanismen des neuronalen Zelltods dargestellt und daraufhin überprüft werden, ob sich im histologischen Schnitt Hinweise dafür finden lassen und inwieweit sie einen Beitrag zum neuronalen Zellverlust im Rückenmark bei spinaler MS leisten.

Mechanismen des neuronalen Zelltods

Ein Mangel an neurotrophen Faktoren kann zu neurodegenerativen Veränderungen führen

Die beschriebene neuronale Degeneration im spinalen Mark von MS Patienten ist möglicherweise auf einen Mangel neurotropher Faktoren, wie den Neurotrophinen, Cytokinen und Wachstumsfaktoren, zurückzuführen. Neurotrophine werden von Neuronen und Immunzellen produziert. Diese dienen dem neuronalen Überleben und der Reparatur während und nach ZNS Schädigung (Blanco et al. 2006). Die Neurotrophine, beispielsweise der Nervenwachstumsfaktors „NGF“ (nerve growth factor), der aus Gehirngewebe isolierte „BDNF“ (brain derived neurotrophic factor) und Neurotrophin 3 und 4/5, sind wichtige Regulatoren des neuronalen Zelltods und des Überlebens (Herdegen et al. 1997). Neben ihrer bedeutenden Rolle in der neuronalen Entwicklung besitzen sie die Fähigkeit, Neurone gegen verschiedene pathologische Insulte zu beschützen (Cheng und Mattson 1991; Holtzman et al. 1996). Bei „Knock out“-Mäusen mit ausgeschalteten Neurotrophin-Genloci zeigt sich ein Untergang bestimmter Nervenzellpopulationen. Im physiologischen Zustand werden die klassischen Neurotrophine in den Zielgebieten von Projektionsneuronen produziert und in Axonen gesunder Neurone retrograd zum Zellsoma transportiert. Nach Axonunterbrechung und Störung der Projektionsbahnen besteht für das Neuron keine ausreichende Nutrition mehr, so dass in Folge der neuronalen Minderversorgung ein apoptotischer Zelltod ausgelöst werden kann. Die bei den MS Patienten beobachtete Degeneration von alpha Motorneuronen und Interneuronen sowie der bevorzugten Betroffenheit der Nervenzellen bestimmter Neuronengruppen, wie dem Ncl. motorii lat., Ncl. motorii med. und dem Ncl. proprius dorsalis, könnte möglicherweise auf eine mangelnde Versorgung mit bestimmten Neurotrophinen zurückzuführen sein. Für das periphere Nervensystem konnte während des physiologischen Zelltods belegt werden, dass definierte Neuronpopulationen von neurotrophen Faktoren abhängig sind (Hughes und O'Leary 1996). Des Weiteren scheinen umgebende Immunzellen eine wichtige Rolle im neurodegenerativen Prozess und der Neurotrophinhypothese zu spielen.

Höhere Konzentrationen an BDNF, NT3 und anderen Glia-Zell-assoziierten Neurotrophinen konnte in simultan axotomierten spinalen Neuronen, in T-Zellen, natürlichen Killer-Zellen des Rückenmarks in der MOG-induzierten EAE detektiert

werden (Hammarberg et al. 2000). Stadelmann et al. wiesen in MS Läsionen BDNF positive Immunzellen (T-Zellen, Makrophagen, Mikroglia) und reaktive Astroytose nach (Stadelmann et al. 2002). Kerschensteiner et al. berichten über die gesteigerte Produktion, bioreaktiven BDNFs nach Antigenstimulation für T-Helfer (Th1) und Th2-CD4+Zelllinien, welche spezifisch für Myelinautoantigene waren (Kerschensteiner et al. 1999). Die supportive Rolle für BDNF auf das Überleben sensorischer Neurone konnte in vivo belegt werden. Retinale Ganglienzellen reagieren mit einer gesteigerten Expression neurotrophischer Rezeptoren, wie dem TrkB für den BDNF, um ihrer trophischen Unterversorgung und einem Zelltod zu entgehen (Meyer-Franke et al. 1998; Shen et al. 1999). Azoulay et al. untersuchten die Sekretion von BDNF aus Immunzellen bei Patienten mit RRMS. Die BDNF-Spiegel zeigten sich gegenüber denen der Kontrollpatienten reduziert, mit resultierendem Mangel neuroprotektiver Effekte und dem Verlust neuronalen Gewebes (Azoulay et al. 2008).

Makar et al. berichten von dem positiven Effekt einer therapeutischen BDNF Behandlung für das Überleben neuronaler Zellen im Rückenmark und ZNS am Mausmodell der EAE. Neben der verminderten Anzahl infiltrierender inflammatorischer Zellen wiesen die Neurone ebenfalls eine reduzierte Apoptoserate auf (Makar et al. 2008).

Die vermehrte Freisetzung excitatorischer Aminosäuren kann eine neuronale Degeneration bedingen

Ein weiterer Erklärungsansatz für die beobachtete neuronale Degeneration bei der multiplen Sklerose besteht in der vermehrten Freisetzung excitatorischer Aminosäuren und Calciumüberladung von geschädigten Neuronen. Glutamat und Aspartat sind die wesentlichen erregenden Neurotransmitter des ZNS. Diese können von geschädigten Zellen in größeren Mengen freigesetzt werden und dadurch sekundäre autodigestive, nervenzellschädigende Kaskaden in Gang setzen. Bisher sind die Glutamatrezeptoren über ihre pharmakologischen Agonisten definiert, dem alpha-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropionsäure (AMPA), dem N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) sowie dem Kainat. Neuere Studien am Modell der EAE haben die Glutamat-Exzitotoxizität als einen möglichen Faktor identifiziert, welcher die Schädigung von Neuronen, Axonen und Oligodendrocyten bedingt (Pitt et al. 2000; Smith et al. 2000) und durch den gesteigerten Einfluss von Calcium über

spannungsabhängige Calciumkanäle eine neuronale und axonale Schädigung hervorruft (Kornek et al. 2000; Kornek et al. 2001). Die Exzitotoxizität des Glutamats besteht in der Aktivierung der postsynaptischen Rezeptoren einschließlich des NMDA-, des AMPA- sowie des Kainat-Rezeptors. Die geöffneten Ionenkanäle ermöglichen den Einstrom von Ca^{2+} - und Na^{+} -Ionen. Obwohl eine physiologische Erhöhung des intrazellulären Calciums kaum funktionelle Einschränkungen mit sich bringt, führt der exzessive Einstrom von Ca^{2+} zusammen mit der Ca^{2+} -Ausschüttung intrazellulärer Kompartimente zu Unterbrechung von Regulationsmechanismen und bedingt den neuronalen Zelltod (Arundine und Tymianski 2003). Erhöhte Glutamatkonzentrationen konnten in akuten MS Läsionen, aktivierten Immunzellen (Matute et al. 2001), Axonen (Lassmann 2003b) und Astrocyten nachgewiesen werden (Ye et al. 2003).

Akute und chronische neuronale Degeneration wird vermittelt und bedingt durch exzitatorisch wirkendes Glutamat

Glutamat-Exzitotoxizität ist ein Schlüsselphänomen in zahlreichen akuten und chronischen neurodegenerativen Konditionen (Lipton und Rosenberg 1994). Eine gesteigerte Glutamatkonzentration konnte in Gebieten der Neuroinflammation beobachtet werden (Trapp und Stys 2009) und in Verbindung mit einer Überstimulierung metabotrophischer und ionischer Rezeptoren gebracht werden, resultierend in Ca^{2+} -Akkumulation und Zelltod. Auch Immunzellen sind befähigt, größere Mengen an Glutamat zu sezernieren (Matute et al. 2001). Unter hypoxischen und ischämischen Umständen sind selbst Axone via verschiedener Na^{+} -abhängiger Glutamat-Transporter im Stande Glutamat auszustoßen (Lassmann 2003b). Die axonale Glutamatfreisetzung scheint eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der Demyelinisierung einzunehmen (Trapp und Stys 2009), bestärkt durch den Nachweis Ca^{2+} -abhängiger NMDA Rezeptoren auf Oligodendrocyten (Salter und Fern 2005). Astrocyten entsenden Glutamat durch Exozytose oder über Hemikanäle (Ye et al. 2003; Parpura et al. 2004).

In MRT Untersuchungen kann eine gesteigerte Glutamatkonzentration in akuten MS Läsionen und der normal erscheinenden weißen Substanz beobachtet werden (Srinivasan et al. 2006).

Die neuronale Störung und Schädigung scheint demnach auch auf die Dyshomöostase von Ionen zurückführbar zu sein und kann als ein mögliches Resultat einer Ionenkanalfehlregulation verstanden zu werden (Nicot et al. 2003).

Untersuchungen lumbosakraler Ebenen des Rückenmarks bei der EAE konnten belegen, dass die Plasmamembran Ca^{2+} ATPase (PMCA2) ausschließlich in der grauen Substanz exprimiert wird. Sie ist für die intrazelluläre Calciumhomöostase und der Ausschleusung von Calcium verantwortlich. Eine dramatische Verminderung der Ca^{2+} ATPase zeigt sich koinzident mit dem Einsetzen klinischer Symptome (Nicot et al. 2003). Glutamat supprimiert die neuronale PMCA2-Expression und induziert hiermit ein Ungleichgewicht im neuronalen Calciumhaushalt, in dessen Folge neuronale Dysfunktion und Degeneration resultieren (Nicot et al. 2003). Die durch den Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration vermittelte zelluläre Dysfunktion mit Schädigung und Zelltod von Neuronen konnte in vielzähligen ZNS Krankheiten, besonders der neurodegenerativen Erkrankungen, wie der Alzheimererkrankung (AD) und dem Morbus Parkinson (PD) in Verbindung gebracht werden (Paschen und Frandsen 2001; Wojda et al. 2008).

Die vermehrte Entstehung von oxidativen Stress und freien Radikalen kann eine neuronale Degeneration bedingen

Die beobachtete Degeneration spinaler Neurone kann auch als Resultat der Entstehung freier Radikale und dem Auftreten von oxidativen Stress angesehen werden. Oxidative Schädigung und Exzitotoxizität mit ihrer gemeinsamen toxischen Endstrecke stehen in vielfachen Zusammenhang neurodegenerativer Erkrankungen und dem Verlust von Neuronen und Axonen (Lin und Beal 2006; Gonsette 2008).

Metabolische und nutritive Störungen bringen das Neuron in einen labilen Zustand, mit gestörter Elimination freier Radikale und resultierender Schädigung der Zellmembran durch enzymatische oder peroxidative Hydrolyse. Oxidativer Stress kann zudem kritische zelluläre Funktionen modulieren, das Apoptoseprogramm in Neuronen, Astrocyten und der Mikroglia aktivieren, und regulativ in den Ionen-transport und die Calciummobilisierung eingreifen (DiMauro und Schon 2003; Emerit et al. 2004). Das durch oxidativen Stress bedingte Öffnen spannungsabhängiger Calciumkanäle mit verbundenem Einstrom von Ca^{2+} -Ionen in das Zellinnere führt zu einer Aktivierung Calcium-abhängiger, autodestruktiver Kaskaden (Mahad et al. 2008). Eine besondere Rolle als Schlüsselmediator des

oxidativen Stresses scheint das Peroxynitrit zu spielen. Peroxynitrit weist eine Assoziation zu aktiven Läsionen auf und produziert hoch toxische, nitrierende und oxidierende Radikale, welche Lipid, DNA und mitochondriale Strukturen schädigt und in ihrer Funktion stört (Gonsette 2008). Die neuronale Degeneration und der schließliche Neuronverlust der untersuchten Rückenmarkspräparate kann als Ausdruck dieser oxidativen Schädigung verstanden werden und sind bestimmt durch dessen zeitlichen Verlauf und Progredienz.

Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass die neuronale Schädigung selbst oxidativen Stress auslöst und dieser als sekundäre Manifestation interpretierbar ist (Sayre et al. 2008).

Neuronale Degeneration aufgrund mitochondrialer Dysfunktion

Mitochondriale Dysfunktion wird als möglicher Faktor der sekundär induzierten neuronalen Degeneration angesehen (De Stefano et al. 2003; Stys 2005; Dutta et al. 2006; Mahad et al. 2008). In einer Vielzahl von Studien wurde die pathogenetische Rolle der Mitochondrien für die axonale Degeneration bereits herausgearbeitet (Lu et al. 2000; Dutta et al. 2006; Mahad et al. 2008). Veränderungen in mitochondrialen Genen konnten in MS Läsionen der grauen Substanz bei Patienten mit langandauernder multipler Sklerose nachgewiesen werden (Dutta et al. 2006), wobei es ebenfalls Hinweise für die Schädigung mitochondrialer DNA in chronischen Plaques gibt (Lu et al. 2000). Eine erhöhte Kopie mitochondrialer DNA ist in Neuronen normal erscheinender grauer Substanz bei MS Patienten identifizierbar (Blokhin et al. 2008b). Die Schädigung mitochondrialen Erbgutes in Neuronen, Glia der weißen Substanz, normal erscheinender weißer und grauer Substanz ähnelt der, die bereits für die Parkinson- und Alzheimererkrankung beschrieben worden ist (Blokhin et al. 2008a).

Komponenten des inflammatorischen Milieus als potentielle Mediatoren der neuronalen Schädigung

Der beobachtete Neuronverlust kann ebenfalls Resultat einer direkten Schädigung durch inflammatorische Zellen sein. In der Histopathologie zeichnet sich die graue Substanz zwar durch eine milde Mikrogliareaktion aus, dennoch können mikrogliale Zellen in unmittelbarer Umgebung von Neuronen und auch in Gefäßen der grauen

Substanz beobachtet werden. Die schädigende Potenz dieser Zelle ist für die Alzheimer'sche Demenz belegt (McGeer et al. 1988).

In der Literatur finden sich vielseitige Hinweise für eine Lymphozyten vermittelte Neurotoxizität (Medana et al. 2000; Bien et al. 2002; Nitsch et al. 2004). Dysfunktionierende Neurone können durch die vermehrte Expression von MHC-I-Molekülen und des Beta₂-Mikroglobulins selbst zum Target für die Aktivierung zytotoxischer T-Zellen werden (Neumann et al. 1997). In der Ultrastruktur von Motoneuronen des spinalen Rückenmarks immunisierter MBP-Ratten ist es gelungen, das direkte Attackieren autoreaktiver Lymphozyten nachzuweisen und als mögliche Induktoren eines apoptotischen neuronalen Zelltod zu benennen (Smith et al. 2000). Zum klinischen Peak der MS Erkrankung ließ sich der Tod ventraler neuronaler Zellen mit assoziierter Lymphozyteninfiltration, der Entwicklung neuronaler mit zellulären Debris gefüllten Vakuolen und einer abnehmenden Neurondichte bis zu 30% in diesem Gebiet beobachten (Smith et al. 2000).

Gegenwärtig stehen vielfältige neuronale Antikörper in der Diskussion zur Induktion einer neuronalen Schädigung bei der MS Erkrankung (Kurtzke et al. 1972; Silber et al. 2002; Lily et al. 2004). Zwei Studien haben den Nachweis von T-Zellen erbracht, welche sich in ihrer Aktivität gegen neuronale Antigene, wie der Neuronen spezifischen Enolase „Arrestin“ (Forooghian et al. 2007) und den Gangliosiden (Pender et al. 2003) richten. Huizinga et al. berichten von Antikörpern, welche gegen axonales/neuronales leichtes Neurofilament (NF-L) gerichtet sind und unter der Vermutung stehen, Neurone direkt zu attackieren und zu schädigen (Huizinga et al. 2008). Die Detektierung der gegen NF-L-gerichteten T-Zellen gelang wenig später (Huizinga et al. 2009). Diese Hypothese unterstützend kann im Serum von MS Patienten das Neurofascin 186 nachgewiesen werden, ein neuronales Protein, welches im axonalen Internodium exprimiert und während der Demyelinisierung freigesetzt wird (Mathey et al. 2007). Die beobachtete neuronale Degeneration und der Verlust neuronaler Zellen sind möglicherweise auch als Folge kollateraler Schädigung durch Cytokine (Downen et al. 1999) und Chemokine (Sui et al. 2004) zu verstehen. Die kritische Rolle der Cytokine konnte bereits als wichtiger Bestandteil in der Pathogenese der axonalen Degeneration nachgewiesen werden (Bjartmar et al. 2003). Diese besteht in der Störung des neuro-axonalen Erregungsablaufs und Aktivität durch die Modulation axonaler und neuronaler Ionenkanäle (Diem et al. 2001). Ein durch IL-1beta, INF-gamma und TNF-alpha vermittelter neuronaler Zelltod

wurde in Neuron-Astrocyten Kulturen bestätigt (Downen et al. 1999). Die Toxizität des TNFalphas und der Tod dopaminergener Neurone ist bereits bei der Erkrankung des M. Parkinsons belegt (McGuire et al. 2001).

5.2. Demyelinisierung der grauen Substanz des Rückenmarks

Die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Arbeit beschreiben eine massive Demyelinisierung der grauen Substanz des Rückenmarks mit regionaler Variabilität, wobei die Entmarkung der cervikalen Ebenen am ausgeprägtesten in Erscheinung tritt. Unterschiedliche Muster der demyelinisierten Herde konnten klassifiziert werden. Es dominiert der Grenzzonentyp, bei dem der demyelinisierte Herd zwischen der grauen und weißen Substanz liegt und beide Substanzen gleichermaßen involviert. Die Läsionen der grauen Substanz des Rückenmarks sind charakterisiert durch eine weniger extensive Inflammation und einer mild ausgeprägten Gliose. Die Demyelinisierung der grauen Substanz des Rückenmarks kann (Teil-)Folge des Verlustes von Nervenzellen sein, da mit dem Neuron das myelinisierte Axon zusammenbricht und die Zahl der Verschaltungen abnimmt.

Bisher wurde bei der MS der grauen Substanz nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt und die Bedeutung der neuronalen Degeneration unterschätzt. Jüngere Studien weisen auf eine starke Demyelinisierung kortikaler Strukturen (Brownell und Hughes 1962; Kidd et al. 1999; Peterson et al. 2001; Bø et al. 2003; Geurts et al. 2005; Kutzelnigg et al. 2005) sowie tiefer neuronaler Kerngebiete hin (Brownell und Hughes 1962; Cifelli et al. 2002; Bø et al. 2003; Stadelmann et al. 2008b). Es wird ein gehäuftes Auftreten kortikaler demyelinisierter Läsionen beobachtet (Stadelmann et al. 2008b).

Die Demyelinisierung der grauen Substanz des Rückenmarks ist deutlicher ausgeprägt als vergleichsweise die des cerebralen Cortex und die der tiefen Kerngebiete (Gilmore et al. 2008a). Zudem bestehen Unterschiede zwischen der weißen und der grauen Substanz im Ausmaß der Entmarkung. Die Proportion der Demyelinisierung der grauen Substanz zeigt sich mit 33% gegenüber der der weißen mit ca. 20% signifikant stärker ausgeprägt (Gilmore et al. 2006) und entspricht der beschriebenen Entmarkung der vorliegenden Arbeit. Unterschiede und eine stärkere Entmarkung der grauen Substanz sind signifikant für den motorischen Cortex, das Cerebellum und für das Rückenmark (Gilmore et al. 2008a). Die Demyelinisierung der grauen Substanz ist in allen Ebenen des spinalen Marks auffindbar und auch von

Gilmore et al. (2006) beschrieben. Nur für die Entmarkung der weißen Substanz scheint das cervikale Rückenmark prädestiniert.

Unterschiedliche Demyelinisierungsmuster der grauen und weißen Substanz des Rückenmarks

In der vorliegenden Untersuchung konnten verschiedene Demyelinisierungsmuster für die graue Substanz des Rückenmarks beschrieben werden. Das überwiegende Auftreten des Typs I, des Grenzzonentyps mit Vorkommen eines demyelinisierten Bereiches am Übergang zur weißen Substanz, dominiert den Typ II mit dem Vorkommen multipler kleinerer demyelinisierter Herde der grauen Substanz in unmittelbarer Nähe zu Gefäßen sowie den Typ III mit einem einzigen entmarkten Plaque in der grauen Substanz. Demgegenüber stehen die Demyelinisierungsmuster der weißen Substanz. Hierbei präsentiert sich der „zentrale Typ“ mit Entmarkungsherden grenzüberschreitend im Bereich der grauen und weißen Substanz als am häufigsten vertreten, gefolgt vom „Strangtyp“ mit an anatomischen Strukturen orientierter Strangentmarkung und dem „peripheren Typ“, der bandförmigen subpialen Entmarkung der weißen Substanz. Zusammenfassend orientierend an der Quantität der einzelnen Demyelinisierungsmuster sind die meisten der Herde der untersuchten MS Rückenmarksquerschnitte solche, die grenzüberschreitend zwischen der weißen und grauen Substanz auffindbar sind, gefolgt von der subpialen Läsion und dem zentral entmarkten Plaque in der grauen Substanz. Diese Schädigungsmuster können ebenfalls simultan auftreten.

Für den Cortex sind derzeit drei Haupttypen demyelinisierter Herde beschrieben: 34% der Läsionen befinden sich leukocortikal, 16% intracortikal und 50% subpial (Peterson et al. 2001). Bø et al. (2003) beschreiben 84,4% der von ihnen untersuchten MS Herde als intracortikal, 15,6% die weiße und graue Substanz betreffend. Wegner konstatiert in seinen Untersuchungen an post mortem Gehirnen 44% subpialer Herde Typ III, 38% leukocortikale Herde Typ I und die ca. 18%igen vorkommenden intracortikalen Läsionen. In den Typ I Läsionen ist ein substantieller Zellverlust von Glia, Neuronen und Synapsen zu beobachten, während gesunde Gewebeabschnitte sich unverändert zeigen (Wegner et al. 2006).

Aus Demyelinisierungsmodellen ist bekannt, dass alle klassifizierten Typen auch simultan auftreten können, ein Phänomen, welches bereits im frühen Stadium der Erkrankung zu bestehen scheint (Pomeroy et al. 2005; Merkler et al. 2006).

Die Lokalisation kortikaler Läsionen wurde dem Verlauf des venösen Systems zugeschrieben, basierend auf Untersuchungsergebnissen bildgebender Korrelationsstudien (Kidd et al. 1999). Für den cerebralen Cortex hat sich der subpiale als der häufigste Läsionstyp herauskristallisiert, gefolgt von leukocortikalen und nur wenigen intracortikalen Herden (Bø et al. 2003; Wegner et al. 2006). Subcortikale Läsionen zeichnen sich im Vergleich zu den beiden anderen Herdformen durch eine verstärkte Inflammationsreaktion und deutlich ausgeprägtere reaktive Gliose aus (Peterson et al. 2001; Bø et al. 2003).

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse und die Beschreibungen gegenwärtiger Studien verdeutlichen die Heterogenität der MS Erkrankung und unterstreichen zugleich die regionalen Variationen der Demyelinisierungsreaktion, zum einen möglicherweise bedingt durch topologische und trophologische Unterschiede, zum anderen zurückzuführen auf Unterschiede gegenüber dem Zugang des Immunsystems und der Beteiligung der Inflammationsreaktion. In der dargebotenen Untersuchung lässt sich keine detaillierte Charakterisierung der einzelnen Inflammationszustände der Demyelinisierungstypen vornehmen. Die Entmarkungs-herde der grauen und weißen Substanz zeichnen sich durch eine sehr milde oder keine Entzündungsreaktion aus und sind durch die Chronizität der MS Erkrankung und den ausgebrannten Charakter der MS Läsionen charakterisiert; es handelt sich um eine histologische Untersuchung von Autopsiematerial.

Eine Erklärung für die Unterschiede in der Demyelinisierung der grauen und weißen Substanz lässt sich möglicherweise auf Differenzen der Antigenpräsenz und Ausstattung der beiden Substanzen zurückführen oder auch in der unterschiedlichen Gegenwart individueller antiinflammatorischer Faktoren begründet sein.

Zudem besteht die Hypothese, dass eine Entmarkung durch myelintoxische Mediatoren des Liquors bedingt ist. In der grauen Substanz des Cortex drainiert der Liquor entlang des perivaskulären Raumes, wohingegen der Liquor der weißen Substanz auch durch den Extrazellularraum zwischen den Nervenfasern fließt und bevorzugt in die Ventrikel ableitet (Weller et al. 1992; Gilmore et al. 2008a).

Einen weiteren Hinweis für die regionalen Unterschiede der Einbeziehung der grauen Substanz zwischen anderen Bestandteilen des ZNS und dem Rückenmark haben Tierstudien belegen können. Nach dem Injizieren proinflammatorischer Cytokine, zeigen sich besonders in der grauen Substanz des spinalen Marks eine betonte

Leukozyten-Infiltration und ein deutlicher Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke (Schnell et al. 1999; Gilmore et al. 2008a).

Welche Bedeutung hat das Phänomen der Demyelinisierung für die Neuronpathologie bei der multiplen Sklerose?

Die beschriebene Neuronpathologie ist möglicherweise Konsequenz der Demyelinisierung der grauen Substanz des spinalen Marks. Da die Axonschädigung ebenfalls Folge einer Entmarkung sein kann, ist es schwierig, diese zwei Pathomechanismen und ihren Einfluss auf die Induktion spinaler neuronaler Degeneration und Apoptose voneinander getrennt zu beurteilen.

Die Transsektion eines demyelinisierten Opticusnerven bei MBP-losen Ratten zeigte keinen Einfluss auf die Überlebensrate retinaler Ganglienzellen (Phokeo und Ball 2000). Hingegen berichten eine zunehmende Anzahl von Studien über den neuronalen Zellverlust in demyelinisierten MS Herden, innerhalb kortikaler Plaques (Peterson et al. 2001; Vercellino et al. 2005; Wegner et al. 2006) und der grauen Substanz des Rückenmarks (Gilmore et al. 2008). Du und Dreyfus führen neuronale Schädigung und die Deprivation der Neurone auf die statthabende Demyelinisierung zurück (Du und Dreyfus 2002). Pirko wies in Neuronen demyelinisierte Herde der grauen Substanz des Cortex Zeichen der retrograden Schädigung mit zentraler Chromatolyse nach (Pirko et al. 2007).

Die Schädigung der grauen Substanz kann als sekundäre Folge von Läsionen der weißen Substanz verstanden werden, welche durch Axonschädigung und Waller'sche Degeneration geprägt sind (Simon et al. 2000; Cifelli et al. 2002; Bermel et al. 2003) und letztendlich den beschriebenen Neuronverlust verantworten. Inflammatorische Demyelinisierung und neuronale Degeneration können jedoch auch als zwei voneinander dissoziiert ablaufende Phänomene angesehen werden (Kutzelnigg et al. 2005).

Verhältnis zwischen Dauer der Erkrankung und Ausmaß der Läsion der grauen Substanz

Da sich die untersuchten Herde der MS Patienten durch ihre Chronizität und ihren ausgebrannten Charakter auszeichneten, stellt sich hier die Frage nach dem Einfluss der Dauer der Erkrankung und dem Ausmaß der Demyelinisierung der grauen Substanz. Es besteht der subjektive Eindruck, dass mit Dauer der MS Erkrankung auch die Entmarkung der grauen Substanz zunimmt. Bisher konnte hierfür keine Korrelation belegt werden (Kutzelnigg et al. 2005; Gilmore et al. 2006). Bildgebende Studien mit der Untersuchung des Cortex liefern Hinweise für die frühe Betroffenheit der grauen Substanz. Atrophische Veränderungen des Cortex sind bereits in jungen Stadien der MS Erkrankung zu beobachten (Chard et al. 2002; De Stefano et al. 2003; Dalton et al. 2004; Tiberio et al. 2005) und ein unabhängiges Ereignis von der Pathologie der weißen Substanz oder der eines MS Schubes. Tsunoda et al. gehen sogar davon aus, dass die inflammatorische Demyelinisierung der weißen Substanz möglicher Weise von den frühen Veränderungen der grauen Substanz getriggert wird (Tsunoda et al. 2003).

Bei MS Patienten mit chronischen Verlauf ist die graue Substanz des Cortex im Durchschnitt 15% bis 25% demyelinisiert (Bö et al. 2003; Kutzelnigg et al. 2005; Albert et al. 2007). Aber auch von Patienten mit einem demyelinisierten Cortex bis zu 70% wird berichtet (Bö et al. 2003; Kutzelnigg et al. 2005; Stadelmann et al. 2008b). Eine extensive cortikale Demyelinisierung kann bei 90% der Patienten mit langem Krankheitsverlauf beschrieben werden (Albert et al. 2007).

Es besteht die Frage, ob die Demyelinisierungsmuster verschiedenen Krankheitsphasen zugeordnet werden können, sich gegenseitig bedingen oder einen zeitlichen Verlauf aufweisen. Aus post-mortem Studien ist bekannt, dass MS Plaques unterschiedliche Stadien durchlaufen. Zudem scheint das Alter der Patienten, nicht aber der Verlauf der Erkrankung einen Einfluss auf die Demyelinisierung zu haben (Gilmore et al. 2006). Junge Patienten mit Erstdiagnose einer MS weisen gegenüber älteren Betroffenen einen aggressiveren Krankheitsverlauf auf und zeigen frühzeitig eine gesteigerte Anzahl von Läsionen der weißen Substanz im MRT (Tedeschi et al. 2005). Das „lesion-load“ der grauen Substanz kann einer kurzen Phase ein Plateau erreichen, ohne von der Dauer der Erkrankung beeinflusst zu werden (Gilmore et al. 2006). Eine longitudinale Studie aus der Bildgebung hingegen berichtet von einem stetigen Zuwachs der Läsionsgröße im Gehirn (Chard et al. 2003).

Die Frage nach der Remyelinisierung spinaler Läsionen der grauen Substanz

Neben der beeindruckenden Demyelinisierung der grauen Substanz stellt sich ebenso die Frage nach Reversibilität und Remyelinisierung der entmarkten grauen Substanz. In der vorliegenden Untersuchung findet sich kein Nachweis einer Remyelinisierung, weder für die weiße noch die graue Substanz. Bisher ist das Phänomen der Remyelinisierung für die Plaques der weißen Substanz beschrieben und als ein sehr frühes Ereignis in der MS Pathogenese deklariert worden (Brück et al. 2003). Derzeitig bestehen zunehmend Hinweise für eine stattfindenden Myelinerneuerung auch in der grauen Substanz (Albert et al. 2007; Stadelmann und Brück 2008a). Albert et al. konnten in einer histopathologischen post-mortem Studie von 33 chronisch multiple Sklerose Patienten belegen, dass 72% der kortikalen Läsionen remyelinisiert erscheinen und 18% von diesen sich durch eine extensive Remyelinisierung auszeichnen. Das Ausmaß remyelinisierender Veränderungen zeigt sich gegenüber Plaques der weißen Substanz in cortikalen Herden sogar als ein verstärkt ausgeprägtes Phänomen. Die Remyelinisierung weist in und unter den MS Patienten eine beeindruckende Heterogenität auf, wobei die Gründe hierfür noch unklar sind und nicht ausschließlich auf die Abwesenheit von Oligodendrocyten und Oligodendrocyten-Precursorzellen zurückzuführen sind (Stadelmann und Brück 2008a). Die massive Demyelinisierung der grauen Substanz der vorliegenden spinalen Rückenmarksquerschnitte kann ebenso interpretiert werden als ein ausgeprägtes Ereignis, dessen Irreversibilität in der Progressivität des Myelinverlustes und des fortschreitenden Krankheitsverlaufs Begründung findet und nicht zuletzt möglicherweise auf den Untergang von neuronalen Zellen und dem Verlust ihrer supportiven Modulation zurückzuführen ist.

Wendet sich die regenerative Kapazität des geschädigten Gewebes in Richtung Degeneration, ist der Untergang der nervalen Bestandteile gewiss.

5.3. Die Axonpathologie und die neuronale Degeneration

Die Pathologie der Axone kann die Pathologie und Pathogenese der neuronalen Degeneration bestimmen

Die graue Substanz des spinalen Marks zeichnete sich durch den Verlust kleinkalibriger Axone aus und steht in enger Verbindung zur beobachteten neuronalen Degeneration und dem Verlust neuronaler Zellen, wobei besonders die großen Motoneurone, aber auch die kleinere Interneurone betroffen sind.

Der beschriebene Zellverlust spinaler Neurone bei MS kann als sekundäre Folge der Axonpathologie verstanden werden

Axonauftreibungen und axonale Unterbrechungen, Veränderungen des Cytoskeletts und Störungen im axonalen Transportablauf können während der akuten Phase der MS (Ferguson et al. 1997; Trapp et al. 1998) und im Modell der EAE beobachtet werden (Kornek et al. 2000; Meyer et al. 2001). Diese sind in der Lage, einen sekundären apoptotischen Zelltod der Neurone zu induzieren. In verschiedenen Tiermodellen lässt sich eine retrograde neuronale Apoptose infolge chirurgischer Axotomie oder „crush-injury des Axons“ belegen (Diem et al. 2001; Ugolini et al. 2003). Vergleicht man die Entwicklung der axonalen Schädigung des Nervus opticus (ON) mit der zeitlichen Kinetik und der Quantität der Apoptose retinaler Ganglienzellen in der MOG-induzierten EAE, so besteht ein eindeutiger Zusammenhang zwischen degenerierenden Axonen und der folgenden Apoptose des zugehörigen Neurons (Hobom et al. 2004). Zudem scheint, bewiesen an Studien retinaler Ganglienzellen, die funktionelle Integrität für das neuronale Überleben eine bedeutende Rolle zu spielen (Meyer-Franke et al. 1998). Ein Verlust von neuronalen Projektionsbahnen kann den Untergang neuronaler Zellen bewirken (Théoret et al. 1997). Hierin lässt sich ebenfalls eine Erklärung für die beobachtete Betroffenheit neuronaler Subpopulationen finden.

Die Rolle der Axotomie für das neuronale Überleben

Die untersuchten spinalen Gewebeschnitte der MS Patienten beeindrucken durch starken Axonverlust, gelegentliche axonale Auftreibungen und Myelindebris. Einige Axone zeichnen sich durch ihren Myelinverlust und Nacktheit aus, andere durch ihre axonalen Unterbrechungen.

Im peripheren Nervensystem verursacht die Axotomie eine Degeneration von Motoneuronen, wobei die Mehrzahl der Neurone im Stande ist, diese zu überstehen (Zhou et al. 2009). Tierexperimentelle Studien haben eine de novo Expression neuronaler Stickstoffoxid-Synthetase (nNOS) in Motoneuronen demonstriert, welche in enger Verbindung zur Induktion motoneuronaler Degeneration steht (Wu 1996; Liu und Martin 2001; Martin et al. 2005) und prädiktiv für den neuronalen Zelltod zu sein scheint (Zhou et al. 2009). Nach Axonabriss kommt es innerhalb von ca. vier Wochen zu einem Neuronverlust. Die Untersuchung der nNOS-Expression nach axonaler Transsektion zeigt einen zeitlichen Verlauf, der nacheinander die verschiedenen Gruppen ventralen Vorderhornneurone betrifft (Wu 1993). Der Verlust der Motoneurone trat ca. 14 Tage später auf und folgte der gleichen Reihenfolge der betroffenen neuronalen Subpopulationen (Wu 1993). Auch andere Veröffentlichungen gehen von einer durch Axotomie induzierten neuronalen Apoptose aus (Martin et al. 2005; Young et al. 2008; Zhou et al. 2009). Kürzlich erschienene Studien postulieren verschiedene intrazelluläre Moleküle in den Motoneuronen, welche unverzüglich auf eine Schädigung durch Diskonnektion reagieren und das unterschiedliche Outcome axonaler Schädigung bestimmen (Yang et al. 2006; Nagasao et al. 2008).

Veränderungen im Phosphorylierungsstatus reflektieren pathologische Veränderungen des Axons auf zellulärer Ebene

In der vorliegenden Untersuchung zeigten sich im spinalen Mark der MS Patienten bevorzugt kleinkalibrige Axone reduziert. Dies ist sowohl für die weiße als auch für die graue Substanz zutreffend. Besonders kleine Axone scheinen prädestiniert in Herden des spinalen Marks und des Opticusnerven betroffen zu sein, mit einem übergeordneten Erhalt dicker Axone, welche in der Medulla und im thorakalen Rückenmark auffindbar sind (Ganter et al. 1999; Lovas et al. 2000; Evangelou et al. 2001; DeLuca et al. 2004). Die Betonung des Axonverlustes des cervikalen Marks korrespondiert mit Untersuchungen von neuronalen Zellen in diesem Gebiet.

Gegenwärtige Studien unterstreichen die wichtige Rolle der Axonmembran in der Pathophysiologie der multiplen Sklerose (Waxman 2008; Young et al. 2008). Axone mit dysfunktionaler Na^+/K^+ ATPase sind nicht länger in der Lage, den Natrium Efflux aufrecht zu erhalten, in dessen Folge das Ruhemembranpotential gestört wird oder ein Konduktionsblock resultiert (Mahad et al. 2008; Waxman 2008). Ein annähernd

50%iger Verlust der axolemmalen Na^+/K^+ ATPase konnte in chronisch demyelinisierten Axone nachgewiesen werden. Eine zuvorige verstärkte Expression ließ sich während der akuten Axonschädigung darstellen (Young et al. 2008).

Eine Besonderheit der vorliegenden Arbeit besteht in der Untersuchung des Phosphorylierungsstatus der Axone und Neurone. In dieser Studie imponieren eine Vielzahl dephosphorylierte Axone in der grauen Substanz des spinalen Marks von MS Patienten, während dieses Phänomen bei den Kontrollpatienten nicht zu beobachten ist. Neben der positiven SMI32-Markierung der Axone zeichnen sich auch Neurone durch eine gesteigerte Anfärbbarkeit bei der multiplen Sklerose aus. Die SMI32-positiven Neurone zeigen eine örtliche Variabilität, hauptsächlich große Motoneurone des Vorderhorns wurden markiert. Dies ist in enger Verbindung zu degenerativen Prozessen zu sehen. Veränderungen in Neurofilament und Mikrotuboli, den Hauptbestandteilen des Cytoskeletts, stellen sonst einen effektiven Marker für axonale Pathologie in akuten MS Läsionen dar, erbringen hier jedoch auch den Nachweis eines langfristigen Wandels. Das Neurofilament myelinisierter Axone ist im Gesunden stark phosphoryliert, fördert einen bestimmten axonalen Durchmesser und ein zunehmendes axonales Aussprosseln. Die demyelinisierten Herde der grauen Substanz des Rückenmarks imponieren durch ihre Axone mit dephosphorylierten Neurofilamenten und einen massiven Axonverlust.

Während der Demyelinisierung dephosphoryliert das Neurofilament. Die Demyelinisierung ist auf die Ca^{2+} -vermittelte Aktivierung von Phosphatasen zurückzuführen (Strack et al. 1997). Die Präsenz dephosphorylierten Neurofilaments sowie die Akkumulation schnell transportierter Proteine wie APP werden für gewöhnlich zur Identifizierung und Quantifizierung demyelinisierter Axone in akuten MS Läsionen herangezogen (Bitsch et al. 2000). Eine Degradierung des Neurofilaments, wie dies bereits für den hypoxischen Tod an myelinisierten Fasern in vitro nachgewiesen werden konnte (Stys und Jiang 2002), ist wahrscheinlich durch die Ca^{2+} -vermittelte Aktivierung von Calpain bedingt (Trapp und Stys 2009).

Bei Patienten mit chronischer multipler Sklerose weisen im Sinne einer axonalen Transportstörung 50% der demyelinisierten Axone des spinalen Marks ein abnorm fragmentiertes Axoplasma im Vergleich zu 4,8% der myelinisierten Axone auf (Dutta et al. 2006). Die Proportion des dephosphorylierten Neurofilaments ist gegenüber Kontrollpatienten bei der MS verstärkt. In der vorliegenden Arbeit zeichnen sich die

Axone der grauen Substanz durch eine starke Dephosphorylierung aus. Diese dephosphorylierten Axone sind randständig und/oder innerhalb von Plaques detektierbar. Intraindividuelle und interindividuelle Variationen lassen sich beschreiben, wobei signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Abschnitten des ZNS bezogen auf das Ausmaß phosphorylierten und dephosphorylierten Neurofilaments zu beobachten sind (Petzold et al. 2008).

Der Phosphorylierungsstatus scheint stadienabhängige Veränderungen zu erfahren. Während hyperphosphoryliertes Neurofilament besonders in aktiven Läsionen auffällig ist, präsentiert sich die dephosphorylierte Variante in chronischen MS Läsionen und ihren Grenzgebieten (Petzold et al. 2008). Dies unterstreicht die Heterogenität der pathologischen Prozesse der Axone des Rückenmarks und des Cortex (Petzold et al. 2008).

Untergang chronisch demyelinisierter Axone in Läsionen der grauen Substanz

In der vorliegenden Untersuchung zeichnen sich MS Herde des spinalen Marks besonders durch ihre Chronizität, eine ausgeprägte Entmarkung und den massiven Verlust von Axonen aus.

Trotz der großen Anzahl axonaler Transsektionen in akuten MS Läsionen überleben die meisten der entmarkten Axone und die Schäden könnten trotz starker inflammatorischer Demyelinisierung reversibel sein (Trapp und Stys 2009). In chronischen spinalen MS Herden jedoch bedingen ultrastrukturelle Veränderungen die Nekrose axoplasmatischer Bestandteile (Dutta et al. 2006). Die Autoren berichten von einem 70%igem axonalen Verlust, wobei 50% demyelinisiert erschienen und nekrotische Veränderungen aufwiesen, wie fragmentiertes Neurofilament, eine dramatische Reduktion der Mitochondrienanzahl und Mikrotubuli. Das Kennzeichen chronischer MS Herde sind ebenfalls axoplasmatische Anschwellungen, welche nicht zuletzt auf einen gesteigerten axoplasmatischen Ca^{2+} -Einstrom zurückzuführen sind (Trapp und Stys 2009).

Neuronale Antikörper induzieren neuronale und axonale Degeneration

Welcher Zusammenhang besteht in der Beobachtung dephosphorylierten Neurofilaments und SMI32-positiver Neurone? Denkbar ist neben der Theorie zur ionalen Homöostasestörung, Membranstabilität und Ca^{2+} -vermittelten Exzitotoxizität auch eine durch Antikörper vermittelte neuronale und axonale Schädigung.

Im Serum multiple Sklerose Erkrankter sind verschiedene neuronale Antikörper, welche sich gegen Neurofilament light (NF-L) (Terryberry et al. 1998), Neurofilament medium (Bartos et al. 2007) und andere unspezifische neuronale Proteine richten, detektierbar (Rawes et al. 1997; Lily et al. 2004). Diese stehen gegenwärtig in dem Verdacht, axonale und neuronale Schädigung hervorzurufen und eine wichtige Rolle in der Pathogenese der MS zu spielen. Ein Schlüsselfaktor scheint hierbei das NF-L einzunehmen, welches erhöhte Spiegel bei MS Patienten mit progressiven Krankheitsverlauf aufweist (Silber et al. 2002; Ehling et al. 2004; Huizinga et al. 2009), welche mit der cerebralen Atrophie korrelieren (Eikelenboom et al. 2003). Cytoskelettales Neurofilament kann Ziel autoreaktiver T-Lymphocyten-Antwort sein, wobei deren Rolle in der Krankheitsentstehung noch spekulativ und unverstanden bleibt (Huizinga et al. 2009).

Massiver Axonverlust und Entmarkung der weißen Substanz

Der massive Axonverlust der weißen Substanz des Rückenmarks scheint in keiner direkten Verbindung zur beobachteten Reduktion neuronaler Zellen zu stehen

Die weiße Substanz des Rückenmarks der untersuchten MS Patienten zeichnet sich durch einen massiven Axonverlust aus, traktspezifisch mit betonter Entmarkung der cortikospinalen Bahnen. Die beschriebenen Veränderungen der weißen Substanz des Rückenmarks sind als Waller'sche Degeneration interpretierbar und durch höher gelegene Herde verursacht.

Ganter et al. berichten von einer Reduktion der Axondichte des lateralen Cortikospinaltrakts von 19% bis 42% (Ganter et al. 1999). Selbst bei Patienten mit kurzer Krankheitsphase ließ sich bereits Waller'sche Degeneration in der normal erscheinenden weißen Substanz nachweisen (Bjartmar et al. 2001). Lovas et al. (2000) bewiesen eine Einbuße von 61% der axonalen Dichte für die lateralen und posterioren Säulen der normal erscheinenden weißen Substanz des cervikalen Rückenmarks bei Patienten mit SPMS nach. Bjartmar et al. berichten von einem durchschnittlichen Axonverlust von ca. 68% in chronischen inaktiven Läsionen bei Patienten mit langandauernder MS Erkrankung (Bjartmar et al. 2000).

Trotz des massiven Axonverlustes cortikospinaler Fasertrakte des untersuchten Gewebematerials kann in dieser Untersuchung kein direkter Zusammenhang zwischen Strangdegeneration und dem Verlust neuronaler Zellen gezogen werden.

Ähnliche Beobachtungen publizieren auch Gilmore et al. (2008a). Subjektiv wird dennoch der Anschein erweckt, dass ein besonders ausgeprägter Faserverlust auch mit einer Reduktion der Neurone einhergeht, jedoch wäre hierfür eine Axon/Neuronquantifikation von Nöten. Die Empfindlichkeit für eine transneuronalen Degeneration scheint vielmehr vom Ausmaß der Kollateralisierung abhängig zu sein. Ein weiterer Aspekt der Neuron/Axon-Interaktion und eines sekundären Neuronuntergangs besteht neben den axonalen Projektionen ebenfalls in der Synapsenausstattung und Verschaltung eines Neurons. Neurone mit nur wenigen Synapsenkontakten scheinen gegenüber einer Schädigung in bestimmter Weise empfindlicher (Fry und Cowan 1972). Neuronale Zellen besitzen zudem ein komplexes neuronales Netzwerk, eine reichhaltige Fülle synaptischer Verbindungen zur Aufrechterhaltung des neuronalen Überlebens auch bei Verlust deszendierender Afferenzen (Kaelan et al. 1988; McBride und Feringa 1992; Terao et al. 1999).

Für eine Korrelation der Degeneration der Fasertrakte mit den Entmarkungsherden im Gehirn und deren Lokalisation im supratentoriellen und infratentoriellen Raum müssten die Gehirnschnitte der hier untersuchten Patienten mit den Ergebnissen der Rückenmarksquerschnitte verglichen werden. Eine solche Studie sprengt jedoch den Rahmen dieser Dissertation.

5.4. Neurone und die Inflammationsreaktion

Das spinale Mark multiple Sklerose Erkrankter zeichnet sich durch das markante Auftreten chronischer Herde aus und ist durch die überwiegende Anzahl ausgebrannter Plaques geprägt. In der vorliegenden Untersuchung kann eine Mikrogliareaktion nicht nur in frischen Läsionen beobachtet werden, sondern auch in der Umgebung von neuronalen Zellen. Im Verhältnis zu einer stark demyelinisierten grauen Substanz mit neuronalem Verlust und fehlender Mikrogliaaktivierung zeigt sich im statthabenden Entmarkungsprozess eine milde Invasion mikroglialer Zellen, auch in der Umgebung degenerierender Neurone.

Die beobachteten Phänomene können zum einen dem neuroaggressiven Verhalten der Mikroglia zugeschrieben werden oder aber als Konsequenz verloren gegangener neuroprotektiver Kapazität der mikroglialen Zellen interpretiert werden. Bereits aus Untersuchungen anderer neurodegenerativen Erkrankungen ist die enge Verbindung

zwischen Mikrogliaaktivierung und neuronalem Untergang bekannt (McGeer et al. 1988). Mikrogliazellen besitzen die Potenz, eine Schädigung des Nervengewebes durch die Sekretion vielfältiger individueller Faktoren, wie dem TNF-alpha und Fas-Ligand, Il-beta zu provozieren oder durch die Bildung von NO und freien Radikalen eine neuronale Degeneration zu bedingen (Chao et al. 1992; McGuire et al. 2001). Nervenzellen sind in der Lage, Mikrogliazellen selbst zu aktivieren und somit eine autodestruktive Neuron-Glia-Neuron-Schleife zu initiieren (Herdegen et al. 1997). Erwähnenswert sind hierbei die an neurodegenerativen Prozessen beteiligten Interleukine Il-1 und Il-6 wie bei M. Alzheimer (McGeer et al. 1988).

Takeuchi et al. wiesen eine durch aktivierte Mikroglia induzierte Schädigung von Neuriten als Bestandteil neuronaler Dysfunktion und neuronalem Tod nach (Takeuchi et al. 2005). Die Neurotoxizität aktivierter Mikroglia wird über den N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptor vermittelt. Die Neuritenschädigung tritt konkordant mit dem massiven Anstieg intrazellulären ATPs auf und mündet im neuronalen Tod. Die neuritischen Auftreibungen bestehen aus kollabiertem zytoskelettalen Protein und Proteinen aus Neuronen, welche durch die Schädigung im Transportsystem akkumulieren und sekundär einen zellulären Energieverlust verantworten (Takeuchi et al. 2005).

Die Astrocyten in der grauen Substanz des Rückenmarks

Es scheinen Unterschiede für das astrogliale Milieu zwischen der weißen und der grauen Substanz zu bestehen, prädisponiert durch die extensive Demyelinisierung der grauen Substanz. Die graue Substanz der untersuchten Rückenmarksschnitte zeigt eine mildere GFAP Markierung als die der weißen Substanz. Eine Erklärung kann in den phänotypischen Unterschieden zwischen den Astrocyten der weißen und denen der grauen Substanz bestehen (Nair et al. 2008). Welche Rolle spielen Astrocyten für die neuronale Degeneration bei der multiplen Sklerose?

Die neuronale Degeneration ist möglicherweise auf die schädigenden Einflüsse aktivierter Astrocyten und den von ihnen sezernierten Faktoren zurückzuführen. Astrocyten entwickeln ein neurotoxisches Potential in Folge der Aktivierung durch Interferon-gamma (Hashioka et al. 2008). In vivo Cytokin stimulierte Astrocyten produzieren neben Stickstoffmonoxid das toxische Peroxynitrit (ONOO⁻) und beteiligen sich hierin an der Pathogenese neurodegenerativer Prozesse (Heales et al. 1999). Bei 70% der MS Patienten ist eine erhöhte Konzentration von Nitrat und

Nitrit bestimmbar (Johnson et al. 1995). Des Weiteren kann eine gesteigerte Aktivität der NO-Synthase (NOS) des induzierbaren Typs (iNOS) in demyelinisierten Läsionen beobachtet und in Assoziation mit aktivierten Astrocyten betrachtet werden (Bo et al. 1994; Bagasra et al. 1995). Die Bildung der NO/ONOO⁻-Spezies kann durch Inhibierung von Bestandteilen der mitochondrialen Atmungskette direkt zu einer Neuron- und Oligodendrocytenschädigung führen (Stewart et al. 2000).

Neuroprotektion von Neuronen durch Astrocyten

Demgegenüber steht die protektive Wirkung der Astrocyten auf Neurone. Diese besteht in der Eliminierung des cytotoxisch wirkenden Glutamats (Liberto et al. 2004), der Produktion neuromodulatorischer Faktoren (Martin et al. 1992) sowie der Sezernierung von Cytokinen und Neurotrophinen, wie dem NGF, NT-3 und dem BDNF (Dreyfus et al. 1999). Eine zusätzlich gesteigerte Sekretion von BDNF und NGF kann nach nervaler Schädigung verzeichnet werden (Schwartz und Nishiyama 1994). Interleukine und der Tumorstromfaktor TGF-beta steigern die gliale Synthese von NGF. Zudem sind Astrocyten in der Lage, die Modulation synaptischer Aktivität zu beeinflussen (Haydon 2000), bis zu 45% der axoplasmatischen Synapsen zu ersetzen (Trapp et al. 2007) und somit die kommunikative und nutritive Versorgung aufrecht zu erhalten und für die neuronale Integrität Sorge zu tragen. Ein Verlust von Neuronen kann demnach auch durch das Versagen einer glialen Neuroprotektion verursacht sein.

Neurone als Quelle immunologisch wirksamer Signale

Inwieweit modulieren Neurone selbst ihre Degeneration und die Astrocyten und Mikroglia-reaktion?

Neuronale Zellen sind im Stande, immunologische Signalstoffe zu produzieren und sich selbst oder andere Zellen, wie die Glia, zu stimulieren. Neurone exprimieren Interleukine 1, 2, 6 und 8, Interferon, Fibroblastenwachstumsfaktor (FGF-1 und FGF-2) Tumorstromfaktor (TGF) und dem Tumornekrosefaktor-alpha (Herdegen et al. 1997). Neurone können Chemotaxie, Phagozytose und die Differenzierung von Gliazellen zu immunkompetenten Zellen mit Antigen-Antikörper-Reaktionen selbst provozieren und verstärken (Herdegen et al. 1997). Es besteht eine enge Neuron-Mikroglia-, Astrocyten-Neuron- und Mikroglia-Astrocyten-Interaktion. In diesen auto-regulativen Mechanismen steckt Potential, zum einen für das Verständnis der MS Erkrankung, zum anderen als Ansatzpunkt therapeutischen Handelns.

5.5. Veränderung der Gefäße im spinalen MS Mark

In der vorliegenden Untersuchung zeigen sich im mikroskopischen Bild auffallend zahlreiche und prominente Gefäße in der grauen und weißen Substanz, besonders auf Höhe des cervikalen Rückenmarks. Intraspinale Venen weisen verdickte Wände auf. Eine Korrelation zwischen der Gefäßpathologie und der neuronalen Degeneration kann nicht beobachtet und beschrieben werden.

Die verdickten Gefäße dürfen einerseits als Reaktion der vermehrt statthabenden Zelldurchwanderung und Invasion während der akuten Krankheitsphase interpretiert, andererseits als Resultat einer Entzündungsantwort verstanden werden.

Der Zusammenhang zwischen der beobachteten Gefäßpathologie und der neuronalen Degeneration

Die beobachtbare Gefäßpathologie der grauen Substanz steht in engem Zusammenhang mit den degenerativen Veränderungen der neuronalen Zellen. Denkbar ist eine Minderversorgung der Neurone des Vorderhorns und des zentralen Graus und eine hierin vermittelte Degeneration, begründet in der gesteigerten Sensibilität und Vulnerabilität des Vorderhorns für ischämische Schädigung (Nohda et al. 2007). Zudem zeigen bestimmte MS Läsionen verschiedene Charakteristiken ischämischer oder hypoxischer Schädigung (Mahad et al. 2008). Studien der normal erscheinenden weißen Substanz weisen auf Veränderungen in der Genregulierung hin, konsistent mit ischämischen Veränderungen und der Antwort auf Ischämie (Graumann et al. 2003).

Ein wichtiger Bestandteil in der Diskussion der Angiogenese im Rückenmark von MS Patienten ist der vascular endothelial growth factor

Der vascular endothelial growth factor (VEGF) ist ein potenter stimulierender Faktor für die Angiogenese und vaskuläre Permeabilität. Die Serumspiegel an VEGF korrelieren mit der Aktivität der MS-Erkrankung, sowie in zahlreichen anderen autoimmunen Leiden und fallen in ihrer Konzentration unter Anwendung der Standardtherapie (Carvalho et al. 2007). Vaskuläre Veränderungen in der MOG-Peptid-induzierten EAE der Maus sind begleitet von einer läsionsspezifischen Erhöhung des VEGF-Spiegels, Laminin Deposits und einer erhöhten Transkription anderer angiogenetischer Faktoren (Roscoe et al. 2009). Die Expression des VEGFs steigt während der akuten Krankheitsphase, besonders an dem Wendepunkt des

akut-inflammatorischen Geschehens in eine chronisch demyelinisierende Entwicklung (Kirk und Karlik 2003). Eine gesteigerte Expression des VEGFs ist besonders in demyelinisierten Herden zu beobachten. Dieser Umstand impliziert ebenfalls, dass Veränderungen der Vaskularität eine potentielle Komponente der Plaqueformation darstellen (Roscoe et al. 2009).

Die vermehrte Gefäßpräsenz ist Ausdruck einer Neoangiogenese

Kirk et al. gehen von einer signifikanten Rolle der Angiogenese in MS Läsionen aus und schreiben dieser einen krankheitsunterhaltenden Einfluss und eine progressionsunterstützende Funktion zu (Kirk et al. 2004). In Ihren vorherigen Untersuchungen korreliert die Anzahl der Gefäße mit pathologischen Scores der Klinik, der Inflammation, Infiltration und Demyelinisierung (Kirk und Karlik 2003).

Lisak et al. identifizierten die frühen Effekte von Cytokin-Mixturen auf bestimmte Moleküle, welche die vaskuläre Pathologie und die Angiogenese bedingen und ebenfalls eine Heraufregulierung bei Ischämie und Hypoxie aufwiesen (Lisak et al. 2009). In einer vorangegangenen Studie war es derselben Gruppe gelungen, die Hochregulierung für das Gen des VEGFs nachzuweisen (Lisak et al. 2007).

Die Heraufregulierung von VEGF könnte die endotheliale Zellproliferation bewirken, welche in einigen MS Läsionen beobachtet werden kann und mit lokaler Hypoxie und oligozytärem Zelltod in Verbindung zu stehen scheint, als sekundäre Reaktion auf das Entzündungsgeschehen verstanden werden kann. Die Veränderungen sind mit einer eventuellen selbständigen Induktion hypoxischer Schädigung assoziiert (Lisak et al. 2009).

Die beeindruckende Präsenz der Gefäße kann auch als eine vermeintliche „Überrepräsentanz“ durch den relativen Zellverlust der grauen und der weißen Substanz ohne verstärkte Neoangiogenese bedingt sein.

Alters bestimmende Faktoren der gefäßverändernden Prozesse

Die beobachtete Gefäßpathologie des Rückenmarks von MS Patienten fordert gleichzeitig die Beurteilung von altersbedingten Veränderungen und ihren zuschreibbaren Pathologien.

Altersbezogene Veränderungen des Gefäßstatus des spinalen Marks zeichnen sich durch Abnahme ventraler und zentraler Arterien pro Zentimeter aus, wobei die kapillare Dichte im anterioren Horn signifikant höher ist als die des posterioren. Auch

die kapillare Fülle der grauen Substanz weist mit dem Alter eine signifikante Abnahme auf (Qiu und Zhu 2004). Die unterschiedliche Dichte der kapillaren Versorgung der grauen und weißen Substanz des spinalen Marks deutet auf eine Adaptation an den metabolischen Bedarf der neuronalen Zellen hin (Qiu und Zhu 2004; Nohda et al. 2007). Zusammenfassend zeigt demnach die zu beobachtende Gefäßpathologie bei MS Patienten ein wichtiges Substrat, nicht nur für die Inflammation und Plaqueformation, sondern ganz besonders für die neuronale Degeneration.

Der Neuronverlust bedingt die Atrophie des spinalen Graus

In der vorliegenden Untersuchung zeichnet sich das Rückenmark durch eine Atrophie aus mit besonderer Betroffenheit der grauen Substanz. Die atrophischen Veränderungen sind am ehesten auf die Reduktion von neuronalen Zellen, Myelin und Axonen zurückzuführen, auch begründet in dem ausgebrannten Läsionsstatus des Rückenmarks der untersuchten MS Fälle. Gilmore et al. berichten trotz substantiellen Neuronverlustes des spinalen Marks von dem relativen Erhalt des Volumens der grauen Substanz (Gilmore et al. 2006). Demgegenüber steht die Atrophie der grauen Substanz des Cortex, welche auch ohne den Verlust neuronaler Dichte manifest werden kann (Wegner et al. 2006). Der Verlust von Neuronen und Myelin innerhalb des Rückenmarks ist möglicherweise auch zurückzuführen auf Ödem, Gliose oder Expansion der extrazellulären Matrix (Gilmore et al. 2008b). Für Letzteres besteht in unserem Material kein Anhalt.

5. 6. Heterogenität der Neuronpathologie

Regionale Heterogenität im Ausmaß der neuronalen Pathologie und der beeinflussenden Mechanismen

In der vorliegenden Untersuchung zeichnet sich die Heterogenität des neuronalen Verlustes durch eine intra- und interindividuelle Verschiedenheit aus.

Im Vergleich zu Kontrollpatienten weist das cervikale Rückenmark einen signifikanten Neuronverlust von 42,7% auf, mit betonter Betroffenheit der Ebene von C6. Das thorakale Rückenmark der untersuchten MS Patienten weist eine Reduktion der neuronalen Dichte von 47,3% auf. Eine Dichteabnahme der Interneurone des zentralen Graus ist zu verzeichnen.

Ähnliche Beobachtungen finden sich in der Literatur. Gilmore et al. (2008b) beschreiben eine Reduktion von 24% für das obere cervikale Rückenmark und eine Verminderung von 30% für das obere thorakale Rückenmark. Wegner et al. postulieren einen Verlust von 10% der neuronalen Zellen innerhalb demyelinisierter kortikaler Plaques (Wegner et al. 2006). Cifelli et al. berichten von einem 35%igem Verlust thalamischer Neurone (Cifelli et al. 2002). Gilmore et al. berichten ebenso von einer Reduktion des interneuronalen „cross-sectional“ Gebietes und einer Interneuronreduktion von 34% innerhalb der Läsionen (Gilmore et al. 2008b).

In der vorliegenden Arbeit war es möglich, unterschiedliche Muster der neuronalen Schädigung zu beschreiben: der Typ a mit Schädigung und Verlust neuronaler und interneuronaler Zellen im zentralen Bereich der grauen Substanz, dem Typ b der dissiminierten Betroffenheit einzelner Neuronengruppen der grauen Substanz und der Typ c, dem Verlust neuronaler Zellen von nur einem Kerngebiet. Diese unterschiedlichen Muster können mit besonderer Ausprägung im cervikalen Rückenmark alleine, aber auch nebeneinander auftreten.

Die Verschiedenheit der neuronalen Schädigungsmuster reflektiert die regionalen Unterschiede, aber auch die unterschiedliche Mechanismen der MS Erkrankung, bei jedem einzelnen Erkrankten und auch innerhalb des Patientenkollektivs.

Für diese regionale Variabilität scheinen vielzählige Faktoren, wie vorangegangen diskutiert, verantwortlich zu sein: das Ausmaß der Demyelinisierung der grauen und weißen Substanz, der Grad der axonalen Schädigung, die Beteiligung und Betroffenheit des neuroinflammatorischen Entzündungsgeschehens und die Sensibilität gegenüber schädigenden Einflüssen der einzelnen Neuronentypen und Neuronenpopulationen. Ein weiterer Aspekt für die intraindividuelle neuronale

Schädigung und seiner unterschiedlichen Pathomechanismen zeigt sich in der Empfindlichkeit gegenüber den Schädigungsmustern der retrograden und transneuronalen Degeneration der einzelnen Neuronengruppen. Während die retrograde neuronale Degeneration besonders in der grauen Substanz des Rückenmarks und der Cortex präsent ist, zeigt sich das Phänomen der transneuronalen Degeneration besonders prominent vertreten im Thalamus (Gilmore et al. 2008a).

Die neuronale Schädigung kann nicht nur als primäres Phänomen in den Anfangsstadien der MS Erkrankung betrachtet werden, charakterisiert durch neuronale Dysfunktion und elektrophysiologische Funktionsstörungen in der Axon-Neuron Interaktion. Besonders während der Entzündungsreaktion sind neuronale Zellen schädigenden Einflüssen ausgesetzt, direkt durch attackierende T-Zellen oder toxische Agentien des Liquors, indirekt durch schädigende inflammatorische Mediatoren. Als sekundäres Phänomen unterliegt der neuronale Untergang auch den Mechanismen der axonalen Degeneration. Axonale Dephosphorylierung als Ausdruck mangelnder Energieversorgung, Akkumulation neurofilamentärer Proteine und axonale Auftreibungen als Charakteristikum des gestörten axonalen Transportes bedingen die metabotrophischen Funktionsstörungen des retrograd geschädigten Neurons, verantworten dessen Degeneration und Induktion der neuronale Apoptose. Der Anstoss des neurodegenerativen Geschehens ist durch neuroprotektive Faktoren bedingt reversibel und aufhaltbar. Neurotrophine, welche autoprotektiv von Neurone sezerniert werden und nachweislich auch Sekretionsbestandteil inflammatorischer Zellen sein können, dienen dem Überleben von Neuronen. Zudem bestehen Hinweise für neuroprotektive Eigenschaften von Entzündungszellen und Cytokinen. Bis zu einem gewissen Punkt ist demnach die neuronale Pathologie reversibel. Wendet sich jedoch dieses Geschehen in Richtung Destruktion und Zelluntergang, ist der neuronale Verlust definitiv. Infolge der untergehenden neuronalen Zellen lichtet sich das neuronale Netzwerk, transneuronalen Projektionen schwinden, die interneuronale Kommunikation lässt nicht zuletzt durch Abnahme synaptischer Kontakte nach. In Folge dieses degenerativen Prozesses erfahren inflammatorische Zellen eine erneute Aktivierung und eine Progression im Krankheitsgeschehen der multiplen Sklerose ist besiegelt. Verloren gegangenes Gewebe wird durch die Astroglia gedeckt. Die beeinflussenden Mechanismen sind nur wenig verstanden.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Unter der Fragestellung der neuronalen Degeneration bei spinaler multipler Sklerose wurde das Rückenmark von 27 in den Jahren 1977 bis 2000 obduzierten MS Patienten im Vergleich mit 29 Kontrollfällen ähnlichen Jahrganges und Alters untersucht.

Neben immunhistochemischen Untersuchungen und der Darstellung pathologischer Zellveränderungen fand eine Quantifikation der Neurone für die cervikalen und thorakalen Abschnitte des Rückenmarks statt. Im Vergleich zu den 29 Kontrollfällen stellt sich für die MS Erkrankten ein statistisch signifikanter neuronaler Verlust ($p < 0,05$) um 43% für das cervikalen und 47% für das thorakale Rückenmark dar. In der Histopathologie lässt sich für das spinale Mark der Verlust großer multipolarer Ganglienzellen nachweisen, wobei aber auch zentral gelegene Interneurone reduziert erscheinen. Eine differenzierte Betroffenheit verschiedener Zellgruppen mit Bevorzugung der Ncl. motorii lässt sich beschreiben. Die graue Substanz erscheint deutlich gelichtet und zellverarmt. Außer dem Neuronverlust in der grauen Substanz wurden die Entmarkungsvorgänge untersucht. Für die graue Substanz lassen sich unterschiedliche Demyelinisierungsmuster beschreiben, wobei der Grenzzonentyp, bei dem die Demyelinisierung zwischen der grauen und angrenzenden weißen Substanz lokalisiert ist, überwiegt. Eine intra- und interindividuelle Varianz lässt sich beobachten. Neben einem relativen Axonverlust der grauen Substanz zeigen sich ebenfalls Veränderungen im Phosphorylierungsstatus. Axone in der unmittelbaren Nachbarschaft degenerierender Neurone erscheinen dephosphoryliert und sind ebenfalls eine Erscheinung in Grenzgebieten chronischer MS Läsionen. Ein Zusammenhang zwischen axonaler Dephosphorylierung, axonalem Verlust und neuronaler Degeneration ist skizzierbar, wobei auch hier eine differenzierte lokale Betroffenheit in Erscheinung tritt.

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit bestand in der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen gefäßverändernden Prozessen und der neuronalen Degeneration. Aus der Interpretation der beobachteten Gefäßpathologie ergibt sich die Möglichkeit einer durch Hypoxie induzierten Genese von Läsionen der grauen Substanz und des neuronalen Verlustes. Die beschriebene Vermehrung von Gefäßen kann als mögliches Resultat einer Neoangiogenese im Sinne einer kompensatorischen Ausschüttung von Wachstumsfaktoren gedeutet werden oder aus der Atrophie des nervösen Gewebes resultieren.

Eine inflammatorische Aktivität konnte nur in sehr wenigen histopathologischen Schnitten beobachtet werden. Die graue Substanz imponierte hierbei im Vergleich zur weißen Substanz durch eine mildere Inflammationsreaktion. Da es sich in der vorliegenden Arbeit um die Untersuchung von Sektionsmaterial handelt, welches hauptsächlich von Patienten im chronischen Stadium der MS Erkrankung stammt, ist eine zeitliche Zuordnung der Pathogenese nur bedingt möglich.

Die Neurondegeneration führt zu Veränderungen im neuronalen Gewebe und zu Unterbrechungen interneuroner Kommunikationsprozesse mit Modifikation metabolischer und toxischer Effekte. Eine vornehmliche Schädigung der Interneurone wirkt sich negativ auf den neuronalen Erregungsablauf, auf Kommunikation und Projektionsprozesse aus. Inwieweit entzündliche Prozesse hierbei eine Rolle spielen, bleibt, basierend auf den vorliegenden Ergebnissen aus der Histopathologie, vorerst unklar. Eine Veränderung in der Qualität und Quantität der inflammatorischen Antwort während der einzelnen Phasen der MS Erkrankung ist wahrscheinlich.

Aus der dargestellten neuronalen Degeneration und dem Verlust neuronaler Zellen im Rückenmark von MS Patienten ergibt sich zwangsläufig die Forderung nach einer frühen und konsequent durchgeführten neuroprotektiven und neuroregenerativen Behandlung. Es besteht die dringende Notwendigkeit eines verbesserten Verständnisses um neurodegenerative Prozesse sowie einer Entwicklung suffizienter neuroprotektiver Therapiestrategien. Zudem bedarf es weiterer ausführlicher Studien zur Genese und Pathologie des neuronalen Unterganges.

7. Literaturverzeichnis

- Agosta, F., B. Benedetti, M. A. Rocca, P. Valsasina, M. Rovaris, G. Comi and M. Filippi (2005). "Quantification of cervical cord pathology in primary progressive MS using diffusion tensor MRI." *Neurology* **64**(4): 631-5.
- Aktas, O., A. Smorodchenko, S. Brocke, C. Infante-Duarte, U. Schulze Toppfaff, J. Vogt, T. Prozorovski, S. Meier, V. Osmanova, E. Pohl, I. Bechmann, R. Nitsch and F. Zipp (2005). "Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL." *Neuron* **46**(3): 421-32.
- Aktas, O., O. Ullrich, C. Infante-Duarte, R. Nitsch and F. Zipp (2007). "Neuronal damage in brain inflammation." *Arch Neurol* **64**(2): 185-9.
- Albert, M., J. Antel, W. Brück and C. Stadelmann (2007). "Extensive cortical remyelination in patients with chronic multiple sclerosis." *Brain Pathol* **2**: 129-38.
- Altman, J. and S. A. Bayer (2001). *Development of the human spinal cord, An Interpretation Based on Experimental Studies in Animals*. Oxford, Oxford University Press.
- Anthony, D. C., K. M. Miller, S. Fearn, M. J. Townsend, G. Opdenakker, G. M. Wells, J. M. Clements, S. Chandler, A. J. Gearing and V. H. Perry (1998). "Matrix metalloproteinase expression in an experimentally-induced DTH model of multiple sclerosis in the rat CNS." *J Neuroimmunol.* **87**(1-2): 62-72.
- Armand, J., Y. Padel and A. M. Smith (1974). "Somatotopic organization of the corticospinal tract in cat motor cortex." *Brain Res* **74**(2): 209-27.
- Arundine, M. and M. Tymianski (2003). "Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity." *Cell Calcium* **34**(4-5): 325-37.
- Azoulay, D., N. Urshansky and A. Karni (2008). "Low and dysregulated BDNF secretion from immune cells of MS patients is related to reduced neuroprotection." *J Neuroimmunol.* **195**(1-2): 186-93.
- Babinski, J. (1885). "Recherches sur l'anatomie pathologique de la sclerose en plaque et etude comparative des diverses varietes de la sclerose de la moelle." *Arch. Physiol. (Paris)* **5-6**: 186-207.
- Bagasra, O., F. H. Michaels, Y. M. Zheng, L. E. Bobroski, S. V. Spitsin, Z. F. Fu, R. Tawadros and H. Koprowski (1995). "Activation of the inducible form of nitric oxide synthase in the brains of patients with multiple sclerosis." *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**(26): 12041-5.
- Bakshi, R., R. H. Benedict, R. A. Bermel and L. Jacobs (2001). "Regional brain atrophy is associated with physical disability in multiple sclerosis: semiquantitative magnetic resonance imaging and relationship to clinical findings." *J Neuroimaging* **11**(2): 129-36.
- Barber, R. P., P. E. Phelps, C. R. Houser, G. D. Crawford, P. M. Salvaterra and J. E. Vaughn (1984). "The morphology and distribution of neurons containing choline acetyltransferase in the adult rat spinal cord: an immunocytochemical study." *J Comp Neurol* **229**(3): 329-46.
- Barnett, M. H. and J. W. Prineas (2004). "Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion." *Ann Neurol* **55**(4): 458-68.
- Bartos, A., L. Fialová, J. Soukupová, J. Kukal, I. Malbohan and J. Pitha (2007). "Antibodies against light neurofilaments in multiple sclerosis patients." *Acta Neurol Scand* **166**(2): 100-7.
- Beal, J. A., J. E. Penny and H. R. Bicknell (1981). "Structural diversity of marginal (lamina I) neurons in the adult monkey (*Macaca mulatta*) lumbosacral spinal cord: a golgi study." *J Comp Neurol* **202**(2): 237-54.
- Bermel, R. A., M. D. Innus, C. W. Tjoa and R. Bakshi (2003). "Selective caudate atrophy in multiple sclerosis: a 3D MRI parcellation study." *Neuroreport* **14**(3): 335-9.
- Beseler, A. (2009). Über den akuten Axonschaden während der ersten klinischen Ereignisse einer multiplen Sklerose -eine neuropathologische Arbeit mit klinischen Korrelationen. *Institut für Neuropathologie*. Berlin, Charité Universitätsmedizin Berlin.
- Bidmon, H. J., V. Jancsik, A. Schleicher, G. Hagemann, O. W. Witte, P. Woodhams and K. Zilles (1998). "Structural alterations and changes in cytoskeletal proteins and proteoglycans after focal cortical ischemia." *Neuroscience* **82**(2): 397-420.
- Bien, C., J. Bauer, T. Deckwerth, H. Wiendl, M. Deckert and O. Wiestler (2002). "Destruction of neurons by cytotoxic T cells: a new pathogenic mechanism in Rasmussen's encephalitis." *Ann Neurol* **51**: 311-318.
- Bitsch, A., J. Schuchardt, S. Bunkowski, T. Kuhlmann and W. Bruck (2000). "Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation." *Brain* **123** (Pt 6): 1174-83.
- Bjartmar, C., G. Kidd, S. Mork, R. Rudick and B. D. Trapp (2000). "Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients." *Ann Neurol* **48**(6): 893-901.

- Bjartmar, C., R. Kinkel, G. Kidd, R. Rudick and B. Trapp (2001). "Axonal loss in normal-appearing white matter in a patient with acute MS." *Neurology* **57**: 1248-1252.
- Bjartmar, C., J. R. Wujek and B. D. Trapp (2003). "Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease." *J Neurol Sci* **206**(2): 165-71.
- Blanco, Y., M. Gomez-Choco, J. L. Arostegui, B. Casanova, J. E. Martinez-Rodriguez, I. Bosca, E. Munteis, J. Yague, F. Graus and A. Saiz (2006). "No association of the Val66Met polymorphism of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) to multiple sclerosis." *Neurosci Lett* **396**(3): 217-9.
- Blokhin, A., T. Vyshkina, S. Komoly and B. Kalman (2008a). "Lack of mitochondrial DNA deletions in lesions of multiple sclerosis." *Neuromolecular Med* **10**(3): 187-94.
- Blokhin, A., T. Vyshkina, S. Komoly and B. Kalman (2008b). "Variations in mitochondrial DNA copy numbers in MS brains." *J Mol Neurosci* **35**(3): 283-7.
- Bo, L., T. M. Dawson, S. Wesselingh, S. Mork, S. Choi, P. A. Kong, D. Hanley and B. D. Trapp (1994). "Induction of nitric oxide synthase in demyelinating regions of multiple sclerosis brains." *Ann Neurol* **36**(5): 778-86.
- Bø, L., C. A. Vedeler, H. Nyland, B. D. Trapp and S. J. Mørk (2003). "Intracortical multiple sclerosis lesions are not associated with increased lymphocyte infiltration." *Mult Scler*, **9**(4): 323-31.
- Bö, Z., C. Vedeler, H. Nyland, B. Trapp and S. Mork (2003). "Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients." *J Neuropathol Exp Neurol* **62**: 723-732.
- Bolanos, J. P., A. Almeida, V. Stewart, S. Peuchen, J. M. Land, J. B. Clark and S. J. Heales (1997). "Nitric oxide-mediated mitochondrial damage in the brain: mechanisms and implications for neurodegenerative diseases." *J Neurochem* **68**(6): 2227-40.
- Bozzali, M., M. Cercignani, M. P. Sormani, G. Comi and M. Filippi (2002). "Quantification of brain gray matter damage in different MS phenotypes by use of diffusion tensor MR imaging." *AJNR Am J Neuroradiol* **23**(6): 985-8.
- Brown, A. G., P. K. Rose and P. J. Snow (1977). "The morphology of spinocervical tract neurones revealed by intracellular injection of horseradish peroxidase." *J Physiol* **270**(3): 747-64.
- Brown, P. B. and J. L. Culbertson (1981). "Somatotopic organization of hindlimb cutaneous dorsal root projections to cat dorsal horn." *J Neurophysiol* **45**(1): 137-43.
- Brownell, B. and J. T. Hughes (1962). "The distribution of plaques in the cerebrum in multiple sclerosis." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **25**: 315-20.
- Bruce, A. (1901). *A topographical Atlas of the Spinal Cord*. London, Williams.
- Brück, W., T. Kuhlmann and C. Stadelmann (2003). "Remyelination in multiple sclerosis." *J Neurol Sci* **206**(2): 181-5.
- Burstein, R., K. D. Cliffer and G. J. Giesler, Jr. (1987). "Direct somatosensory projections from the spinal cord to the hypothalamus and telencephalon." *J Neurosci* **7**(12): 4159-64.
- Butcher, E. C. and L. J. Picker (1996). "Lymphocyte homing and homeostasis." *Science* **272**(5258): 60-6.
- Carvalho, J. F., M. Blank and Y. Shoenfeld (2007). "Vascular endothelial growth factor (VEGF) in autoimmune diseases." *J Clin Immunol* **27**(3): 246-56.
- Chao, C. C., S. Hu, T. W. Molitor, E. G. Shaskan and P. K. Peterson (1992). "Activated microglia mediate neuronal cell injury via a nitric oxide mechanism." *J Immunol* **149**(8): 2736-41.
- Charcot, J. M. (1868). "Histologie de la sclerose en plaque." *Gaz Hospital (Paris)* **41**: 554-566.
- Charcot, J. M. (1880). "Lecons sur les maladies du systeme nerveux faites a la Salpetiere." *Tome 1*, 4e ed. Paris.
- Chard, D., P. Brex, O. Ciccarelli, C. Griffin, G. Parker, C. Dalton, D. Altmann, A. Thompson and D. Miller (2003). "The longitudinal relation between brain lesion load and atrophy in multiple sclerosis: a 14 year follow up study." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **74**: 1551-1554.
- Chard, D. T., C. M. Griffin, G. J. Parker, R. Kapoor, A. J. Thompson and D. H. Miller (2002). "Brain atrophy in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis." *Brain* **125**(Pt 2): 327-37.
- Cheng, B. and M. Mattson (1991). "NGF and bFGF protect rat hippocampal and human cortical neurons against hypoglycemic damage by stabilizing calcium homeostasis." *Neuron* **7**: 1031-41.
- Cifelli, A., M. Arridge, P. Jezard, M. M. Esiri, J. Palace and P. M. Matthews (2002). "Thalamic neurodegeneration in multiple sclerosis." *Ann Neurol* **52**(5): 650-3.
- Clarke, J. L. (1851). *Researches into the structure of the spinal cord*, Philosophical Transactions of the Royal Society.
- Clarke, J. L. (1859). *Further researches on the gray substance of the spinal cord*, Philosophical transactions of the Royal Society.
- Craig, A. D. (1995). "Distribution of brainstem projections from spinal lamina I neurons in the cat and the monkey." *J Comp Neurol* **361**(2): 225-48.

- Dalton, C. M., D. T. Chard, G. R. Davies, K. A. Miszkiel, D. R. Altmann, K. Fernando, G. T. Plant, A. J. Thompson and D. H. Miller (2004). "Early development of multiple sclerosis is associated with progressive grey matter atrophy in patients presenting with clinically isolated syndromes." *Brain* **127**(Pt 5): 1101-7.
- De Stefano, N., P. M. Matthews, M. Filippi, F. Agosta, M. De Luca, M. L. Bartolozzi, L. Guidi, A. Ghezzi, E. Montanari, A. Cifelli, A. Federico and S. M. Smith (2003). "Evidence of early cortical atrophy in MS: relevance to white matter changes and disability." *Neurology* **60**(7): 1157-62.
- DeLuca, G. C., G. C. Ebers and M. M. Esiri (2004). "Axonal loss in multiple sclerosis: a pathological survey of the corticospinal and sensory tracts." *Brain* **127**(Pt 5): 1009-18.
- Diem, R., M. Hobom, K. Maier, R. Weissert, M. K. Storch, R. Meyer and M. Bahr (2003a). "Methylprednisolone increases neuronal apoptosis during autoimmune CNS inflammation by inhibition of an endogenous neuroprotective pathway." *J Neurosci* **23**(18): 6993-7000.
- Diem, R., R. Meyer, J. Weishaupt and M. Bahr (2001). "Reduction of potassium currents and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent AKT phosphorylation by tumor necrosis factor- α rescues axotomized retinal ganglion cells from retrograde cell death in vivo." *J Neurosci* **21**(6): 2058-66.
- DiMauro, S. and E. Schon (2003). "Mitochondrial respiratory-chain diseases." *N Engl J Med.* **348**(26): 2656-68.
- Djoughri, L. and E. Jankowska (1998). "Indications for coupling between feline spinocervical tract neurones and midlumbar interneurones." *Exp Brain Res.* **119**(1): 39-46.
- Doinikov, B. (1915). "Über die De- und Regenerationserscheinungen an den Achsenzylindern bei der multiplen Sklerose." *Z. ges Neurol. Psychiat.* **27**: 151-178.
- Downen, M., T. Amaral, L. Hua, M. Zhao and S. Lee (1999). "Neuronal death in cytokine-activated primary human brain cell culture: role of tumor necrosis factor- α ." *Glia* **28**: 114-127.
- Dreyfus, C., X. Dai, L. Lercher, B. Racey, W. Friedman and I. Black (1999). "Expression of neurotrophins in the adult spinal cord in vivo." *J Neurosci Res* **56**(1): 1-7.
- Du, Y. and C. Dreyfus (2002). "Oligodendrocytes as providers of growth factors." *J Neurosci Res* **68**: 647-654.
- Dutta, R., J. McDonough, X. Yin, J. Peterson, A. Chang, T. Torres, T. Gudz, W. Macklin, D. Lewis, R. Fox, R. Rudick, K. Mirnics and B. Trapp (2006). "Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients." *Ann Neurol.* **59**(3): 478-89.
- Ebers, G. C., A. D. Sadovnick and N. J. Risch (1995). "A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group." *Nature* **377**(6545): 150-1.
- Edwards, M. K., M. R. Farlow and J. C. Stevens (1986). "Cranial MR in spinal cord MS: diagnosing patients with isolated spinal cord symptoms." *AJNR Am J Neuroradiol* **7**(6): 1003-5.
- Ehling, R., A. Lutterotti, J. Wanschitz, M. Khalil, C. Gneiss, F. Deisenhammer, M. Reindl and T. Berger (2004). "Increased frequencies of serum antibodies to neurofilament light in patients with primary chronic progressive multiple sclerosis." *Mult Scler* **10**(6): 601-6.
- Eikelenboom, M., A. Petzold, R. Lazeron, E. Silber, M. Sharief, E. Thompson, F. Barkhof, G. Giovannoni, C. Polman, B. Uitdehaag and Neurology (2003). "Multiple sclerosis: Neurofilament light chain antibodies are correlated to cerebral atrophy." *Neurology* **60**(2): 219-23.
- Emerit, J., M. Edeas and F. Bricaire (2004). "Neurodegenerative diseases and oxidative stress." *Biomed Pharmacother* **58**(1): 39-46.
- Eng, L. F. and Y. L. Lee (1995). *Intermediate filaments in astrocytes*, Oxford University Press.
- Eng, L. F., J. J. Vanderhaeghen, A. Bignami and B. Gerstl (1971). "An acidic protein isolated from fibrous astrocytes." *Brain Res.* **28**(2): 351-4.
- Evangelou, N., G. C. DeLuca, T. Owens and M. M. Esiri (2005). "Pathological study of spinal cord atrophy in multiple sclerosis suggests limited role of local lesions." *Brain* **128**(Pt 1): 29-34.
- Evangelou, N., M. M. Esiri, S. Smith, J. Palace and P. M. Matthews (2000). "Quantitative pathological evidence for axonal loss in normal appearing white matter in multiple sclerosis." *Ann Neurol* **47**(3): 391-5.
- Evangelou, N., D. Konz, M. Esiri, S. Smith, J. Palace and P. Matthews (2001). "Size-selective neuronal changes in the anterior optic pathways suggest a differential susceptibility to injury in multiple sclerosis." *Brain* **124**: 1813-20.
- Ferguson, B., M. K. Matyszak, M. M. Esiri and V. H. Perry (1997). "Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions." *Brain* **120**(Pt3): 393-9.
- Foroghian, F., R. Cheung, W. Smith, P. O'Connor and H. Dosch (2007). "Enolase and arrestin are novel nonmyelin autoantigens in multiple sclerosis." *J Clin Immunol.* **27**(4): 388-96.
- Fraenkel, M. and A. Jakob (1913). "Zur Pathologie der multiplen Sklerose mit besonderer Berücksichtigung der akuten Formen." *Z. Neurol.* **14**: 565-603.

- Fry, F. and W. Cowan (1972). "A study of retrograde cell degeneration in the lateral mammillary nucleus of the cat, with special reference to the role of axonal branching in the preservation of the cell." *J Comp Neurol* **144**: 1-23.
- Gale, C. R. and C. N. Martyn (1995). "Migrant studies in multiple sclerosis." *Prog Neurobiol* **47**(4-5): 425-48.
- Ganter, P., C. Prince and M. M. Esiri (1999). "Spinal cord axonal loss in multiple sclerosis: a post-mortem study." *Neuropathol Appl Neurobiol* **25**(6): 459-67.
- Ge, Y., R. I. Grossman, J. K. Udupa, J. S. Babb, L. G. Nyul and D. L. Kolson (2001). "Brain atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis: fractional volumetric analysis of gray matter and white matter." *Radiology* **220**(3): 606-10.
- Gelfan, S., G. Kao and D. S. Ruchkin (1970). "The dendritic tree of spinal neurons." *J Comp Neurol.* **139**(4): 385-411.
- Geurts, J. J. and F. Barkhof (2008). "Grey matter pathology in multiple sclerosis." *Lancet Neurol* **7**(9): 841-51.
- Geurts, J. J., L. Bo, P. J. Pouwels, J. A. Castelijns, C. H. Polman and F. Barkhof (2005). "Cortical lesions in multiple sclerosis: combined postmortem MR imaging and histopathology." *AJNR Am J Neuroradiol* **26**(3): 572-7.
- Gilmore, C. P., L. Bo, T. Owens, J. Lowe, M. M. Esiri and N. Evangelou (2006). "Spinal cord gray matter demyelination in multiple sclerosis-a novel pattern of residual plaque morphology." *Brain Pathol* **16**(3): 202-8.
- Gilmore, C. P., G. C. Deluca, L. Bo, T. Owens, J. Lowe, M. M. Esiri and N. Evangelou (2008b). "Spinal Cord Neuronal Pathology in Multiple Sclerosis." *Brain Pathol*.
- Gilmore, C. P., I. Donaldson, L. Bö, T. Owens, J. Lowe and N. Evangelou (2008a). "Regional variations in the extent and pattern of grey matter demyelination in Multiple Sclerosis: a comparison between the cerebral cortex, cerebellar cortex, deep grey matter nuclei and the spinal cord." *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.
- Giuliani, F., C. G. Goodyer, J. P. Antel and V. W. Yong (2003). "Vulnerability of human neurons to T cell-mediated cytotoxicity." *J Immunol* **171**(1): 368-79.
- Gobel, S., W. M. Falls, G. J. Bennett, M. Abdelmoumene, H. Hayashi and E. Humphrey (1980). "An EM analysis of the synaptic connections of horseradish peroxidase-filled stalked cells and islet cells in the substantia gelatinosa of adult cat spinal cord." *J Comp Neurol* **194**(4): 781-807.
- Gonsette, R. E. (2008). "Oxidative stress and excitotoxicity: a therapeutic issue in multiple sclerosis?" *Mult Scler* **14**(1): 22-34.
- Grady, M. S., M. R. McLaughlin, C. W. Christman, A. B. Valadka, C. L. Fligner and J. T. Povlishock (1993). "The use of antibodies targeted against the neurofilament subunits for the detection of diffuse axonal injury in humans." *Neuropathol Exp Neurol J.* **52**(2): 143-52.
- Graumann, U., R. Reynolds, A. J. Steck and N. Schaeren-Wiemers (2003). "Molecular changes in normal appearing white matter in multiple sclerosis are characteristic of neuroprotective mechanisms against hypoxic insult." *Brain Pathol* **13**(4): 554-73.
- Greter, M., F. L. Heppner, M. P. Lemos, B. M. Odermatt, N. Goebels, T. Laufer, R. J. Noelle and B. Becher (2005). "Dendritic cells permit immune invasion of the CNS in an animal model of multiple sclerosis." *Nat Med* **11**(3): 328-34.
- Haines, J. L., M. Ter-Minassian, A. Bazyk, J. F. Gusella, D. J. Kim, H. Terwedow, M. A. Pericak-Vance, J. B. Rimmler, C. S. Haynes, A. D. Roses, A. Lee, B. Shaner, M. Menold, E. Seboun, R. P. Fitoussi, C. Gartioux, C. Reyes, F. Ribierre, G. Gyapay, J. Weissenbach, S. L. Hauser, D. E. Goodkin, R. Lincoln, K. Usuku, J. R. Oksenberg and et al. (1996). "A complete genomic screen for multiple sclerosis underscores a role for the major histocompatibility complex. The Multiple Sclerosis Genetics Group." *Nat Genet* **13**(4): 469-71.
- Hammarberg, H., O. Lidman, C. Lundberg, S. Eltayeb, A. Gielen, S. Muhallab, A. Svenningsson, H. Lindå, P. van Der Meide, S. Cullheim, T. Olsson and F. Piehl (2000). "Neuroprotection by encephalomyelitis: rescue of mechanically injured neurons and neurotrophin production by CNS-infiltrating T and natural killer cells." *J Neurosci.* **20**(14): 5283-91.
- Hashioka, S., A. Klegeris, C. Schwab and P. L. McGeer (2008). "Interferon-gamma-dependent cytotoxic activation of human astrocytes and astrocytoma cells." *Neurobiol Aging*.
- Haydon, P. (2000). "Neuroglial networks: neurons and glia talk to each other." *Curr Biol.* **10**(19): 712-4.
- Hayes, N. L. and A. Rustioni (1981). "Descending projections from brainstem and sensorimotor cortex to spinal enlargements in the cat. Single and double retrograde tracer studies." *Exp Brain Res* **41**(2): 89-107.
- Heales, S. J., J. P. Bolanos, V. C. Stewart, P. S. Brookes, J. M. Land and J. B. Clark (1999). "Nitric oxide, mitochondria and neurological disease." *Biochim Biophys Acta* **1410**(2): 215-28.

- Herdegen, T., T. Tölle and M. Bähr (1997). Klinische Neurobiologie: Molekulare Pathogenese und Therapie von neurobiologischen Erkrankungen. Heidelberg, Oxford, Berlin, Thomas Herdegen.
- Hirokawa, N., M. A. Glicksman and M. B. Willard (1983). "Organization of mammalian neurofilament polypeptides within the neuronal cytoskeleton." J Cell Biol **98**(4): 1523-36.
- Hisahara, S., J. Yuan, T. Momoi, H. Okano and M. Miura (2001). "Caspase-11 mediates oligodendrocyte cell death and pathogenesis of autoimmune-mediated demyelination." J Exp Med **193**(1): 111-22.
- Hittmair, K., R. Mallek, D. Prayer, E. G. Schindler and H. Kollegger (1996). "Spinal cord lesions in patients with multiple sclerosis: comparison of MR pulse sequences." AJNR Am J Neuroradiol. **17**(8): 1555-65.
- Hobom, M., M. K. Storch, R. Weissert, K. Maier, A. Radhakrishnan, B. Kramer, M. Bahr and R. Diem (2004). "Mechanisms and time course of neuronal degeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis." Brain Pathol **14**(2): 148-57.
- Hof, P. R., K. Cox and J. H. Morrison (1990). "Quantitative analysis of a vulnerable subset of pyramidal neurons in Alzheimer's disease: I. Superior frontal and inferior temporal cortex." J Comp Neurol **301**(1): 44-54.
- Hohlfeld, R. and H. Wekerle (2004). "Autoimmune concepts of multiple sclerosis as a basis for selective immunotherapy: from pipe dreams to (therapeutic) pipelines." Proc Natl Acad Sci U S A **5**(101 Suppl 2): 14599-606.
- Holtzman, D., R. Sheldon, W. Jaffe, Y. Cheng and D. Ferriero (1996). "Nerve growth factor protects the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury." Ann Neurol **39**: 114-22.
- Hongo, T., E. Jankowska and A. Lundberg (1969). "The rubrospinal tract. I. Effects on alpha-motoneurons innervating hindlimb muscles in cats." Exp Brain Res **7**(4): 344-64.
- Hongo, T., S. Kitazawa, Y. Ohki, M. Sasaki and M. C. Xi (1989). "A physiological and morphological study of premotor interneurons in the cutaneous reflex pathways in cats." Brain Res **505**(1): 163-6.
- Hughes, R. A. and P. D. O'Leary (1996). "Neurotrophic factors and the development of drugs to promote motoneuron survival." Clin Exp Pharmacol Physiol **23**(10-11): 965-9.
- Huizinga, R., W. Gerritsen, N. Heijmans and S. Amor (2008). "Axonal loss and gray matter pathology as a direct result of autoimmunity to neurofilaments." Neurobiol Dis. **32**(2): 461-70.
- Huizinga, R., R. Hintzen, K. Assink, M. van Meurs and S. Amor (2009). "T-cell responses to neurofilament light protein are part of the normal immune repertoire." Int Immunol.
- Illert, M., E. Jankowska, A. Lundberg and A. Odutola (1981). "Integration in descending motor pathways controlling the forelimb in the cat. 7. Effects from the reticular formation on C3-C4 propriospinal neurones." Exp Brain Res **42**(3-4): 269-81.
- Jakob, A. (1915). "Zur Pathologie der diffusen infiltrativen Enzephalomyelitis in ihren Beziehungen zur diffusen multiplen Sklerose." Z. ges Neurol. Psychiat **27**: 290-320.
- Jankowska, E. and S. Lindstrom (1972). "Morphology of interneurons mediating Ia reciprocal inhibition of motoneurons in the spinal cord of the cat." J Physiol **226**(3): 805-23.
- Jankowska, E., A. Lundberg and D. Stuart (1973). "Propriospinal control of last order interneurons of spinal reflex pathways in the cat." Brain Res **53**(1): 227-31.
- Johnson, A. W., J. M. Land, E. J. Thompson, J. P. Bolanos, J. B. Clark and S. J. Heales (1995). "Evidence for increased nitric oxide production in multiple sclerosis." J Neurol Neurosurg Psychiatry **58**(1): 107.
- Kaelan, C., P. Jacobsen and B. Kakulas (1988). "An investigation of possible transynaptic neuronal degeneration in human spinal cord injury." J Neurol Sci **86**: 231-237.
- Keegan, B. M. and J. H. Noseworthy (2002). "Multiple sclerosis." Annu Rev Med. **53**: 285-302.
- Kerr, J. F., A. H. Wyllie and A. R. Currie (1972). "Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics." Br J Cancer **26**(4): 239-57.
- Kidd, D., F. Barkhof, R. McConnell, P. R. Algra, I. V. Allen and T. Revesz (1999). "Cortical lesions in multiple sclerosis." Brain **122**(Pt 1): 17-26.
- Kidd, D., J. Thorpe, A. Thompson, B. Kendall, I. Moseley, D. MacManus, W. McDonald and D. Miller (1993). "Spinal cord MRI using multi-array coils and fast spin echo. II. Findings in multiple sclerosis." Neurology **43**(12): 2632-7.
- Kirk, S., J. A. Frank and S. Karlik (2004). "Angiogenesis in multiple sclerosis: is it good, bad or an epiphenomenon?" J Neurol Sci **217**(2): 125-30.
- Kirk, S. L. and S. J. Karlik (2003). "VEGF and vascular changes in chronic neuroinflammation." J Autoimmun **21**(4): 353-63.
- Knowles, R. B., T. Gomez-Isla and B. T. Hyman (1998). "Abeta associated neuropil changes: correlation with neuronal loss and dementia." J Neuropathol Exp Neurol **57**(12): 1122-30.

- Kornek, B. and H. Lassmann (1999). "Axonal pathology in multiple sclerosis. A historical note." *Brain Pathol* **9**(4).
- Kornek, B., M. K. Storch, J. Bauer, A. Djamshidian, R. Weissert, E. Wallstroem, A. Stefferl, F. Zimprich, T. Olsson, C. Linington, M. Schmidbauer and H. Lassmann (2001). "Distribution of a calcium channel subunit in dystrophic axons in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis." *Brain* **124**(Pt 6): 1114-24.
- Kornek, B., M. K. Storch, R. Weissert, E. Wallstroem, A. Stefferl, T. Olsson, C. Linington, M. Schmidbauer and H. Lassmann (2000). "Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive, and remyelinated lesions." *Am J Pathol* **157**(1): 267-76.
- Kuhlmann, T., G. Lingfeld, A. Bitsch, J. Schuchardt and W. Brück (2002). "Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time." *Brain* **125**(Pt 10): 2202-12.
- Kuno, M., E. J. Munoz-Martinez and M. Randic (1973). "Sensory inputs to neurones in Clarke's column from muscle, cutaneous and joint receptors." *J Physiol* **228**(2): 327-42.
- Kurnellas, M. P., K. C. Donahue and S. Elkabes (2007). "Mechanisms of neuronal damage in multiple sclerosis and its animal models: role of calcium pumps and exchangers." *Biochem Soc Trans* **35**(Pt 5): 923-6.
- Kurtzke, J., G. Beebe, B. Nagler, T. Auth, L. Kurland and M. Nefzger (1972). "Studies on the natural history of multiple sclerosis." *Acta Neurol Scand* **48**: 19-46.
- Kurtzke, J. F. (1980). "Epidemiologic contributions to multiple sclerosis: an overview." *Neurology* **30**(7 Pt 2): 61-79.
- Kutzelnigg, A., C. F. Lucchinetti, C. Stadelmann, W. Bruck, H. Rauschka, M. Bergmann, M. Schmidbauer, J. E. Parisi and H. Lassmann (2005). "Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis." *Brain* **128**(Pt 11): 2705-12.
- Lassek, A. M. (1954). "The Pyramidal Tract: Its Status in Medicine." *Springfield, IL: Thomas*.
- Lassmann, H. (2003a). "Axonal injury in multiple sclerosis." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **74**(6): 695-7.
- Lassmann, H. (2003b). "Hypoxia-like tissue injury as a component of multiple sclerosis lesions." *J Neurol Sci* **206**(2): 187-91.
- Lassmann, H. (2008). "Models of multiple sclerosis: new insights into pathophysiology and repair." *Curr Opin Neurol* **21**(3): 242-7.
- Lassmann, H., W. Bruck and C. Lucchinetti (2001). "Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy." *Trends Mol Med* **7**(3): 115-21.
- Li, G. L., M. Farooque, A. Holtz and Y. Olsson (1995). "Changes of beta-amyloid precursor protein after compression trauma to the spinal cord: an experimental study in the rat using immunohistochemistry." *J Neurotrauma* **12**(3): 269-77.
- Liberto, C., P. Albrecht, L. Herx, V. Yong and S. Levison (2004). "Pro-regenerative properties of cytokine-activated astrocytes." *J Neurochem* **89**(5): 1092-100.
- Lily, O., J. Palace and A. Vincent (2004). "Serum autoantibodies to cell surface determinants in multiple sclerosis: a flow cytometric study." *Brain* **127**: 269-279.
- Lima, D. and A. Coimbra (1986). "A Golgi study of the neuronal population of the marginal zone (lamina I) of the rat spinal cord." *J Comp Neurol* **244**(1): 53-71.
- Limmroth, V. and E. Sindern (2004). *Multiple Sklerose*. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag.
- Lin, M. and M. Beal (2006). "Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases." *Nature* **443**(7113): 787-95.
- Lin, X., C. R. Tench, N. Evangelou, T. Jaspán and C. S. Constantinescu (2004). "Measurement of spinal cord atrophy in multiple sclerosis." *J Neuroimaging* **14**(3 Suppl): 20S-26S.
- Lipton, S. and P. Rosenberg (1994). "Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders." *N Engl J Med* **330**(9): 613-22.
- Lisak, R. P., J. A. Benjamins, B. Bealmear, L. Nedelkoska, D. Studzinski, E. Retland, B. Yao and S. Land (2009). "Differential effects of Th1, monocyte/macrophage and Th2 cytokine mixtures on early gene expression for molecules associated with metabolism, signaling and regulation in central nervous system mixed glial cell cultures." *J Neuroinflammation* **6**: 4.
- Lisak, R. P., J. A. Benjamins, B. Bealmear, L. Nedelkoska, B. Yao, S. Land and D. Studzinski (2007). "Differential effects of Th1, monocyte/macrophage and Th2 cytokine mixtures on early gene expression for glial and neural-related molecules in central nervous system mixed glial cell cultures: neurotrophins, growth factors and structural proteins." *J Neuroinflammation* **4**: 30.
- Liu, Z. and L. Martin (2001). "Motor neuron rapidly accumulate DNA single-strand breaks after in vitro exposure to nitric oxide and peroxynitrite and in vivo axotomy." *J Comp Neurol* **432**: 35-60.
- Lovas, G., N. Szilagyi, K. Majtenyi, M. Palkovits and S. Komoly (2000). "Axonal changes in chronic demyelinated cervical spinal cord plaques." *Brain* **123**(Pt 2): 308-17.

- Lu, F., M. Selak, J. O'Connor, S. Croul, C. Lorenzana, C. Butunoi and B. Kalman (2000). "Oxidative damage to mitochondrial DNA and activity of mitochondrial enzymes in chronic active lesions of multiple sclerosis." *J Neurol Sci* **177**(2): 95-103.
- Lucchinetti, C., W. Bruck and J. Noseworthy (2001). "Multiple sclerosis: recent developments in neuropathology, pathogenesis, magnetic resonance imaging studies and treatment." *Curr Opin Neurol* **14**(3): 259-69.
- Lucchinetti, C., W. Bruck, J. Parisi, B. Scheithauer, M. Rodriguez and H. Lassmann (2000). "Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination." *Ann Neurol* **47**(6): 707-17.
- Lucchinetti, C. F., W. Bruck, M. Rodriguez and H. Lassmann (1996). "Distinct patterns of multiple sclerosis pathology indicates heterogeneity on pathogenesis." *Brain Pathol* **6**(3): 259-74.
- Lumsden, C. (1970). *The neuropathology of multiple sclerosis*. New York, Wiley Interscience Division.
- Lycklama, G., A. Thompson, M. Filippi, D. Miller, C. Polman, F. Fazekas and F. Barkhof (2003). "Spinal-cord MRI in multiple sclerosis." *Lancet Neurol*. **2**(9): 555-62.
- Mahad, D., I. Ziabreva, H. Lassmann and D. Turnbull (2008). "Mitochondrial defects in acute multiple sclerosis lesions." *Brain* **131**(Pt 7): 1722-35.
- Makar, T. K., D. Trisler, K. T. Sura, S. Sultana, N. Patel and C. T. Bever (2008). "Brain derived neurotrophic factor treatment reduces inflammation and apoptosis in experimental allergic encephalomyelitis." *J Neurol Sci* **270**(1-2): 70-6.
- Martin, L., K. Chen and Z. Liu (2005). "Adult motor neuron apoptosis is mediated by nitric oxide and Fas death receptor linked by DNA damage and p53 activation." *J Neurosci* **25**: 6449-6459.
- Martin, R., H. F. McFarland and D. E. McFarlin (1992). "Immunological aspects of demyelinating diseases." *Annu Rev Immunol* **10**: 153-87.
- Mathey, E., T. Derfuss, M. Storch, K. Williams, K. Hales, D. Woolley, A. Al-Hayani, S. Davies, M. Rasband, T. Olsson, A. Moldenhauer, S. Velhin, R. Hohlfeld, E. Meinl and C. Linington (2007). "Neurofascin as a novel target for autoantibody-mediated axonal injury." *J Exp Med*. **204**(10).
- Matsushita, M. and G. Xiong (1997). "Projections from the cervical enlargement to the cerebellar nuclei in the rat, studied by anterograde axonal tracing." *J Comp Neurol* **377**(2): 251-61.
- Matute, C., E. Alberdi, M. Domercq, F. Pérez-Cerdá, A. Pérez-Samartín and M. Sánchez-Gómez (2001). "The link between excitotoxic oligodendroglial death and demyelinating diseases." *Trends Neurosci*. **24**(4): 224-30.
- McBride, R. and E. Feringa (1992). "Ventral horn motoneurons 10, 20 and 52 weeks after T-9 spinal cord transection." *Brain Res Bull* **28**: 57-60.
- McDonald, W. I., A. Compston, G. Edan, D. Goodkin, H. P. Hartung, F. D. Lublin, H. F. McFarland, D. W. Paty, C. H. Polman, S. C. Reingold, M. Sandberg-Wollheim, W. Sibley, A. Thompson, S. van den Noort, B. Y. Weinschenker and J. S. Wolinsky (2001). "Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis." *Ann Neurol* **50**(1): 121-7.
- McGeer, P. L., S. Itagaki, B. E. Boyes and E. G. McGeer (1988). "Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains." *Neurology* **38**(8): 1285-91.
- McGuire, S., Z. Ling, J. Lipton, C. Sortwell, T. Collier and P. Carvey (2001). "Tumor necrosis factor alpha is toxic to embryonic mesencephalic dopamine neurons." *Exp Neurol*. **169**(2): 219-30.
- Medana, I., A. Gallimore, A. Oxenius, M. Martinic, H. Wekerle and H. Neumann (2000). "MHC class I-restricted killing of neurons by virus-specific CD8+ T lymphocytes is effected through the Fas/FasL, but not the perforin pathway." *Eur J Immunol* **30**: 3623-3633.
- Medana, I., M. A. Martinic, H. Wekerle and H. Neumann (2001). "Transection of major histocompatibility complex class I-induced neurites by cytotoxic T lymphocytes." *Am J Pathol* **159**(3): 809-15.
- Menétrey, D., A. Chaouch, D. Binder and J. M. Besson (1982). "The origin of the spinomesencephalic tract in the rat: an anatomical study using the retrograde transport of horseradish peroxidase." *J Comp Neurol*. **206**(2): 193-207.
- Menétrey, D., F. Roudier and J. M. Besson (1983). "Spinal neurons reaching the lateral reticular nucleus as studied in the rat by retrograde transport of horseradish peroxidase." *J Comp Neurol*. **220**(4): 439-52.
- Merkler, D., R. Böske, B. Schmelting, B. Czéh, E. Fuchs, W. Brück and C. Stadelmann (2006). "Differential macrophage/microglia activation in neocortical EAE lesions in the marmoset monkey." *Brain Pathol* **16**(2): 117-23.
- Meyer-Franke, A., G. Wilkinson, A. Kruttgen, M. Hu, E. Munro, M. J. Hanson, L. Reichardt and B. Barres (1998). "Depolarization and cAMP elevation rapidly recruit TrkB to the plasma membrane of CNS neurons." *Neuron* **21**(4): 681-93.

- Meyer, R., R. Weissert, R. Diem, M. K. Storch, K. L. de Graaf, B. Kramer and M. Bahr (2001). "Acute neuronal apoptosis in a rat model of multiple sclerosis." *J Neurosci* **21**(16): 6214-20.
- Miletic, V., M. J. Hoffert, M. A. Ruda, R. Dubner and Y. Shigenaga (1984). "Serotonergic axonal contacts on identified cat spinal dorsal horn neurons and their correlation with nucleus raphe magnus stimulation." *J Comp Neurol* **228**(1): 129-41.
- Nagasao, J., Y. Hayashi, Y. Kawazoe, E. Kawakami, K. Watabe and K. Oyanagi (2008). "Relationship between ribosomal RNA gene transcription activity and motoneuron death: Observations of avulsion and axotomy of the facial nerve in rats." *J Neurosci Res* **86**(2): 435-442.
- Nahin, R. L., A. M. Madsen and G. J. Giesler, Jr. (1983). "Anatomical and physiological studies of the gray matter surrounding the spinal cord central canal." *J Comp Neurol* **220**(3): 321-35.
- Nair, A., T. Frederick and S. Miller (2008). "Astrocytes in multiple sclerosis: a product of their environment." *Cell Mol Life Sci* **65**(17): 2702-20.
- Neuhuber, W. (1982). "The central projections of visceral primary afferent neurons of the inferior mesenteric plexus and hypogastric nerve and the location of the related sensory and preganglionic sympathetic cell bodies in the rat." *Anat Embryol (Berl)* **164**(3): 413-25.
- Neumann, H., I. M. Medana, J. Bauer and H. Lassmann (2002). "Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases." *Trends Neurosci* **25**(6): 313-9.
- Neumann, H., H. Schmidt, A. Cavalié, D. Jenne and W. H. (1997). "Major histocompatibility complex (MHC) class I gene expression in single neurons of the central nervous system: differential regulation by interferon (IFN)-gamma and tumor necrosis factor (TNF)-alpha." *J Exp Med* **185**(2): 305-16.
- Nicot, A., P. V. Ratnakar, Y. Ron, C. C. Chen and S. Elkabes (2003). "Regulation of gene expression in experimental autoimmune encephalomyelitis indicates early neuronal dysfunction." *Brain* **126**(Pt 2): 398-412.
- Nitsch, R., E. E. Pohl, A. Smorodchenko, C. Infante-Duarte, O. Aktas and F. Zipp (2004). "Direct impact of T cells on neurons revealed by two-photon microscopy in living brain tissue." *J Neurosci* **24**(10): 2458-64.
- Nohda, K., T. Nakatsuka, D. Takeda, N. Miyazaki, H. Nishi, H. Sonobe and M. Yoshida (2007). "Selective vulnerability to ischemia in the rat spinal cord: a comparison between ventral and dorsal horn neurons." *Spine* **32**(10): 1060-6.
- Noseworthy, J. H., C. F. Lucchinetti, M. Rodriguez and B. G. Weinshenker (2000). "Multiple sclerosis." *N Engl J Med* **343**(13): 938-52.
- Oehmichen, M., C. Meissner, V. Schmidt, I. Pedal, H. G. König and K. S. Saternus (1998). "Axonal injury--a diagnostic tool in forensic neuropathology?" *Forensic Sci Int* **95**(1): 67-83.
- Papadopoulos, A., S. Gatzonis, A. Gouliamos, S. Trakadas, A. Kalovidouris, P. Sgouropoulos, L. Vlachos and C. Papavasiliou (1994). "Correlation between spinal cord MRI and clinical features in patients with demyelinating disease." *Neuroradiology* **36**(2): 130-3.
- Parpura, V., E. Scemes and D. Spray (2004). "Mechanisms of glutamate release from astrocytes: gap junction "hemichannels", purinergic receptors and exocytotic release." *Neurochem Int* **45**(2-3): 259-64.
- Paschen, W. and A. Frandsen (2001). "Endoplasmic reticulum dysfunction--a common denominator for cell injury in acute and degenerative diseases of the brain?" *J Neurochem* **79**(4): 719-25.
- Pender, M., P. Csurhes., N. Wolfe, K. Hooper, M. Good, P. McCombe and J. Greer (2003). "Increased circulating T cell reactivity to GM3 and GQ1b gangliosides in primary progressive multiple sclerosis." *J Clin Neurosci* **10**(1): 63-6.
- Perry, V. H. and D. C. Anthony (1999). "Axon damage and repair in multiple sclerosis." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **354**(1390): 1641-7.
- Peterson, J. W., L. Bo, S. Mork, A. Chang and B. D. Trapp (2001). "Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions." *Ann Neurol* **50**(3): 389-400.
- Petzold, A., D. Gveric, M. Groves, K. Schmierer, D. Grant, M. Chapman, G. Keir, L. Cuzner and E. J. Thompson (2008). "Phosphorylation and compactness of neurofilaments in multiple sclerosis: indicators of axonal pathology." *Exp Neurol* **213**(2): 326-35.
- Petzold, A., E. J. Thompson, G. Keir, N. Quinn, B. Holmberg, N. Dizdar, G. K. Wenning, O. Rascol, E. Tolosa and L. Rosengren (2009). "Longitudinal one-year study of levels and stoichiometry of neurofilament heavy and light chain concentrations in CSF in patients with multiple system atrophy." *J Neurol Sci* **279**(1-2): 76-9.
- Phokeo, V. and A. Ball (2000). "Transection of dysmyelinated optic nerve axons in adult rats lacking myelin basic protein." *Neuroreport* **11**(15): 3375-9.
- Pirko, I., C. F. Lucchinetti, S. Sriram and R. Bakshi (2007). "Gray matter involvement in multiple sclerosis." *Neurology* **68**(9): 634-42.

- Pitt, D., P. Werner and C. Raine (2000). "Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis." Nat Med **6**(1): 67-70.
- Polman, C. H., S. C. Reingold, G. Edan, M. Filippi, H. P. Hartung, L. Kappos, F. D. Lublin, L. M. Metz, H. F. McFarland, P. W. O'Connor, M. Sandberg-Wollheim, A. J. Thompson, B. G. Weinschenker and J. S. Wolinsky (2005). "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria"." Ann Neurol. **58**(6): 840-6.
- Pomeroy, I., P. Matthews, J. Frank, E. Jordan and M. Esiri (2005). "Demyelinated neocortical lesions in marmoset autoimmune encephalomyelitis mimic those in multiple sclerosis." Brain **128**(11): 2713-21.
- Poser, C. M., D. W. Paty, L. Scheinberg, W. I. McDonald, F. A. Davis, G. C. Ebers, K. P. Johnson, W. A. Sibley, D. H. Silberberg and W. W. Tourtellotte (1983). "New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols." Ann Neurol **13**(3): 227-31.
- Prineas, J. W., E. E. Kwon, E. S. Cho, L. R. Sharer, M. H. Barnett, E. L. Oleszak, B. Hoffman and B. P. Morgan (2001). "Immunopathology of secondary-progressive multiple sclerosis." Ann Neurol **50**(5): 646-57.
- Puskar, Z. and M. Antal (1997). "Localization of last-order premotor interneurons in the lumbar spinal cord of rats." J Comp Neurol **389**(3): 377-89.
- Qiu, M. G. and X. H. Zhu (2004). "Aging changes of the angioarchitecture and arterial morphology of the spinal cord in rats." Gerontology **50**(6): 360-5.
- Ramón, Y. and S. Cajal (1909). Histology of the nervous system of Man and Vertebrates. New York, University Press Oxford.
- Randic, M., V. Miletic and A. D. Loewy (1981). "A morphological study of cat dorsal spinocerebellar tract neurons after intracellular injection of horseradish peroxidase." J Comp Neurol **198**(3): 453-66.
- Ranson, S. W. and S. L. Clarke (1959). The Anatomy of the Nervous System: Its Development and Function. Philadelphia, Saunders.
- Rastad, J., E. Jankowska and J. Westman (1977). "Arborization of initial axon collaterals of spinocervical tract cells stained intracellularly with horseradish peroxidase." Brain Res **135**(1): 1-10.
- Rawes, J., C. VP., O. Khan and G. DeVries (1997). "Antibodies to the axolemma-enriched fraction in the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis and other neurological diseases." Mult Scler **3**(6): 363-9.
- Redford, E. J., R. Kapoor and K. J. Smith (1997). "Nitric oxide donors reversibly block axonal conduction: demyelinated axons are especially susceptible." Brain **120**(12): 2149-57.
- Robertson, N. P., M. Fraser, J. Deans, D. Clayton, N. Walker and D. A. Compston (1996). "Age-adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis." Brain **119** (Pt 2): 449-55.
- Romeis (1989). Mikroskopische Technik. München, Wien, Baltimore, Urban und Schwarzenberg.
- Roscoe, W. A., M. E. Welsh, D. E. Carter and S. J. Karlik (2009). "VEGF and angiogenesis in acute and chronic MOG((35-55)) peptide induced EAE." J Neuroimmunol.
- Rovaris, M., E. Judica, A. Ceccarelli, A. Ghezzi, V. Martinelli, G. Comi and M. Filippi (2008). "A 3-year diffusion tensor MRI study of grey matter damage progression during the earliest clinical stage of MS." J Neurol **255**(8): 1209-14.
- Rovira, A. and A. Leon (2008). "MR in the diagnosis and monitoring of multiple sclerosis: an overview." Eur J Radiol **67**(3): 409-14.
- Russel, J. R. and W. DeMyer (1961). "The quantitative corticoid origin of pyramidal axons of Macaca rhesus. With some remarks on the slow rate of axolysis." Neurology **11**: 96-108.
- Rustioni, A., H. G. Kuypers and G. Holstege (1971). "Propiospinal projections from the ventral and lateral funiculi to the motoneurons in the lumbosacral cord of the cat." Brain Res **34**(2): 255-75.
- Sadovnick, A. D., A. Dircks and G. C. Ebers (1999). "Genetic counselling in multiple sclerosis: risks to sibs and children of affected individuals." Clin Genet **56**(2): 118-22.
- Salter, M. and R. Fern (2005). "NMDA receptors are expressed in developing oligodendrocyte processes and mediate injury." Nature **438**(7071): 1167-71.
- Sayre, L. M., G. Perry and M. A. Smith (2008). "Oxidative stress and neurotoxicity." Chem Res Toxicol **21**(1): 172-88.
- Scheibel, M. E. and A. B. Scheibel (1966). "Terminal axonal patterns in cat spinal cord. I. The lateral corticospinal tract." Brain Res **2**(4): 333-50.
- Scheibel, M. E. and A. B. Scheibel (1968). "Terminal axonal patterns in cat spinal cord. II. The dorsal horn." Brain Res **9**(1): 32-58.
- Schnell, L., S. Fearn, M. Schwab, V. Perry and D. Anthony (1999). "Cytokine-induced acute inflammation in the brain and spinal cord." J Neuropathol Exp Neurol. **58**(3): 245-54.

- Schwartz, J. and N. Nishiyama (1994). "Neurotrophic factor gene expression in astrocytes during development and following injury." Brain Res Bull **35**(5-6): 403-7.
- Shapovalov, A. I., O. A. Karamjan, G. G. Kurchavyi and Z. A. Repina (1971). "Synaptic actions evoked from the red nucleus on the spinal alpha-motorneurons in the Rhesus monkey." Brain Res **32**(2): 325-48.
- Shen, S., A. Wiemelt, F. McMorris and B. Barres (1999). "Retinal ganglion cells lose trophic responsiveness after axotomy." Neuron **23**(2): 285-95.
- Sherrington, C. S. and E. E. Laslett (1903). "Remarks on the dorsal spino-cerebellar tract." Journal of Physiology **29**: 188-194.
- Shipova, E. G., N. N. Spirin, D. S. Kasatkin, E. I. Shumakov and I. O. Stepanov (2009). "State of the cervical section of the spinal cord in patients with remitting multiple sclerosis during immunomodulatory treatment." Neurosci Behav Physiol **39**(1): 47-51.
- Silber, E., Y. Semra, N. Gregson and M. Sharief (2002). "Patients with progressive multiple sclerosis have elevated antibodies to neurofilament subunit." Neurology **58**: 1372-1381.
- Simon, J. H., R. P. Kinkel, L. Jacobs, L. Bub and N. Simonian (2000). "A Wallerian degeneration pattern in patients at risk for MS." Neurology **54**(5): 1155-60.
- Smith, K. J., R. Kapoor, S. M. Hall and M. Davies (2001). "Electrically active axons degenerate when exposed to nitric oxide." Ann Neurol **49**(4): 470-6.
- Smith, K. J. and H. Lassmann (2002). "The role of nitric oxide in multiple sclerosis." Lancet Neurol **1**(4): 232-41.
- Smith, T., A. Groom, B. Zhu and L. Turski (2000). "Autoimmune encephalomyelitis ameliorated by AMPA antagonists." Nat Med **6**(1): 62-6.
- Snyder, R. L., R. L. Faull and W. R. Mehler (1978). "A comparative study of the neurons of origin of the spinocerebellar afferents in the rat, cat and squirrel monkey based on the retrograde transport of horseradish peroxidase." J Comp Neurol **181**(4): 833-52.
- Srinivasan, R., C. Cunningham, A. Chen, D. Vigneron, R. Hurd, S. Nelson and D. Pelletier (2006). "TE-averaged two-dimensional proton spectroscopic imaging of glutamate at 3 T." Neuroimage **30**(4): 1171-8.
- Stadelmann, C., M. Albert, C. Wegner and W. Brück (2008b). "Cortical pathology in multiple sclerosis." Curr Opin Neurol **21**(3): 229-34.
- Stadelmann, C. and W. Brück (2008a). "Interplay between mechanisms of damage and repair in multiple sclerosis." J Neurol **255**(Suppl 1): 12-8.
- Stadelmann, C., M. Kerschensteiner, T. Misgeld, W. Brück, R. Hohlfeld and H. Lassmann (2002). "BDNF and gp145trkB in multiple sclerosis brain lesions: neuroprotective interactions between immune and neuronal cells?" Brain **125**(Pt 1): 75-85.
- Stadelmann, C., S. Ludwin, T. Tabira, A. Guseo, C. F. Lucchinetti, L. Leel-Ossy, A. T. Ordinario, W. Brück and H. Lassmann (2005). "Tissue preconditioning may explain concentric lesions in Baló's type of multiple sclerosis." Brain **128**(Pt 5): 979-87.
- Stein, P. S. G. (1984). Central pattern generators in the spinal cord. New York, Dekker.
- Sterling, P. and H. G. Kuypers (1968). "Anatomical organization of the brachial spinal cord of the cat. 3. The propriospinal connections." Brain Res **7**(3): 419-43.
- Stewart, V., M. Sharpe, J. Clark and S. Heales (2000). "Astrocyte-derived nitric oxide causes both reversible and irreversible damage to the neuronal mitochondrial respiratory chain." J Neurochem **75**(2): 694-700.
- Storch, M. K., A. Stefferl, U. Brehm, R. Weissert, E. Wallstrom, M. Kerschensteiner, T. Olsson, C. Linington and H. Lassmann (1998). "Autoimmunity to myelin oligodendrocyte glycoprotein in rats mimics the spectrum of multiple sclerosis pathology." Brain Pathol **8**(4): 681-94.
- Strack, S., R. Westphal, R. Colbran, F. Ebner and B. Wadzinski (1997). "Protein serine/threonine phosphatase 1 and 2A associate with and dephosphorylate neurofilaments." Brain Res Mol Brain Res **49**(1-2): 15-28.
- Stys, P. and Q. Jiang (2002). "Calpain-dependent neurofilament breakdown in anoxic and ischemic rat central axons." Neurosci Lett **328**(2): 150-4.
- Stys, P. K. (2005). "General mechanisms of axonal damage and its prevention." J Neurol Sci **233**(1-2): 3-13.
- Sui, Y., R. Potula, N. Dhillon, D. Pinson, S. Li and A. Nath (2004). "Neuronal apoptosis is mediated by CXCL10 overexpression in simian human immunodeficiency virus encephalitis." Am J Pathol **164**: 1557-1566.
- Takeuchi, H., T. Mizuno, G. Zhang, J. Wang, J. Kawanokuchi, R. Kuno and A. Suzumura (2005). "Neuritic beading induced by activated microglia is an early feature of neuronal dysfunction toward neuronal death by inhibition of mitochondrial respiration and axonal transport." J Biol Chem **280**(11): 10444-54.

- Tanuma, N., H. Sakuma, A. Sasaki and Y. Matsumoto (2006). "Chemokine expression by astrocytes plays a role in microglia/macrophage activation and subsequent neurodegeneration in secondary progressive multiple sclerosis." *Acta Neuropathol* **112**(2): 195-204.
- Tedeschi, G., L. Lavorgna, P. Russo, A. Prinster, D. Dinacci, G. Savettieri, A. Quattrone, P. Livrea, C. Messina, A. Reggio, V. Bresciamorra, G. Orefice, M. Paciello, A. Brunetti, G. Coniglio, S. Bonavita, A. Di Constanzo, A. Bellacosa, P. Valentino, M. Quarantelli, F. Patti, G. Salemi, E. Cammarata, I. Simone, M. Salvatore, V. Bonavita and B. Alfano (2005). "Brain atrophy and lesion load in a large population of patients with multiple sclerosis." *Neurology* **65**: 280-285.
- Terao, S., M. Li, Y. Hashizume, T. Mitsuma and G. Sobue (1999). "No transneuronal degeneration between human cortical motor neurons and spinal motor neurons." *J Neurol* **246**: 61-62.
- Terryberry, J., G. Thor and J. Peter (1998). "Autoantibodies in neurodegenerative diseases: antigen-specific frequencies and intrathecal analysis." *Neurobiol Aging* **19**(3): 205-16.
- Théoret, H., M. Herbin, D. Boire and M. Ptitto (1997). "Transneuronal retrograde degeneration of retinal ganglion cells following cerebral hemispherectomy in cats." *Brain Res* **775**(1-2): 203-8.
- Thorpe, J. W., D. Kidd, I. F. Moseley, B. E. Kennedall, A. J. Thompson, D. G. MacManus, W. I. McDonald and D. H. Miller (1996). "Serial gadolinium-enhanced MRI of the brain and spinal cord in early relapsing-remitting multiple sclerosis." *Neurology* **46**(2): 373-8.
- Tiberio, M., D. T. Chard, D. R. Altmann, G. Davies, C. M. Griffin, W. Rashid, J. Sastre-Garriga, A. J. Thompson and D. H. Miller (2005). "Gray and white matter volume changes in early RRMS: a 2-year longitudinal study." *Neurology* **64**(6): 1001-7.
- Trapp, B. and P. Stys (2009). "Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis." *Lancet Neurol* **8**(3): 280-91.
- Trapp, B., J. Wujek, G. Criste, W. Jalabi, X. Yin, G. Kidd, S. Stohlman and R. Ransohoff (2007). "Evidence for synaptic stripping by cortical microglia." *Glia* **55**(4): 360-8.
- Trapp, B. D. and K. A. Nave (2008). "Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder?" *Annu Rev Neurosci* **31**: 247-69.
- Trapp, B. D., J. Peterson, R. M. Ransohoff, R. Rudick, S. Mork and L. Bo (1998). "Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis." *N Engl J Med* **338**: 278-85.
- Trevino, D. L. and E. Carstens (1975). "Confirmation of the location of spinothalamic neurons in the cat and monkey by the retrograde transport of horseradish peroxidase." *Brain Res* **98**(1): 177-82.
- Truex R. and Carpenter M. (1969) "Human Neuroanatomy, Sixth Edition" *The Williams and Wilkins Company*, Baltimore.
- Tsunoda, I., L. Kuang, J. Libbey and R. Fujinami (2003). "Axonal injury heralds virus-induced demyelination." *Am J Pathol* **162**(4): 1259-69.
- Ugolini, G., C. Raoul, A. Ferri, C. Haenggeli, Y. Yamamoto, D. Salaün, C. Henderson, A. Kato, B. Pettmann and A. Hueber (2003). "Fas/tumor necrosis factor receptor death signaling is required for axotomy-induced death of motoneurons in vivo." *J Neurosci* **23**(24): 8526-31.
- Vercellino, M., F. Plano, B. Votta, R. Mutani, M. Giordana and Cavalla (2005). "Grey matter pathology in multiple sclerosis." *J Neuropathol Exp Neurol* **64**: 1101-1107.
- Waldeyer, H. (1888). *Das Gorilla-Rückenmark*, Abhandlungen der preussischen Akademie der Wissenschaften. 3:1-147.
- Waxman, S. (2008). "Axonal dysfunction in chronic multiple sclerosis: meltdown in the membrane." *Ann Neurol* **63**: 411-13.
- Wegner, C., M. Esiri, S. Chance, J. Palace and P. Matthews (2006). "Neocortical neuronal, synaptic, and glial loss in multiple sclerosis." *Neurology* **67**: 960-967.
- Weil, A. and A. Lassek (1929). "A quantitative distribution of pyramidal tract in man." *Archives of Neurology and Psychiatry* **22**: 495-510.
- Weinschenker, B. G. (1996). "Epidemiology of multiple sclerosis." *Neurol Clin* **14**(2): 291-308.
- Weissert, R., E. Wallstrom, M. K. Storch, A. Stefferl, J. Lorentzen, H. Lassmann, C. Linington and T. Olsson (1998). "MHC haplotype-dependent regulation of MOG-induced EAE in rats." *J Clin Invest* **102**(6): 1265-73.
- Wekerle, H., K. Kojima, J. Lannes-Vieira, H. Lassmann and C. Linington (1994). "Animal models." *Ann Neurol* **36 Suppl**: 47-53.
- Weller, R., S. Kida and E. Zhang (1992). "Pathways of fluid drainage from the brain--morphological aspects and immunological significance in rat and man." *Brain Pathol* **2**(4): 277-84.
- Wiendl, H., A. Melms and R. Hohlfeld (2003). *Multiple Sklerose und andere demyelinisierende Erkrankungen*, Kohlhammer Verlag.
- Willis, W. D., D. R. Kenshalo, Jr. and R. B. Leonard (1979). "The cells of origin of the primate spinothalamic tract." *J Comp Neurol* **188**(4): 543-73.
- Wojda, U., E. Salinska and J. Kuznicki (2008). "Calcium ions in neuronal degeneration." *IUBMB Life* **60**(9): 575-90.

- Wu, W. (1993). "Expression of Nitric-oxide synthase (NOS) in injured CNS neurons as shown by NADPH diaphorase histochemistry." Exp Neurol **120**: 153-159.
- Wu, W. (1996). "Roles of gene expression change in adult rat spinal motoneurons following axonal injury: a comparison among c-jun, low-affinity nerve growth factor receptor (LNGFR), and nitric oxide synthase (NOS)." Exp Neurol **141**: 180-200.
- Xu, J. and P. D. Drew (2006). "9-Cis-retinoic acid suppresses inflammatory responses of microglia and astrocytes." J Neuroimmunol **171**(1-2): 135-44.
- Yang, Y., Y. Xie, H. Chai, M. Fan, S. Liu, H. Liu, I. Bruce and W. Wu (2006). "Microarray analysis of gene expression patterns in adult spinal motoneurons after different types of axonal injuries." Brain Res **1075**: 1-12.
- Ye, Z., M. Wyeth, S. Baltan-Tekkok and B. Ransom (2003). "Functional hemichannels in astrocytes: a novel mechanism of glutamate release." J Neurosci **23**(9): 3588-96.
- Young, E., C. Fowler, G. Kidd, A. Chang, R. Rudick, E. Fisher and B. Trapp (2008). "Imaging correlates of decreased axonal Na⁺/K⁺ ATPase in chronic multiple sclerosis lesions." Ann Neurol **63**: 428-35.
- Zhou, L. H., S. Han, Y. Y. Xie, L. L. Wang and Z. B. Yao (2009). "Differences in c-jun and nNOS expression levels in motoneurons following different kinds of axonal injury in adult rats." Brain Cell Biol.
- Zipp, F. and O. Aktas (2006). "The brain as a target of inflammation: common pathways link inflammatory and neurodegenerative diseases." Trends Neurosci **29**(9): 518-27.

8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die mich durch die Jahre meiner Promotion begleitet haben, mir kreativ, hilfreich und beratend zur Seite standen und mich bei der Fertigstellung meiner Dissertation unterstützten.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. med. Stoltenburg-Didinger, die mich durch ihre fachliche Kompetenz und mit großem Engagement in jeder Phase der Entstehung dieser Arbeit unterstützt hat und wesentlich zur Fertigstellung meiner Dissertation beitrug.

Ich danke Frau Dorothea Krupke und im besonderen Petra Matylewski, die mich in der Anfertigung meiner Gewebeschnitte und in der Laborarbeit anleiteten und mir jederzeit hilfreich mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ebenso möchte ich mich für die konstruktive und inspirative Kooperation mit dem Institut für Neuropathologie der Universitätsklinik Göttingen bedanken, im besonderen Frau Prof. Dr. med. Stadelmann und den Mitarbeitern des neuropathologischen Labors.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Frau Stroux aus dem Institut für Biometrie und Epidemiologie der Charité Berlin für ihre kompetente Mitarbeit an der Auswertung der Daten und der Erhebung der Statistik.

Mein besonderer Dank gilt nicht zuletzt meinen Eltern, die mir durch finanzielle und motivierende Unterstützung die zeitaufwändige Arbeit an diesem Thema ermöglicht haben.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Lydia Bernhardt, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

„Neuronale Degeneration bei spinaler multiple Sklerose“

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Münster, den

Lydia Bernhardt