

Aus der Cecilie-Vogt-Klinik für Neurologie  
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin,  
Campus Berlin Buch

DISSERTATION

Läsionsentwicklung in der Multiplen Sklerose: eine  
prospektive klinische und kernspintomographische  
Verlaufsuntersuchung

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Judith Bellmann-Strobl

aus Regensburg

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. F. Zipp  
2. Prof. Dr. med. W. Brück  
3. Prof. Dr. med. M. Taupitz

Datum der Promotion: 29. Januar 2010

gewidmet

den Menschen,  
die an Multipler Sklerose leiden  
und auf vielerlei Weise  
die Erforschung dieser Erkrankung  
unterstützen

1.	EINLEITUNG.....	1
<b>1.1.</b>	<b>Krankheitsbild Multiple Sklerose.....</b>	<b>4</b>
1.1.1.	Definition und Verlaufsformen.....	4
1.1.2.	Epidemiologie und Genetik.....	7
1.1.3.	Klinisches Bild.....	10
1.1.4.	Immunmodulierende Therapie.....	11
<b>1.2.</b>	<b>Pathogenese der MS.....</b>	<b>12</b>
1.2.1.	Aktuelles pathogenetisches Konzept.....	12
1.2.2.	Neuropathologische Grundlagen.....	15
1.2.3.	Die Blut-Hirn-Schranke.....	17
<b>1.3.</b>	<b>Kernspintomographie in der Multiplen Sklerose.....</b>	<b>19</b>
1.3.1.	Konventionelle MRT-Untersuchungen.....	20
1.3.1.1.	T2-Wichtung .....	20
1.3.1.2.	T1-Wichtung mit und ohne Kontrastmittel.....	21
1.3.2.	Innovative Untersuchungstechniken.....	21
1.3.2.1.	Diffusionsbildgebung.....	22
1.3.2.2.	Perfusionsmessung.....	24
<b>1.4.</b>	<b>Fragestellung .....</b>	<b>26</b>
2.	MATERIAL UND METHODEN.....	27
<b>2.1.</b>	<b>Auswahl der Patienten.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2.</b>	<b>Klinische Untersuchungen.....</b>	<b>29</b>
2.2.1.	<i>Expanded Disability Status Scale.....</i>	29
2.2.2.	<i>Multiple Sclerosis Funcitonal Composite.....</i>	30
<b>2.3.</b>	<b>Kernspintomographie.....</b>	<b>32</b>
2.3.1.	Bildanalyse.....	33
2.3.2.	Selektionskriterien für Läsionen in der Perfusionsmessung.....	36
<b>2.4.</b>	<b>Statistische Datenanalyse.....</b>	<b>37</b>

3.	ERGEBNISSE.....	38
<b>3.1.</b>	<b>MRT-Läsionen im Verlauf.....</b>	<b>38</b>
3.1.1.	Beschreibung der Studienpopulation und Kasuistik.....	38
3.1.2.	Verlauf der Läsionen in der konventionellen MRT-Bildgebung.....	40
3.1.3.	Klinische Parameter.....	43
3.1.4.	Vergleich konventionelle MRT- und klinische Parameter.....	44
3.1.5.	Korrelation cerebraler Kontrastmittelanreicherung mit klinischen Parametern.....	46
<b>3.2.</b>	<b>Perfusions- und Diffusionsbildgebung.....</b>	<b>48</b>
3.2.1.	Korrekturalgorithmus bei Blut-Hirn-Schrankenstörung.....	48
3.2.2.	Perfusions- und Diffusionsmessung der Läsionsentstehung.....	49
3.2.2.1.	Ringförmig anreichernde Läsionen.....	53
4.	DISKUSSION.....	54
<b>4.1.</b>	<b>Läsionsentwicklung in der konventionellen MRT-Bildgebung und klinischer Verlauf.....</b>	<b>54</b>
<b>4.2.</b>	<b>Läsionsbildung in der perfusions- und diffusionsgewichteten Bildgebung.....</b>	<b>63</b>
5.	ZUSAMMENFASSUNG.....	66
6.	LITERATURVERZEICHNIS.....	69
7.	ANHANG.....	79
<b>7.1.</b>	<b>Verzeichnis der Abkürzungen.....</b>	<b>79</b>
<b>7.2.</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>81</b>
<b>7.3.</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>82</b>
<b>7.4.</b>	<b>Publikationen.....</b>	<b>84</b>
<b>7.5.</b>	<b>Erklärung.....</b>	<b>86</b>

### 1. EINLEITUNG

Sie gilt als eine der bedeutesten Cellisten des 20. Jahrhunderts. Ihre Virtuosität, das scheinbar nicht zu bändigende Temperament und ihre natürliche, wie auch einfühlsame Art, Musik zu interpretieren, verzauberten das Publikum und begeisterten die Musikkritiker. Jacqueline du Pré, geboren am 26. Januar 1945, entdeckt für sich in frühester Kindheit das Cello und wird unterrichtet von William Pleeth. Mit 16 Jahren gibt sie ihr Solo-Debüt. Sie gewinnt zahlreiche hochrangige Preise und trägt zusammen mit den besten Dirigenten und Orchestern in den großen Konzertsälen der Welt vor. Sie interpretiert u. a. Konzerte von Haydn, Schumann, Saint-Saëns und Dvorák, untrennbar mit ihrem Namen ist das Cellokonzert in e-moll von Elgar verbunden.

Im Herbst 1973 vertraut sie sich ihrem Arzt an, wie ihre Geschwister Hilary und Piers du Pré in den von ihnen verfassten Familienerinnerungen „Jacqueline du Pré: ein Genie in der Familie“ berichten.

*„Sie erzählte ihm, dass sie schon vor einem Jahr bemerkt hatte, dass sie ihre Hände nicht richtig benutzen konnte. Es hatte Situationen gegeben, in denen sie mit der linken Hand die Cellosaiten nicht mehr herunterdrücken konnte und mit der rechten Schwierigkeiten hatte, den Bogen zu halten. Außerdem waren ihr die Beine oft taub und weich geworden, und ihr Rücken machte ihr zu schaffen. Und in den letzten drei Monaten hatte sie mit dem linken Auge häufig nur ganz verschwommen sehen können.“ (S. 318)*

Nach einigen Untersuchungen wird die Diagnose Multiple Sklerose gestellt. Im Alter von 28 Jahren, auf dem Höhepunkt des Erfolges, ist sie gezwungen, ihre Karriere aufzugeben und unterrichtet fortan, so lange es ihr noch möglich ist, Meisterklassen in Cello. Am 19. Oktober 1987 stirbt sie im Alter von 42 Jahren an den Folgen der Erkrankung.

Was ist das für eine Krankheit, die dem Leben der vielversprechenden Künstlerin so eine dramatische Wende gab? Die Multiple Sklerose ist in unseren Breiten die häufigste entzündliche demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems. Sie manifestiert sich in der Regel im jungen Erwachsenenalter und führt über wiederholt auftretende Schübe mit neurologischen Symptomen in vielen Fällen zu einer zunehmenden alltagsrelevanten Behinderung. Trotz erheblicher Forschungsanstrengungen in den letzten Jahrzehnten, die wesentliche Erkenntnisse über Pathogenese und Verlauf der Erkrankung erbrachten (*Noseworthy et al., 2001; Steinman et al., 2002*), ist die Ätiologie der Erkrankung noch immer ungeklärt.

Nach gängigen Konzepten wird die MS den T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankungen zugerechnet, zu deren Manifestation eine genetische Disposition und vermutlich ein bisher unbekannter Umweltfaktor beitragen. Jedoch sind die Prozesse, die zur Entstehung einer cerebralen oder spinalen Läsion führen, dem die Erkrankung kennzeichnenden pathologischen Befund, nach wie vor im Detail nicht entschlüsselt. Es wird angenommen, dass die Störung der Blut-Hirn-Schranke (blood brain barrier, BBB) den ersten, essentiellen Schritt der Bildung eines „Plaques“ darstellt (*Harris et al., 1991; McFarland, 2001*). Im peripheren Blut aktivierte, autoreaktive CD4+ Lymphozyten überwinden die BBB und entfachen einen entzündlichen Prozess (*Markovic-Plese and McFarland, 2001*). Im Laufe der Erkrankung entstehen bei Patienten in der schubförmig-remittierenden Phase der Multiplen Sklerose 5 – 10 Mal häufiger neue Läsionen, als die Patienten einen Schub der Erkrankung erleiden (*Willoughby et al., 1989*). Auch findet sich nur eine geringe Korrelation zwischen der Zahl bzw. dem Volumen der in T2-Wichtung dargestellten kernspintomographischen Veränderungen mit der Behinderung des Patienten, ein Phänomen, das „klinisch-radiologisches Paradoxon“ genannt wird. (*Kalkers et al., 2001b*).

Der derzeitige Goldstandard, um eine neu entstehende Läsion zu erfassen, ist der Nachweis einer Kontrastmittelanreicherung in T1-gewichteten Aufnahmen der Magnetresonanztomographie (MRT) nach Applikation von MRT-Kontrastmittel. Diese paramagnetischen Substanzen zeigen eine Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke

an. Sie diffundieren durch geschädigte Gefäßwände in das Gewebe und führen dort zu einer sogenannten Kontrastmittelanreicherung. Es gibt jedoch vermehrt Hinweise, dass bereits im Vorfeld einer Kontrastmittelanreicherung Veränderungen in der normal erscheinenden weißen Substanz (*normal appearing white matter*, NAWM) auftreten. So wird eine Abnahme der Magnetisation Transfer Ratio (MTR) beschrieben, die einen verminderten Gehalt an Makromolekülen im Gewebe indirekt anzeigt und somit auf eine veränderte Struktur des Hirnparenchyms (zum Beispiel Ödem oder Demyelinisierung) hinweist (*Filippi et al., 1998; Silver et al., 1998*). Auch wurde mittels Magnetresonanz-Spektroskopie (MRS) ein regionaler Anstieg von Cholin (Marker für erhöhten Zellumsatz) und von freien Lipiden (Abbauprodukte der Myelinscheiden) gezeigt, der einer neu entstehenden kontrastmittelanreichernden Läsion um mehrere Monate vorausgehen kann (*Narayana et al., 1998*). Der deutliche Anstieg des scheinbaren Diffusionskoeffizienten (*Apparent Diffusion Coefficient*, ADC), berechnet aus der diffusionsgewichteten Bildgebung (*Diffusion-weighted imaging*, DWI), der Wochen bis Monate vor dem Zusammenbruch der BBB beginnt, zeigt mikrostrukturelle Umbauvorgänge der Hirnsubstanz an (*Rocca et al., 2000; Werring et al., 2000*). Ein erhöhter ADC entspricht einer Zunahme der freien Diffusion von Wassermolekülen an, die wiederum durch ein interstitielles Ödem in Folge akuter Inflammation und paralleler demyelinisierender Vorgänge erklärt werden kann. Die Zunahme des lokalen Blutflusses, einer der ersten Prozesse in der Entstehung einer Entzündung, (*Perretti und Ahluwalia, 2000*) fand jedoch bisher in der MS-Forschung wenig Beachtung. Ziel dieser Arbeit ist es, ein hochaktives Patientenkollektiv klinisch und kernspintomographisch zu charakterisieren sowie mit der parallelen Untersuchung von Perfusion und ADC in Läsionen und Arealen mit zukünftiger Läsionsbildung pathophysiologische Erkenntnisse über die Läsionsentstehung in der MS zu gewinnen. Kernspintomographische Methoden bilden hierbei die einzige Untersuchungstechnik, direkt am Patienten *in vivo* Messungen vorzunehmen.

In diesem Kapitel wird zunächst das Krankheitsbild der Multiple Sklerose kurz vorgestellt (Abschnitt 1.1.). Die pathogenetischen Grundlagen der MS werden im Abschnitt 1.2. skizziert mit Erläuterungen zum besonderen Aspekt der Blut-Hirn-

Schranke und der Rolle von Entzündung bei der Multiplen Sklerose. Zur theoretischen Einführung folgt im dritten Abschnitt die Darstellung kernspintomographischer Methoden, Standardtechniken und innovativer Ansätze, die in der Multiplen Sklerose angewendet werden. Das Kapitel schließt mit der Formulierung der konkreten Fragestellung in Abschnitt 1.4.

## 1.1. Krankheitsbild Multiple Sklerose

### 1.1.1. Definition und Verlaufsformen

Die Multiple Sklerose, synonym als Encephalomyelitis disseminata (ED) bezeichnet, ist eine chronische Erkrankung des Zentralnervensystems. Wesentliches Kennzeichen sind neurologische Symptome in örtlicher und zeitlicher Dissemination. Im klinischen Kontext beschreibt der Begriff der örtlichen Dissemination das Auftreten pathologische Befunde in verschiedenen neurologischen Systemen (zum Beispiel Motorik, Sensibilität, Visus, Hirnnerven, Blasen-Mastdarm-Funktion). Unter zeitlicher Dissemination wird die Erscheinung von Krankheitszeichen zu verschiedenen Zeitpunkten (Schübe) verstanden.

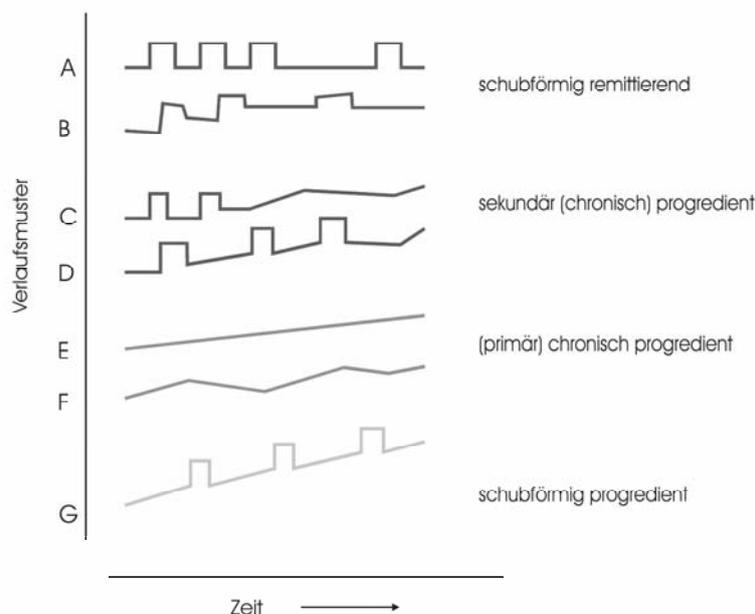


Abbildung 1. Verlaufsmuster der MS (nach Lublin & Reingold, 1996).

Dem klinischen Verlauf gemäß werden drei Formen der Erkrankung unterschieden. Bei 80% - 90% der Patienten beginnt die Erkrankung mit der schubförmig-remittierenden Form, die durch Schübe, die sich vollständig oder teilweise zurückbilden, gekennzeichnet ist (Abbildung 1 A und B). Nach 10 Jahren Krankheitsdauer nimmt bei ungefähr der Hälfte der Patienten die MS einen sekundär-chronisch progredienten Verlauf mit langsam zunehmender Beeinträchtigung zum Teil auch ohne weitere Schübe (Abbildung 1 C und D). Manifestiert sich die MS bereits initial mit progredienter Symptomatik und treten keine Schübe auf (ca. 10 – 20% der Patienten) spricht man von einer primär chronisch progredienten Form (Abbildung 1 E und F). (*Weinshenker et al., 1989; Lublin und Reingold, 1996*).

Durch die Heterogenität der Erkrankung und den oft unspezifischen Initialsymptomen kann eine Diagnosestellung mit Schwierigkeiten verbunden sein. Mit Einführung diagnostischer Kriterien auf der Basis von klinischen, paraklinischen, elektrophysiologischen und Liquorbefunden (*Poser CM et al., 1983*) lies sich die Diagnosesicherheit im klinischen Alltag deutlich erhöhen und machte klar definierte Patientenpopulationen in wissenschaftlichen Studien möglich. Die Option, auf Grundlage der Kriterien die Diagnose frühzeitig als „laborgestützt sichere Multiple Sklerose“ zu stellen, gewann mit Einführung der immunmodulierenden Therapie zur Schubprophylaxe immer mehr an Bedeutung. Kürzlich erfolgte durch eine internationale Expertenkommission eine Überarbeitung der Kriterien, die dem beträchtlichen Beitrag der Kernspintomographie in der Diagnostik- und Pathogeneseforschung Rechnung trägt. Die neuen Diagnosekriterien, die auch der Patientenauswahl dieser Arbeit zugrunde liegen, unterscheiden nunmehr zwischen „MS“, „möglicher MS“ und „keiner MS“ (*McDonald et al., 2001; Polman et al., 2005*). Die Diagnose kann weiterhin auch allein aufgrund objektiver klinischer Befunde gestellt werden, anamnestische Angaben alleine werden jedoch als nicht ausreichend eingestuft. Befunde von VEP-, Liquor- und MRT-Untersuchung (siehe Tabelle 1) werden ergänzend herangezogen, wenn die klinischen Ergebnisse zur Diagnosestellung nicht ausreichen.

Klinische Zeichen (Schübe)	Klinisch objektivierbare Läsionen	Zusätzliche Anforderungen zur Diagnosestellung
2 oder mehr	2 oder mehr	Keine, klinische Evidenz ausreichend, zusätzliche Evidenz wünschenswert, muss dann mit MS vereinbar sein
2 oder mehr	1	Räumliche Dissemination in der MRT <sup>a</sup> <b>oder</b> Positiver Liquorbefund <sup>b</sup> und 2 oder mehr MS-typische Läsionen in der MRT <b>oder</b> Weiterer klinischer Schub
1	2 oder mehr	Zeitliche Dissemination in der MRT <sup>c</sup> <b>oder</b> Weiterer klinischer Schub
1 (monosymptomatische Präsentation)	1	Räumliche Dissemination in der MRT <b>oder</b> Positiver Liquorbefund und 2 oder mehr MS-typische Läsionen in der MRT <b>und</b> Zeitliche Dissemination in der MRT <b>oder</b> Weiterer klinischer Schub

**Tabelle 1.** Diagnostische Kriterien der schubförmigen MS. <sup>a</sup> gemäß Tabelle 2 A). <sup>b</sup> Ein positiver Liquorbefund liegt bei Nachweis oligoklonaler Banden oder erhöhtem IgG-Index vor. <sup>c</sup> gemäß Tabelle 2 B) (McDonald et al., 2001; Polman et al. 2005).

<p><b>A)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Eine kontrastmittelanreichernde Läsion oder bei fehlender kontrastmittelanreichernder Läsion neun T2 hyperintense Läsionen</li> <li>• Eine oder mehrere infratentorielle Läsionen</li> <li>• Eine oder mehrere juxtakortikale Läsionen</li> <li>• Drei oder mehrere periventrikuläre Läsionen</li> </ul>	<p><b>B)</b> Nachweis einer kontrastmittelanreichernden Läsion an einer neuer Stelle in einer Untersuchung mindestens 3 Monate nach dem ersten klinischen Ereignis</p> <p><b>oder</b></p> <p>Nachweis einer neuen T2-Läsion in einer Kontrolluntersuchung mindestens 1 Monat nach dem initialen klinischen Ereignis</p>
--	---

**Tabelle 2.** MRT-Kriterien der räumlichen und zeitlichen Dissemination bei MS. A) Zum Nachweis der räumlichen Dissemination müssen mindestens drei der vier Kriterien erfüllt sein. Eine Rückenmarksläsion kann eine Hirnläsion ersetzen, eine kontrastmittelanreichernde spinale Läsion ist einer kontrastmittelanreichernden cerebralen Läsion gleichzusetzen. B) Kriterien zum Nachweis der zeitlichen Dissemination (Barkhof et al., 1997; Tinoré et al., 2000; McDonald et al., 2001; Polman et al., 2005).

Eine zentrale Rolle ist der MRT zugewiesen, das sowohl die Grundlage für den Nachweis der räumlichen (siehe Tabelle 2 A) wie auch der zeitlichen (siehe Tabelle 2 B) Dissemination bietet. Hieran ist zu erkennen, welche Bedeutung die Kernspintomographie in der Diagnostik und Erforschung der MS einnimmt.

### 1.1.2. Epidemiologie und Genetik

Die MS bevorzugt wie andere autoimmunbedingte Erkrankungen, als Beispiel sei die Rheumatoide Arthritis genannt, das weibliche Geschlecht. Das Verhältnis erkrankter Frauen zu erkrankten Männern beträgt ca. 2:1. Dabei muss die primär chronische progrediente Form abgegrenzt werden, bei der beide Geschlechter gleich häufig betroffen sind. Der Einfluss der Sexualhormone und anderer geschlechtsspezifische Faktoren auf die Immunantwort werden als Erklärung herangezogen (*Duquette et al., 1992*).

Die genaue Anzahl der MS-Patienten in Deutschland ist unbekannt. Neueste Schätzungen gehen unter Einbeziehung aller eindeutigen, wahrscheinlichen und fraglichen Fällen von einer Prävalenz von ca. 130 Erkrankten pro 100 000 Einwohner und einer Inzidenz von 3 pro 100 000 Einwohner aus (*Hein und Hopfenmüller, 2000*). Die MS ist somit in Deutschland die häufigste chronisch-entzündliche Erkrankung des Zentralnervensystems. Deutschland gehört wie andere europäische Länder, Nordamerika und Australien zu den Regionen mit einem hohem Erkrankungsrisiko. Betrachtet man die weltweite Verteilung der MS, zeigt sich eine Zunahme der Prävalenz mit zunehmender Entfernung vom Äquator sowohl in südlicher wie auch nördlicher Richtung (siehe Abbildung 2). Diese Regel gilt auch in umschriebenen Regionen. So zeichnet sich in Europa ein Nord-Süd-Gradient mit der höchsten Erkrankungsrate in Skandinavien (50 – 105 pro 100 000) und Großbritannien (87 – 287 pro 100 000) ab (*Kurtzke, 2000*). Ein bisher unbekannter Umweltfaktor in der Ätiologie der MS wird postuliert, der zu einer Häufung der Erkrankung in Gebieten mit gemäßigttem Klima und guter wirtschaftlicher Entwicklung führt.

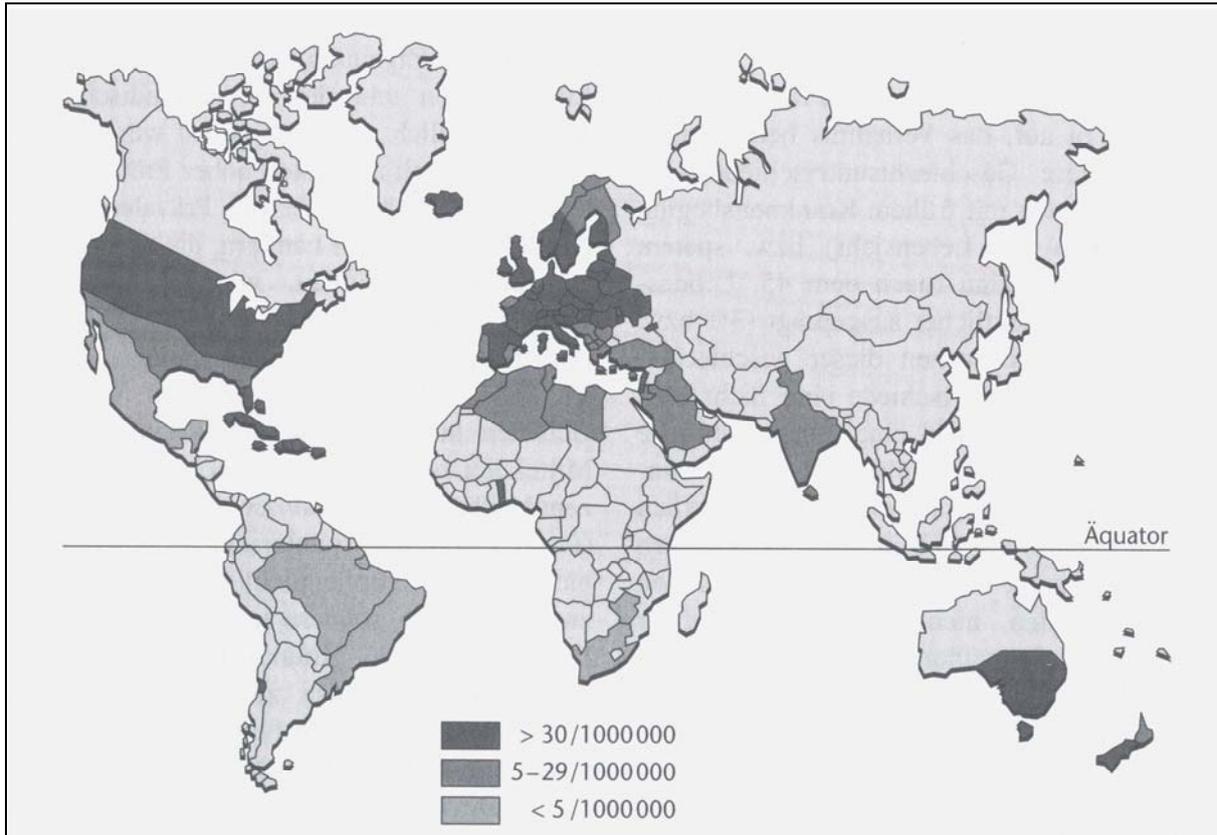


Abbildung 2. Weltweite Verteilung der Multiplen Sklerose. Hochrisikogebiete (Prävalenz > 30 pro 100000) sind dunkelgrau, Gebiete mit mittlerem Erkrankungsrisiko (Prävalenz 5 – 29 pro 100000) mittelgrau und Niedrigrisikogebiete (Prävalenz < 5 pro 100000) hellgrau markiert (nach Compston, 1998).

Aus Migrationsstudien wird geschlossen, dass ein Umwelteinfluss in der frühen Lebensphase über die spätere Manifestation der Erkrankung mitbestimmt (Martin und McFarland, 1995; Kurtzke, 2000). Erfolgt eine Umsiedlung nach dem 15. Lebensjahr, so behält der Migrant das Risiko des Herkunftslandes, bei Migration vor dem 15. Lebensjahr nähert sich das Erkrankungsrisiko dem des neuen Lebensumfeldes an (Elián et al., 1990).

Dieser Umweltfaktor könnte möglicherweise eine übertragbare Infektionskrankheit sein. Dies wird aus dem Auftreten von MS-Endemien auf den Faröer Inseln und in Island im zeitlichen Zusammenhang mit der Stationierung der britischen Truppen im II. Weltkrieg postuliert (Kurtzke, 1993; Kurtzke, 2000). Diese Hypothese wird jedoch kontrovers diskutiert, insbesondere gelang es bisher noch nicht, einen spezifischen Erreger zu identifizieren, der eine MS auslösen könnte. Aufgrund von

epidemiologischen und infektionsbiologischen Untersuchungen kommt als Kandidat für diesen Ko-Faktor der Epstein-Barr-Virus in Frage (Ascherio und Munch, 2000).

Vermutlich tragen auch genetische Komponenten zur geographischen Verteilung der MS bei. Suszeptibilitätsgene könnten durch die Raub- und Erkundungsfahrten der Wikinger im Mittelalter und die Auswanderungswellen von Europäern vor allem nach Nordamerika und Australien Ende des 19. und Anfang des 20. Jahrhunderts verbreitet worden sein (Martyn, 1991; Poser CM, 1995). Auch die deutlich unterschiedliche Prävalenz der MS in verschiedenen Ethnien, selbst wenn sie im selben geographischen Raum leben, weist auf einen genetischen Einfluss hin. So ist bei afroamerikanischen Männern das Erkrankungsrisiko nur etwa halb so hoch wie bei Amerikanern kaukasischen Ursprungs.

Bei 20% der MS-Patienten ist mindestens ein weiteres Familienmitglied an MS erkrankt. Zwillingsstudien zeigen eine Konkordanzrate von 25% bei monozygoten Zwillingen im Gegensatz zu 3% bei dizygoten Zwillingen, die derjenigen von Nicht-Zwillingsgeschwistern entspricht (Sommer et al., 1996). Durch genomweite Kopplungsanalysen, die zur Lokalisation und Identifizierung krankheitsrelevanter Gene eingesetzt werden, wurden Kandidatengenregionen auf den Chromosomen 3, 6, 17 und 18 identifiziert (Sotgiu et al., 2004). Ebenfalls auf Chromosom 6 sind die Histokompatibilitätsantigene (HLA) lokalisiert, die die sogenannten Transplantationsantigene kodieren. Sie sind wesentlich für die Antigenerkennung von T-Zellen. In ethnisch definierten Gruppen sind unterschiedliche HLA-Haplotypen signifikant mit der Empfänglichkeit für MS assoziiert. Dies gilt zum Beispiel für den Phänotyp DR15-DQ6 und mit den entsprechenden Allelen DRB1\*1501 und DQB1\*0602 in Populationen nordeuropäischen Ursprungs, wie anhand mehrerer Studien gezeigt wurde (Hensiek et al., 2003).

Zusammenfassend wird gegenwärtig angenommen, dass es sich bei der MS um eine multifaktorielle Erkrankung handelt, bei der eine genetisch bedingte Prädisposition und Einflüsse bisher unbekannter Umweltfaktoren zu einem Autoimmunprozess im Zentralnervensystem (ZNS) führen.

### 1.1.3. Klinisches Bild

Das klinische Erscheinungsbild der MS wird geprägt von der Heterogenität der Krankheitssymptome. Sie entsteht durch die potentielle Manifestation von Entmarkungsherden im gesamten ZNS. Charakteristisch ist eine Lokalisation im axonreichen Gewebe des periventrikulären Marklagers, des Balkens, der Sehnerven, des Hirnstamms, des Kleinhirns und des Myelons. Jedoch lassen sich auch, primär mit histologischen Methoden, kortexnahe bzw. kortikale Herde und Läsionen im Basalganglienbereich nachweisen. Sensibilitätsstörungen im Sinne von Sensibilitätsdefizit, aber auch Parästhesien und Dysästhesien, spastische Paresen, Extremitäten- und Gangataxie stellen typische Symptome einer MS dar. Störungen der Okulomotorik, dabei insbesondere die internukleäre Ophthalmoplegie, und weitere Ausfallerscheinungen der Hirnnerven sind Ausdruck einer Schädigung im Hirnstammbereich. Eine Neuritis nervi optici mit einhergehender Visusminderung tritt in cirka einem Drittel der Fälle im Rahmen der Erstmanifestation auf (*Poser S et al., 1979*). Bei der Hälfte aller MS-Patienten finden sich kognitive Einbußen, die bereits in frühen Krankheitsphasen deutliche Auswirkungen haben können (*Rao et al., 1991*). Auch psychische Veränderungen wie Affektlabilität und depressive Symptome werden beobachtet. Im fortgeschrittenen Krankheitsstadium leidet die Mehrzahl der Patienten neben Dysarthrie und Dysphagie auch unter Blasen-, Mastdarm- und Sexualfunktionsstörungen. Charakteristisch ist auch eine vermehrte Ermüdbarkeit und rasche Erschöpfbarkeit, die als Fatigue bezeichnet wird.

Bei der RRMS treten die Symptome akut oder subakut in sogenannten Schüben auf, die innerhalb von Tagen bis Wochen vollständig oder teilweise remittieren. Ein Schub wird klinisch definiert als Auftreten eines neuen oder das Wiederauftreten beziehungsweise die Verschlechterung eines früheren Krankheitssymptoms über mindestens 24 Stunden. Gemäß der aktuellen Definition muss ein Abstand von mindestens 30 Tagen zum Beginn des vorausgegangenen Schubes bestehen und die Symptome dürfen nicht im Rahmen von Infektionen oder erhöhter Körpertemperatur entstehen (*McDonald et al., 2001, Polman et al., 2005*). Letzteres wird als Uhthoff-Phänomen beschrieben, bei dem eine Zunahme bereits

vorbestehender Beschwerden beziehungsweise ein Wiederauftreten zwischenzeitlich abgeklungener Beschwerden bei Ansteigen der Körperkerntemperatur zum Beispiel durch körperlicher Betätigung beobachtet wird. Aber auch psychische Belastungssituationen können zu kurzfristigen, schubunabhängigen Krankheitszeichen führen. Das bei MS-Patienten häufige Zeichen nach Lhermitte (elektrisierende Missempfindungen bei Nackenbeugung) soll durch eine unphysiologische Erregungsübertragung zwischen demyelinisierten Axonen im Bereich von Halsmarkläsionen verursacht werden.

### 1.1.4. Immunmodulierende Therapie

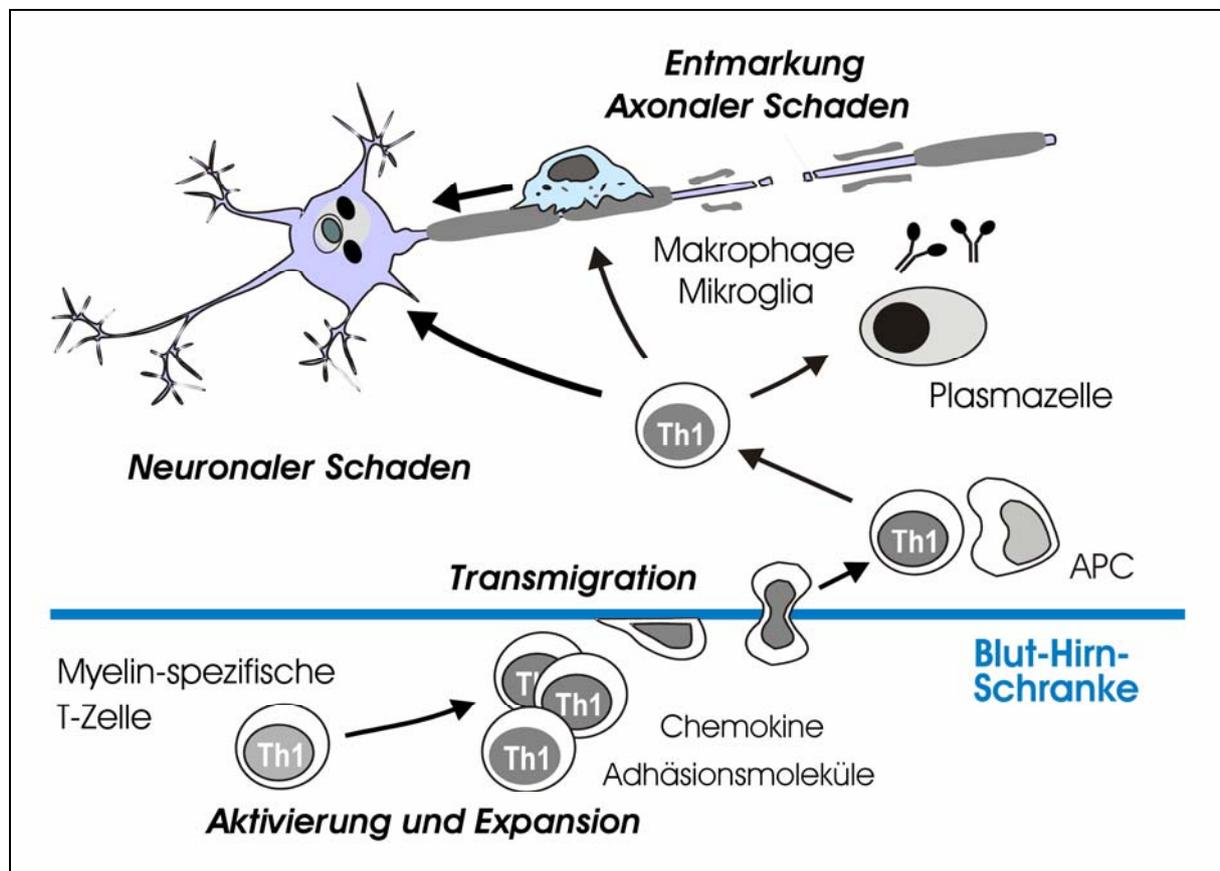
Die Behandlungsmöglichkeiten der MS haben sich in den letzten 10 Jahren deutlich verbessert. Neben der etablierten Therapie des akuten Schubes mit Hochdosis-Steroiden führten die positiven Ergebnisse großer multizentrischer Studien zur Zulassung der Interferon- $\beta$ -Präparate (*The IFNB multiple sclerosis study group, 1995; Jacobs et al., 1996; PRISMS [Prevention of Relapses and Disability by Interferon  $\beta$ -1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis] Study Group, 1998*), von Glatirameracetat (*Johnson et al., 1995; Comi et al., 2001a*) und von Mitoxantron (*Hartung et al., 2002*). In diesen Studien konnte nicht nur mit Klasse I Evidenz die klinische Wirksamkeit durch eine signifikante Reduktion der Schubfrequenz bzw. Krankheitsprogression nachgewiesen werden, sondern es konnte auch mit kernspintomographisch definierten primären und sekundären Endpunkten ein paraklinischer Wirksamkeitsnachweis durch eine verringerte cerebrale Läsionslast und eine Reduktion kontrastmittelanreichernder Herde erbracht werden.

Zukünftige Therapiestudien werden MRT-Parameter als objektive Studienvariable noch mehr ins Zentrum der Untersuchung rücken. Innovative MRT-Anwendungen wie zum Beispiel Spektroskopie, Atrophiemessung auf Grundlage cerebraler und spinaler Bildgebung, MTR sowie Diffusions- und Perfusionsmessung bilden pathophysiologische Aspekte der Erkrankung ab und eröffnen so die Möglichkeit, direkte, krankheitsmodifizierende Effekte zu überprüfen.

## 1.2. Pathogenese der MS

### 1.2.1. Aktuelles pathogenetisches Konzept

Die MS wird als immunpathologische Krankheit gesehen, die durch autoreaktive T-Zellen im Rahmen eines Autoimmunprozesses gegen Bestandteile der Myelinscheiden und Nervenzellen verursacht wird. Daraus erfolgen Demyelinisierung, und Axondegeneration und Neuronenuntergang (*Martin et al., 1992; Aktas et al., 2005*).



**Abbildung 3.** Pathogenese der MS. Die wesentlichen pathogenetischen Schritte bestehen aus der Aktivierung myelinspezifischer T-Zellen in der Peripherie, der Migration durch die Blut-Hirn-Schranke gefördert durch Chemokine und Adhäsionsmoleküle, der Aktivierung ortständiger Antigen-präsentierender Zellen (Makrophagen, Mikroglia) und Verstärkung der lokalen Entzündungsreaktion. Es resultiert über eine Zerstörung von Oligodendrozyten und Myelinscheiden die Entmarkung und Untergang von Axonen, sowie ein direkter neuronaler Schaden (nach Aktas & Zipp, 2003).

Das ZNS ist durch die Blut-Hirn-Schranke, die aus Gefäßendothelzellen, Basalmembran und Fortsätzen der Astrozyten gebildet wird (zu Details siehe Abschnitt 1.2.3.), als in sich geschlossenes Kompartiment abgeschirmt. Jedoch können in der Peripherie aktivierte T-Lymphozyten über eine Expression von Adhäsionsmolekülen und Chemokinrezeptoren an der Zelloberfläche die Barriere selektiv überwinden (*Archelos und Hartung, 1997; Sellebjerg et al., 2000, Markovic-Plese and McFarland, 2001*). Diese Transmigration ist unabhängig von einer Antigenpezifität und kann somit nicht hinreichend für die Genese einer Autoimmunerkrankung sein. Seit langem ist bekannt, dass T-Lymphozyten im Gegensatz zu B-Lymphozyten kein lösliches Antigen erkennen, sondern auf Zellen angewiesen sind, die das spezifische Antigen präsentieren. Aktuelle Studien zufolge übernehmen ortständige Mikroglia und Astrozyten, perivaskuläre dendritische Zellen und eingewanderte B-Zellen sowie Makrophagen die Aufgabe der Antigenpräsentation (*Aloisi et al., 2000; Greter et al., 2005*).

Anhand der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), dem Tiermodell der MS, konnten T-Zellen verschiedener Spezifitäten identifiziert werden, die enzephalitogen sind. Diese sind gegen Proteinbestandteile der Myelinscheiden wie das basisches Myelinprotein (MBP), Proteolipidprotein (PLP), Myelinoligodendrozytenglykoprotein (MOG) gerichtet (*Hohlfeld, 1997, Gold et al., 2006*). Aber auch andere, nicht myelinassoziierte Autoantigene wie S-100, ein astrozyteres Protein, oder das Hitze-Schock Protein alpha-B Kristallin werden als Zielantigen bei der MS diskutiert. In humanen *in-vivo* Studien ließen sich MBP-spezifische T-Zellen sowohl bei Gesunden wie auch bei MS-Kranken isolieren. Ob möglicherweise eine unterschiedliche Frequenz oder das Ausmaß von Aktivierung autoreaktiver T-Zellen im Blut zur Manifestation der Erkrankung beiträgt, ist Gegenstand kontroverser Diskussion.

Autoreaktive T-Zellen werden im ZNS nach Antigenerkennung reaktiviert, richten ihre direkte Zytotoxizität gegen Oligodendrozyten und Neurone (*Jurewicz et al., 1998; Aktas et al., 2005*) und sezernieren differenziert zu T-Helfer-1 (Th1) Zellen proinflammatorische Zytokine wie Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) und Tumornekrosefaktor- $\alpha$

(TNF- $\alpha$ ) und IL-2 sowie Zytotoxine wie Perforin, CD95L und *TNF-related apoptosis inducing ligand* (TRAIL) (Beck et al. 1988; Selmaj und Raine 1988; Janeway et al., 1999; Aktas et al., 2006). Diese Zytokine haben eine apoptotische Wirkung auf Oligodendrozyten und stimulieren indirekt die Freisetzung von Sauerstoff- und Stickstoffradikalen aus Makrophagen und Mikrogliazellen. Zytokine und Proteasen führen schließlich zu einer Zerstörung der Blut-Hirn-Schranke, so dass u. a. chemokinvermittelt weitere Effektoren des Immunsystems (Makrophagen, B-Zellen, Komplementfaktoren, Antikörper) aus dem Blut in das ZNS eindringen können. Jedoch muss es über die T-Zell-vermittelte Entzündungsreaktion hinaus noch weitere Prozesse geben, die zu einer Demyelinisierung der Axone führen. Dies könnte durch eine Bindung autoantigener Antikörper an die Myelinscheiden und eine Initiierung des Komplementsystems geschehen (Storch et al., 1998). Aber auch aktivierte Makrophagen, Matrix-Metalloproteinasen, Zytokine und Sauerstoffradikale könnten zur Zerstörung des Myelins beitragen (Kieseier et al., 1999).

Die oben ausgeführten zellulären und molekularen Vorgänge laufen im Wesentlichen in der Akutphase der Erkrankung ab. Sie imponiert klinisch als Schub und kernspintomographisch als kontrastmittelanreichernder Herd. Doch welche Erklärungsansätze gibt es für die zumindest in der Anfangsphase der MS typische Remission? Im Laufe der akuten Exacerbation, so wird derzeit postuliert, entsteht eine Verschiebung von einem proinflammatorischen Th1- zu einem vornehmlich immunregulatorischen, eher anti-inflammatorischen Th2-Milieu, das von aktivierten B-Zellen und immunmodulatorischen Zytokinen wie IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 bestimmt wird (Begolka und Miller, 1998; Janeway et al., 1999). Im Sinne eines funktionellen Antagonismus wird die Aktivität der Th1-Zellen unterdrückt, die Entzündung klingt ab (Racke et al., 1992; Cash et al., 1994). Einher geht klinisch eine (partielle) Remission und eine Restitution der Blut-Hirn-Schranke mit konsekutiver Abnahme beziehungsweise Verschwinden der Kontrastmittelanreicherung in der MRT. Im weiteren Verlauf entwickelt sich im Bereich der Läsion eine reaktive Astroglie, auch Remyelinisierung wird beobachtet (Noseworthy et al., 2000).

### 1.2.2. Neuropathologische Grundlagen

MS-Läsionen können im gesamten ZNS entstehen. Prädilektionsstellen sind die Sehnerven, der Hirnstamm, das Rückenmark, das Kleinhirn und die periventriculäre weiße Substanz. Sie sind jedoch nicht nur darauf beschränkt. Bereits in historischen Beschreibungen und systematisch in den letzten Jahren untersucht, finden sich vermehrt Hinweise, dass Läsionen auch im kortikalen und juxtakortikalen Bereich sowie in der tiefgelegenen grauen Substanz auftreten (*Peterson et al., 2001; Kutzelnigg et al., 2005*). Die Plaques sind am Erkrankungsbeginn häufig rund oder ovoid ausgebildet und variieren in der Größe zwischen wenigen Millimetern bis etwas mehr als 1 cm. Mit Fortschreiten des Krankheitsbildes konfluieren die Läsionen, es bilden sich unregelmäßig begrenzte Plaques aus, die weite Teile des Marklagers betreffen können (*Fazekas et al., 1988*). Charakteristisch für die Multiple Sklerose werden die Läsionen im Bereich des Balkens, am besten in sagittaler Schnittführung oder Bildausrichtung sichtbar, als „Dawson Fingers“ beschrieben.

Histopathologisch lassen sich aktive von inaktiven Läsionen eindeutig differenzieren. Eine massenhafte Infiltration mit aktivierten Makrophagen und Phagozytose von Myelinproteinen in den Läsionen zeigen einen aktiven Entmarkungsprozess an. Die chronische, inaktive Läsion ist zellarm, scharf begrenzt ohne Hinweise auf einen Myelinabbau und zeigt eine ausgeprägte fibrilläre Gliose (*Brück et al., 1995*).

Darüber hinaus zeigen histopathologische Untersuchungen von MS-Läsionen nicht nur eine Demyelinisierung, sondern auch bereits in frühen Stadien der Erkrankung eine axonale Schädigung (*Bitsch et al., 2000; Trapp et al., 1998*). Über mögliche Mechanismen wird noch diskutiert. Im Fall der akuten entzündungsvermittelten Entmarkung könnten zytotoxische und phagozytierende Bestandteile des Immunsystems wie T-Zellen und Makrophagen direkt Axone attackieren. Jedoch findet sich keine Korrelation zwischen aktiver Entmarkung und Axonschädigung (*Bitsch et al., 2000*). Insbesondere in chronischen Läsionen könnten zusätzliche Prozesse wie zum Beispiel eine größere Vulnerabilität de- oder inkomplett

remyelinierter Axone oder eine trophische Störung der Axone mit sekundärer Degeneration bei Oligodendrozytenschädigung eine Rolle spielen.

Die Muster der Entmarkung und Schädigung des Hirnparenchyms bei der MS sind wie das Krankheitsbild selbst sehr heterogen. Neuere neuropathologische Untersuchungen beim Menschen scheinen vier Muster der Myelindestruktion unterscheiden zu können, wobei jeweils intraindividuell bei verschiedenen Läsionen eine Konstanz des Musters bestehen soll (*Lucchinetti et al., 1996; Lucchinetti et al., 2000*). Eine autoimmunvermittelte Demyelinisierung wird als Schädigungsprozess bei Muster I (Makrophagen-assoziierte Entmarkung) und Muster II (Makrophagen-assoziierte Entmarkung mit Nachweis von Immunglobulinen und aktiviertem Komplementkomponenten entsprechend einer Antikörper-medierten Entmarkung) postuliert. Abgrenzbare Plaques, in denen T-Lymphozyten und Makrophagen dominieren, umgeben kleine Blutgefäße. Oligodendrozyten sind in Arealen aktiver Entmarkung in der Zahl vermindert, lassen sich jedoch in der zentralen Zone wieder darstellen, Remyelinisierung wird regelmäßig beobachtet. Das Muster III wird beschrieben als Oligodendrozytopathie mit folgender Apoptose dieser Zellen. Neben einem entzündlichen Infiltrat ist es durch eine Störung der Myelinproteinexpression und einem selektiven Verlust von MAG charakterisiert. Die Zahl der Oligodendrozyten in den Läsionen ist deutlich reduziert, eine Remyelinisierung tritt nur im geringen Ausmaß auf. Das Muster IV fand sich ausschließlich bei Patienten mit dem klinischen Bild einer PPMS. Es ist bestimmt durch eine primäre Oligozytendegeneration in der die Läsion umgebenden weißen Substanz, die zu einer sekundären Entmarkung mit entsprechender Läsionsbildung führt (*Lucchinetti et al., 2005*). Eine sichere Unterscheidung der einzelnen Formen durch paraklinische Parameter ist bisher noch nicht möglich, auch ist noch offen, ob einzelne Formen ineinander übergehen können (*Trebst et al., 2006*).

### 1.2.3. Die Blut-Hirn-Schranke

Die Störung der Blut-Hirn-Schranke galt lange Zeit als erster, essentieller Schritt der Bildung einer MS-Läsion (*Harris et al., 1991; McFarland, 2001*). Bei gestörter BBB können Substanzen aus dem Blut ungehindert in das Hirngewebe eindringen, so auch intravenös verabreichtes MRT-Kontrastmittel. Aus einer intracerebralen Kontrastmittelanreicherung in der kernspintomographischen Untersuchung kann folglich auf eine Schädigung der BBB geschlossen werden. Die kontrastmittelanreichernde Läsion wird in der MS als das Korrelat von akut entzündlicher Krankheitsaktivität angesehen. Aufgrund ihrer zentralen Rolle in der Pathogenese der MS und im paraklinischen Monitoring der Erkrankung soll im Folgenden die Blut-Hirn-Schranke genauer erläutert werden.

Die physiologische Aufgabe der BBB ist der Schutz des ZNS, so dass ein homoeostatisches Milieu für eine optimale neuronale Aktivität aufrecht erhalten wird. Sie bildet eine anatomische und biochemische Barriere gegen den Einstrom von Neurotransmittern und potentiellen Toxinen aus dem Blutstrom. Sie reguliert aktiv den Substanztausch (zum Beispiel Aufnahme von Glucose und Aminosäuren, Abgabe von Stoffwechselendprodukten, Wasseraustausch) zwischen Gehirn und Blut durch Rezeptor-vermittelte Transportvorgänge, Pinozytose und transzelluläre Diffusion.

---

Intracerebrale Neubildungen  
Schädel-Hirn-Trauma  
Infektion  
Ischämie  
M. Alzheimer  
Migräne  
Drogenmissbrauch  
Systemische Erkrankungen – z. B. Diabetes mellitus

---

*Tabelle 3.* Tabellarische Auflistung von Erkrankungen mit Blut-Hirn-Schrankenstörung (*Hawkins und Davis, 2005*).

Histologisch besteht die BBB aus einer epithelähnlichen Endothelschicht in den hirnversorgenden Gefäßen, der Basalmembran, den Perizyten (gefäßbegleitende Zellen, die im Gehirn gehäuft vorkommen), perivaskulären Makrophagen und aus den Fortsätzen der Astrozyten. Die Endothelzellen sind über Tight Junctions verbunden, einer Zell-Zell-Verbindung, die Diffusion von Substanzen zwischen Zellen hindurch nicht gestattet. Eine Schädigung der BBB wird nicht nur in der akuten MS-Läsion beobachtet. Einige andere Erkrankungen mit bekannter Blut-Hirn-Schrankenstörung sind in Tabelle 3 aufgeführt (*Hawkins und Davis, 2005*).

Nur teilweise sind die Mechanismen geklärt, die zur Schrankenstörung führen. Im Falle einer metastatischen Absiedlung eines extracerebralen Tumors im ZNS sind die neugebildeten Gefäße denen des Gewebes ähnlich, von denen der Tumor abstammt und bilden somit keine Tight Junctions aus (*Papadopoulos et al., 2004*). Im Falle der Ischämie führt der hypoxisch bedingte Zelluntergang zu einer physischen Diskontinuität der Barriere. Im EAE-Tiermodell konnte gezeigt werden, dass eine Kontrastmittelanreicherung im MRT histopathologisch mit einer Schrankenstörung und einem perivaskulärem Lymphozyteninfiltrat einhergeht (*Hawkins et al., 1990*). Auch konnte durch Untersuchungen an humanem Biopsiematerial von MS-Patienten ein Zusammenhang zwischen einer Kontrastmittelanreicherung in Läsionen und Entzündungsparametern wie perivaskulärem Lymphozyten- und Makrophageninfiltrat hergestellt werden (*Katz et al., 1993; Brück und Stadelmann, 2005*).

### 1.3. Kernspintomographie in der Multiplen Sklerose

Die Kernspintomographie, auch Magnetresonanztomographie (MRT) genannt, bietet die Möglichkeit als sensitive Methode ohne Applikation von Röntgenstrahlen verschiedene Gewebe des Körpers darzustellen. In der klinischen Routine ist sie die diagnostische Methode der Wahl bei entzündlichen Erkrankungen des ZNS. Sie basiert auf dem physikalischen Prinzip, dass Kerne, die um die eigene Achse rotieren, einen magnetischen Dipol darstellen. In ein Magnetfeld gebracht, richtet sich die Kreiselbewegung solcher Kerne (Spin) aus und fällt nach Verlassen des Magnetfeldes wieder in seine Ausgangsposition zurück (Relaxation). Durch die Rückkehr in die Ausgangsposition entsteht ein sehr schwaches elektromagnetisches Signal, das mit Empfängerspulen gemessen werden kann.

Nach repetitiven Messungen werden diese Signale in digitaler Form mathematisch weiterverarbeitet und in Form eines Bildes visualisiert. Bei der derzeitigen klinischen Anwendung der MRT wird eine Anregungssequenz verwendet, die auf positiv geladene Wasserstoffionen (Protonen) ausgerichtet ist, diese entstammen überwiegend den intra- und extrazellulären Wassermolekülen.

Die Relaxationsprozesse sind durch zwei Zeitkonstanten charakterisiert: Die Relaxationszeit  $T_1$  ist die Beschreibung der energetischen Wechselwirkung mit der Umgebung (Spin-Gitter-Relaxation), die kürzere  $T_2$ -Relaxationszeit ist Ausdruck der gegenseitigen Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen abgelenkten Spins (Spin-Spin-Relaxation). Je nach Selektion der Pulsfrequenz und Messzeiten resultieren unterschiedlich gewichtete Bilder mit unterschiedlich kontrastierter Darstellung von Gewebestrukturen. Mit Hilfe der Spektroskopie können aber auch quantitative Parameter und Substanzen im Gewebe untersucht werden.

### 1.3.1. Konventionelle MRT-Untersuchungen

Seit Einführung der MRT in die medizinische Anwendung in den 80er Jahren ist die Beschreibung von Gewebeeränderungen anhand der T2- und T1-gewichteten Bildgebung in der Multiplen Sklerose Gegenstand intensiver Forschungsaktivität. In prospektiven Studien wurden anhand von Zahl und Verteilungsmuster der in T2-Wichtung dargestellten Läsionen und dem Nachweis von kontrastmittelanreichernden Herden in T1-Wichtung Paradigmen entwickelt (*Barkhof et al., 1997; Tintoré et al., 2000*), die einen zentralen Punkt der aktuellen Diagnosekriterien der MS ausmachen (*McDonald et al., 2001; Polman et al., 2005*). Es gibt mittlerweile gesicherte Daten zum prädiktiven Stellenwert der cerebralen Läsionslast. Bei Patienten mit einem einmaligen demyelinisierenden Ereignis (*Clinically Isolated Syndrome, CIS*) ist der Nachweis von drei oder mehr Marklagerläsionen im T2-gewichteten MRT-Bild ein sehr sensitiver Prädiktor (> 80%) für die Entwicklung einer klinisch gesicherten MS in den folgenden 7 bis 10 Jahren (*Frohman et al., 2003*).

#### 1.3.1.1. T2-Wichtung

Eine typische MS-Läsion ist oval bis rund und zeigt im T2-gewichteten Bild eine hohe Signalintensität. Zwischen akuter und chronischer Läsion kann nicht unterschieden werden. Gelegentlich stellt sich um eine deutlich hyperintense Läsion ein Saum geringerer Hyperintensität dar, der als perifokales Ödem interpretiert wird und somit indirekt einen Hinweis auf die Akuität der Läsion gibt. Diese sogenannten „akuten“ T2-Hyperintensitäten treten gewöhnlich zeitgleich mit einer kontrastmittelanreichernden Läsion auf (*Miller et al., 1998; Lee et al., 1999*). Diese Signaländerung wird als Entstehung eines Ödems in Folge einer gestörten BBB interpretiert (*van Waesberghe et al., 1997*), korreliert aber auch mit einer Reihe von weiteren pathologischen Prozessen wie Demyelinisierung, Axonverlust, Ansammlung aktivierter Makrophagen und Gliose (*Katz et al., 1993; Brück et al., 1997*).

### 1.3.1.2. T1-Wichtung mit und ohne Kontrastmittel

20% bis 30% der T2-Signaländerungen werden in T1-Wichtung als hypointense Läsionen dargestellt. Zum einen können sie akuten Entzündungsherden entsprechen, haben dann als pathologisches Substrat ein ausgeprägtes Ödem und können sich in einem nicht zu vernachlässigendem Anteil ohne strukturelle Veränderungen wieder zurückbilden. Bei chronischen hypointensen Läsionen, sogenannten „black holes“, geht man davon aus, dass dem veränderten Signalverhalten Demyelinisierung und Axonverlust entsprechen. Einige chronische T1-Herde zeigen jedoch eine geringer ausgeprägte Hypointensität. Sie werden als „Markschattenherde“ bzw. „shadow plaques“ bezeichnet. Neuropathologisch lässt sich in ihnen eine Remyelinisierung nachweisen (*Brück et al., 1997*).

In der Kernspintomographie werden verschiedene Kontrastmittel eingesetzt. Zur Untersuchung des Zentralnervensystems werden meist Gadolinium-haltige Kontrastmittel angewendet. Dabei handelt es sich um unspezifische niedermolekulare Substanzen, die sich nach intravenöser Injektion schnell im Extrazellulärraum verteilen und anschließend rasch renal ausgeschieden werden. Bei geschädigter BBB treten diese paramagnetischen Substanzen aus den Gefäßen aus und reichern sich im Gewebe an. Dadurch werden in diesen Regionen die T1-Relaxationszeiten deutlich verkürzt, dies zeigt sich in der T1-gewichteten MRT-Aufnahme an einem hyperintensiven Signal. In longitudinalen MRT-Studien konnte gezeigt werden, dass sich neu entstehende Plaques mit wenigen Ausnahmen initial als kontrastmittelanreichernde Herde darstellen (*Miller et al., 1998; Lee et al., 1999*). Die Dauer der Kontrastmittelanreicherung kann deutlich variieren, durchschnittlich ist sie in longitudinalen Untersuchungen mit wiederholter Kontrastmittelgabe für 3 Wochen nachweisbar, vereinzelt reichern Läsionen auch nach 10 Wochen Kontrastmittel an (*Cotton et al., 2003*). Im pathologischen Präparat einer kontrastmittelanreichernden Läsion finden sich Hinweise auf entzündliche Vorgänge und eine beginnende Demyelinisierung (*Katz et al., 1993; Brück et al., 1997*).

### 1.3.2. Innovative Untersuchungstechniken

Untersuchungen mit Korrelation bildgebender und histopathologischer Befunde haben gezeigt, dass mit den in der klinischen Anwendung etablierten MRT-Techniken (T2, T1 mit und ohne Kontrastmittel) pathologisch-anatomisch differenzierte Befunde erhoben werden können (siehe Abschnitt 1.3.1.). Das klinisch, neuropathologisch und immunologisch heterogene Bild der MS lässt sich durch diese Methoden jedoch nicht ausreichend fassen. Mit der Weiterentwicklung der MRT-Technik eröffnen sich nunmehr Möglichkeiten, Methoden einzusetzen, die *in vivo* Aussagen über die Veränderung des Gehirngewebes zulassen und somit neue Erkenntnisse über die Pathogenese der Erkrankung versprechen.

## 1.3.2.1. Diffusionsbildgebung

Durch die Brown'sche Molekularbewegung befinden sich Moleküle in Flüssigkeiten in ständiger Bewegung, dieser Vorgang wird als Diffusion bezeichnet. Im Falle von biologischem Gewebe, bei dem die freie Diffusion der Wassermoleküle durch Barrieren wie Zellwände und intrazelluläre Strukturen eingeschränkt ist, wird eine gerichtete (= anisotrope) Diffusion beobachtet. Diese differiert zwischen verschiedenartigem Gewebe und stellt sich in der diffusionsgewichteten Bildgebung (DWI) der Kernspintomographie mit unterschiedlichem Kontrast dar.

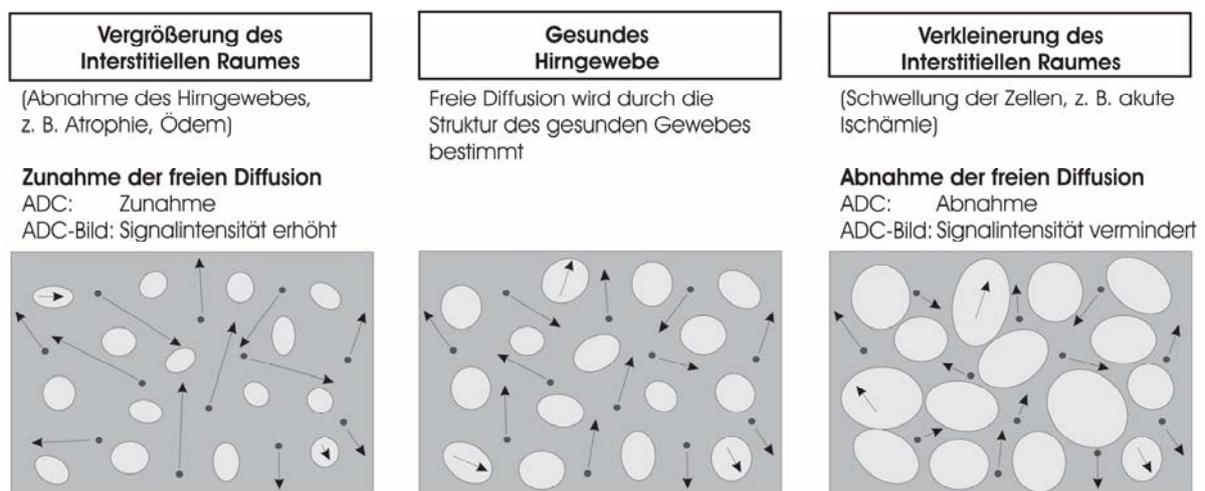
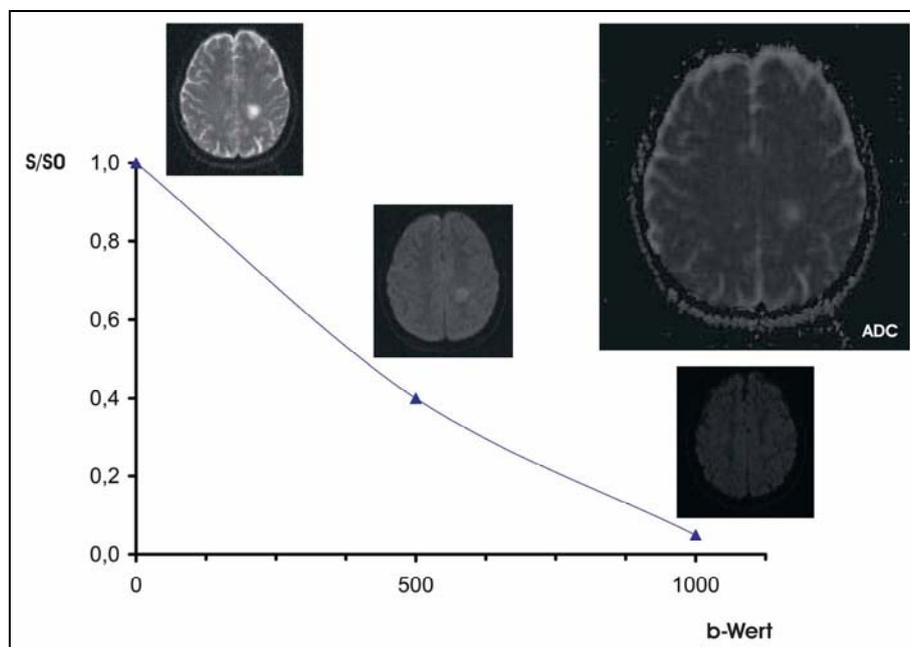


Abbildung 4. Schematische Darstellung der freien Diffusion der Wassermoleküle in Abhängigkeit unterschiedlicher Zustände des Hirngewebes (nach Sailer, 2002).

Aber auch subtile pathologische Prozesse, die zu einer Veränderungen auf Gewebeebene führen, können auf diese Weise sichtbar gemacht werden.

Die Diffusibilität kann mit Hilfe der DWI und des scheinbaren Diffusionskoeffizienten (Apparant Diffusion Coefficient, ADC) erfasst werden, wobei der ADC auch eine quantitative Aussage ermöglicht. Er stellt eine gewebs- bzw. funktionsspezifische Größe dar und ist ein Maß für die Stärke der Diffusionsbewegung in der Richtung des applizierten Gradientenpulses. Der ADC wird mit Hilfe mehrerer Messungen (mindestens 2) bei verschiedenen b-Werten errechnet (siehe Abbildung 5).

Im b-Wert werden Amplitude, Länge, Form und Abstand des applizierten Gradientenimpulses beschrieben. Je höher der Signalabfall, desto höher die Diffusionsgeschwindigkeit und somit höher der ADC, d. h. der ADC-Wert nimmt mit Abnahme diffusionseinschränkender Strukturen zu. Meist wird ein Quotient aus den



*Abbildung 5.* Messungen der gleichen Aufnahmeschicht bei unterschiedlichen b-Werten. Aus der Steigung der Verbindung der Messwerte der einzelnen b-Werte kann der ADC (Diffusionskoeffizient) berechnet werden (siehe Darstellung links oben). S gibt die Signalintensität bei einem bestimmten b-Wert und S0 die Signalintensität ohne Diffusionswichtung an. In der MS-Läsion ist der ADC bei zunehmender Diffusion erhöht (verändert nach Fiebach und Schellinger, 2003).

Einzelwerten der drei Raumachsen gebildet, um eine richtungsunabhängige Information über den Gewebezustand zu erhalten. Bisher durchgeführte Untersuchungen mit diffusionsgewichteter Bildgebung zeigen übereinstimmend einen erhöhten ADC in Läsionen im Vergleich zur NAWM (*Werring et al., 2000; Roychowdhury et al., 2000*), wobei der ADC im NAWM von MS-Patienten deutlich über dem des NAWM von gesunden, altersgleichen Kontrollpersonen liegt (*Werring et al., 1999*). In einer longitudinalen Studie konnte ein Anstieg des ADC vor Visualisierung der neuen Läsion als Kontrastmittelanreicherung in der T1-Aufnahme beobachtet werden (*Werring et al., 2000*). Studien mit kombinierter Erfassung von ADC und MTR konnten eine negative Korrelation dieser Parameter zeigen und lassen somit Rückschlüsse auf eine Gewebedestruktion zu (*Cercignani et al., 2000*). Es wird spekuliert, dass bei der MS die Zunahme des ADC am ehesten der akuten Demyelinisierung, weniger dem interstitiellem Ödem, entspricht. Der erhöhte ADC in chronischen, in T2-Wichtung hyperintens dargestellten Läsionen wird mit einem vermehrten Verlust der mikrostrukturellen Anordnung innerhalb von Läsionen im Vergleich zu geringergradigen Veränderungen in der NAWM erklärt.

### 1.3.2.2. Perfusionsmessung

Die Zunahme des regionalen Blutflusses bei Entzündung ist ein Phänomen, das bereits in der Frühzeit der Medizin in den Kardinalsymptomen der Entzündung „Tumor“, „Rubor“, „Calor“ und „Dolor“ (Celsus, 30 v. Chr.) beschrieben wurde (*Riede und Schäfer, 1993*) und sich in modernen pathophysiologischen Untersuchungen bestätigt (*Peretti und Ahluwalia, 2000; Moller et al., 2002*).

Als Perfusion wird der Blutfluss durch das Kapillarnetz im Gewebe, die sogenannte Mikrozirkulation, bezogen auf die Masse des Gewebes bezeichnet (Einheit ml [Blut]/100 g [Gewebe]/min). Sie kann durch kernspintomographische Methoden, bei denen ein exogener paramagnetischer Marker (Gd) eingesetzt wird (kontrastmittelverstärkte T2\*-Dynamik), gemessen werden. Bei Passage des Kontrastmittelbolus wird ein Signalabfall des umliegenden Gewebes in der T2\*-

Wichtung verursacht, aus dem bei bekannter Kontrastmitteldosis über den Signal-Zeit-Verlauf der Konzentrations-Zeit-Verlauf errechnet werden kann (siehe Abbildung 6).

$$C(t) \propto \Delta \frac{1}{T_2^*} = -\frac{k}{TE} \ln \frac{S(t)}{S_0}$$

*Abbildung 6.* Formel zur Berechnung des Konzentrations-Zeit-Verlaufs.  $TE$  Echozeit,  $S(t)$  Signal-Zeit-Verlauf,  $S_0$  Signal vor Kontrastmittelgabe (Nulllinie). Die Proportionalitätskonstante  $k$  ist abhängig vom verwendeten Kontrastmittel, der Pulssequenz und den Eigenschaften des untersuchten Gewebes.

Aus diesem lassen sich wiederum die hämodynamischen Parameter regionaler cerebraler Blutfluss (CBF), cerebrales Blutvolumen (CBV) und mittlere Transferzeit (MTT) quantifizieren. Im Falle einer gestörten BBB, die zu einer Extravasation von Kontrastmittel führt, müssen die dadurch veränderten Voraussetzungen in der Berechnung berücksichtigt werden (*Haselhorst et al., 2000*).

Bisher existieren nur wenige Arbeiten zur perfusionsgewichteten Bildgebung in der MS, in diesen Querschnittstudien wurden widersprüchliche Daten zur Perfusion im NAWM erhoben (*Law et al., 2004; Rashid et al., 2004*). Unterschiedliche, zum Teil sehr heterogene Studienpopulationen machen diese Untersuchungen jedoch nur sehr bedingt vergleichbar. Der entzündliche Focus der MS, die cerebrale MS-Plaques, ist bisher noch nicht longitudinal in seiner Entstehung unter dem Aspekt von Durchblutungsphänomenen untersucht worden.

#### 1.4. Fragestellung

Die Pathomechanismen und Prozesse, die bei der Multiplen Sklerose zur Erkrankung mit ihren unterschiedlichen Erscheinungsbildern führen, sind im Gesamtbild noch immer ungeklärt. Unbestritten besteht die Notwendigkeit, *in vivo* weitere Erkenntnisse zu Pathogenese und Verlauf der Erkrankung zu gewinnen, um sensitive Parameter zur Therapieevaluierung zu erhalten und gezielte, frühzeitige Therapieansätze zu entwickeln. Nur durch longitudinale Untersuchungen lassen sich bei einer interindividuell heterogenen Erkrankung wie der MS, die nach Manifestation den Patienten lebenslang mit wechselnder Dynamik begleitet, wesentliche Aspekte der Krankheitsentwicklung und des Verlaufes erfassen. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, in einer prospektiven Verlaufsuntersuchung mittels Kernspintomographie unter Anwendung von konventionellen Methoden (T1-/T2-Wichtung), sowie Perfusions- und Diffusionsbildgebung Einblicke in die Läsionsentwicklung in der Multiplen Sklerose unter Berücksichtigung des klinischen Kontextes zu gewinnen.

Im ersten Teil soll mittels konventioneller Kernspintomographie die Läsionsentwicklung im Verlauf bei Patienten mit hochaktivem, schubförmig-remittierenden Krankheitsverlauf untersucht werden. Wie stellt sich die Entwicklung der Läsionen im Verlauf dar? Lässt sich bei Patienten mit sowohl kernspintomographisch als auch klinisch florider Erkrankung ein Zusammenhang zwischen der cerebralen Läsionslast und dem klinisch-neurologischen Zustand erkennen? Welche Auswirkung hat ein positiver Kontrastmittelnachweis im cerebralen MRT als Ausdruck akuter Entzündungsaktivität auf klinische Parameter wie dem *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) und dem *Multiple Sclerosis Functional Composite* (MSFC)?

Im zweiten Teil der Arbeit stehen pathophysiologische Aspekte der Entstehung einer einzelnen Läsion im Fokus: Gibt es Veränderungen der Perfusionsparameter in der normal erscheinenden weißen Substanz während des Prozesses der Läsionsentstehung? Welcher zeitliche Zusammenhang besteht zwischen diesen Veränderungen und dem Auftreten einer Blut-Hirn-Schrankenstörung beziehungsweise einer Änderung der Diffusion? Weisen verschiedene Läsionstypen Unterschiede bezüglich Diffusion und Perfusion auf?

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1. Auswahl der Patienten

20 Patienten (18 Frauen und 2 Männer) mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose wurden prospektiv in die Untersuchung eingeschlossen. Die Diagnose wurde gemäß den MS-Diagnose-Kriterien nach McDonald gestellt und war auch nach Überarbeitung der Diagnosekriterien durch Polman weiterhin gesichert (*McDonald et al., 2001; Polman et al., 2005*). Alle Patienten waren ohne immunmodulierende Behandlung bei Studienbeginn. Die Rekrutierung der Patienten erfolgte im Rahmen der Neuroimmunologischen Sprechstunde der Neurologischen Klinik und Poliklinik der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte. Alle Patienten erklärten schriftlich ihr Einverständnis zur Studienteilnahme. Wie in Tabelle 4 im Detail aufgeführt, waren die Patienten durchschnittlich 32,1 Jahre alt

Patienten ID	Geschlecht	Alter (Jahre)	EDSS	MSFC	Erkrankungsdauer (Monate)
1	F	21	2	-0.644	71
2	F	44	3	0.730	25
3	M	27	1.5	-0.094	7
4	F	42	0	0.307	5
5	F	26	0	-0.448	4
6	F	20	1	0.421	1
7	F	23	1.5	0.195	1
8	F	38	2	0.062	42
9	F	39	0	0.327	17
10	F	31	1	0.494	32
11	F	23	3	-1.424	1
12	F	43	2	-0.123	1
13	F	46	4	-0.926	14
14	F	25	1	0.458	6
15	F	40	3.5	-1.844	187
16	F	30	1	0.180	1
17	F	24	1.5	0.418	44
18	F	34	1.5	0.960	114
19	M	39	2	0.300	33
20	F	26	0	0.652	13

*Tabelle 4.* Klinische Daten bei Studieneinschluss. Geschlechtsangabe F weiblich, M männlich, EDSS, *Expanded Disability Status Scale* (Kurtzke, 1983), MSFC, *Multiple Sclerosis Functional Composite* (Fischer et al., 1999).

(Standardabweichung [SD] von 8,4 Jahren) und die Erstmanifestation der Erkrankung lag im Mittel 31 Monate (Spannweite 186 Monate) vor Studieneinschluss. Der mittlere Behinderungsgrad (*Expanded Disability Status Scale* [EDSS]) zum Zeitpunkt der Rekrutierung lag bei 1,6 Punkten (Spannweite 4 Punkte). Die Patienten wurden im Durchschnitt über 11,4 Monate (Spannweite 18 Monate) vierzehntägig bis vierwöchentlich kernspintomographisch untersucht, an den gleichen Zeitpunkten erfolgte eine klinische Visite mit Erhebung des *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) und *Multiple Sclerosis Functional Composite* (MSFC).

Um zur Bestimmung der longitudinalen Läsionslast und des klinischen Verlaufs Patienten mit möglichst hoher Krankheitsaktivität zu untersuchen, wurde eine Subgruppe (n = 6) aus der Studienpopulation gebildet. Für diese Subgruppenanalyse wurden Patienten mit überdurchschnittlich hoher Frequenz kontrastmittelanreichernder Läsionen ausgewählt. Auch klinisch zeigte diese Gruppe eine hohe klinische Krankheitsaktivität. Fünf dieser Patienten erlitten unmittelbar vor Studieneinschluss oder in der Beobachtungszeit einen oder zwei Schübe. An den Zeitpunkten 0, 1, 2, 3, 6 und 9 Monate wurden jeweils Läsionszahl und -volumen der in T2-Wichtung hyperintensiven, in T1-Wichtung hypointensen und der in T1-Wichtung nach Kontrastmittelgabe kontrastmittelaufnehmenden Läsionen bestimmt. An den identischen Zeitpunkten erfolgte die klinische Untersuchung zur Erhebung des MSFC- und des EDSS-Wertes.

Eine zweite, unabhängige Patientenpopulation wurde aus der Hochschulambulanz des Instituts für Neuroimmunologie bzw. der Cecilie-Vogt-Klinik für Neurologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Buch ebenfalls prospektiv rekrutiert, um den Zusammenhang zwischen der Leistung in der klinischen Testung und Kontrastmittelanreicherung in der MRT zu überprüfen. Sie bestand aus 28 Patienten (24 Frauen, 4 Männer) mit gesicherter schubförmig-remittierender Multipler Sklerose (*McDonald et al., 2001; Polman et al., 2005*). Bei einem Durchschnittsalter von 33,3 Jahren (SD 8,8 Jahre) wurden sie im Mittel 50 Monate nach Erkrankungsbeginn (Spannweite 251 Monate) in die Untersuchung aufgenommen. 19 Patienten waren ohne immunmodulierende Behandlung, sechs Patienten wurden mit Interferon  $\beta$ -1a in einer Dosierung mit 22  $\mu$ g s.c. drei Mal pro Woche, ein Patient mit Interferon  $\beta$ -1b in einer Dosierung mit 8 Mio. IE s.c. jeden zweiten Tag und zwei Patienten mit

Glatirameracetat 20 mg s.c. einmal täglich behandelt. Bei diesen Patienten wurde an zwei Zeitpunkten im durchschnittlichen Abstand von 80 Tagen (Spannweite 467 Tage) eine MRT-Untersuchung und eine klinische Evaluierung mittels MSFC und EDSS durchgeführt. Um einen insbesondere beim PASAT bekannten Übungseffekt zu verhindern, gingen einer ersten Erhebung des MSFC mindestens drei Übungssequenzen voraus. Das therapeutische Vorgehen blieb während der zwei Untersuchungen unverändert.

## 2.2. Klinische Untersuchungen

### 2.2.1. *Expanded Disability Status Scale*

Um den körperlichen Zustand eines Patienten beschreiben und im Verlauf verfolgen zu können, bedarf es standardisierter Bewertungssysteme mit einem verlässlichen Grad an Validität und Reliabilität. Der *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) (Kurtzke, 1983) ist zur Bewertung des klinischen Zustandes von Patienten mit Multipler Sklerose seit langem etabliert und wird sowohl in wissenschaftlichen Studien als auch in der klinischen Routine eingesetzt. Die Befunde einer herkömmlichen neurologischen Untersuchung werden einem von sieben funktionellen Systemen (Motorik, Kleinhirn, Hirnstamm, Sensibilität, Blasen-/Mastdarmfunktion, Visus, Kognition) und einem zusätzlichen System für sonstige MS-bezogene Symptome zugeordnet und auf einer ordinalen Skala von 0 (Normalbefund) bis 5 bzw. 6 (maximale Beeinträchtigung) bewertet. Diese werden dann mit zusätzlichen Informationen zur maximalen Gehstrecke ohne Ruhepause und zu Angaben zu Hilfsmitteln im EDSS zusammengefasst. Er reicht, wie in Abbildung 7 ausgeführt, von 0 (unauffälliger neurologischer Befund) bis 10 (Tod durch MS). Der EDSS stellt einen ordinalen Maßstab dar. Das bedeutet, dass die Differenz zwischen zwei Bewertungspunkten in einem Bereich der Skala nicht dem gleichen Intervall entspricht wie die Differenz zwischen zwei Bewertungspunkten in einem anderen Bereich der Skala. EDSS-Werte unter 3 basieren primär auf dem Ergebnis

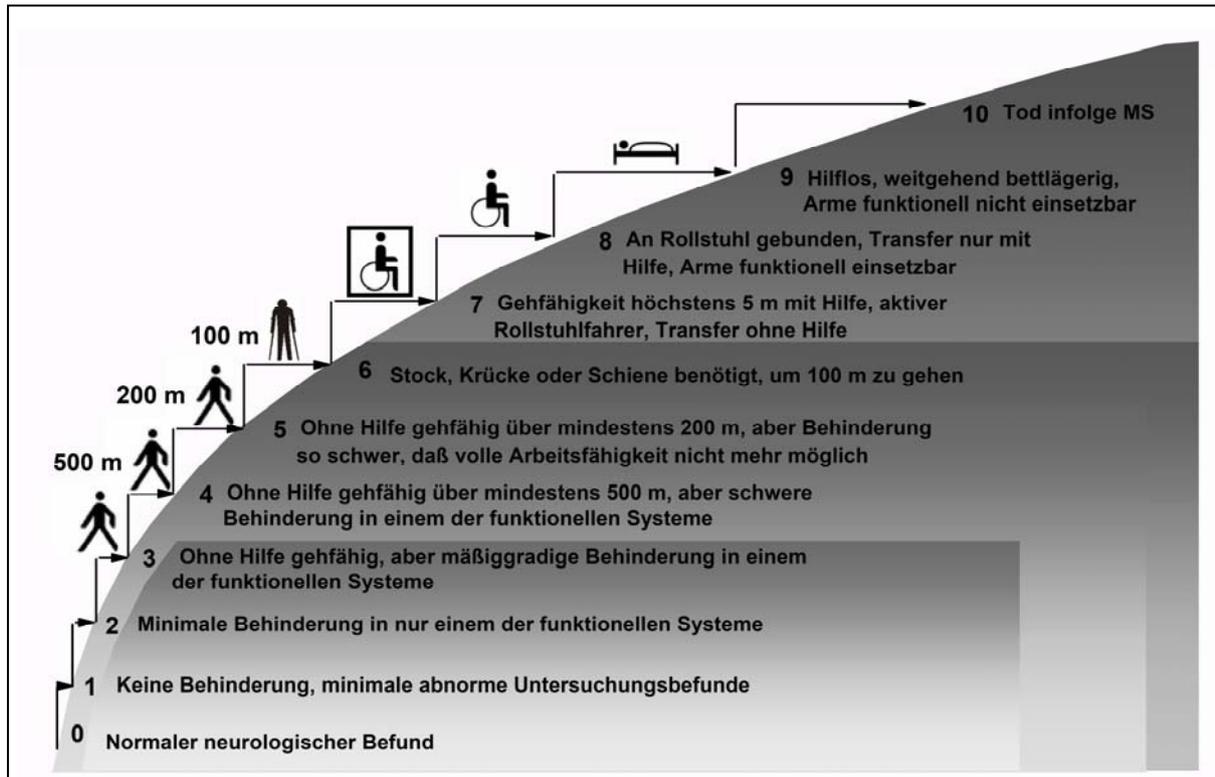


Abbildung 7. Einteilung Expanded Disability Status Scale (EDSS) nach Kurtzke, 1983. Der EDSS wird orientiert an dem höchsten Score eines der funktionellen Systeme (Motorik, Kleinhirn, Hirnstamm, Sensibilität, Basen-/Mastdarmfunktion, Visus, Kognition und sonstige MS-bezogene Symptome) ergänzt durch Informationen zur maximalen Gehstrecke ohne Ruhepause und zu Angaben zu Hilfsmitteln bestimmt.

der neurologischen Untersuchung, im mittleren Bereich ist er primär abhängig von der Gehfähigkeit des Patienten und im oberen Bereich nehmen alltagsrelevante Fertigkeiten (z. B. Rollstuhltransfer, Selbstpflege, Kommunikation) Einfluss. Um die bekannten Schwächen des EDSS bezüglich Interrater-Reliabilität (Coulthard-Morris, 2000) zu umgehen, wurde der EDSS immer von der selben geschulten Person erhoben.

### 2.2.2. Multiple Sclerosis Functional Composite

Die ungenügende Abbildung psychometrischer und kognitive Parameter im EDSS machte die Entwicklung neuer klinischer Testverfahren notwendig. In der Folge wurde der *Multiple Sclerosis Functional Composite* (MSFC) von einer

$$Z_{9\text{-HPT}} = \frac{\text{Durchschnitt (1/9-HPT)} - \text{Baseline Mittelwert (1/9-HPT)}}{\text{Baseline Standardabweichung (1/9-HPT)}}$$

$$\text{Durchschnitt (1/9-HPT)} = \left( \frac{1}{\text{Mittelwert}_{\text{li Arm}}} + \frac{1}{\text{Mittelwert}_{\text{re Arm}}} \right) : 2$$

$$Z_{\text{TWT}} = (-1) \cdot \left( \frac{\text{Durchschnitt TWT} - \text{Baseline Mittelwert TWT}}{\text{Baseline Standardabweichung TWT}} \right)$$

$$Z_{\text{PASAT}} = \frac{\text{PASAT} - \text{Baseline Mittelwert PASAT}}{\text{Baseline Standardabweichung PASAT}}$$

$$\text{MSFC} = ( Z_{9\text{-HPT}} + Z_{\text{TWT}} + Z_{\text{PASAT}} ) : 3$$

Abbildung 8. Formeln zur Berechnung des Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) gemäß Fischer et al, 1999. „Durchschnitt (1/HPT)“ ist der Durchschnitt des reziproken Mittelwerts der zwei Untersuchungsdurchgänge der dominierenden und der nicht dominierenden Hand, in „Baseline Mittelwert (1/HPT)“ und „Baseline Standardabweichung (1/HPT)“ gehen die Werte aller Patienten am ersten Untersuchungszeitpunkt ein. „Durchschnitt TWT“ ist der Mittelwert der beiden Untersuchungsdurchgänge des TWT. Durch eine Transformierung der Z-Scores (Reziproker Wert des HPT und Multiplikation des Z-Scores TWT mit –1) wird sichergestellt, dass sich eine Verbesserung bzw. Verschlechterung der drei Scores in die selbe Richtung abbildet. „PASAT“ ist der Testwert des Patienten. „Baseline Mittelwert TWT“ bzw. „Baseline Mittelwert PASAT“ und „Baseline Standardabweichung TWT“ bzw. „Baseline Standardabweichung PASAT“ beziehen sich erneut auf das Testergebnis aller Patienten am ersten Untersuchungszeitpunkt. Der MSFC wird als Mittelwert der drei einfließenden Z-Scores berechnet.

Expertengruppe der *National Multiple Sclerosis Society*, der US-amerikanischen MS-Gesellschaft, (Whitaker et al., 1995; Rudick et al., 1996) entwickelt. Er besteht aus der Kombination einer normierten Gehstrecke auf Zeit („25-foot Timed Walk Test“ [TWT]), einem Test zur kognitiven Leistungserfassung („Paced Auditory Serial Addition Test“ [PASAT]) und einer Prüfung der manuellen Geschicklichkeit („Nine-Hole Peg Test“ [9-HPT]), bei der die Zeit gemessen wird, in der neun Stifte in vorgegebene Löcher gesteckt und wieder entfernt werden. Der MSFC wurde gemäß dem „Multiple Sclerosis Functional Composite Administration and Scoring Manual“

(Fischer et al., 1999) durchgeführt. Er berechnet sich aus den jeweiligen Werten der Einzeltests (Z-Scores), die zum kombinierten Ergebnis aller Testkomponenten zusammengefasst werden (zu Formeln siehe Abbildung 8). Auch die Z-Scores von 9-HPT, TWT und PASAT können zur Bewertung der entsprechenden Funktionen herangezogen werden und bilden sich wie der MSFC auf einer kontinuierlichen Skala ab. Die Z-Scores zeigen an, wie viele Einheiten der Standardabweichung der entsprechende Wert vom Durchschnitt der Referenzpopulation liegt. Der MSFC und die Z-Scores haben ein positives Vorzeichen, wenn die Patienten besser als der Durchschnitt der Referenzpopulation abschneiden, und ein negatives Vorzeichen, wenn sie ein Ergebnis schlechter als der Durchschnitt der Referenzpopulation erzielen. Eine interne Population ist einer externen Standardpopulation als Referenz vorzuziehen (Fischer et al., 1999). Daher wurden sämtliche in die Studie eingeschlossenen Patienten als Referenzpopulation herangezogen. Die Ergebnisse von 9-HPT, TWT und PASAT des ersten Untersuchungszeitpunkts dienten zur Berechnung der Ausgangswerte. Diesem ersten Scoring ging mindestens drei Übungseinheiten voraus, um die bekannten Trainingseffekte des MSFC zu vermeiden.

### 2.3. Kernspintomographie

Die MRT-Untersuchungen wurden auf einem für klinische Studien zugelassenen MRT-Scanner mit 1,5 Tesla durchgeführt (Siemens Vision, Siemens AG, Erlangen, Deutschland). Das MRT-Protokoll bestand aus T2-gewichteten Aufnahmen, T1-gewichteten Bildern vor und fünf Minuten nach intravenöser Injektion von Gadopentetat-Dimeglumin (Magnevist<sup>®</sup>, Schering AG, Berlin, Deutschland) als Kontrastmittel, diffusionsgewichteten Aufnahmen und Sequenzen mit T2\*-gewichteter „dynamic susceptibility contrast“ Perfusionsmessung. Für die T2-gewichteten Aufnahmen wurde eine „multi-echo turbo-spin-echo“ Sequenz (TR 4060 ms, TE 15/75/135 ms, Matrix 256 x 256, Aufnahmezeit 345 s, FOV 256 mm, Schichtdicke 5 mm, 28 konsekutive Schichten ohne Zwischenabstand) und für die T1-gewichtete Bildgebung eine „spin-echo“ Sequenz (TR 840 ms, TE 14 ms, Matrix 256 x 256, Aufnahmezeit 164 s, FOV 256 mm, Schichtdicke 5 mm, 28 konsekutive Schichten ohne Zwischenabstand) angewendet. Die intravenöse Applikation des Kontrastmittels

(Magnevist<sup>®</sup>) erfolgte automatisiert durch einen MRT-kompatiblen Injektomaten (Spectris, MedRad, Pittsburgh, PA, USA) in einer Dosierung von 0,20 mmol/kg Körpergewicht mit einer Injektionsrate von 4 ml/s (Dauer 5 s) gefolgt von 20 ml isotoner Natriumchloridlösung (Natriumchloridlösung 0,9%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Die MRT-Datenaufzeichnung zur Perfusionsmessung wurde zeitgleich mit der Kontrastmittelinjektion begonnen und für die Dauer von 60 s mit einer zeitlichen Auflösung von einer Aufnahme pro Sekunde fortgesetzt. Es wurde eine T2\*-gewichtete „echo-planare“ (EPI) Sequenz (TR 800 ms, TE 54 ms, Matrix 128 x 128, Aufnahmezeit 60 s, FOV 256 mm, Schichtdicke 5 mm, ohne Zwischenabstand) angewendet (Doege *et al.*, 2001). Die Beschränkung auf acht Schichten in der Perfusionsmessung ermöglichte es, die Passage des Kontrastmittelbolus durch das Gewebe in adäquater zeitlicher Auflösung (eine Serie pro Sekunde) zu messen. Die Diffusionsmessung (TR 4000 ms, TE 118 ms, Matrix 128 x 128, Aufnahmezeit 208 s, FOV 256 mm, konsekutive Schichtdicke 5 mm, kein Zwischenabstand) wurde durchgeführt unter Anwendung drei verschiedener b-Werte (0, 500, 1000 s/mm<sup>2</sup>). Die Diffusionsgradienten wurden in den drei Raumachsen angelegt. Die 28 axialen Schichten wurden an anatomischen Landmarken, der caudalen Unterkante jeweils von Rostrum und Splenium des Corpus callosum ausgerichtet, wie bereits zuvor in den T1- und T2-gewichteten Aufnahmen und der Perfusionsmessung.

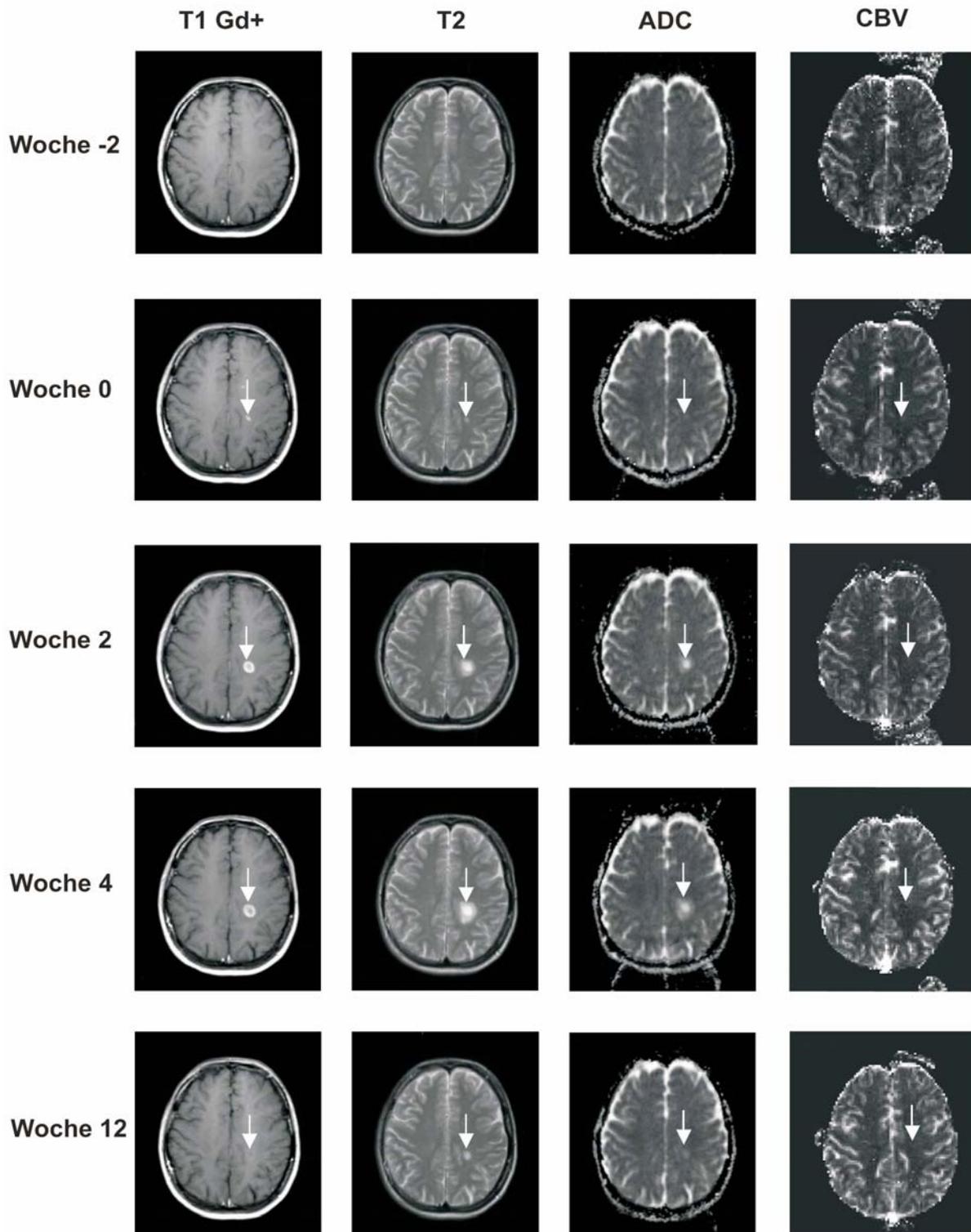
### 2.3.1. Bildanalyse

Zur Bestimmung der cerebralen Läsionslast wurden in T2-Wichtung hyperintense, in T1-Wichtung hypointense Herde und zusätzlich in T1-Aufnahmen nach Kontrastmittelgabe anreichernde Areale bezüglich Anzahl und Volumen auf einer LINUX Workstation ausgewertet, auf der auch sämtliche weitere MRT-Datenanalysen erfolgten. Dazu wurde ein semiautomatives Computerprogramm (MedX<sup>®</sup> v. 3.42 *software package*, Sensor Systems Inc., Sterling, VA, USA), eingesetzt, bei dem nach Hirngewebeextraktion (*Brain Extraction Tool*, FMRIB Analysis Group, Oxford, GB) und Koregistrierung (*FMRIB's Linear Image Registration Tool* [FLIRT], FMRIB Analysis Group, Oxford, GB) Läsionen nach einem 'threshold-paradigma' selektiert und ihre Anzahl longitudinal durch eine 'connected component' Analyse (*run length*

*algorithm*) im binären Bild verglichen werden. Dabei werden zwei zu unterschiedlichen Zeitpunkten gefundene Läsionen als eine identische erkannt, wenn sie im ko-registrierten Bild räumlich überlappten.

Die diffusionsgewichteten Bilder wurden unmittelbar nach Rohdatenerfassung als Bestandteil der eingesetzten Untersuchungssequenz bereits im MRT-Scanner vorbearbeitet und der ADC wurde für jede Richtung separat berechnet. Zur weiteren Analyse der perfusionsgewichteten Bilder wurde basierend auf ausgewählten Voxel, die einen frühen und deutlichen Kontrastmitteleinstrom zeigten, der Signalabfall in gewählten, zuführenden arteriellen Gefäße (*arterial input fraction*, AIF) im jeweiligen Baseline-Scan gemessen. Die AIF-Messung im Verlauf erfolgte analog auf Grundlage entsprechender Voxel in den ko-registrierten Folgescans. Die geschädigte BBB in akuten Läsionen mit konsekutivem Kontrastmitteleinfluss in das Gewebe führt bei der Perfusionsmessung KM-anreichernder Läsionen zu einem Artefakt, der im Bereich betroffener Voxel eine Korrektur erforderlich machte. Dazu wurde ein Algorithmus eingesetzt, der ausgehend vom Kurvenanstieg auf der Konzentration-versus-Zeit-Kurve über eine Modellberechnung eine Angleichung des weiteren Kurvenverlaufes durchführt und so artifizielle T1-Effekte eliminiert, die durch den starken und bleibenden Kurvenanstieg aufgrund des ausgetretenen Kontrastmittels zu Stande kommen (*Haselhorst et al., 2000*). Aus den korrigierten Daten wurden mit dem Softwarepaket zur Perfusionsdatenanalyse von MedX nach einer vorbeschriebenen Methode (*Ostergaard et al., 2000*) das relative cerebrale Blutvolumen (*cerebral blood volume*, CBV), cerebraler Blutfluss (*cerebral blood flow*, CBF) und mittlere Transitzeit (*mean transit time*, MTT) im untersuchten Bereich (*region of interest*, ROI) als Mittelwert der Messwerte der einzelnen Voxel berechnet.

Um einen direkten Vergleich verschiedener Zeitpunkte und MRT-Sequenzen zu ermöglichen, erfolgte eine räumliche Registrierung der T1-, T2-, T2\*- und diffusionsgewichteten Bilder (*Jenkinson und Smith, 2001*). Die registrierten T2\*-Bilder bildeten die Grundlage für die Berechnung der CBV-, CBF- und MTT-Parameter. In Abbildung 9 ist exemplarisch eine parallele Darstellung der jeweiligen T1- und T2-gewichteten Scans sowie der ADC- und CBV-Parameterbilder aufgeführt.



*Abbildung 9.* Ko-Registrierung von T1- und T2-gewichteten Bildern, ADC- und CBV-Parameterbildern. Eine repräsentative Läsion kann in der Serie der T1-gewichteten Scans nach Kontrastmittelgabe und im ko-registrierten T2-Bild sowie in den ADC- und CBV-Parameterbildern zwei Wochen vor Kontrastmitteleinreichung, am Zeitpunkt der Anreicherung sowie 2, 4 und 12 Wochen später verfolgt werden.

Die ROIs wurden in die kontrastmittelanreichernde Läsion im T1-gewichteten Bild und an die identische anatomische Lokalisation der T2-, T2\*- und diffusionsgewichteten Bilder beziehungsweise der vorausgehenden wie auch nachfolgenden Untersuchungszeitpunkte gelegt. Zusätzlich wurden die ROIs auf die kontralaterale Hemisphäre gespiegelt, um Messwerte des korrespondierenden NAWM zu generieren, das im gesamten Studienverlauf ohne Kontrastmittelanreicherung blieb. Um lokalisations- und gewebespezifische Schwankungen auszuschließen, werden ADC, CBV, CBF und MTT als Verhältnis Läsion versus korrespondierendes kontralaterales NAWM angeführt.

### 2.3.2. Selektionskriterien für Läsionen in der Perfusionsmessung

Um geeignete Läsionen zur Perfusionsmessung zu selektieren, wurden folgende Kriterien angewandt. Alle Läsionen, die nah an Liquorräumen lokalisiert waren, wurden ausgeschlossen, um Partialvolumeneffekte zu vermeiden. Wegen des deutlichen Unterschiedes im Blutfluss der grauen und weißen Substanz wurden alle an der Mark-Rinden-Grenze gelegenen Läsionen in der Messung ebenfalls nicht berücksichtigt. Schließlich wurden nur Läsionen ausgewertet, die einen Durchmesser von mindestens 7 mm aufwiesen, um eine hinreichende Reliabilität in der longitudinalen Untersuchung gewährleisten zu können. Zur statistischen Auswertung wurden alle Läsionen ( $n = 9$ ) herangezogen, von denen mindestens zwei Untersuchungszeitpunkte innerhalb von 6 Wochen vor erkennbarer Kontrastmittelanreicherung zur Verfügung standen.

In ringförmig kontrastmittelanreichernden Läsionen erfolgte die Messung der Perfusionsparameter separat sowohl im kontrastmittelpositiven Ringbereich wie auch im hypointensen Zentrum.

## 2.4. Statistische Datenanalyse

Bei der longitudinalen Beobachtung der Läsionslast und der klinischen Entwicklung wurden zur Prüfung auf Veränderungen im Verlauf der Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummen-Test für verbundene Stichproben eingesetzt. Bei fehlenden Werten am Ende des Untersuchungsintervalls wurden diese nach der „*last visit carried forward*“-Methode ersetzt. Zusammenhänge zwischen MRT- und klinischen Parametern wurden mit dem Spearman-Test für Korrelationsanalysen getestet. Der Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummen-Test für verbundene Stichproben kam ebenfalls zur Anwendung, um einen Unterschied in der klinischen Testung an Zeitpunkten mit und ohne Kontrastmittelnachweis in der craniellen MRT zu prüfen.

Diese Testverfahren wurden gewählt, da bei geringer Fallzahl eine Normalverteilung nicht vorausgesetzt werden kann.

Bei der longitudinalen Beobachtung der Läsionsentstehung wurde die Untersuchung, bei der zum ersten Mal eine KM-Anreicherung im T1-gewichteten Bild erkennbar war, als Referenzzeitpunkt ( $t = 0$ ) festgelegt. Um die Läsionsentstehung vor der ersten Kontrastmittelanreicherung zu untersuchen, wurde beim Vergleich von CBV-, CBF-, MTT- und ADC-Ratio (Läsion versus kontralaterales NAWM) an verschiedenen Zeitpunkten der Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummen-Test für verbundene Stichproben angewendet.

Die statistische Auswertung erfolgte unter Anwendung des Softwarepakets SPSS Version 7.5.2 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Wenn  $p$  Werte  $< 0,05$  annahm, wurde der Test als statistisch signifikant bewertet. Bei  $p < 0,10$  wurde ein Trend zur Signifikanz angenommen.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1. MRT-Läsionen im Verlauf

##### 3.1.1. Beschreibung der Studienpopulation und Kasuistik

Von den 20 untersuchten Patienten (zu klinischen Charakteristika siehe Tabelle 4) konnten bei 13 Patienten im Untersuchungszeitraum kontrastmittelanreichernde Läsionen nachgewiesen werden (siehe Abbildung 10). Durchschnittlich traten 6,8 Gd-positive Herde pro Patient auf.

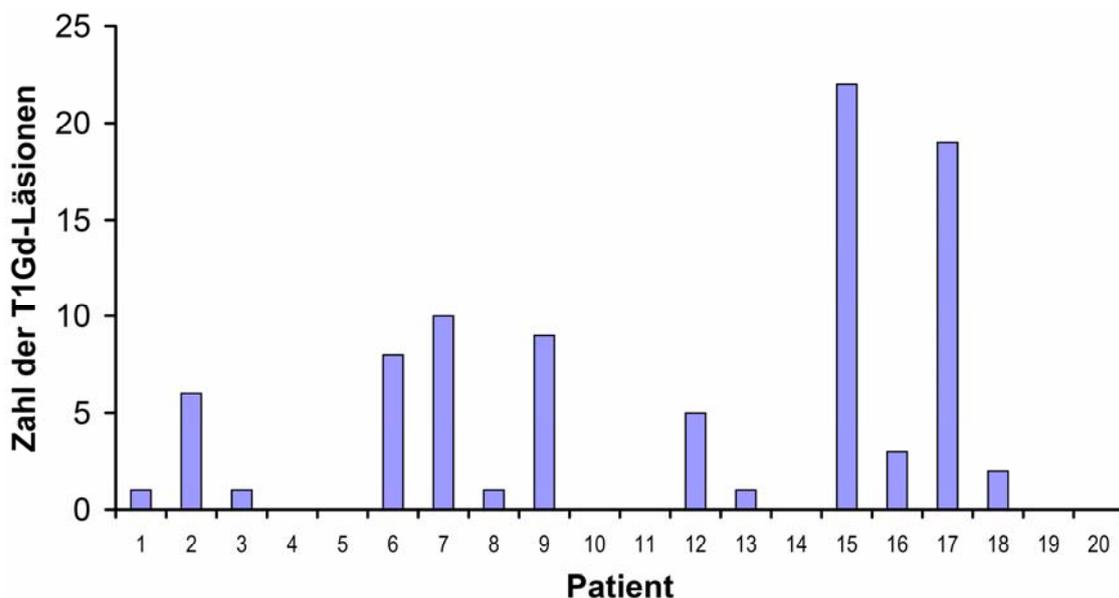


Abbildung 10. Kumulative Darstellung der kontrastmittelanreichernden Läsionen pro Patient im Untersuchungszeitraum.

Um ein möglichst aktives Patientenkollektiv im Verlauf hinsichtlich der Entwicklung der Läsionslast und der klinischen Entwicklung beobachten zu können, wurden, wie im Methodenteil unter Abschnitt 2.1. beschrieben, Patienten mit überdurchschnittlicher kernspintomographischer Krankheitsaktivität selektiert. In diese Subgruppenanalyse gingen die Patienten ein, die im Beobachtungszeitraum mehr als 6,8 Gd-positive Herde aufwiesen.

Beispielhaft ist der Verlauf eines Patienten in Abbildung 11 angeführt. Am Studienbeginn bei Schubsymptomatik (Zeitpunkt 0) stellen sich in der cerebralen MRT-Bildgebung Gesamtvolumina von 1040 mm<sup>3</sup> T2-hyperintenser bzw. 855 mm<sup>3</sup> T1-hypointener Signalveränderungen sowie eine Kontrastmittelanreicherung mit einem Volumen von 50 mm<sup>3</sup> dar. Bei einem initialen EDSS-Wert von 1,0, der eine geringgradige körperliche Beeinträchtigung anzeigt, ergibt der MSFC einen Wert von 0,421, von dem abgelesen werden kann, dass der Beispielpatient im Vergleich zur gesamten untersuchten Population eine überdurchschnittliche Testleistung erbracht hat.

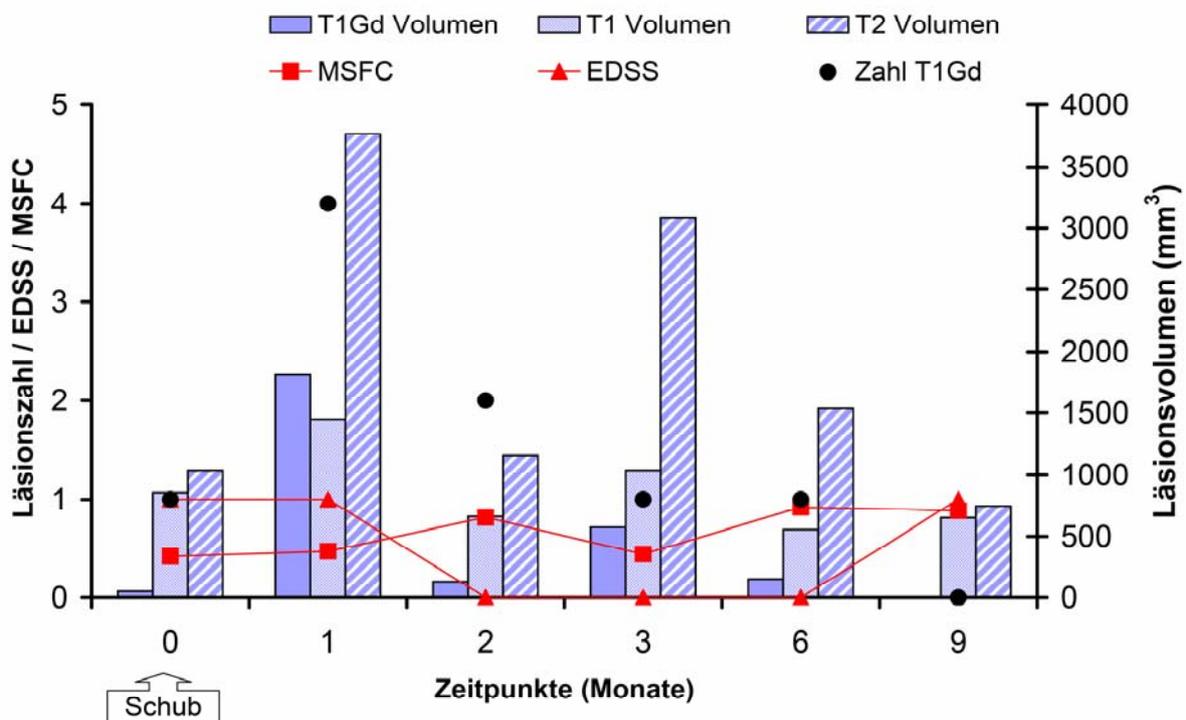


Abbildung 11. Kasuistische Darstellung einer Verlaufsuntersuchung. EDSS, MSFC und Anzahl Gd-positiver Herde (Zahl T1Gd) beziehen sich auf die linke Y-Achse. Gesamtvolumen der Gd-positiven Läsionen (T1Gd Volumen), der T1-hypointensen Läsionen (T1 Volumen) und der T2-hyperintensen Läsionen (T2 Volumen) beziehen sich auf die rechte Y-Achse. EDSS, *Expanded Disability Status Scale* (Kurtzke, 1983). MSFC, *Multiple Sclerosis Functional Composite* (Fischer et al., 1999).

Nach einem Monat zeigt sich ein weiterer Anstieg der kernspintomographischen Krankheitsaktivität, ersichtlich an einer Zunahme sowohl der Anzahl kontrastmittelanreichernder Läsionen als auch der Läsionsvolumina in T1- und T2-Wichtung. Bis zum Monat 6 sind, wenn auch in geringerer Anzahl, kontrastmittelanreichernde

Läsionen nachweisbar. In dieser Phase schwanken die Läsionsvolumina erheblich, um dann im 9. Monat der Verlaufsbeobachtung, in dem erstmalig keine Bluthirnschrankenstörung erkennbar ist, wieder das Ausgangsniveau zu erreichen. Keiner der klinischen Verlaufparameter spiegelt die kernspintomographisch nachgewiesene akute Entzündungsaktivität wider. Der EDSS gibt in den Monaten 2 bis 6 keinerlei körperliche Beeinträchtigung an, im Monat 9 wurde erneut ein EDSS von 1,0 wie am Ausgangspunkt der Untersuchung erhoben. Am MSFC lässt sich, nach einer vorübergehenden Verschlechterung im Monat 3, im Vergleich zum Untersuchungsbeginn eine leichte Besserung der Testleistung erkennen.

### 3.1.2. Verlauf der Läsionen in der konventionellen MRT-Bildgebung

Legt man nun die gesamte untersuchte Subgruppe zugrunde, ergibt sich hinsichtlich der Läsionsentwicklung im natürlichen, unbehandelten Verlauf das folgende, in den Abbildungen 12 und 13 dargestellte Bild. Aktive Läsionen mit Blut-Hirn-Schrankenstörung finden sich an allen Zeitpunkten, ihre Anzahl nimmt jedoch, wie in Abbildung 12 zu erkennen, ab dem dritten Monat ab. Am Zeitpunkt 9 wird das niedrigste Gesamtvolumen kontrastmittelanreichernder Herde gemessen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Zeitpunkten 0 und 9 lässt sich statistisch weder für die Zahl noch das Gesamtvolumen KM-positiver Läsionen belegen.

Die Zahl der T2-hyperintensiven Herde nimmt bis zum Zeitpunkt 2 (Phase hoher Entzündungsaktivität) deutlich zu, sie erreicht im dritten Monat wieder das Ausgangsniveau, um im langfristigen Verlauf (Zeitpunkt 6 und 9) wieder anzusteigen. Auch die Zahl der T1-hypointensen Herde nimmt im Untersuchungszeitraum zu, wenn auch in einem geringeren Ausmaß. In beiden Fällen zeigt sich statistisch ein Trend ( $p = 0,07$  bzw.  $p = 0,08$ ) zur Zunahme im untersuchten Zeitraum.

Wie von den Messungen in den T2-gewichteten Aufnahmen (Abbildung 13) ablesbar, nimmt parallel zur Zahl auch das Gesamtvolumen der Läsionen zu. Die maximale Ausdehnung der Signalveränderungen wird jedoch im Gegensatz zur Läsionszahl

## Ergebnisse

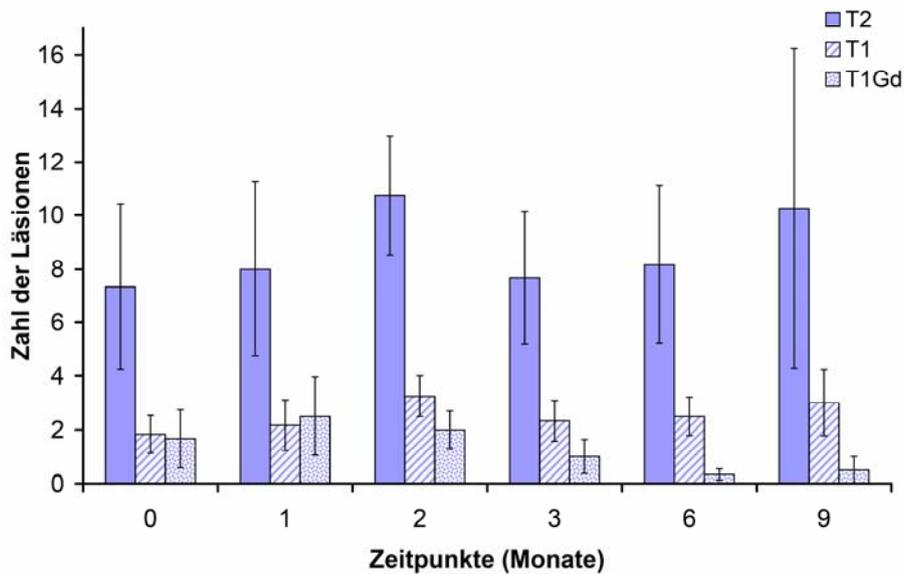


Abbildung 12. Zahl der in T2-Wichtung hyperintensiven (T2), in T1-Wichtung hypointensen (T1) und in T1-Wichtung nach Gd-Gabe kontrastmittelpositiven (T1Gd) Läsionen im Verlauf. Darstellung der Mittelwerte (Zeitpunkte 0, 1, 3 und 6 n = 6; Zeitpunkte 2 und 9 n = 4). Fehlerbalken geben den *Standard error of the mean* (SEM, Standardfehler des Mittelwerts) an.

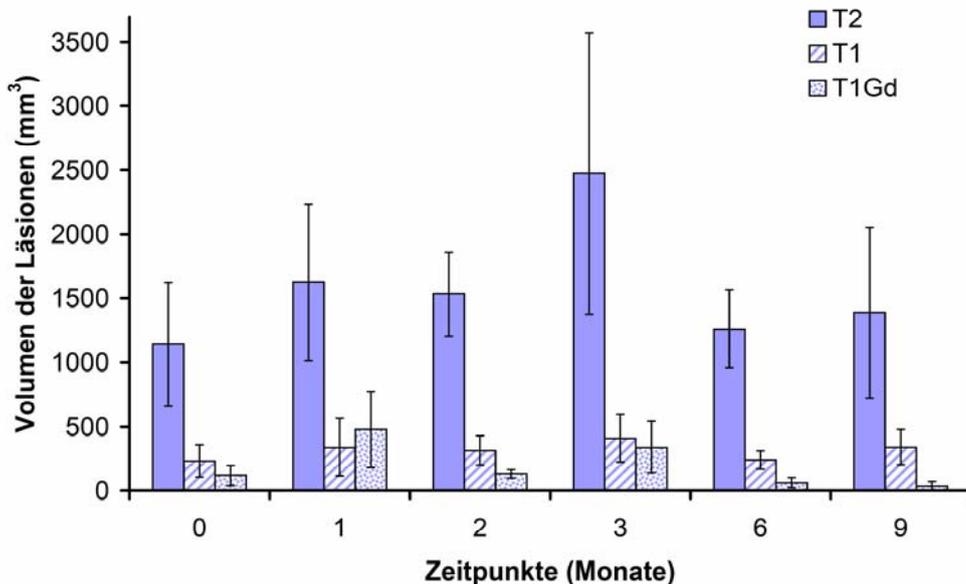


Abbildung 13. Volumen der in T2-Wichtung hyperintensiven (T2), in T1-Wichtung hypointensen (T1) und in T1-Wichtung nach Gd-Gabe kontrastmittelpositiven (T1Gd) Läsionen im Verlauf. Darstellung der Mittelwerte (Zeitpunkte 0, 1, 3 und 6 n = 6; Zeitpunkte 2 und 9 n = 4). Fehlerbalken geben SEM an.

erst einen Monat später erreicht, einem Zeitpunkt, an dem die Läsionszahl bereits wieder deutlich abgenommen hat. Daraus kann geschlossen werden, dass der Prozess der Entwicklung einer Läsion unterschiedlich verläuft. Einige T2-Signalveränderungen werden erkennbar und bilden sich innerhalb von 1 bis 2 Monaten wieder vollständig zurück, andere unterliegen in einem Zeitraum von Wochen bis Monaten einer deutlichen Größenzunahme. Im weiteren Verlauf verringern aber auch diese Läsionen innerhalb der folgenden 3 Monate die Ausdehnung. Selbst bei diesem Patientenkollekt mit klinisch sowie kernspintomographisch nachgewiesener hoher Krankheitsaktivität ist das T2-Gesamtläsionsvolumen, die sogenannte „Läsionslast“, nur in einem geringen Ausmaß (um 250 mm<sup>3</sup>, bzw. 20% des Läsionsvolumens der Erstuntersuchung) ohne statistische Signifikanz angestiegen.

Die Ausdehnung der Inflammation, abzulesen am Volumen des Hirngewebes, das Kontrastmittel anreichert, unterlag einer sichtlichen Schwankung. Betrachtet man die Größe der einzelnen Läsion (siehe Tabelle 5), kann man erkennen, dass die kontrastmittelanreichernden Läsionen erheblich in ihrer Ausdehnung variieren. Sie schwankte zwischen 104% und 931% bezogen auf das Läsionsvolumen am

Monat	0	1	2	3	6	9
<b>T2 Läsion (mm<sup>3</sup>)</b>	156.75	230.68	149.13	386.09	192.08	165.91
<b>(SEM)</b>	(28.01)	(77.97)	(19.88)	(192.20)	(47.92)	(22.24)
<b>Zahl</b>	7,33	8,00	10,75	7,97	8,17	10,25
<b>T1 Läsion (mm<sup>3</sup>)</b>	114.50	119.08	101,00	179.70	99.45	134.83
<b>(SEM)</b>	(28.30)	(34.30)	(25.16)	(78.99)	(11.21)	(48.44)
<b>Zahl</b>	1,83	2,17	3,25	2,33	2,5	3,00
<b>T1Gd Läsion (mm<sup>3</sup>)</b>	67.14	217.04	71.88	624.58	182.50	70.00
<b>(SEM)</b>	(18.30)	(117.75)	(6.40)	(341.90)	(32.50)	(0)
<b>Zahl</b>	1,67	2,50	2,00	1,00	0,33	0,50

*Tabelle 5.* Volumen der Einzelläsion und deren Anzahl. Angegeben sind Mittelwerte mit SEM des Volumens der in T2-Wichtung hyperintensiven (T2), in T1-Wichtung hypointensen (T1) und in T1-Wichtung nach Gd-Gabe kontrastmittelpositiven (T1Gd) Läsionen sowie die durchschnittliche Anzahl der Läsionen zu den Zeitpunkten 0, 1, 2, 3, 6 und 9 Monate.

Zeitpunkt 0. Bei T1- und T2-Läsionen ist ein ähnliches Ausmaß an Schwankungen der Läsionsgröße nicht zu beobachten (Schwankungen des Volumens von 86% bis 157% bei T1-Läsionen bzw. von 95% bis 246% bei T2-Läsionen bezogen auf das Läsionsvolumen am Zeitpunkt 0).

### 3.1.3. Klinische Parameter

Wie aus Abbildung 14 hervorgeht, nimmt das Ausmaß der klinischen Beeinträchtigung sowohl dargestellt auf der EDSS- wie auch auf der MSFC-Skala im Studienverlauf ab. Beide klinischen Bewertungssysteme korrelieren miteinander ( $p = 0,018$ ) und zeigen somit eine Konsistenz der Daten an. Jedoch erreicht lediglich

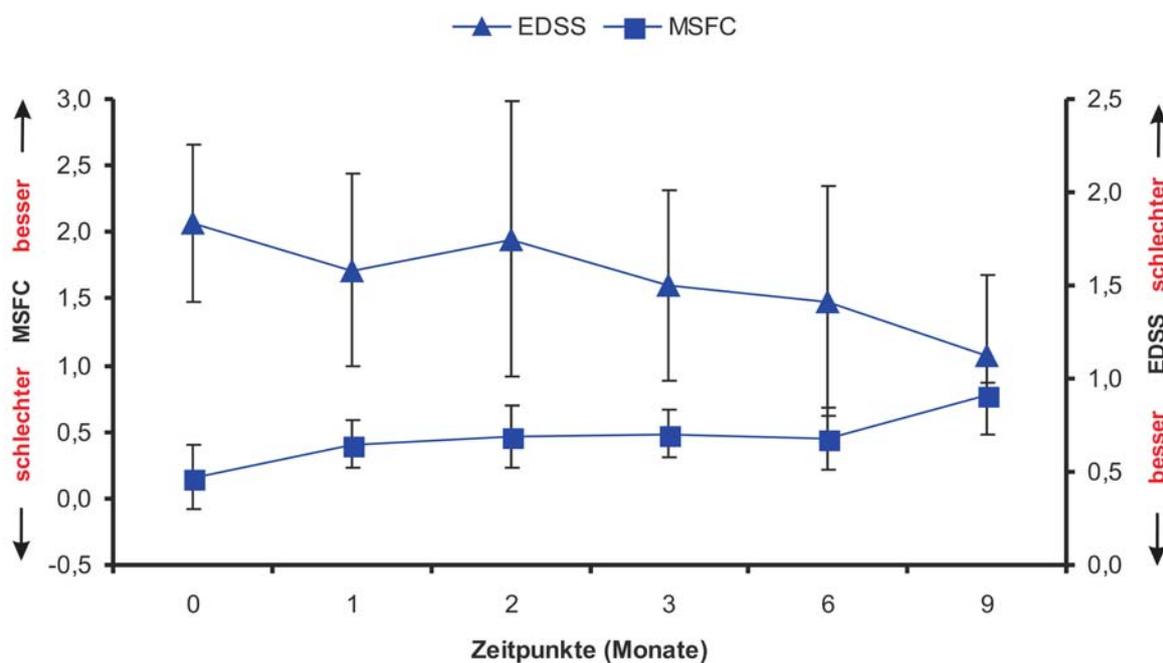


Abbildung 14. Klinischer Verlauf. Darstellung der Mittelwerte. Fehlerbalken geben SEM an. (Zeitpunkte 0,1,3 und 6 n = 6; Zeitpunkte 2 und 9 n = 4). EDSS, Expanded Disability Status Scale (Kurtzke, 1983). MSFC, Multiple Sclerosis Functional Composite (Fischer et al., 1999).

die Verbesserung des MSFC statistische Signifikanz ( $p = 0,04$ ). Im Gegensatz zum EDSS-Wert können anhand des MSFC-Verlaufes zwei Phasen der klinischen Verbesserung identifiziert werden. Diese finden sich zwischen Zeitpunkt 0 und 1 sowie zwischen Zeitpunkt 6 und 9. Auf Grund der geringen Fallzahl wurde auf eine statistische Überprüfung verzichtet.

### 3.1.4. Vergleich konventionelle MRT- und klinische Parameter

Über den Beobachtungszeitraum nehmen, wie in Abschnitt 3.1.1. berichtet, Zahl und Volumen der in T2-Wichtung hyperintensiven Signalveränderungen, die sogenannte „Läsionslast“, geringfügig zu. Im Gegensatz dazu bessern sich sowohl MSFC (Abbildung 15 A) wie auch EDSS (Abbildung 15 B), wie in Abschnitt 3.1.2. ausgeführt.

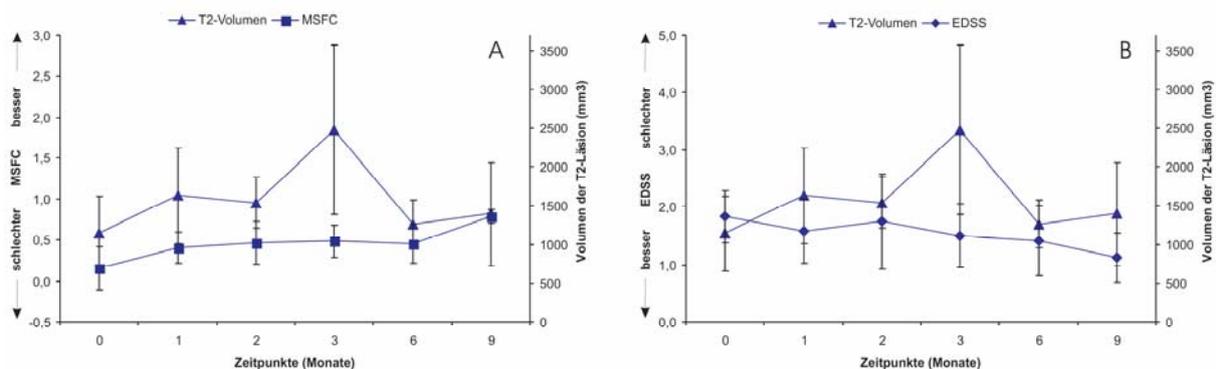


Abbildung 15. Körperliche Behinderung und Läsionslast. Aufgetragen sind MSFC (A) und EDSS (B) jeweils mit Volumen der T2-hyperintensiven Läsionen (T2-Volumen). Darstellung der Mittelwerte. Fehlerbalken geben SEM an. (Zeitpunkte 0, 1, 3 und 6 n = 6; Zeitpunkte 2 und 9 n = 4).

In der statistischen Berechnung ergibt sich keine Korrelation zwischen T2-Läsionsanzahl und -volumen und MSFC beziehungsweise EDSS. Auch ließ sich ein Zusammenhang zwischen T1-Läsionsanzahl und -volumen und MSFC beziehungsweise EDSS statistisch nicht belegen. Ebenso ließ sich keine Korrelation zwischen Zahl und Volumen Gd-positiver Herde mit dem EDSS, dem MSFC oder einer der Subkomponenten des MSFC nachweisen.

## Ergebnisse

Bei Analyse der einzelnen Testkomponenten, wie in Abbildung 16 abzulesen, ist jedoch erkennbar, dass der Verbesserung des MSFC als Gesamtscore im ersten

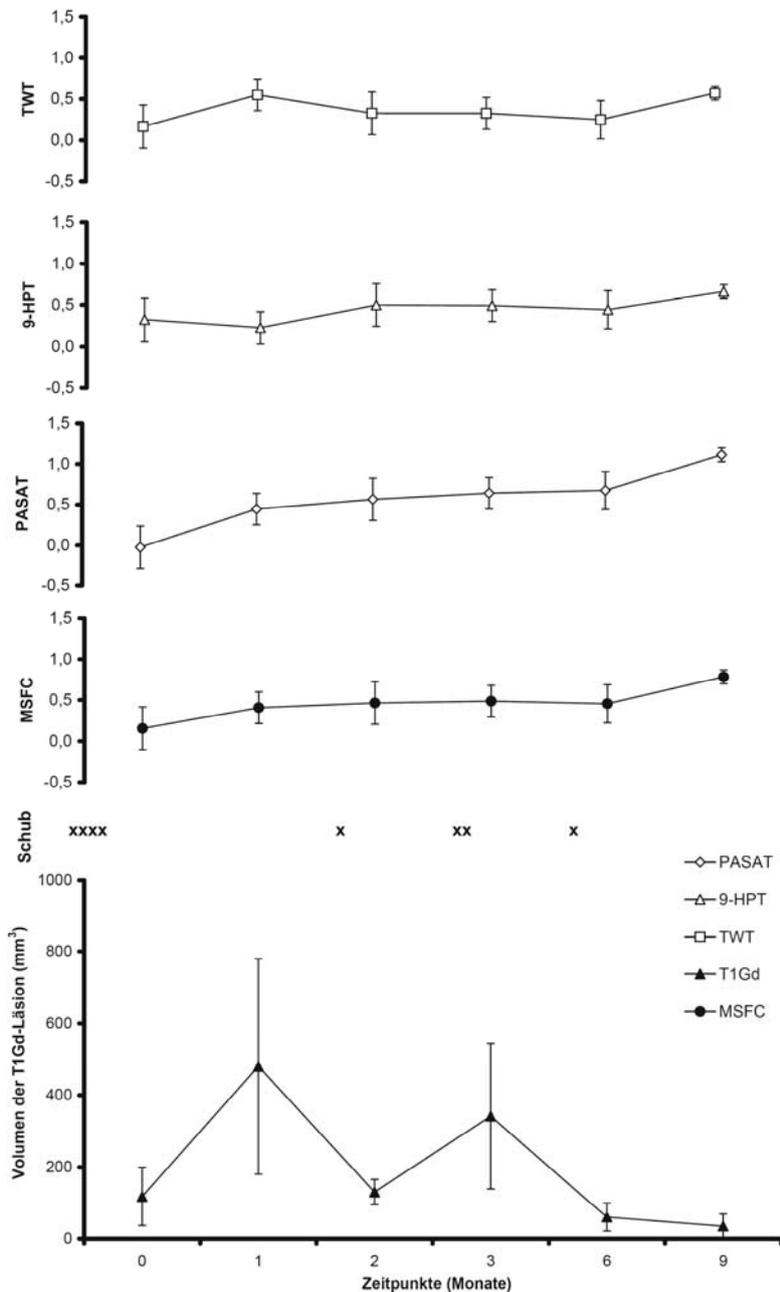


Abbildung 16. Behinderungsgrad und akut entzündliche Läsionen im Verlauf. MSFC und Z-Scores der Subtests *Paced Auditory Serial Addition Test* (PASAT), *Nine-Hole Peg Test* (9-HPT) und *25-foot Timed Walk Test* (TWT) sowie Volumen kontrastmittelanreichernder Läsionen (T1Gd). Darstellung der Mittelwerte. Fehlerbalken geben SEM an. (Zeitpunkte 0, 1, 3 und 6 n = 6; Zeitpunkte 2 und 9 n = 4). Mit X sind Schubereignisse der einzelnen Patienten im Lauf der Untersuchung gekennzeichnet.

Untersuchungsmonat eine geringgradige Verschlechterung der Funktion der oberen Extremitäten gegenübersteht. Eine kongruente Verbesserung der Leistung in allen Subtests im Gesamtscore ist erst nach anhaltendem Rückgang KM-positiver Läsionen zu erkennen, wobei im Untersuchungsverlauf der Anstieg des Z-Scores des PASAT-Tests, dem Test zur kognitiven Leistungserfassung, am ausgeprägtesten ist. Dieser ist, im Gegensatz zur Zunahme der TWT- und 9-HPT-Z-Scores, statistisch signifikant.

### 3.1.5. Korrelation cerebraler Kontrastmittelanreicherung mit klinische Parametern

Ausgehend von der oben geschilderten Beobachtung wurde an einer zweiten, unabhängigen Patientenpopulation ( $n = 28$ ) untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen Kontrastmittelanreicherung als kernspintomographisches Korrelat akuter Entzündungsaktivität und klinischen Parametern erkennbar ist. Abbildung 17 zeigt, dass die MSFC-Testergebnisse bei gleichzeitigem Nachweis von kontrastmittelpositiven Läsionen schlechter waren als bei fehlendem Nachweis von Kontrastmittelanreicherungen im MRT. Statistisch liegt die Verbesserung der Gesamttestleistung mit  $p = 0,050$  an der Grenze zur Signifikanz. Hinsichtlich des EDSS fand sich kein Unterschied zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten.

Betrachtet man die Subtests des MSFC, kann man erkennen, dass die Zunahme des Gesamtscores auf den Anstieg des PASAT zurückzuführen ist. Die Leistung im 9-HPT ändert sich nicht wesentlich und auch das Ergebnis des TWT verbessert sich nur gering. Diese Beobachtung wird gestützt durch die statistische Überprüfung. Sie zeigt eine signifikante Zunahme des PASAT-Z-Scores ( $p = 0,023$ ) am Zeitpunkt ohne Nachweis von Kontrastmittelanreicherung, für die Subtests 9-HPT und TWT findet sich keine statistische Signifikanz. Ein Übungseffekt als Erklärung für die Verbesserung des PASAT kann ausgeschlossen werden, da alle Patienten vor der Messung mindestens drei Übungssequenzen absolviert haben. Zusätzlich wurde bei

20/28 Patienten in der chronologisch zweiten MRT-Untersuchung die Kontrastmittelanreicherung nachgewiesen.

Zusammenfassend zeigen die Daten, dass die durch Kontrastmittelanreicherung im cerebralen MRT angezeigte Krankheitsaktivität insbesondere zu einer Beeinträchtigung der kognitiven Leistung führt.

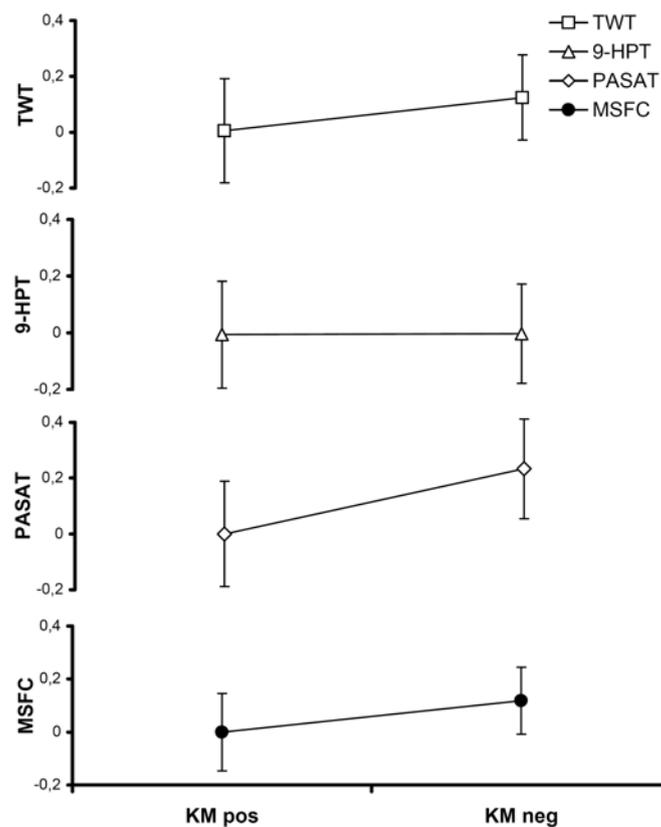


Abbildung 17. Auswirkung cerebraler Kontrastmittelanreicherung auf klinische Parameter. An Zeitpunkten mit (KM pos) und ohne (KM neg) Kontrastmittelanreicherung in der T1-gewichteten cerebralen MRT wurden MSFC und Z-Scores der Subtests *Paced Auditory Serial Addition Test* (PASAT), *Nine-Hole Peg Test* (9-HPT) sowie *25-foot Timed Walk Test* (TWT) verglichen, Abstand der Untersuchungen im Mittel 2,7 Monate (Spannweite 15,5 Monate). Darstellung der Mittelwerte (n= 28). Fehlerbalken geben SEM an.

### 3.2. Perfusions- und Diffusionsbildgebung

Insgesamt wurden 89 kontrastmittelanreichernde Herde identifiziert, von denen 39 auf Schnittbildern abgebildet waren, bei denen in identischen Schichten eine Perfusions- und Diffusionsmessung erfolgt war. Davon erfüllten 18 Läsionen von 7 Patienten die unter Abschnitt 2.3.2. ausgeführten Einschlusskriterien (siehe Tabelle 6). Bei diesen Läsionen wurden im Verlauf CBV, CBF, MTT und ADC bestimmt. Drei dieser Läsionen reichert ringförmig Kontrastmittel an.

Patienten ID	Gesamtzahl der Läsionen	Zahl der eingeschlossenen Läsionen
1	1	0
2	6	0
3	1	0
4	0	0
5	0	0
6	8	5
7	10	0
8	1	0
9	9	3
10	0	0
11	0	0
12	5	2
13	1	1
14	0	0
15	22	0
16	3	3
17	19	2
18	2	2
19	0	0
20	0	0
<b>Gesamt</b>	<b>89</b>	<b>18</b>

Tabelle 6. Kontrastmittelanreichernde Läsionen im Beobachtungszeitraum.

#### 3.2.1. Korrekturalgorithmus bei Blut-Hirn-Schrankenstörung

Bei der Bestimmung der Perfusion fällt in Arealen mit Blut-Hirn-Schrankenstörung in der Konzentration-versus-Zeit-Kurve nach einem ersten Gipfel, der dem initialen

Bolus des Kontrastmittels entspricht, ein deutliches Absinken der Kurve unter die Nulllinie auf (siehe Abbildung 18 A). Dies entspricht einem Artefakt, das sich durch die Anreicherung von Gd im interstitiellen Raum und einer daraus resultierenden reduzierten T1-Relaxationszeit erklären lässt. Wird der im Methodenteil unter Abschnitt 2.4. beschriebene Korrekturalgorithmus eingesetzt, können der Kurvenverlauf adjustiert (siehe Abbildung 18 B) und ansonsten falsch niedrige Perfusionsparameter verhindert werden. Wie Abbildung 18 C und D zu entnehmen, hat die Anwendung des Korrekturalgorithmus auf das nicht anreichernde NAWM der korrespondierenden kontralateralen Seite keine Auswirkungen.

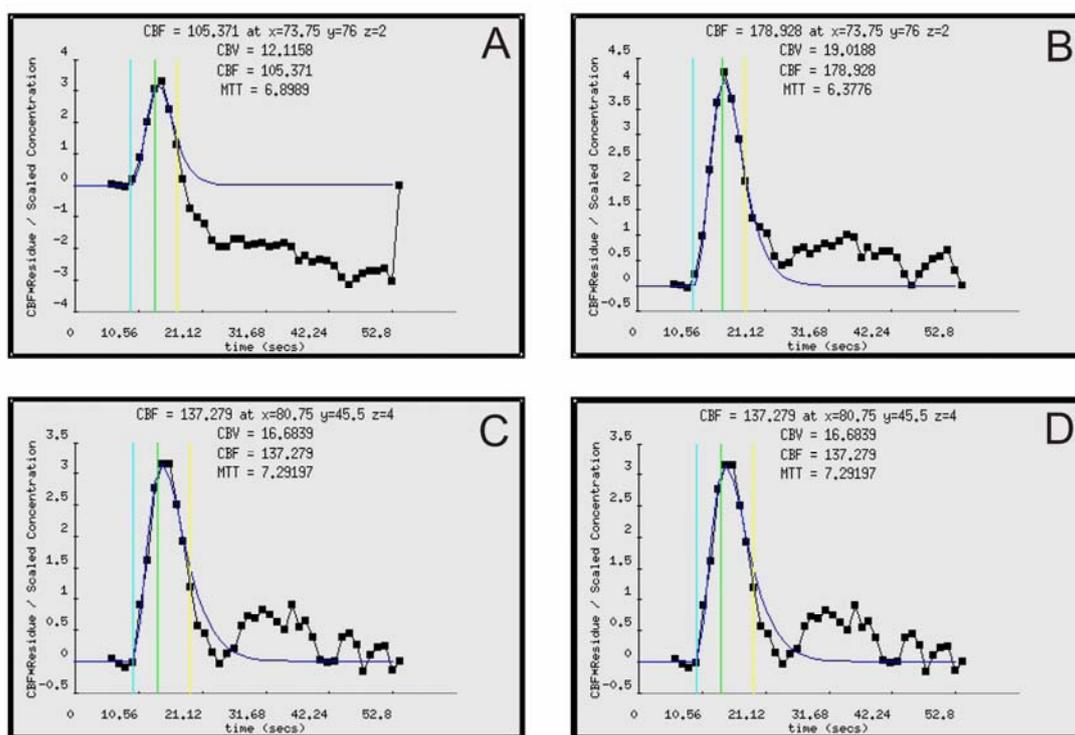


Abbildung 18. Konzentration-versus-Zeit-Kurven gemessen in einer kontrastmittelanreichernden Läsion (A, B) und im korrespondierenden, kontralateralen NAWM (C, D) jeweils ohne (A, C) und mit (B, D) Anwendung des Korrekturalgorithmus nach *Haselhorst et al., 2000*.

### 3.2.2. Perfusions- und Diffusionsmessung der Läsionsentstehung

In der longitudinalen Analyse wurde der Zeitpunkt  $t = 0$  festgelegt als der Untersuchungszeitpunkt, an dem eine Läsion erstmalig eine Kontrast-

## Ergebnisse

mittelanreicherung im T1-gewichteten Bild nach Gd-Applikation zeigte. Beispielhaft ist in Abbildung 19 die Entwicklung eines Plaques in den verschiedenen Untersuchungstechniken dargestellt. Sie zeigt die Perfusionsgrößen CBV, CBF, MTT und den Diffusionsparameter ADC im zeitlichen Verlauf der Läsionsentstehung.

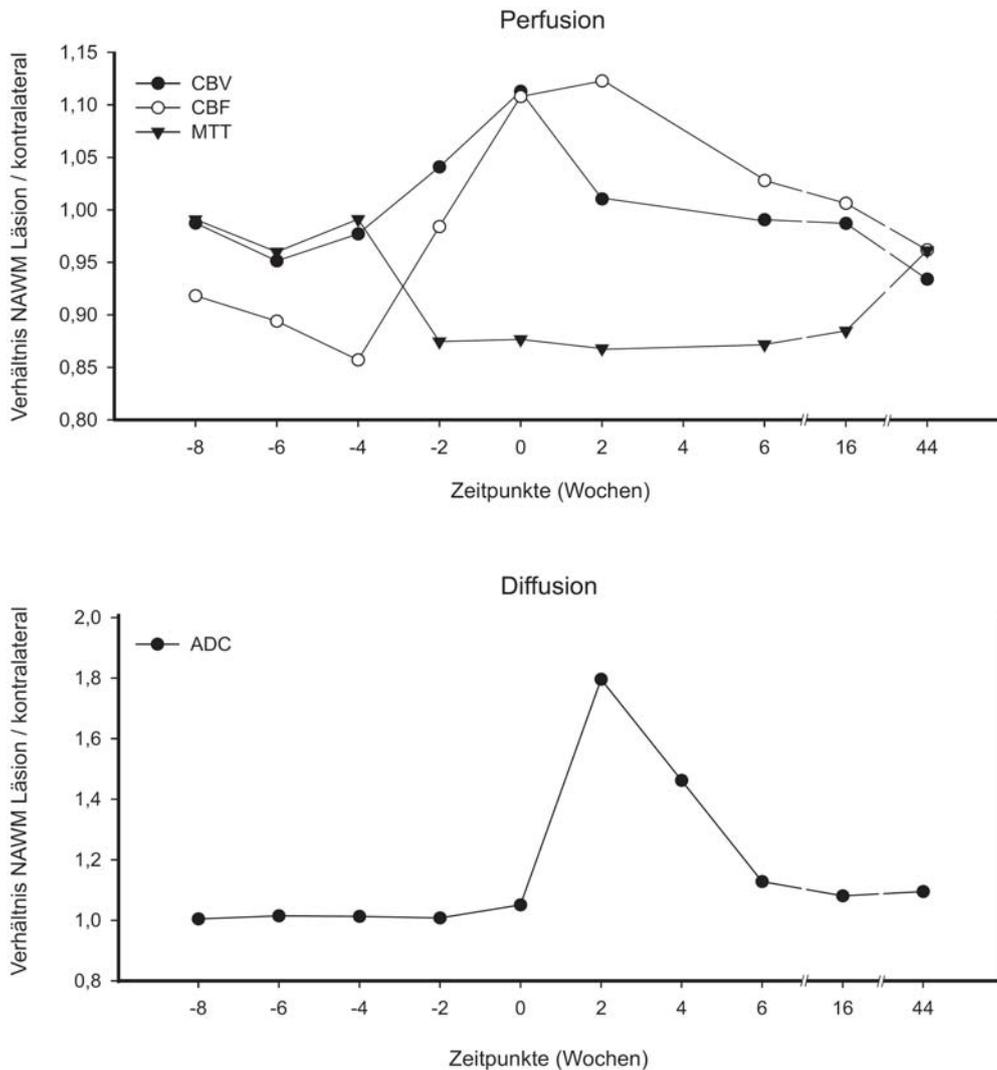


Abbildung 19. Repräsentatives Beispiel einer Läsionsentwicklung dargestellt mit Perfusions- (cerebrales Blutvolumen [CBV], cerebraler Blutfluss [CBF], mittlere Transitzeit [MTT]) und Diffusionsparametern (scheinbarer Diffusionskoeffizient [ADC]).

Aus Tabelle 7 geht hervor, dass eine eindeutige, statistisch signifikante Erhöhung des ADCs im Vergleich zum korrespondierenden kontralateralen NAWM in allen Läsionen am Zeitpunkt der initialen Kontrastmittelanreicherung gefunden wurde. Eine Erhöhung des ADC bis zu drei Wochen (Spannweite 2 Wochen) vor Blut-Hirn-

Schrankenstörung konnte nur bei drei Serien der Läsionsentstehung beobachtet werden und war statistisch nicht signifikant. Auch nachdem die Läsionen kein Kontrastmittel mehr anreicherten, blieb der ADC in allen untersuchten Läsionen leicht erhöht im Vergleich zur Baseline.

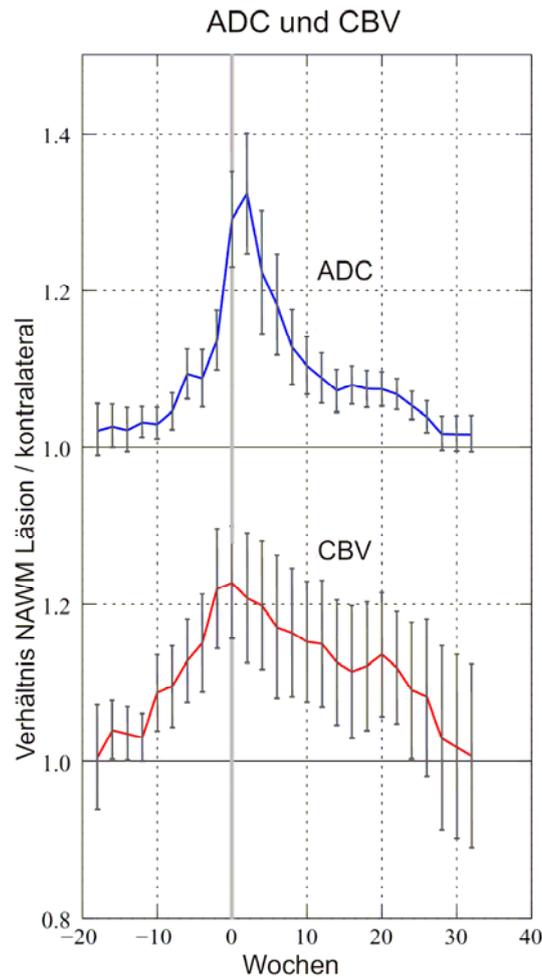
Wochen vor KM-Anreicherung	CBV (SD)	p Wert	CBF (SD)	p Wert	ADC (SD)	p Wert
Baseline (>6)	1.0288 (0.182)		1,0601 (0.226)		1.0626 (0.107)	
3 (±1)	1.2154 (0.245)	0.008	1,2506 (0.259)	0.008	1.0489 (0.093)	0.173
0	1.2603 (0.265)	0.008	1,3144 (0.268)	0.015	1.2845 (0.295)	0.011

*Tabelle 7.* CBV, CBF und ADC in der Läsionsentstehung. Darstellung der jeweiligen Mittelwerte des Verhältnis Läsion versus korrespondierendes kontralaterales NAWM und SD (n = 9). Alle zur Verfügung stehenden Untersuchungen mehr als 6 Wochen vor Kontrastmittelanreicherung wurden in die Baseline-Berechnung einbezogen. Angegebene p-Werte beziehen sich auf den Vergleich zur Baseline (Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummen-Test).

Bei der Bestimmung der Perfusion im Entstehungsprozess der Läsionen waren statistisch signifikante Veränderungen im CBV und CBF, jedoch nicht in der MTT sichtbar. In allen untersuchten Läsionen wurde (verglichen mit der Baseline-Untersuchung) jeweils nicht nur am Zeitpunkt der initialen Kontrastmittelanreicherung, sondern auch im anatomisch korrespondierenden ROI bis zu drei Wochen (Spannweite 2 Wochen) vor erkennbarer BBB-Störung ein statistisch signifikanter Anstieg von CBV und CBF gefunden (siehe Tabelle 7).

Bereits 3 Wochen vor Kontrastmittelanreicherung zeigten CBV und CBF in Relation zur Baseline einen Anstieg von 18,0% bzw. 17,9%. Vergleicht man den Zeitpunkt 3 Wochen vor Nachweis einer Kontrastmittelanreicherung mit dem Zeitpunkt 0, ergibt sich kein signifikanter Unterschied. Dies ist ein Hinweis darauf, dass eine Veränderungen des Blutflusses bereits in der initialen Phase der Läsionsbildung auftritt. CBV und CBF blieben auch nach Rekonstituierung der Blut-Hirn-Schranke noch über einige Wochen erhöht, wie der Abbildung 20 entnommen werden kann.

Das Maximum der Diffusibilität wird im Gegensatz zum CBF erst nach dem Zeitpunkt 0 erreicht. Quantitativ bildet sie sich schneller zurück, jedoch lassen sich Veränderungen des ADC in einem ähnlichen zeitlichen Rahmen wie der erhöhten Perfusion erkennen.



*Abbildung 20.* CBV und ADC im zeitlichen Verlauf. Angabe von Durchschnittswerten des von CBV und ADC (jeweils Verhältnis Läsion versus korrespondierendes kontralaterales NAWM) aller die Einschlusskriterien erfüllenden Läsionen ( $n = 18$ ) an den jeweils korrespondierenden Zeitpunkten. Fehlerbalken geben SD an. Die Zahl der Messwerte am Beginn und Ende des Untersuchungszeitraumes sind geringer als bei  $t = 0$  (Minimum  $n \geq 5$ ).

Zwei der 18 untersuchten Läsionen (11,1%) entwickelten sich im Beobachtungszeitraum etliche Wochen nach Kontrastmittelanreicherung zu hypointensen Läsionen im T1-gewichteten Bild. Bei diesen Herden sanken CBV und CBF unter den Ausgangswert bei Baseline.

3.2.2.1. Ringförmig anreichernde Läsionen

Bei drei Läsionen, die ringförmig Kontrastmittel anreicherten, ließ sich das oben beschriebene Muster der Perfusionsänderung der homogen Kontrastmittel anreichernden Herde nur im kontrastmittelanreichernden „Rand“ erkennen (siehe Tabelle 8). Im Zentrum der Läsion, das sich in T1-Wichtung hypointens darstellte, wurden niedrigere Werte für CBV und CBF gemessen. Im Vergleich zur inneren Zone der Läsion ist die MTT im Bereich der Schrankenstörung kürzer.

Läsion	CBV Ring	CBV Zentrum	CBF Ring	CBF Zentrum	MTT Ring	MTT Zentrum
1	15.48 (8.6)	10.26 (4.73)	158 (96.26)	93.84 (44.9)	6.04 (1.37)	6.7 (1.45)
2	9.25 (4.1)	8.7 (3.83)	88.38 (43.9)	70.25 (27.53)	6.17 (1.67)	7.4 (1.2)
3	21.17 (5.74)	16.18 (1.21)	211.41 (58.5)	148.53 (20.4)	6.04 (0.44)	6.59 (0.64)

*Tabelle 8.* Ergebnisse der Perfusionsmessung der ringförmig anreichernden Läsionen, unterschieden werden die Bereiche der ringförmigen Kontrastmittelanreicherung und das in T1-Wichtung hypointense Zentrum der Läsion. Mittelwerte der Einzelmessungen mit SD in Klammern.

## 4. DISKUSSION

In diesem Kapitel werden die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammengefasst und im Hinblick auf die Fragestellung diskutiert. Die Resultate zur Läsionsentwicklung im natürlichen, unbehandelten Verlauf in der konventionellen MRT-Bildgebung in Beziehung zu klinischen Aspekten werden unter Abschnitt 4.1. erörtert. Die Ergebnisse der perfusions- und diffusionsgewichteten Bildgebung ermöglichen eine Diskussion der Läsionsbildung aus pathophysiologischem Blickwinkel im Abschnitt 4.2.

### **4.1. Läsionsentwicklung in der konventionellen MRT-Bildgebung und klinischer Verlauf**

Die Kernspintomographie ist in der klinischen Routine das bildgebende Verfahren der Wahl bei entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems. T1- (vor und nach Kontrastmittelapplikation) und T2-gewichtete Sequenzen gehören zur Standarduntersuchung. In Therapiestudien zur MS gewinnen MRT-Parameter aufgrund ihrer Sensitivität und der Möglichkeit einer objektiven Auswertung als sekundäre, teils sogar primäre Endpunkte immer mehr an Bedeutung (*Li et al., 2006*). Um Therapieeffekte besser erkennen zu können, werden für diese Studien Patienten mit hoher Krankheitsaktivität nach klinischen oder kernspintomographischen Kriterien selektiert.

Zur Beurteilung der kernspintomographischen Krankheitsaktivität nimmt der Nachweis kontrastmittelanreichernder Läsionen eine zentrale Stellung ein. Diese entstehen, wenn durch eine Beschädigung der Blut-Hirn-Schranke, intravasales Kontrastmittel in das Hirngewebe austreten kann. Histopathologische Untersuchungen an Biopsiematerial von MS-Patienten wiesen einen Zusammenhang zwischen Kontrastmittelanreicherung in Läsionen und entzündlichem Zellinfiltrat nach (*Katz et al., 1993; Brück und Stadelmann, 2005*). Demzufolge kann in der MS ein kontrastmittelanreichernder Herd als

kernspintomographisches Korrelat einer aktuell entzündlichen Läsion angesehen werden. Sowohl aus der Anzahl von Kontrastmittelanreicherungen bei einer Untersuchung, als auch aus deren Zahl im Verlauf kann man Hinweise über die aktuelle Krankheitsaktivität erhalten und entsprechend auf die „Entzündungsaktivität“ schließen.

Für die vorliegende Arbeit wurde ein Kollektiv von MS-Patienten ohne immunmodulatorische Behandlung ausgewählt, das sich durch hohe klinische wie auch kernspintomographische Krankheitsaktivität auszeichnet. Im neunmonatigen Beobachtungszeitraum wurde prospektiv der „natürliche“ Erkrankungsverlauf in dieser Patientengruppe dokumentiert.

Auffällig sind die Schwankungen der Größenausdehnung der Einzelläsionen, aber auch der Läsionslast im Verlauf. Betrachtet man die KM-aufnehmenden Herde, so kann man im Längsschnitt erkennen, dass sowohl Anzahl als auch Volumen der Läsionen ein Maximum im zweiten Untersuchungsmonat erreichen. Ein ähnlicher Verlauf wird in einer Publikation der Arbeitsgruppe um McFarland am National Institute of Health in Washington DC berichtet. Sie hat sich verdient gemacht um die Erforschung des „natürlichen“ Verlaufs der MS, insbesondere dessen Abbildung in der Kernspintomographie. In deren Publikationen werden zwei ebenfalls unbehandelte Patientenkohorten über einen Verlauf von 6 Monaten beschrieben. Fokussiert auf „kernspintomographisch aktive“ Patienten (d. h. Patienten, bei denen am ersten Untersuchungszeitpunkt eine Kontrastmittelanreicherung in T1-Wichtung zu erkennen war), steigt bei diesen Gruppen mit 32 bzw. 33 Probanden die Anzahl der KM-aufnehmenden Läsionen in den ersten zwei bis drei Monaten des Untersuchungsverlaufs an, um im weiteren Verlauf wieder abzunehmen (*Bagnato et al., 2000*). In der längeren Beobachtungszeit der vorliegenden Arbeit zeigte sich in den 9-Monatsdaten eine erneute geringfügige Zunahme der Kontrastmittelanreicherungen, so dass sich in der Zusammenschau ein wellenförmiger Verlauf der kernspintomographischen „Entzündungsaktivität“ andeutet.

Kann aus der kernspintomographischen „Entzündungsaktivität“ auf den mittel- und langfristigen Verlauf geschlossen werden? Belegt ist, dass kontrastmittelanreichernde Herde mit dem kurzfristigen klinischen Krankheitsverlauf korrelieren. So konnte in einer Kohorte von 68 MS-Patienten bei Auftreten zumindest einer KM-positiven Läsion in der Erstuntersuchung ein Schub innerhalb der folgenden 6 Monate vorausgesagt werden (*Koudriavtseva et al., 1997*).

In einer Metaanalyse mit 307 Patienten konnte durch die durchschnittliche Anzahl kontrastmittelanreichernder Herde aus sechs monatlichen MRT-Untersuchungen ebenfalls die Schubrate im ersten Jahr vorausgesagt werden, wobei die Varianz der Läsionszahl den größten Voraussagewert hatte. Ein Zusammenhang von KM-positiven Herden mit zunehmender Behinderung (gemessen durch den EDSS) ließ sich in der Beobachtungszeit von 24 Monate jedoch nicht herstellen (*Kappos et al., 1999*). Auch Schübe als klinisches Korrelat akuter „Entzündungsaktivität“ haben keinen Einfluss auf die Entstehung bleibender Behinderung (*Confavreux et al., 2000*). Diese Erkenntnisse sind starke Hinweise darauf, dass es in der MS neben akuter Inflammation weitere pathophysiologische Mechanismen geben muss, die zu einer irreversiblen Schädigung des Nervensystems führen.

In der MS ist die Zunahme der cerebralen Läsionslast ein zentrales Kriterium der Diagnosestellung (*Donald et al., 2001; Polman et al., 2005*) und der kernspintomographische Ausdruck des Erkrankungsprozesses. Aus dem Placeboarm der Zulassungsstudie für Interferon- $\beta$ -1b konnte eine jährliche Zunahme des T2-Läsionsvolumens von 15% errechnet werden (*Paty et al., 1993*). In einer weiteren Studie wird von Patienten mit klinisch sicherer MS, deren klinische Charakteristika der in dieser Arbeit untersuchten Population entsprechen, eine Zunahme der T2-Läsionslast ebenfalls um 15% nach 12 Monaten berichtet. Bei dieser Gruppe von 19 Patienten beschränkte sich das Einschlusskriterium jedoch lediglich auf den klinischer Nachweis von Krankheitsaktivität in den vorausgegangenen 18 Monaten (*Lee et al., 1999*). Die hier vorgelegten Daten zeigen, dass bei einem kernspintomographisch und klinisch hochaktiven, unbehandelten Patientenkollektiv die T2-Läsionslast im Verlauf von 9 Monaten um

20% ansteigt. Sie liegt somit nicht wesentlich höher als die Zunahme der T2-Läsionslast der beiden oben zitierten Studien, die Probanden lediglich nach klinischen Aktivitätskriterien ausgewählt haben. Bei einem Patientenkollektiv mit hoher, insbesondere kernspintomographisch nachgewiesener Krankheitsaktivität hätte man eine deutlichere Zunahme der cerebralen Läsionslast erwarten können. Jedoch konnte auch in einer Langzeituntersuchung (Beobachtungszeitraum 33 – 80 Monate) durch die Frequenz kontrastmittelanreichernder Läsionen in den ersten 10 Monaten nur zum Teil die Zunahme der T1- und T2-Läsionslast voraussagt werden. (*van Walderveen, 1999*).

Wie lässt sich erklären, dass die durch kontrastmittelanreichernde Läsionen erfasste Krankheitsaktivität nur bedingt zu persistierenden T2-Herden führt? Verfolgt man die einzelne kontrastmittelanreichernde Läsion im Verlauf, so konnte gezeigt werden, dass sich nach 5 Monaten die meisten Herde (92%) im T2-gewichteten Bild darstellen, lediglich 38% sind als T1-Läsion erkennbar und ein nicht unerheblicher Anteil (8%) lässt sich nicht mehr nachweisen (*Ciccarelli et al., 1999*). Dies ist ein Phänomen, das bereits in den ersten Publikationen zur MRT in der MS beschrieben wurde (*Willoughby et al., 1989*).

Im Weiteren ist vorstellbar, dass es innerhalb der schubförmig-remittierenden MS verschiedene Verlaufstypen gibt: einen Typ, der trotz hoher Krankheitsaktivität wenig persistierende cerebrale Läsion akkumuliert und einen anderen, der einen Verlauf mit destruierenden Läsionen nimmt. In einer kürzlich veröffentlichten Publikation konnten durch das statistischen Verfahren einer latenten Klassenanalyse zwei Patientengruppen identifiziert werden, die sich hinsichtlich Ausmaß konfluierender Läsionen und kernspintomographischer Surrogatparameter des Neuronenverlusts unterscheiden. Bezüglich demographischer oder krankheitsspezifischer Charakteristika fand sich jedoch kein Unterschied. Zur Differenzierung stützten sich die Autoren ausschließlich auf MRT-Befunde wie Läsionszahl, Lokalisation und Phänomenologie der Läsionen in der T2-gewichteten cerebralen und spinalen MRT, Muster der Kontrastmittelanreicherung, persistierende T1-Hypodensitäten und Atrophie in der T1-gewichteten MRT. Als zusätzliches Ergebnis wurde bei der

schwerer betroffenen Gruppe ein signifikant größeres kognitives Defizit beobachtet (*Zwemmer et al., 2006*).

Ebenso scheint die räumliche Verteilung der Läsionen im Gehirn Einfluß darauf zu haben, ob sich aus einem kontrastmittelanreichernden, akut entzündlichen Herd eine permanente Läsion bildet. In einer Untersuchung zur räumlichen Verteilung der MS-Herde im Gehirn fand sich eine deutlich höhere Wahrscheinlichkeit für T2-Läsionen im zentralen (periventrikulären) versus peripheren (juxtakortikalen) Marklager, wohingegen sich für kontrastmittelanreichernde Läsionen kein unterschiedliches Verteilungsmuster zeigte. Die Autoren postulieren als mögliche Ursachen, dass im periventrikulären Marklager möglicherweise T2-Läsionen ohne initiale KM-Anreicherung (z. B. in Folge Waller'scher Degeneration) entstehen oder dass das zentrale Marklager eine höhere Suszeptibilität für persistierende Gewebeschäden nach „Entzündungsaktivität“ hat (*Lee et al., 1999*).

In der vorliegenden Arbeit fällt auf, dass das Gesamtläsionsvolumen in den T2-gewichteten Aufnahmen erheblichen Schwankungen unterliegt. Diese Variabilität der in T2-Wichtung dargestellten, betroffenen weißen Substanz wurde bereits in frühen Arbeiten zur Phänomenologie der MS in der Kernspintomographie insbesondere bei Patienten mit häufigen kontrastmittelanreichernden Läsionen beobachtet (*Pannizzo et al., 1992; Stone et al., 1995*). Konform mit den Berichten in der Literatur wurde auch in der vorliegenden Arbeit das größte T2-Läsionsvolumen an dem Zeitpunkt gemessen, an dem auch das höchste Volumen mit KM-Anreicherung auftrat. Da das T2-Volumen, auch nach Subtraktion der vorbestehenden, als residual zu betrachtenden T2-Läsionslast, das kontrastmittelanreichernde Volumen deutlich übersteigt, ist zu vermuten, dass ein nicht unerheblicher Anteil der T2-Signalveränderung auf eine reaktive Wasseransammlung um die im engeren Sinne entzündliche Läsion herum zurückzuführen ist. Bedingt durch die geringe histopathologische Spezifität einer T2-Signalhyperintensität, lassen sich jedoch Bereiche mit Ödem, Demyelinisierung, Gliose und Axonverlust nicht sicher differenzieren.

Zusammenfassend können weder Signalveränderungen in T2- noch in T1-Wichtung vor und nach KM herangezogen werden, um eine Aussage über Gewebeschädigung, Ausmaß der Entzündungsreaktion und Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrats zu treffen. Sie sind jedoch unerlässliche Surrogatparameter zur frühzeitigen Diagnosestellung und Dokumentation des Krankheitsverlaufs. Mit der Weiterentwicklung von Kontrastmitteln vor allem hinsichtlich Gewebespezifität und unter Einsatz innovativer Methoden wie Spektroskopie, MTR und diffusionsgewichteter Bildgebung wird die Kernspintomographie Erkenntnisse *in vivo* auch auf gewebestruktureller Ebene liefern können.

Zur querschnitt- und längsschnittlichen Beschreibung des klinisch-neurologischen Zustands eines MS-Patienten hat sich der EDSS als standardisierte Bewertungssystem im klinischen Alltag ebenso wie auch in großen Studien langjährig bewährt. Um seine bekannten Schwächen auszugleichen, wurde vor etwa 10 Jahren der MSFC als weiterer klinischer Parameter eingeführt. Auch wenn der EDSS vor allem ab einem Wert von 4,0 von einer Beeinträchtigung der Gehfähigkeit dominiert wird und in den MSFC in einem erheblich größeren Anteil Aspekte der Kognition einfließen, wird in der Literatur fast ausnahmslos eine signifikante Korrelation beider Variablen beschrieben (*Kalkers et al., 2000; Hoogervorst et al., 2002; Rudick et al., 2002; Hobart et al., 2004*). Die Daten zu EDSS und MSFC aus der vorliegenden Arbeit bestätigen dies ebenfalls.

Lässt sich ein Zusammenhang zwischen den klinischen Parametern und der konventionellen MRT-Bildgebung herstellen? In der Literatur wird eine allenfalls mäßige Korrelation zwischen EDSS und T2-Läsionslast und eine nur geringfügig bessere Korrelation zwischen EDSS und T1-Läsionslast berichtet (*Barkhof, 1999*). In einer Arbeit, die beide klinischen Bewertungssysteme in Korrelationsanalysen untersuchte, fand sich ein geringer Zusammenhang des MSFC sowohl mit der T2- wie auch der T1-Läsionslast, mit dem EDSS ließ sich jedoch keine Beziehung herstellen (*Kalkers et al., 2001a*). Letzteres liegt möglicherweise in der größeren Sensitivität des MSFC (*Cutter et al., 1999*). Bei dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patientenkollekt mit hoher klinischer und kernspintomographischer

Krankheitsaktivität ließ sich eine Korrelation zwischen konventionellen MRT-Daten (T1- und T2-Läsionszahl, T1- und T2-Läsionsvolumen) und EDSS sowie MSFC nicht belegen, dies ist möglicherweise auch der relativ geringen Patientenzahl zuzuschreiben.

Dieses Phänomen, dass klinische Parameter nur in geringen Maß mit den konventionellen MRT-Daten korrelieren, das sogenannte „klinisch-radiologische Paradoxon“ kann auch nicht mit sensitiveren MRT-Sequenzen wie der *fast fluid-attenuated inversion recovery* (FLAIR) Sequenz überwunden werden (*Ciccarelli et al., 2002*). Andere kernspintomographische Parameter müssen gefunden werden, die mit klinischen Parametern insbesondere im Verlauf besser korrelieren. Geeignet erscheint zum Beispiel das Ausmaß der cerebralen Atrophie, das als globaler Marker für Gewebeuntergang und axonalen Schaden herangezogen wird (*Fisher et al., 2000; Kalkers et al., 2001a*).

Sowohl EDSS wie auch MSFC bessern sich im Verlauf der vorliegenden Beobachtung, letztgenannter Parameter statistisch signifikant. Am Verlauf des MSFC kann man ablesen, dass sich die Testergebnisse erst nach deutlicher und anhaltender Abnahme des Gesamtvolumens kontrastmittelanreichernder Läsionen bessern, also nachdem die „Entzündungsaktivität“ im MRT abgenommen hat. Eine Arbeitsgruppe, die in der MS den Effekt der Steroidbehandlung eines Schubereignisses, dem klinischen Korrelat von Krankheitsaktivität, untersuchte, fand ein korrespondierendes Ergebnis. Unter der antiinflammatorischen Wirkung der Kortikosteroide ließ sich die klinische Besserung mit Hilfe des MSFC signifikant nachweisen, jedoch nicht durch den EDSS (*Patzold et al., 2002*).

Betrachtet man die Subkomponenten des MSFC kann man erkennen, dass in dem hier untersuchten Patientenkollektiv die Verbesserung des MSFC auf die Zunahme des PASAT-Scores zurückzuführen ist. Der Anstieg dieses Z-Scores ist im Gegensatz zu den Werten von 9-HPT und TWT ebenfalls signifikant. Mit dem PASAT werden kognitive Funktionen wie Aufmerksamkeit und Arbeitsgedächtnis getestet. Entzündliche Veränderungen des Hirngewebes scheinen somit auf diese komplexen

Hirnleistungen größeren Einfluss zu haben als auf motorische Fähigkeiten, wie sie 9-HPT und TWT abbilden.

Dieser Hinweis bestätigt sich an einer, in einem zweiten Schritt untersuchten, unabhängigen Patientengruppe. Bei 28 Patienten wurden EDSS und MSFC intraindividuell an Zeitpunkten mit und ohne Kontrastmittelanreicherung im T1-gewichteten MRT verglichen. Keiner dieser Patienten wies bei den Untersuchungen klinische Zeichen eines Schubes auf. In Abwesenheit von KM-anreichernden Läsionen, d.h. ohne akut entzündliche Veränderungen im MRT, wurde eine bessere Testleistung im MSFC erzielt. Statistisch war diese Besserung der Gesamtleistung grenzwertig signifikant. Bei Betrachtung der einzelnen Testkomponenten ließ sich lediglich für den PASAT eine signifikante Zunahme nachweisen. Durch den methodischen Aufbau der Untersuchung kann ein Übungseffekt als Ursache der Verbesserung ausgeschlossen werden. Hinsichtlich des EDSS fand sich kein Unterschied zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten.

Die vorliegenden Daten belegen folglich, dass auch im schubfreien Intervall bei körperlich stabilen Patienten kernspintomographisch nachgewiesene „Entzündungsaktivität“ (unabhängig von deren Ausmaß und Lokalisation) zu einer Beeinträchtigung führt, die insbesondere die Kognition betrifft.

Aus verschiedenen Studien wird berichtet, dass 40% bis 65% der MS-Patienten kognitive Beeinträchtigungen aufweisen. Diese sind einerseits abhängig vom Verlaufstyp der MS (im Vergleich zur SPMS ist sie seltener bei der RRMS zu beobachten), andererseits besteht ein Zusammenhang von zunehmenden kognitiven Einbußen mit zunehmender cerebraler Läsionslast sowie mit der Hirnatrophie (*Amato et al., 2006*). Als weitere Faktoren werden Lokalisation der Läsionen und Nachweis akuter „Entzündungsaktivität“ diskutiert (*Comi et al., 2001b*). Jedoch standen Studien zur Auswirkung von entzündlichen Hirnläsionen auf kognitive Fähigkeiten bisher weitgehend aus. In der Literatur findet sich lediglich eine Publikation, in dieser wurden MS-Patienten im akutem Schub untersucht. In Übereinstimmung mit den Daten der vorliegenden Arbeit wurde bei einer Untergruppe mit reduzierter kontrastmittelpositiver Läsionslast in der Kontrolluntersuchung eine signifikante

Verbesserung des PASAT im Vergleich zu den Gruppen mit unveränderten beziehungsweise zunehmenden Kontrastmittelanreicherungen nachgewiesen (*Foong et al., 1998*).

Die Ursachen, weshalb kernspintomographisch nachgewiesene, akute „Entzündungsaktivität“ vor allem kognitive Fähigkeiten beeinträchtigt, müssen noch weiter untersucht werden. Aus funktionellen MRT-Studien bei gesunden Kontrollen ist bekannt, dass sich bei Durchführung des PASAT eine kortikale Aktivierung im linken präfrontalen Kortex, im supplementär-motorischen Kortex, im lateralen prämotorischen Kortex, im Gyrus cinguli, im linken Parietallappen, im linken Gyrus temporalis superior, im linken Temporalpol und in den visuellen Assoziationsfeldern zeigt (*Audoin et al., 2005*). Schon unter anatomischen Gesichtspunkten ist die Wahrscheinlichkeit einer Störung eines solch weit verzweigten neuronalen Netzwerks durch eine Marklagerläsion höher als bei dem im Vergleich dazu mehr umschriebenen motorischen System. So kann man bei der Ausführung einer motorischen Aufgabe, die als dem 9-HPT äquivalent angesehen werden kann, im funktionellen MRT lediglich eine Aktivierung des contralateralen sensomotorischen Kortex und des ipsilateralen Zerebellum beobachten (*Pantano et al., 2002*).

Im weiteren gibt es zunehmende Hinweise, dass sich in der MS entzündliche Veränderungen nicht nur auf umschriebene Herde mit Blut-Hirn-Schrankenstörung beschränken, sondern auch diffus in der weißen und grauen Substanz zu beobachten sind (*Kutzelnigg et al., 2005*). Der positive Kontrastmittelnachweis ist somit möglicherweise der Indikator für eine allgemein erhöhte, cerebrale „Entzündungsaktivität“ mit diffuser Störung der Gewebeintegrität. Es ist vorstellbar, dass sich diese in der konventionellen Kernspintomographie nicht fassbare Beeinträchtigung als erstes an hochkomplexen Vorgängen wie der Ausführung kognitiver Fähigkeiten zeigt. Zur Durchführung des PASAT sind verschiedene kognitive Leistungen wie Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis, Verarbeitungsgeschwindigkeit und Ausführung simultaner Aufgaben unter Zeitdruck notwendig (*Madigan et al., 2000*). Der MSFC als klinisches Testverfahren kann mit dem PASAT

Wie die vorliegenden Daten belegen, steht mit diesem Testverfahren ein klinischer Parameter zur Verfügung, der bei cerebraler „Entzündungsaktivität“, wie sie durch Kontrastmittelanreicherungen im MRT dargestellt wird, sensitiv kognitive Veränderungen anzeigt.

#### **4.2. Läsionsbildung in der perfusions- und diffusionsgewichteten Bildgebung**

Die perfusionsgewichtete Bildgebung hat bisher nicht zu den in der Multiplen Sklerose eingesetzten MRT-Techniken gehört (*Miller et al., 1998*). Gründe dafür könnten sein, dass die Messung der Perfusion insbesondere in kleinflächigen Arealen hohe technische Anforderungen stellt und derzeit nur eine geringere Auflösung bietet als andere MRT-Techniken. Durch die vorliegende Untersuchung wird erstmalig longitudinal die Entwicklung einer MS-Läsion mit Perfusionsparametern vorgestellt. Sie bestätigt die Hypothese, dass die Läsionsgenese bereits einige Wochen vor dem Nachweis einer Kontrastmittelanreicherung ihren Anfang nimmt. So konnten die vorliegenden Daten einen beträchtlichen regionalen Anstieg von CBV und CBF im Vergleich zum korrespondierenden kontralateralen NAWM bis zu drei Wochen vor Blut-Hirn-Schrankenstörung im Gewebe belegen und weisen somit auf die zentrale Rolle des Gefäßsystems bei der Manifestation einer Entzündung im cerebralen Marklager hin. Auch ist die räumliche Nähe von MS-Plaques zu kleinen Gefäßen, vornehmlich Venolen, ein bekanntes Phänomen (*Lucchinetti et al., 1998*).

In mehreren Modellen der Neuroinflammation wurden verschiedenste Effekte auf den Blutfluss durch entzündungsfördernde und zytotoxische Substanzen berichtet. Tierexperimentell wurde nach intrathekaler Applikation von Interleukin-1 $\beta$  eine erhöhte Permeabilität im Bereich der BBB und eine Zunahme des CBV beobachtet (*Blamire et al., 2000*). Die Verminderung des CBV als Reaktion auf eine direkte intrastriale Injektion von TNF- $\alpha$  (*Sibson et al., 2002*) spiegelt möglicherweise ein Spätstadium der Entzündungsreaktion wider. Einige Substanzen, von denen vermutet wird, dass sie im Rahmen entzündlicher Prozesses des Gehirns entstehen,

wie zum Beispiel Stickstoffmonoxid oder Substanz P, sind klassische Vasodilatoren (*Kostyk et al. 1989; Hartung und Kieseier, 1996*).

In der vorliegenden Untersuchung wurde ein Anstieg der Perfusion vor einer Erhöhung der Diffusivität gefunden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass Änderungen des lokalen Blutflusses bereits in der Frühphase der Läsionsentstehung auftreten. Dabei ist zu berücksichtigen, dass eine Perfusionsänderung als funktioneller Parameter einen veränderten Zustand des Gefäßsystems und seiner unmittelbaren Umgebung abbildet (*Barbier et al., 2001*), wohingegen Veränderungen des ADC einer pathologischen Alteration des Hirngewebes entsprechen, die durch unterschiedliche Diffusionseigenschaften des intra- und extrazellulären Wasserkompartiments detektiert werden kann (*Gass et al., 2001*). Dementsprechend wurde in einigen Untersuchungen zum Schlaganfall übereinstimmend eine Verminderung des Diffusionskoeffizienten in Arealen der Ischämie und des zytotoxischen Ödems gefunden (*Moseley et al., 1990; Mintorovitch et al., 1994*). Ein umgekehrter Zusammenhang zwischen Diffusion und Perfusion wurde in Studien zur Epilepsie beobachtet. Dabei korrelierte nach prolongierter epileptischer Aktivität eine verminderte Diffusion mit einer durch MRT-Angiographie nachgewiesenen lokalen Hyperperfusion (*Wieshmann et al., 1997; Landberg et al., 1999*). In der funktionellen MRT-Bildgebung wird ein ähnliches Phänomen beschrieben. Die Aktivierung eines spezifischen Areals auf einen Stimulus hin verursacht eine Zunahme des lokalen Blutflusses (*Belliveau et al., 1991*), führt jedoch auch zu einer vorübergehenden Verminderung des ADC (*Darquie et al., 2001*).

In der Multiplen Sklerose sollen das vasogene Ödem und die Vergrößerung des extrazellulären Raums neben dem Myelinverlust und der Zerstörung der Gewebeintegrität den erhöhten Diffusionskoeffizienten verursachen. Dies gilt sowohl im NAWM (*Rocca et al., 2000; Werring et al., 2000; Cercignani et al., 2001; Caramia et al., 2002*) wie auch in akuten und chronischen Läsionen (*Tievsky et al., 1999; Filippi et al., 2000*). In der vorliegenden Untersuchung wurde allerdings noch vor der signifikanten Erhöhung des ADC ein beachtlicher Anstieg der Perfusion beobachtet. Nach maximaler Ausdehnung am Zeitpunkt der ersten sichtbaren

Kontrastmittelanreicherung reduzierte sich das CBV der Läsion in einem Zeitraum von 20 Wochen langsam. Danach folgte eine Phase, in der es schneller absank. Für die Fälle, in denen sich eine T1-hypointense Läsion („*black hole*“) gebildet hatte, sogar auf Werte unter dem Ausgangsniveau. Dies deckt sich mit dem Resultat einer Querschnittsanalyse, bei der ein vermindertes CBV in hypointensen Läsionen in T1-Wichtung berichtet wird (*Haselhorst et al., 2000*).

Eine entzündungsassoziierte Vasodilation in der Akutphase ist eine vorstellbare Erklärung für die initiale Zunahme. Mit abnehmender „Entzündungsaktivität“ ist eine Verringerung der entzündungsassoziierten Vasodilation zu vermuten. Die Perfusion nimmt ab, und verringert sich in einer späteren Phase der Läsionsentwicklung weiter, möglicherweise dann bedingt durch Bildung einer gliösen Narbe mit niedrigerem Metabolismus. Hinweise auf diese „Narbenbildung“ finden sich auch durch die MRT-Spektroskopie, die eine verminderte N-Acetylaspartat-Kreatin-Ratio, einem metabolischen Marker für neuronale Dysfunktion bzw. neuronalen Zelltod, in T1-hypointensen Herden zeigt (*van Walderveen et al. 1998; Li et al., 2003*).

Drei der Läsionen entwickelten sich zu ringförmigen Kontrastmittelanreicherungen auf den T1-gewichteten Aufnahmen nach KM-Gabe. Insbesondere im Zentrum solcher MS-Läsionen wurden erniedrigte MTR-Werte gemessen. Dies weist auf eine dort akzentuierte strukturelle Parenchymveränderung hin. (*Hiehle et al., 1995*). Konform mit diesem Befund sind die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, die ein vermindertes CBV und einen reduzierten CBF im Zentrum dieser Herde darlegen. Möglicherweise ist durch die verminderte Blutversorgung in der Mitte dieser Läsionen die Wahrscheinlichkeit einer dauerhaften Gewebeschädigung erhöht. Dies könnte auch eine Erklärung für die Beobachtung sein, dass ringförmig kontrastmittelanreichernde Läsionen mit einem destruktiven Verlauf der MS in Verbindung gebracht werden (*Morgen et al., 2001*).

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Das typische histopathologische Korrelat der Multiplen Sklerose sind zeitlich und örtlich disseminiert auftretende, im Krankheitsverlauf vernarbende Entzündungsherde vornehmlich in der weißen Substanz des Zentralnervensystems. In der konventionellen Kernspintomographie stellen sich diese Veränderungen in T1- und T2-gewichteten Aufnahmen als hypo- beziehungsweise hyperintense Läsionen dar. Bei akut entzündlichen Herden lässt sich eine Kontrastmittelanreicherung nachweisen. Darüber hinaus bieten innovative MRT-Methoden wie Magnetisation Transfer Ratio, MRT-Spektroskopie, sowie die Diffusions- und Perfusionsbildgebung die Möglichkeit, *in vivo* Einblicke in die entzündlichen Krankheitsprozesse und die Läsionsentstehung auch auf gewebestruktureller Ebene zu gewinnen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, im ersten Teil bei Patienten mit hochaktivem, schubförmig-remittierendem Krankheitsverlauf mittels konventioneller Kernspintomographie die Entwicklung der Läsionen im Verlauf zu untersuchen. Einem Zusammenhang zwischen cerebraler „Läsionslast“ und klinisch-neurologischem Zustand sollte nachgegangen und die Auswirkung von Kontrastmittelanreicherung im cerebralen MRT auf klinischen Parameter wie den *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) und *Multiple Sclerosis Functional Composite* (MSFC) sollte erforscht werden. Im zweiten Teil standen pathophysiologische Aspekte der Entstehung einer einzelnen Läsion im Fokus. Gibt es Veränderungen der Perfusion im Prozess der Läsionsentstehung und in welchem zeitlichen Zusammenhang stehen diese mit einer Blut-Hirn-Schrankenstörung und einer Änderung der Diffusion. Auch sollte untersucht werden, ob sich verschiedene Läsionstypen bezüglich Diffusion und Perfusion unterscheiden.

Prospektiv wurden Patienten mit hoher klinischer und kernspintomographischer Krankheitsaktivität (definiert durch hohe Schubfrequenz und hohe Anzahl von Kontrastmittelanreicherungen in der MRT) untersucht. Innerhalb des Beobachtungszeitraums von 9 Monaten nahm die cerebrale Läsionslast der T2-hyperintensiven Herde dieser Patienten trotz hoher Krankheitsaktivität lediglich um 20% zu. Die Anzahl der kontrastmittelpositiven Herde beschrieb einen wellenförmigen Verlauf.

Auch in dieser hochaktiven Patientengruppe war ein „klinisch-radiologisches Paradoxon“ zu beobachten, d.h. eine Korrelation zwischen klinischen und kernspintomographischen Parametern ließ sich nicht belegen. Mit abnehmender Anzahl kontrastmittelanreichernder, akut entzündlicher Läsionen in der Bildgebung zeigt sich hinsichtlich der klinischen Parameter keine signifikante Veränderung des EDSS, jedoch eine Erhöhung der MSFC-Testleistung. Diese Zunahme des MSFC-Wertes ist zurückzuführen auf eine Verbesserung in einem der drei Subtests, dem *Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT)*, der kognitive Leistungsfähigkeit misst. An einer zweiten unabhängigen Gruppe mit 28 Patienten konnte bestätigt werden, dass das PASAT-Testergebnis bei gleichzeitigem Nachweis von kontrastmittelpositiven Herden im cerebralen MRT signifikant schlechter war als ohne Kontrastmittelnachweis. Da die weiteren Subtests des MSFC (*Nine-Hole Peg Test [9-HPT]* und *25-foot Timed Walk Test [TWT]*) keinen Unterschied zeigten, wurde somit der Nachweis erbracht, dass die durch Kontrastmittelanreicherung im cerebralen MRT angezeigte Krankheitsaktivität insbesondere zu einer Beeinträchtigung der kognitiven Leistung bei körperlich stabilen Patienten führt.

Betrachtet man die Entwicklung einer einzelnen entzündlichen Läsion mit Hilfe der Perfusions- und Diffusionsbildgebung, kann man erkennen, dass die Perfusion als erster Parameter ansteigt. Dieser Anstieg ist vor Zunahme des *Apparent Diffusion Coefficient (ADC)*, einem Maß der erhöhten Diffusibilität (zum Beispiel im Rahmen eines Ödems) und vor Störung der Blut-Hirn-Schranke (erkennbar an einer Kontrastmittelanreicherung) zu beobachten. In ringförmig kontrastmittelanreichernden Läsionen weist das nicht anreichernde Zentrum der Läsion eine im Vergleich zum anreichernden Anteil reduzierte Perfusion auf, was zu einer vermehrten Gewebedestruktionen beitragen könnte. Bei MS-Herden, die sich zu T1-hypointensen Läsionen entwickeln, sinkt der kapilläre Blutfluss und das Blutvolumen unter Ausgangsniveau. Dies kann als Hinweis auf Ausbildung einer minderperfundierten Glianarbe in diesem Bereich angesehen werden.

Abschließend kann festgestellt werden, dass die in Diagnose, Therapieevaluation und Erforschung der Multiplen Sklerose eingesetzte konventionelle MRT-Bildgebung

für bestimmte Aspekte dieser Erkrankung nur eine begrenzte Aussagekraft hat. Sie stellt einen Surrogatparameter dar, von dem nur sehr eingeschränkt auf den klinischen Zustand und Verlauf des Patienten geschlossen werden kann. In Zukunft werden durch innovative MRT-Methoden *in vivo* weitere gewebestrukturelle Fragen zur Pathogenese der Multiplen Sklerose beantwortet werden können.

## 5. LITERATURVERZEICHNIS

Aloisi F, Ria F, Adorini L. Regulation of T-cell responses by CNS antigen-presenting cells; different roles for microglia and astrocytes. *Immunol Today* 2000; 21:141-47.

Archelos JJ, Hartung HP. The role of adhesion molecules in multiple sclerosis: biology, pathogenesis and therapeutic implications. *Mol. Med. Today* 1997; 3:310-21.

Aktas O, Zipp F. Regulation of self-reactive T cells by human immunoglobulins – implications for multiple sclerosis therapy. *Curr Pharm Des* 2003; 9:245-56.

Aktas O, Smorodchenko A, Brocke S, Infante-Duarte C, Schulze Toppfaff U, Vogt J, Prozorovski T, Meier S, Osmanova V, Pohl E, Bechmann I, Nitsch R, Zipp F. Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL. *Neuron* 2005; 46:421-32.

Aktas O, Prozorovski T, Zipp F. Death ligands and autoimmune demyelination. *Neuroscientist* 2006; 12:305-16.

Amato MP, Zipoli V, Portaccio E. Multiple sclerosis-related cognitive changes: a review of cross-sectional and longitudinal studies. *J Neurol Sci* 2006; 245:41-6

Ascherio A, Munch M. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Epidemiology* 2000; 11:220-4.

Audoin B, Ibarrola D, Au Duong MV, Pelletier J, Confort-Gouny S, Malikova I, Ali.Chérif A, Cozzone PJ, PnjevaJP. Functional MRI study of PASAT in normal subjects. *MAGMA* 2005; 18(2): 96-102.

Bagnato F, Tancredi A, Richert N, Gasperini C, Bastianello S, Bash C, McFarland H, Pozzilli C, Frank JA. Contrast-enhanced magnetic resonance activity in relapsing remitting multiple sclerosis patients: a short term natural history study. *Mult Scler* 2000; 6:43-9.

Barbier EL, Lamalle L, Decorps M. Methodology of brain perfusion imaging. *J Magn Reson Imaging* 2001; 13:496-520.

Barkhof F, Filippi M, Miller DH, et al. Comparison of MR imaging criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain* 1997; 120:2059–69.

Barkhof F. MRI in multiple sclerosis: correlation with expanded disability status scale (EDSS). *Mult Scler* 1999; 5:283-6.

Beck J, Rondot P, Catinot L, Falcoff F, Kirchner H, Wietzerbien J. Increased production of interferon gamma and tumor necrosis factor precedes clinical manifestation in multiple sclerosis: Do cytokines trigger off exacerbations? *Acta Neurol Scand* 1988; 78:318-23.

Begolka WS, Miller S D. Cytokines as intrinsic and exogenous regulators of pathogenesis in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Res. Immunol.* 1998; 149:771-81.

Belliveau JW, Kennedy DN Jr, McKinstry RC, Buchbinder BR, Weisskoff RM, Cohen MS, et al. Functional mapping of the human visual cortex by magnetic resonance imaging. *Science* 1991; 254: 716-9.

Brück W, Porada P, Poser S et al., Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995; 38:788-796.

- Brück W, Stadelmann C. The spectrum of multiple sclerosis: new lesions from pathology. *Curr Opin Neurol* 2005; 18:221-4.
- Bitsch A, Schuchart J, Bunkowski S et al. Axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 2000; 123:1174-83.
- Blamire AM, Anthony DC, Rajagopalan B, Sibson NR, Perry VH, Styles P. Interleukin-1beta-induced changes in blood brain barrier permeability, apparent diffusion coefficient, and cerebral blood volume in the rat brain: a magnetic resonance study. *J Neurosci* 2000; 20:8153-9.
- Caramia F, Pantano P, Di Legge S, Piatella MC, Lenzi D, Paolillo A, et al. A longitudinal study of MR diffusion changes in normal appearing white matter of patients with early multiple sclerosis. *Magn Reson Imaging* 2002; 20: 383-8.
- Cash E, Minty A, Ferrara P, Caput D, Fradelizi D, Rott O. Macrophage inactivation IL-13 suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. *J Immunol* 1994; 153: 4258-67.
- Cercignani M, Iannucci G, Rocca MA, Comi G, Horsfield MA, Filippi M. Pathologic damage in MS assessed by diffusion-weighted and magnetization transfer MRI. *Neurology* 2000; 54: 1139-44.
- Ciccarelli O, Giugni E, Paolillo A, Mainero C, Gasperini C, Bastianello S, Pozzilli C. Magnetic resonance outcome of new enhancing lesions in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 1999; 6:455-9.
- Ciccarelli O, Brex PA, Thompson AJ, Miller DH. Disability and lesion load in MS: reassessment with MS functional composite score and 3D fast FLAIR. *J Neurol* 2002; 249: 18-24.
- Compston A. Distribution of multiple sclerosis. In Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald WI, Matthews B, Wekerle H (Hrsg.). *McAlpin's multiple sclerosis*. London, Churchill Livingstone, 1998.
- Comi G, Filippi M, Wolinsky JS. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging-measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group. *Ann Neurol*. 2001; 49:290-7. (2001a)
- Comi G, Rovaris M, Leocani L, Martinelli V, Filippi M. Clinical and MRI assessment of brain damage in MS. *Neurol Sci* 2001; Suppl 2: S123-7. (2001b)
- Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2000;343(20):1430-8.
- Cotton F, Weiner HL, Jolesz FA, Guttmann CR. MRI contrast uptake in new lesions in relapsing-remitting MS followed at weekly intervals. *Neurol*. 2003; 60(4):640-6.
- Coulthard-Morris L. Clinical and rehabilitation outcome measures. In Burks JS, Johnson KP. eds. *Multiple sclerosis: diagnosis, medical management, and rehabilitation*. New York, Demos Medical Publishing; 2000; 221-290.

- Duquette P, Pleines J, Girard M, Charest L, Senecal-Quevillon M, Masse C. The increased susceptibility of women to multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci.* 1992 Nov;19(4):466-71
- Cutter GR, Baier ML, Rudick RA, Cookfair DL, Fischer JS, Petkau J, Syndulko K, Weinshenker BG, Antel JP, Confavreux C, Ellison GW, Lublin F, Miller AE, Rao SM, Reingold S, Thompson A, Willoughby E. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain* 1999; 122: 871-82.
- Doerge CA, Tavakolian R, Kerskens CM, Romero BI, Lehmann R, Einhüpl KM, et al. Perfusion and diffusion magnetic resonance imaging in human cerebral venous thrombosis. *Neurology* 2001; 248: 564-71.
- du Pré H, du Pré P. Jacqueline du Pré: ein Genie in der Familie. (Aus dem Englischen von Christine Röhmeier). Berlin, Propyläen, 1999: 318
- Elian M, Nightingale S, Dean G. Multiple Sclerosis among United Kingdom born children of immigrants from the Indian subcontinent, Africa and the West Indies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53: 906-11
- Fazekas F, Offenbacher H, Fuchs S, Schmidt R, Niederkorn K, Horner S, Lechner H. Criteria for an increased specificity of MRI interpretation in elderly subjects with suspected multiple sclerosis. *Neurology* 1988; 38: 1822-25.
- Fiebich JB, Schellinger PD. Moderne Kernspintechiken beim Schlaganfall. *Radiologe* 2003; 43:251-64.
- Filippi M, Rocca MA, Martino G, Horsfield MA, Comi G. Magnetization transfer changes in the normal appearing white matter precede the appearance of enhancing lesions in patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1998; 43: 809-14.
- Filippi M, Iannucci G, Cercignani M, Rocca MA, Pratesi A, Comi G. A quantitative study of water diffusion in multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter using echo-planar imaging. *Arch Neurol* 2000; 57: 1017-21.
- Fischer JS, Jak AJ, Kniker JE, Rudick RA, Cutter G. Administration and scoring manual for the Multiple Sclerosis Functional Composite measure (MSFC). New York, NY: Demos, 1999.
- Fisher E, Rudick RA, Cutter G, Baier M, Miller D, Weinstock-Guttman B, Mass MK, Dougherty DS, Simonian NA. Relationship between brain atrophy and disability: a 8-year follow-up study of multiple sclerosis patients. *Mult Scler* 2000; 6:373-7.
- Foong J, Rozewicz L, Quaghebeur G, Thompson AJ, Miller DH, Ron MA. Neuropsychological deficits in multiple sclerosis after acute relapse. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64:529-32.
- Forn C, Barros-Loscertales A, Escudero J, Belloch V, Campos S, Parcet MA, Avila C. Cortical reorganization during PASAT task in MS patients with preserved working memory functions. *Neuroimage* 2006; 31: 686-91.
- Frohman EM, Goodin DS, Calabresi PA, Corboy JR, Coyle PK, Filippi M et al. The utility of MRI in suspected MS: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2003;61(5):602-11.
- Gass A, Niendorf T, Hirsch JG. Acute and chronic changes of the apparent diffusion coefficient in neurological disorders - biophysical mechanisms and possible underlying histopathology. *J Neurol Sci* 2001; 186 Suppl 1: S15-23.

- Gold R, Linington C, Lassmann H. Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain* 2006; 129:1953-71.
- Greter M, Heppner FL, Lemos MP, Odermatt BM, Goebels N, Laufer T, Noelle RJ, Becher B. Dendritic cells permit immune invasion of the CNS in an animal model of multiple sclerosis. *Nat Med* 2005, 11:252-3.
- Harris JO, Frank JA, Patronas N, McFarlin DE, McFarland HF. Serial gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging scans in patients with early, relapsing-remitting multiple sclerosis: implications for clinical trials and natural history. *Ann Neurol*. 1991; 29:548-555.
- Hartung HP, Kieseier BC. Targets for the therapeutic action of interferon beta in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1996; 40:825-6.
- Hartung HP, Gonsette R, König N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP, Krapf H, Zwingers T, and the Mitoxantrone in Multiple Sclerosis Study Group (MIMS). Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet* 2002; 360:2018-25.
- Haselhorst R, Kappos L, Bilecen D, Scheffler K, Mori D, Radu EW, et al. Dynamic susceptibility contrast MR imaging of plaque development in multiple sclerosis: application of an extended blood-brain barrier leakage correction. *J Magn Reson Imaging* 2000; 11: 495-505.
- Hawkins BT, Davis TP. The Blood-Brain Barrier/Neurovascular Unit in Health and Disease. *Pharmacol Rev* 2005; 57:173-85.
- Hawkins CP, Munro PM, Mackenzie F et al. Duration and selectivity of blood-brain barrier breakdown in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis studied by gadolinium-DTPA and protein markers. *Brain* 1990; 113:365-78.
- Hein T, Hopfenmüller W. Hochrechnung der Zahl an Multiple Sklerose erkrankten Patienten in Deutschland. *Nervenarzt* 2000; 71: 288-94.
- Hensiek AE, Sawcer SJ, Compston DA. Searching for needles in haystacks—the genetics of multiple sclerosis and other common neurological diseases. *Brain Research Bulletin* 2003; 61:229–34.
- Hiehle JF Jr, Grossman RI, Ramer KN, Gonzalez-Scarano F, Cohen JA. Magnetization transfer effects in MR-detected multiple sclerosis lesions: comparison with gadolinium-enhanced spin-echo images and nonenhanced T1-weighted images. *AJNR Am J Neuroradiol* 1995; 16: 69-77.
- Hobart J, Kalkers N, Barkhof F, Uitdehaag B, Polman C, Thompson A. Outcome measure for multiple sclerosis clinical trials: relative measurement precision of the Expanded Disability Status Scale and Multiple Sclerosis Functional Composite. *Mult Scler* 2004; 10 41-6.
- Hohlfeld R. Biotechnological agents for the immunotherapy of multiple sclerosis. Principles, problems and perspectives. *Brain* 1997; 120:865-916.
- Hoogervorst EL, Kalkers NF, Uitdehaag BM, Polman CH. A study validating changes in the multiple sclerosis functional composite. *Arch Neurol* 2002; 59:113-6.

IFNB multiple sclerosis study group: Interferon  $\beta$ -1b in the treatment of multiple sclerosis: final outcome of the randomized controlled trial. *Neurology* 1995; 45:1277-85.

Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, et al. Intramuscular interferon  $\beta$ -1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann Neurol* 1996; 39:285-94.

Janeway CA Jr., Travers P, Walport M, Capra JD. *Immunobiology*. London/New York, Current Biology Publications/ Garland Publishing, 1999.

Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 2001; 5:143-56.

Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, Myers LW, Panitch HS, Rose JW, Schiffer RB. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 1995; 45:1268-76.

Jurewicz A, Biddison WE, Antel JP. MHC-Class I-restricted lysis of human oligodendrocytes by myelin basic protein peptide-specific CD8 T lymphocytes. *J Immunol* 1998; 160:3056-59.

Kalkers NF, de Groot V, Lazeron RH, Killestein J, Ader HJ, Barkhof F, Lankhorst GJ, Polman CH. MS functional composite: relation to disease phenotype and disability strata. *Neurology* 2000; 54: 1233-9

Kalkers NF, Bergers E, de Groot V, Lazeron RH, van Walderveen MA, Uitdehaag BM, Polman CH, Barkhof F. Concurrent validity of the MS Functional Composite using MRI as a biological disease marker. *Neurology* 2001; 56: 215-9. (2001a)

Kalkers NF, Bergers E, MD, Castelijns JA, Bot JC, Ader HJ, Polman CH, Barkhof F. Optimizing the association between disability and biological markers in MS. *Neurology* 2001; 57:1253-58. (2001b)

Kappos L, Moeri D, Radue EW, Schoetzau A, Schweikert K, Barkhof F, Miller D, Guttmann CR, Weiner HL, Gasperini C, Filippi M. Predictive value of gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for relapse rate and changes in disability or impairment in multiple sclerosis: a meta-analysis. *Gadolinium MRI Metaanalysis Group. Lancet* 1999; 353: 964-9.

Katz D, Taubenberger JK, Cannella B et al. Correlation between magnetic resonance imaging findings and lesion development in chronic, active multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1993; 34:661-9

Kieseier BC, Storch MK, Archelos JJ, et al. Effector pathways in immune mediated central nervous system demyelination. *Curr Opin Neurol* 1999; 12:323-36.

Kostyk SK, Kowall NW, Hauser SL. Substance P immunoreactive astrocytes are present in multiple sclerosis plaques. *Brain Res* 1989; 504:284-8.

Koudriavtseva T, Thompson AJ, Fiorelli M, Gasperini C, Bastianello C, Bozzao A, Paolillo A, Pisani A, Galgani S, Pozzilli C. Gadolinium enhanced MRI predicts clinical and MRI disease activity in relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62: 285-7.

Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983 Nov;33(11):1444-52.

- Kurtzke JF. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infection. *Clin Microbiol Rev.* 1993; 6: 382-427.
- Kurtzke JF. Multiple sclerosis in time and space-geographic clues to cause. *J Neurovirol.* 2000;6 Suppl 2:S134-40.
- Kutzelnigg A, Lucchinetti C, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 2005; 128: 2705–12.
- Lansberg MG, O'Brien MW, Norbash AM, Moseley ME, Morrell M, Albers GW. MRI abnormalities associated with partial status epilepticus. *Neurology* 1999; 52: 1021-7.
- Law M, Saindane AM, Ge Y, Babbs JS, Johnson G, Mannon LJ, Herbert J, Grossmann RI. Microvascular abnormality in relapsing-remitting multiple sclerosis: perfusion MR imaging findings in normal-appearing white matter. *Radiology.* 2004;231(3):645-52.
- Lee M, Smith S, Palace J, Narayanan S, Silver N, Minicucci L, Filippi M, Miller D, Arnold D, Matthews P. Spatial mapping of T2 and gadolinium enhancing T1 lesion volumes in multiple sclerosis: evidence for distinct mechanisms of lesion genesis? *Brain* 1999;122: 1261–70
- Li BS, Regal J, Soher BJ, Mannon LJ, Grossman RI, Gonen O. Brain metabolite profiles of T1-hypointense lesions in relapsing-remitting multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24: 68-74.
- Li DK, Li MJ, Traboulsee A, Zhao G, Tiddehough A, Paty D. The use of MRI as an outcome measure in clinical trials. *Adv Neurol* 2006; 98: 203-26.
- Lublin, FD, Reingold, SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: Results of an international survey. *Neurology* 1996; 46: 907-11.
- Lucchinetti CF, Brück W, Moses R, Lassmann H. Distinct patterns of multiple sclerosis pathology indicates heterogeneity in pathogenesis. *Brain Pathol* 1996; 6:259-74.
- Lucchinetti CF, Brück W, Rodriguez M, Lassmann H. Multiple sclerosis: lessons from neuropathology. *Semin Neurol* 1998; 18:337-49.
- Lucchinetti CF, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann, H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47:707-17.
- Lucchinetti CF, Parisi J, Brück W. The pathology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 2005; 23:77-105
- Madigan NK, DeLuca J, Diamond JB, Tramontano G, Averill A. Speed of information processing in traumatic brain injury: modality-specific factors. *J Head Trauma Rehabil.* 2000; 15(3): 943-56.
- Markovic-Plese S, McFarland HF. Immunopathogenesis of the multiple sclerosis lesion. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2001; 1: 257-262.
- Martin R, McFarland HF, McFarlin DE. Immunological aspects of demyelinating diseases. *Ann Rev Immunol* 1992; 10:153-87.
- Martin R, McFarland HF. Immunological aspects of experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1995; 32: 121-82.

- Martyn C. The epidemiology of multiple sclerosis. In: Matthews WB (Herausgeber) McAlpine's multiple sclerosis. Churchill Livingstone, New York, Seiten 3 – 40.
- McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the Inter-national Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50: 121-7.
- McFarland HF, Frank JA, Albert PS *et al.* Using gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging lesions to monitor disease activity in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1992; 32: 758-766.
- Miller DH, Grossman RI, Reingold SC, McFarland HF. The role of magnetic resonance techniques in understanding and managing multiple sclerosis. *Brain* 1998; 121(Part 1):3–24
- Mintorovitch J, Yang GY, Shimizu H, Kucharczyk J, Chan PH, Weinstein PR. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of acute focal cerebral ischemia: comparison of signal intensity with changes in brain water and Na<sup>+</sup>,K<sup>(+)</sup>-ATPase activity. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994;14: 332-6.
- Moller K, Strauss GI, Qvist J, Fonsmark L, Knudsen GM, Larsen FS, et al. Cerebral blood flow and oxidative metabolism during human endotoxemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 1262-70.
- Morgen K, Jeffries NO, Stone R, Martin R, Richert ND, Frank JA, McFarland HF. Ring-enhancement in multiple sclerosis: marker of disease severity. *Mult Scler* 2001; 7:167-71.
- Moseley ME, Cohen Y, Mintorovitch J, Chileuitt L, Shimizu H, Kucharczyk J, et al. Early detection of regional cerebral ischemia in cats: comparison of diffusion- and T2-weighted MRI and spectroscopy. *Magn Reson Med* 1990; 14: 330-46.
- Narayana PA, Doyle TJ, Lai D, Wolinsky JS. Serial proton magnetic resonance spectroscopic imaging, contrast-enhanced magnetic resonance imaging, and quantitative lesion volumetry in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1998; 43:56-71.
- Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000; 343: 938-952.
- Ostergaard L, Sorensen AG, Chesler DA, Weisskoff RM, Koroshetz WJ, Wu O, et al. Combined diffusion-weighted and perfusion-weighted flow heterogeneity magnetic resonance imaging in acute stroke. *Stroke* 2000; 31: 1097-103.
- Pannizzo F, Stallmeyer MJ, Friedman J, Jennis RJ, Zabriskie J, Plank C, Zimmerman R, Whalen JP, Cahill PT. Quantitative MRI studies for assessment of multiple sclerosis. *Magn Reson Med.* 1992; 24(1):90-9.
- Pantano P, Iannetti GD, Caramia F, Mainero D, Di Legge S, Bozzao L, Pozzilli C, Lenzi, GL. Cortical motor reorganization after a single clinical attack of multiple sclerosis. *Brain.* 2002; 125: 1607-15.
- Papadopoulos MC, Saadoun S, Binder DK, Manley GT, Krishna S, Verkman AS. Molecular mechanisms of brain tumor edema. *Neuroscience* 2004; 129:1011-20.

Paty DW, Li DK. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. II. MRI analysis results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. UBC MS/MRI Study Group and the IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 1993; 43(4):662-7.

Patzold T, Schwengelbeck M, Ossege LM, Malin JP, Sindern E. Changes of the MS functional composite and EDSS during and after treatment of relapses with methylprednisolone in patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2002; 105:164-8.

Perretti M, Ahluwalia A. The microcirculation and inflammation: site of action for glucocorticoids. *Microcirculation* 2000 Jun; 7:147-61.

Peterson JW, Bö L, Mörk S, Chang A, Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001; 50: 389 - 400.

Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFahland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinshenker BG, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol* 2005; 58:840-6.

Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg D H, Tourtellotte WW. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*. 1983; 13: 227-31.

Poser CM. Viking voyages: the origin of Multiple Sclerosis? *Acta Neurol Scand*. 1995; Suppl 161: 11-22.

Poser S, Wikstrom J, Bauer HJ. Clinical data and the identification of special forms of multiple sclerosis in 1271 cases studied with a standardized documentation system. *J Neurol Sci*. 1979;40(2-3):159-68.

PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon  $\beta$ -1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon  $\beta$ -1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet* 1998; 352:1498 -1504.

Racke MK, Cannella B, Albert PS, Sporn M, Raine CS, McFarlin DE. Evidence of endogenous regulatory function of transforming growth factor- $\beta$ 1 in experimental allergic encephalomyelitis. *Int Immunol* 1992; 4:615-20.

Rashid W, Parkes LM, Ingle GT, Chard DT, Toosy AT, Altmann DR, Symms MR, Tofts PS, Thompson AJ, Miller DH. Abnormalities of cerebral perfusion in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(9):1288-93.

Rao SM, Leo GJ, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology*. 1991;41(5):685-91.

Riede UN, Schäfer HE. *Allgemeine und spezielle Pathologie*. 3. Auflage Stuttgart; New York, Thieme 1993: 209.

Rocca MA, Cercignani M, Iannucci G, Comi G, Filippi M. Weekly diffusion-weighted imaging of normal-appearing white matter in MS. *Neurology* 2000; 55: 882-4.

Roychowdhury S, Maldjian J, Grossman R. Multiple sclerosis: comparison of trace apparent diffusion coefficients with MR enhancement pattern of lesions. *Am J Neuroradiol.* 2000; 21:869-74.

Rudick R, Antel J, Confavreux C, Cutter G, Ellison G, Fischer J, Lublin F, Miller A, Petkau J, Rao S, Reingold S, Syndulko K, Thompson A, Wallenberg J, Weinshenker B, Willoughby E. Clinical outcomes assessment in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1996; 40:469-79.

Rudick RA, Cutter G, Reingold S. The multiple sclerosis functional composite: a new clinical outcome measure for multiple sclerosis trials. *Mult Scler* 2002; 8:359-65.

Sailer M. Magnetresonanztomographie. In Schmidt R und Hoffmann F (Hrsg.). *Multiple Sklerose.* München, Urban & Fischer Verlag, 2002: 149.

Sellebjerg F, Madsen HO, Jensen CV, Jensen J, Garred P. CCR5 delta 32, matrix metalloproteinase-9 and disease activity in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2000; 102:98-106.

Selmaj KW, Raine CS. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann Neurol* 1988; 23:339-46.

Sibson NR, Blamire AM, Perry VH, Gauldie J, Styles P, Anthony DC. TNF alpha reduces cerebral blood volume and disrupts tissue homeostasis via an endothelin- and TNF R2-dependent pathway. *Brain* 2002; 125:2446-59.

Silver NC, Lai M, Symms MR, Barker GJ, McDonald WI, Miller DH. Serial magnetization transfer imaging to characterize the early evolution of new MS lesions. *Neurology* 1998; 51: 758-6.

Steinman L, Martin R, Bernard C, Conlon P, Oksenberg JR. Multiple sclerosis: deeper understanding of its pathogenesis reveals new targets for therapy. *Annu Rev Neurosci.* 2002; 25: 491-505.

Stone LA, Albert PS, Smith ME, DeCarli C, Armstrong MR, McFarlin DE, Frank JA, McFarland HF. Changes in the amount of diseased white matter over time in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology.* 1995; 45(10):1808-14.

Storch MK, Piddlesden S, Haltia M et al. Multiple sclerosis: in situ evidence for antibody- and complement-mediated demyelination. *Ann Neurol* 1998; 43:465-71.

Sommer N, Zipp F, Rosener M, Dichgans J, Martin R. Influence of genetic factors on multiple sclerosis. *Nervenarzt* 1996 Jun; 67(6):457-64.

Sotgiu S, Pugliatti M, Fois ML, Arru G, Sanna A, Sotgiu MA, Rosati G. Genes, environment, and susceptibility to multiple sclerosis. *Neurobiology of Disease* 2004; 17:131-43.

Tievsky AL, Ptak T, Farkas J. Investigation of apparent diffusion coefficient and diffusion tensor anisotropy in acute and chronic multiple sclerosis lesions. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999; 20: 1491-9.

Tintoré M, Rovira A, Martínez M, et al. Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Am J Neuroradiol* 2000;21:702-706.

Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick A, Mörk S, Bo L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278-85.

Trebst C, Wiendl H, Stangel M. Concepts of lesion development in multiple sclerosis. Current approaches and clinical-therapeutic implications. *Nervenarzt* 2006; 77:158, 160-2, 164.

van Waesberghe JH, Castelijns JA, Scheltens P, Truyen L, Lycklana ANGJ, Hoogenraad FG, Polman CH, Valk J, Barkhof F. Comparison of four potential MR parameters for severe tissue destruction in multiple sclerosis lesions. *Magn Reson Imaging* 1997; 15:155–62.

van Walderveen MA, Kamphorst W, Scheltens P, van Waesberghe JH, Ravid R, Valk J, et al. Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 1998; 50: 1282-8.

van Walderveen MA, Truyen L, van Oosten BW, Castelijns JA, Lycklama a Nijeholt GJ, van Waesberghe JH, Polman C, Barkhof F. Development of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo magnetic resonance images in multiple sclerosis: relation to inflammatory activity. *Arch Neurol* 1999; 56: 345-51.

Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere, W, Baskerville J, Ebers, GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain* 1989; 112:133-46.

Werring DJ, Brassat D, Droogan AG, Clark CA, Symms MR, Barker GJ, et al. The pathogenesis of lesions and normal- appearing white matter changes in multiple sclerosis: a serial diffusion MRI study. *Brain* 2000; 123: 1667-76.

Werring DJ, Clark CA, Barker GJ, Thompson AJ, Miller DH. Diffusion tensor imaging of lesions and normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurology*. 1999; 52(8):1626-32.

Whitaker JN, Mitchell GW, Cutter GR. Clinical outcomes and documentation of partial beneficial effects of immunotherapy for multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1995 Jan;37(1):5-6.

Wieshmann UC, Symms MR, Shorvon SD. Diffusion changes in status epilepticus. *Lancet* 1997; 350: 493-4.

Willoughby EW, Grochowski E, Li DK, Oger J, Kastrukoff LF, Paty DW. Serial magnetic resonance scanning in multiple sclerosis: a second prospective study in relapsing patients. *Ann Neurol*. 1989; 25: 43–9.

Zwemmer JN, Berkhof J, Castelijns JA, Barkhof F, Polman CH, Uitdehaag BM. Classification of multiple sclerosis patients by latent class analysis of magnetic resonance imaging characteristics. *Mult Scler* 2006; 12:565-72.

## 7. ANHANG

### 7.1. Verzeichnis der Abkürzungen

9-HPT	<i>Nine-Hole Peg Test</i>
ADC	<i>Apparent Diffusion Coefficient</i> (scheinbarer Diffusionskoeffizient)
AIF	<i>Arterial Input Fraction</i> (Dichteanstieg der zuführenden arteriellen Gefäße)
BBB	<i>Blood Brain Barrier</i> (Blut-Hirn-Schranke)
CBF	<i>Cerebral Blood Flow</i> (cerebraler Blutfluss)
CBV	<i>Cerebral Blood Volume</i> (cerebrales Blutvolumen)
CIS	<i>Clinically Isolated Syndrome</i> (einmaliges demyelinisierendes Ereignis)
DWI	<i>Diffusion-weighted Imaging</i> (diffusionsgewichtete Bildgebung)
EAE	Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis
ED	Encephalomyelitis disseminata
EDSS	<i>Expanded Disability Status Scale</i>
FLAIR	<i>Fast fluid-attenuated Inversion Recovery</i> Sequenz
FLIRT	<i>FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>
HLA	Histokompatibilitätsantigen
IE	Internationale Einheiten
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IL	Interleukin
KM	Kontrastmittel
MBP	Basisches Myelinprotein
MOG	Myelinoligodendrozytenglykoprotein
MRS	Magnetresonanz-Spektroskopie
MRT	Magnetresonanztomographie
MSFC	<i>Multiple Sclerosis Functional Composite</i>
MTR	Magnetisation Transfer Ratio
MTT	<i>Mean Transit Time</i> (mittlere Transitzeit)
NAWM	<i>Normal Appearing White Matter</i> (normal erscheinende weiße Substanz)
PASAT	<i>Paced Auditory Serial Addition Test</i>
PLP	Proteolipidprotein
PPMS	Primary Progressive Multiple Sclerosis (Primär chronisch progrediente Multiple Sklerose)

ROI	<i>Region of interest</i> (untersuchter Bereich)
RRMS	<i>Relapsing remitting Multiple Sclerosis</i> (schubförmig remittierende Multiple Sklerose)
s.c.	subkutan
SD	<i>Standard Deviation</i> (Standardabweichung)
SEM	<i>Standard error of the mean</i> (Standardfehler des Mittelwerts)
SPMS	<i>Secondary Progressive Multiple Sclerosis</i> (Sekundär chronisch progrediente Multiple Sklerose)
TRAIL	<i>TNF-related apoptosis inducing ligand</i>
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TWT	<i>25-foot Timed Walk Test</i>
ZNS	Zentralnervensystem

## **7.2. Danksagung**

Ich möchte mich bei all denen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben. Dies gilt besonders für Frau Prof. Frauke Zipp, die mich durch die Überlassung des Themas, durch die uneingeschränkte Möglichkeit der Mitarbeit in ihrer Arbeitsgruppe und durch ihre Beratung wesentlich unterstützt hat. Nicht weniger Dank gebührt den Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe für die anregenden Diskussionen und die tatkräftige fachliche Unterstützung. Allen voran seien Dr. Orhan Aktas und auch Dr. Friedemann Paul und Dr. Jens Würfel genannt. Danken möchte ich auch Bianca Müller, Britta Kreuzer und Susan Pikol für die Hilfe bei der Datenerhebung. Nicht zu vergessen sind meine große Familie, dabei sind besonders Börries und Quirin Bellmann hervorzuheben, und viele Freunde, die mir auf vielfältige Weise Beistand geleistet haben.

### **7.3. Lebenslauf**

*Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.*

## 7.4. Publikationen

### 7.4.1. Inhalte der vorliegenden Arbeit wurden unter folgenden Titel veröffentlicht

Wuerfel J\*, Bellmann-Strobl J\*, Brunecker P, Aktas O, McFarland H, Villinger A, Zipp F. Changes in cerebral perfusion precede plaque formation in multiple sclerosis: a longitudinal perfusion MRI study. *Brain* 2004; 127:111-9.

\*equally contributing

Bellmann-Strobl J, Wuerfel J, Aktas O, Dörr J, Wernecke KD, Zipp F, Paul F. Poor PASAT performance correlates with MRI gadolinium enhancement in Multiple Sclerosis. *Neurology* 2009; 73: 1624-7.

### 7.4.2. Weitere Publikationen

Gniadek P, Aktas O, Wandinger KP, Bellmann-Strobl J, Wengert O, Weber A, von Wussow A, Obert HJ, Zipp F. Systemic IFN- $\beta$  treatment induces apoptosis of peripheral immune cells in MS patients. *J Neuroimmunol.* 2003, 137:187-196

Wandinger KP, Luenemann J, Wengert O, Bellmann-Strobl J, Aktas O, Weber A, Grundstroem E, Ehrlich S, Wernecke KD, Volk HD, Zipp F. TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) as a potential response marker for IFN-beta therapy in multiple sclerosis. *Lancet* 2003, 361: 2036-2043

Weber A, Infante-Duarte C, Sawcer S, Setakis E, Bellmann-Strobl J, Rueckert S, Schoenemann C, Benediktsson K, Clayton D, Compston A, Zipp F. A genome-wide German screen for linkage disequilibrium in Multiple Sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2003, 143 (1-2): 79-83

Infante-Duarte C, Weber A, Kratzschmar J, Prozorovski T, Pikol S, Hamann I, Bellmann-Strobl J, Aktas O, Dörr J, Wuerfel J, Sturzebecher CS, Zipp F. Frequency of blood CX3CR1-positive natural killer cells correlates with disease activity in Multiple Sclerosis patients. *FASEB J* 2005, 19(13): 1902-4.

Hensiek AE., Seaman SR., Barcellos LF, Oturai A, Eraksoi M, Cocco E, Vecsei L, Stewart G, Dubois B, Bellmann-Strobl J, Leone M, Andersen O, Bencsik K, Booth D, Celius EG, Harbo HF, Hauser SL, Heard R, Hillert J, Myhr KM, Marrosu MG, Oksenberg JR, Rajda C, Sawcer SJ, Sørensen PS, Zipp F, Compston DA. Familial effects on the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology* 2007, 30;68(5):376-83.

Paul F, Waiczies S, Wuerfel J, Bellmann-Strobl J, Dörr J, Waiczies H, Haertle M, Wernecke KD, Volk HD, Aktas O, Zipp F. Oral high-dose atorvastatin treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *PLoS ONE.* 2008, 9;3(4):e1928.

Bellmann-Strobl J, Stiepani H, Wuerfel J, Paul F, Warmuth K, Aktas O, Wandinger KP, Zipp F, Klingebiel R. MR spectroscopy (MRS) and magnetisation transfer maging (MTI), lesion load and clinical scores in early relapsing remitting multiple sclerosis: a combined cross-sectional and longitudinal study. *Eur Radiol* 2009; 19: 2066-74.

Urbanek C, Weinges-Evers N, Bellmann-Strobl J, Bock M, Dörr J, Hahn E, Neuhaus AH, Opgen-Rhein C, Ta TM, Herges K, Pfueller CF, Radbruch H, Wernecke KD, Ohlraun S, Zipp F, Dettling M, Paul F. Attention Network Test reveals alerting network dysfunction in multiple sclerosis. *Mult Scler* Dec 2009, epub ahead of print

### **7.5. Erklärung**

„Ich, Judith Bellmann-Strobl, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema „Läsionsentwicklung in der Multiplen Sklerose: eine prospektive klinische und kernspintomographische Verlaufsuntersuchung“ 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.“

29.01.2010

gez. Judith Bellmann-Strobl