

Aus dem Institut für Neuropathologie Universitätsmedizin Berlin Charité  
Direktor: Professor Dr. Frank Heppner

Dissertation

**Über den akuten Axonschaden während der ersten klinischen  
Ereignisse einer Multiplen Sklerose-  
eine neuropathologische Arbeit mit klinischen Korrelationen.**

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

vorgelegt von:  
Annette Beseler aus Berlin

1.Gutachterin: Prof. Dr. med. Gisela Stoltenburg-Didinger

2.Gutachter: Priv.-Doz. Dr. med. M. Holtkamp

Datum der Urkundenverleihung: 21.11.2008

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einleitung</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Multiple Sklerose</b>	<b>4</b>
<b>1.1.1 Klinik und Diagnose</b>	<b>4</b>
<b>1.1.2 Epidemiologie</b>	<b>5</b>
<b>1.1.3 Historie</b>	<b>6</b>
<b>1.1.4 Pathologie und Pathogenese- Aktueller Stand der Forschung</b>	<b>8</b>
<b>1.1.5 Aktueller Stand therapeutischer Möglichkeiten</b>	<b>16</b>
<b>1.2 Zielsetzung der Arbeit</b>	<b>18</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>23</b>
<b>2.1. Gewebe</b>	<b>23</b>
<b>2.2. Neuropathologische Routinefärbungen</b>	<b>30</b>
<b>2.3. Immunhistochemie</b>	<b>30</b>
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>35</b>
<b>3.1. Fallbeschreibungen</b>	<b>35</b>
<b>4. Diskussion</b>	<b>63</b>
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>74</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>76</b>
<b>7. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>85</b>
<b>8. Danksagung</b>	<b>87</b>
<b>9. Erklärung an Eides statt</b>	<b>88</b>

## **1. Einleitung**

### **1.1 Multiple Sklerose**

#### **1.1.1 Klinik und Diagnose:**

Bei der Multiplen Sklerose (MS) handelt es sich um eine chronisch entzündliche Entmarkungserkrankung des zentralen Nervensystems (Trapp et al., 1998, McDonald and Ron, 1999, Perry and Anthony, 1999).

Mit einer Manifestation meist zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr (Wiendl et al., 2003) stellt sie die häufigste neurologische Erkrankung mit bleibender neurologischer Behinderung im jungen Erwachsenenalter dar (Trapp et al., 1998).

Die klinischen Symptome der Erkrankung sind individuell ausgesprochen variabel und variieren im Krankheitsverlauf.

Da bei der Multiplen Sklerose alle zentralnervösen Strukturen betroffen sein können, kommt es zu verschiedenartigen Symptomen, wie Sensibilitätsstörungen, Paresen, Sehstörungen, Störungen der Blasenkontrolle, Koordinationsstörungen, kognitiven und psychiatrischen Symptomen, Fatigue und Schmerzen.

Kennzeichnend ist dabei ein bei der Mehrzahl der Patienten primär schubförmig auftretender Verlauf der Erkrankung (Keegan und Noseworthy, 2002).

Bei etwa 15% der Patienten verläuft die Erkrankung vom Erkrankungsbeginn an progressiv (Keegan und Noseworthy, 2002).

Als Schub werden abgrenzbare, länger als 24h dauernde, neu aufgetretene klinische Ausfälle und Symptome angesehen, die subjektiv berichtet oder durch objektive Untersuchung verifiziert werden können (Poser et al., 1983).

Ein solcher Schub entwickelt sich über Tage und bildet sich über Tage und Wochen zurück. Er ist gegenüber Pseudoattacken, Uthoff-Phänomenen oder paroxysmaler Verschlechterung in Assoziation zu Infekten abzugrenzen (Wiendl et al., 2003).

Hinsichtlich der klinischen Verlaufsformen unterscheidet man das isolierte neurologische Defizit von einem schubförmig-remittierenden Verlauf (RR-MS, etwa 85%) mit oder ohne komplette Remission, von einem sekundär chronisch progredienten Verlauf (SP-MS bei etwa der Hälfte der Patienten mit RR-MS) mit oder ohne Schübe, von einem primär chronisch progredienten Verlauf (PP-MS) mit oder ohne Schübe (nach Lublin und Reingold, 1996).

Bei der am häufigsten vorliegenden RR-MS beginnt die Erkrankung bei jüngeren Patienten meist monosymptomatisch mit einer Optikusneuritis oder Parästhesien, während bei älteren Patienten als Erstsymptom häufiger Paresen mit oder ohne sensible Ausfälle gefunden werden (Wiendl et al., 2003).

Obwohl die Erkrankung seit über 130 Jahren beschrieben wird, gab es im Verlauf der Geschichte nicht allein aufgrund des äußerst variablen individuellen Krankheitsverlaufs bis heute relevante Schwierigkeiten hinsichtlich einer möglichst objektiven Diagnosestellung der MS (Poser und Brinar, 2004).

Dabei begann die Entwicklung der diagnostischen Kriterien im Wesentlichen mit der 1868 veröffentlichten Charcot-Trias mit Nystagmus, Intentionstremor und skandierender Sprache (Charcot 1868), die eher als klinisches Charakteristikum denn als formales Diagnosekriterium aufgefasst werden kann (Poser und Brinar, 2004).

Über weitere wichtige klinische Beschreibungen der MS von Sydney Allison 1931, Otto Marburg 1906, Allison und Miller 1954, sowie über die diagnostischen Kriterien von George Schumacher 1961 und Mc Alpine 1972 führte die Entwicklung der MS-Diagnosekriterien zu den heutzutage wohl bekanntesten und aktuell in der klinischen Praxis gebräuchlichsten

diagnostischen Klassifikationen nach Poser et.al, die 1983 veröffentlicht wurden, sowie nach McDonald et al., die 2001 veröffentlicht und im Jahre 2005 Revisionen unterzogen wurden. Die Poser-Kriterien beinhalten im Wesentlichen 2 Hauptgruppen: die gesicherte und die wahrscheinliche MS. Diese werden wiederum in 2 Untergruppen eingeteilt: die klinische und die laborunterstützte MS.

Ein Schub ist dabei als ein akut aufgetretener klinischer Ausfall oder ein Symptom, welches länger als 24h anhält, definiert.

Unter den Begriff paraklinisch als Bestandteil der diagnostischen Kriterien fällt das Ergebnis evozierter Potentiale sowie der neuroradiologischen Bildgebung.

Die Kategorie laborunterstützt beinhaltet das Vorhandensein oligoklonaler Banden und erhöhter IgG-Produktion im cerebrospinalen Liquor (Tabelle 1.a).

Der hohe Stellenwert der Klinik basierend auf Anamnese und neurologischem Untersuchungsbefund wird hierbei in dem Satz : ``MS is what a good clinician would call MS`` (Poser und Brinar, 2004) auf den Punkt gebracht.

Die 2001 veröffentlichten diagnostischen Kriterien nach McDonald et al. unterscheiden sich von den Poser Kriterien im Wesentlichen durch das Fehlen der laborunterstützten und klinisch wahrscheinlichen Kategorien mit der gleichzeitigen Wiedereinführung einer Kategorie, die als mögliche MS beschrieben wird.

Außerdem wurde insbesondere mit Hilfe MRT –morphologischer Kriterien der Schwerpunkt auf objektive Untersuchungsergebnisse und weniger auf klinisch-neurologische Ereignisse gesetzt (Tabelle 1.b).

Eine Revision dieser McDonald-Kriterien erfolgte 2005. Die hierbei eingebrachten wesentlichen Änderungen betrafen die MRT-Kriterien für die Disseminierung von Läsionen über die Zeit, die Rolle von Rückenmarksläsionen in der MRT und die Diagnosestellung einer primär progredienten MS (Wiendl, Kieseier et al., 2006).

### **1.1.2 Epidemiologie:**

Die Multiple Sklerose manifestiert sich meist im frühen Erwachsenenalter vor allem zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr mit einem Median bei 28 Jahren (Noseworthy et al. 2000) und gehäuft bei Frauen (in etwa w:m=1,6:1) (Keegan und Noseworthy, 2002).

Die Prävalenz liegt weltweit zwischen 1 und 300 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner und nimmt insgesamt auf beiden Hemisphären zu den Polen hin zu, wobei sie nördlich des 46. Breitengrades in Europa und des 38. Breitengrades in Nordamerika mit 30-60/100.000 deutlich höher als südlich davon mit 5-15/100.000 liegt (Kurtzke, 1980).

Die Indizienz der MS ist am höchsten an den Extremen der Breitengrade, sowohl der nördlichen, als auch der südlichen Hemisphären (Keegan und Noseworthy, 2002).

Die Multiple Sklerose stellt damit die häufigste chronisch entzündliche Erkrankung des Zentralnervensystems dar (Keegan und Noseworthy, 2002).

Inwieweit ethnische Faktoren, Umweltfaktoren, Ernährung, Hygienebedingungen und genetische Prädisposition zu den unterschiedlichen Prävalenzen beitragen ist bisher noch nicht vollständig geklärt.

Anhand von Migrationsstudien ist beobachtet worden, dass Menschen, die nach dem 15. Lebensjahr aus Regionen mit hoher Prävalenz auswandern, das MS-Risiko aus der Ursprungsregion mitnehmen, wobei sich das Risiko für Menschen, die vor dem 15. Lebensjahr auswandern, dem der Zielregion anpasst (Weinshenker, 1996).

Das zeigt, dass Erwachsene über 15 Jahren ihr spezifisches Erkrankungsrisiko auch nach Umsiedlung in weit entfernte Gegenden mit anderer Erkrankungsrate mitnehmen und lässt auf eine Determinationsrate in der Kindheit (vor dem 15. Lebensjahr) schließen (Weinshenker, 1996). Menschen mit afrikanischer und insbesondere asiatischer Abstammung zeigten sich selbst in Regionen mit hoher MS-Prävalenz relativ resistent gegenüber MS (Wiendl et al., 2003). Anhand von Populations-, Familien-, und Zwillingsstudien gibt es außerdem Hinweise für das Vorliegen genetischer Faktoren (Keegan und Noseworthy, 2002).

Bei eineiigen Zwillingen liegt die Erkrankungswahrscheinlichkeit bei 26%, während sie bei zweieiigen bei 2, 3% liegt (Ebers et al., 1986).

Daneben ist zumindest in der nordeuropäischen Bevölkerung hinsichtlich der genetischen Disposition eine Assoziation mit bestimmten HLA -Antigenen, wie z.B. HLAA3 und B7, die zu der Klasse I der MHC-Genprodukte gehören und HLADR2, das zu der Klasse II der MHC-Genprodukte gehört, offensichtlich (Ebers et al., 1995, Haines et al., 1996).

### **1.1.3 Historie:**

Die ersten formulierten Krankheitscharakteristika der Multiplen Sklerose wurden 1868 von Jean-Martin Charcot formuliert (Charcot aus Gaz Hôp (Paris), 1868).

Sie bestanden aus der bis heute bekannt gebliebenen klassischen Trias aus Nystagmus, Intentionstremor und skandierender Sprache.

Er war damit der erste, der die Enzephalomyelitis disseminata als eigenständige Erkrankung aufgefasst hat.

Charcot selbst hat dabei bezüglich der histologischen Merkmale in MS-Läsionen die Angabe gemacht, dass die ``Axencylinder`` in den Herden intakt bleiben, während die Markscheiden zerstört werden (zitiert nach Popoff, 1894).

Damit wurde das Auftreten des damalig beobachteten Intentionstremors als unvollständige Aufhebung der Motilität erklärt.

In der im Jahre 1894 veröffentlichten Schrift mit dem Titel ``Zur Histologie der disseminierten Sklerose des Gehirns und Rückenmarks`` wurden von Popoff auf dem Hintergrund seiner Untersuchungen neue Ergebnisse hinsichtlich der pathologisch-anatomischen Veränderungen bei der MS bekannt gemacht.

Diese beinhalteten im Wesentlichen zwei wichtige Aspekte:

Er hat zum einen beobachtet, dass es nicht zu Bindegewebsproliferationen zwischen den Nervenfasern kommt, sondern dass diese beobachteten Wucherungen nur Veränderungsprodukte des Nervengewebes selbst sind.

Zum anderen wurde der bis heute in Klinik, Wissenschaft und bezüglich der möglichen therapeutischen Konsequenzen von außerordentlicher Wichtigkeit und Aktualität beobachtete Axonschaden beschrieben.

Dabei wurden die charakteristischen runden oder spindelförmigen Ausbuchtungen der Achsenzyylinder beobachtet, die wir heute als Axonschollen bezeichnen.

Die subakute Form der MS beschreibt Popoff mit: ``...die Axencylinder bilden eine Reihe großer, runder oder spindelförmiger Anschwellungen und zerfallen in eigentümliche Kügelchen; zuweilen behalten diese Kügelchen an einem oder ihren beiden Enden Reste der Fasern in Form von kleinen, bipolar angeordneten Schwänzchen.``

Der Unterschied zu der chronischen Form der MS läge nach Popoff hauptsächlich darin, dass bei der subakuten Form die Zahl der Leukozyten und die Anschwellungen der Achsenzyylinder größer und der Verlauf des Prozesses schneller sei.

Dabei nahm Popoff hinsichtlich des Axonschadens an, dass zunächst die Markscheiden angegriffen werden, bevor nachfolgend die Veränderungen in den Achsenzylindern stattfinden- eine Hypothese, die bis heute nicht sicher geklärt werden konnte.

Er hat weiterhin die Regenerationsfähigkeit der Nervenfasern postuliert, die in engem Zusammenhang zu der Neubildung von Blutgefäßen gesehen wurde.

Bereits zu dieser Zeit wurde die Erkenntnis gemacht, dass die zentrale Struktur und Ausgangspunkt für die Zerstörung des Gewebes das Gefäß ist, welches das Zentrum eines Herdes bildet.

Die charakteristische Veränderung stellt dabei die zelluläre Infiltration der Gefäßwände und reichliche Auswanderung von Leukozyten in das umgebende Gewebe dar.

Popoff schreibt ihnen einen schädlichen Einfluss auf die Nervenfasern zu, macht diese aber nicht hauptsächlich verantwortlich für die Gewebsveränderungen in MS-Läsionen.

In den folgenden Jahren wurden anhand zahlreicher Einzelfallbeschreibungen die histologischen Beobachtungen in MS-Läsionen mit Hilfe sich neu entwickelnder Untersuchungsmethoden differenziert beschrieben, wobei sich die wesentlichen Charakteristika insbesondere hinsichtlich des axonalen Schadens trotz der großen inter- und intraindividuellen Unterschiede bestätigten.

So wird auch 1912 von Fraenkel und Jakob das anschauliche Bild von stark gequollenen Achsenzylindern gewählt, die als ovale strukturlose Gebilde beschrieben werden, umgeben von Gliastrukturen, Myelophagen und degenerierten Markscheiden.

Sie machten außerdem die Beobachtung, dass vor allem in den frischen Herden zahlreiche, in der Nähe von Gefäßen befindliche Achsenzylinder zugrunde gehen, wobei sich jedoch insbesondere in der Silberimprägnation nach Bielschowsky auch ein relatives Verschontbleiben der Achsenzylinder zeigt.

Insgesamt stehen in den Untersuchungen von Fraenkel und Jakob (1912) die infiltrativ – entzündlichen Erscheinungen in den MS-Läsionen, wie sie schon in der vorhergegangenen Literatur beschrieben wurden, im Vordergrund.

Die Infiltration beginnt perivaskulär, führt dann aber auch zu einer Auswanderung der Zellelemente in die akuten Herde. Dabei konnte zwischen einem Überwiegen von Lymphozyten und Polyblasten in akuten Herden und einer überwiegenden Plasmazellinfiltration in chronischeren Läsionen unterschieden werden, wobei insgesamt die höchste Zellinfiltration der Gefäßwände in relativ akuten Herden zu beobachten ist.

Die ebenfalls beschriebene Infiltration mit Abräumzellen wird als sekundäre Erscheinung aufgefasst. Der stärkste Untergang der Achsenzylinder scheint dabei an Orten mit hoher mesodermaler Entzündungsreaktion stattzufinden.

Bezüglich einer Regeneration der Nervenfasern werden in den Untersuchungen von Fraenkel und Jakob (1912) die ebenfalls beobachteten dünnen Fasern in alten sklerotischen Plaques hauptsächlich als vom Zerfall verschont gebliebene Achsenzylinder gewertet.

Prof. Oppenheim und Dr. Finkelnburg beobachteten in der Zeit um 1912 in ihren pathologisch-anatomischen Studien ebenfalls die wesentlichen zuvor beschriebenen Charakteristika der MS-Läsionen.

Ihnen fielen dabei erhebliche histologische Unterschiede zwischen Fällen mit subakutem Verlauf und Fällen mit chronischem Verlauf auf.

So zeichnen sich ihnen zu Folge die Fälle mit subakutem Verlauf durch zahlreiche Fettkörnchenzellen, starke Zellinfiltration und sekundäre Nervenzelldegeneration mit Zerstörung der Achsenzylinder aus.

Diese Veränderungen tragen den Charakter eines von den Gefäßen ausgehenden entzündlichen Prozesses mit Markscheidenverlust.

Trotz erheblicher Entzündung können dabei die Axone in der Mehrzahl erhalten bleiben.

Die übrigen Achsenzylinder zeigen „...Quellungs- und Zerfallserscheinungen“ (Oppenheim und Finkelnburg, 1912).

In den älteren Herden tritt hingegen die interstitielle Wucherung mehr in den Vordergrund.

Dort liegen im Zentrum der Läsion die entmarkten Achsenzylinder, umgeben von einem dichten Filzwerk von Gliafasern (Oppenheim und Finkelnburg, 1912).

Die intensive Betrachtung der Achsenzylinder bei der MS wurde im Laufe der Jahre auf der Grundlage detaillierter Einzelfallbeschreibungen weiter durchgeführt.

1914 widmete sich so auch Boris Doinikow aus dem neurologischen Institut aus Frankfurt unter Prof. Edinger ausführlich der Thematik. Die Ergebnisse seiner Arbeit zeigten, dass in ein und demselben Fall die Anzahl der zugrunde gegangenen Axone in jedem Herd sehr verschieden sein kann (Doinikow, 1914).

Er beschreibt das Auftreten zahlreicher so genannter Endkugeln an den Axonen bei akuter MS.

Doinikow wertet sie als Zeichen eines Regenerationsvorgangs oder auch als Zeichen der Degeneration. Dementsprechend bezeichnet er sie als Retraktions- bzw. Wachstumskugeln.

Eine Unterscheidung zwischen De- und Regenerationsphänomen erscheint meist sehr schwierig. Bei dem Vorliegen von abnormen Verzweigungen der Axone mit dünnen Ästen, die aus den Achsenzylindern oder den Endkugeln sprießen, kann man von einem Regenerationsvorgang ausgehen.

Die Degeneration wird von Doinikow (1914) als Vorgang beschrieben, der nicht auf den Ort der Läsion beschränkt bleibt, sondern zentripetal bis hin zum erhaltenen Achsenzylinderstumpf fortschreitet und als Retraktionskugel endet.

An diesen Retraktionskugeln können im Rahmen der Regeneration neue Äste aussprießen. Diese Sprossungserscheinungen konnten jedoch im Gegensatz zur grauen Substanz des Rückenmarks nicht mit Sicherheit in der weißen Substanz des Großhirns festgestellt werden. Dort erhaltene Axone werden als persistierende Achsenzylinder gewertet.

#### **1.1.4 Pathologie und Pathogenese- Aktueller Stand der Forschung:**

Die MS ist eine chronisch entzündliche Erkrankung des ZNS, die entmarkte Plaques mit gliöser Narbenformation hervorruft.

Das Kennzeichen dieses Prozesses ist die Entmarkung.

Doch auch schon in früherer Literatur ist auf eine Schädigung der Axone hingewiesen worden (Charcot, 1868, Popoff, 1894, Doinikow, 1914).

Dieser Axonpathologie wurde in den letzten Jahren im Rahmen verschiedener Studien zunehmend Aufmerksamkeit gewidmet.

Nicht zuletzt, weil man davon ausgehen kann, dass ein bleibendes klinisch neurologisches Defizit auf der Grundlage eines axonalen Schadens geschieht.

Das Gehirn hat die bemerkenswerte Möglichkeit, bis zu einem gewissen Grad den Axonschaden zu kompensieren, darüberhinaus gehende Schädigungen können damit den Übergang von der RR-MS zu der SP-MS einleiten (Grigoriadis et al., 2004).

Das Verständnis der pathogenetischen Mechanismen sowohl der Entmarkung, als auch des Axonschadens sind insbesondere aufgrund der außerordentlich wichtigen Konsequenzen hinsichtlich sich daraus ergebender Therapiemöglichkeiten essentiell, um neben den Symptomen auf der Grundlage eines reaktiven Entzündungsgeschehens auch die Ursachen des Erkrankungsprozesses zu behandeln.

Die wesentlichen Gemeinsamkeiten und damit histomorpologischen Krankheitscharakteristika der Multiplen Sklerose -Läsionen bestehen aus der Entmarkung, der Narbenbildung und der begleitenden perivaskulär akzentuierten Entzündungsreaktion aus hauptsächlich Lymphozyten und Makrophagen (Lassmann, 1998).

Die Entzündungsreaktion setzt sich hauptsächlich aus T-Lymphozyten, wenigen B-Lymphozyten und Plasmazellen, sowie einer ausgeprägten Aktivierung von Makrophagen und Mikroglia zusammen (Lucchinetti et al., 2001).

Die Axonschädigung korreliert dabei besser mit dem Vorhandensein CD 8-positiver Zellen, als mit dem CD4-positiver Zellen (Bitsch et al., 2000).

In neueren Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass unterschiedliche Mechanismen zu der Läsionsformation führen.

Auf dieser Grundlage können histologisch 4 verschiedene Subtypen/Muster der MS unterschieden werden (Lucchinetti et al. 2000):

Typ I: T/Zell /Makrophagen vermittelte Entmarkung mit histologisch überwiegend T-Zell und Makrophagen Infiltraten.

TypII: Antikörper/Komplement vermittelte Entmarkung mit histologisch überwiegend T-Zell und Makrophagen -Infiltraten mit Komplement und Immunglobulinen.

TypIII: Oligodendrozyten-Dystrophie.

Typ IV: Primäre Oligodendrozyten-Degeneration mit extensivem Verlust von Oligodendrozyten und Merkmalen ähnlich einer viralen Infektion oder einem toxischen Oligodendrozytenschaden.

Muster I und II führen zu dem typischen perivaskulär verteilten Bild von Entmarkungsplaques (Lucchinetti et al., 2000).

Muster IV konnte mit dem klinischen Verlauf einer primär progressiven MS assoziiert werden (Brück, 2005).

Muster III zeigt ein Läsionsmuster, wie es einer ischämischen Läsion ähnlich ist (Lassmann, 2003).

Das Hauptunterscheidungsmerkmal ist die fehlende Entzündungsreaktion in einer ischämischen Läsion wie z.B. dem Schlaganfall (Lassmann, 2007).

Es findet sich jedoch auch hier eine hohe Konzentration an iNOS und anderer Moleküle, die eine Rolle in der hypoxischen Hirnläsion spielen (Lassmann, 2003).

In den Arealen der Mikrogliaaktivierung ist eine reduzierte Myelindichte, jedoch keine vollständige Zerstörung der Myelinscheiden, gleichzeitig aber eine Zerstörung der Axone, demarkiert durch die APP-Färbung, beobachtet worden (Lassmann, 2003, Lassmann, 2007).

Muster II konnte mit dem Devic Syndrom assoziiert werden (Brück, 2005). Es ist wie Muster I das klassische vorwiegend T-Zell-vermittelte Bild einer Läsionsformation bei der MS. Neben dem Vorherrschen der Leukozyten und den deutlich erhöhten Komplementfaktoren, sind bei dem Devic Syndrom als Besonderheit auch eosinophile Granulozyten zu finden (Lassmann et al., 2007). Die Antikörper scheinen sich jedoch vorwiegend gegen ein in

Astrozyten befindliches Kanalprotein, dem Aquaporin, speziell dem Aquaporin-4 zu richten (Roemer et al., 2007).

Das macht eine Reaktion gegen Astrozyten, weniger gegen die Markscheiden möglich.

Bei den übrigen Mustern ist es bisher nicht gelungen, sie einem vorherrschenden Krankheitsverlauf zuzuordnen.

Offen bleibt auch, ob diese Subtypen im Verlauf der Krankheit wechseln (Brück, 2005).

Welche Faktoren dazu führen, dass bei einem Patienten ein bestimmtes Muster auftritt, ist bisher nicht bekannt.

Die Heterogenität dieser verschiedenen Muster kann außerdem erklären, warum die therapeutischen Bemühungen bei den verschiedenen Patienten unterschiedlich ansprechen.

Der Erfolg einer Plasmapheresebehandlung in einigen Fällen, lässt beispielsweise vermuten, dass der Krankheitsprozess im Wesentlichen aus Myelin-Antikörper-Reaktionen besteht, wie er dem Subtyp II zuzuordnen wäre.

Aufgrund einer üblicherweise primär klinischen und paraklinischen Diagnosestellung auf der Grundlage der aktuellen Diagnosekriterien nach McDonald et al. von 2001 oder Poser et al. von 1983 sind die meisten neuropathologischen Studien über die Axonpathologie in MS-Läsionen anhand von Autopsien durchgeführt worden (Trapp et al., 1998, Ferguson et al., 1997, Kornek et al., 2000, Lucchinetti et al., 2000, Kuhlmann et al., 2002).

Die histopathologische Untersuchung jedoch von Hirnbiopsien von MS Patienten (Annesley-Williams et al., 2000, Bitsch et al., 2000, Kornek et al., 2000, Lucchinetti et al., 2000, Kuhlmann et al., 2002) ermöglichte in einzelnen Studien die Untersuchung von aktiven Läsionen bzw. akuten Krankheitsstadien während früherer Phasen der Erkrankung.

In den meisten neuropathologischen Untersuchungen zur Histologie der MS-Läsion handelt es sich jedoch um Patienten, die bereits länger bestehend eine MS haben und nur in wenigen Fällen handelt es sich um frühe Krankheitsstadien und nur vereinzelt um frische Herde (zitiert nach Kuhlmann et al., 2002).

Das histomorphologische Charakteristikum des Axonschadens ist die Formation von Sphroiden an den proximalen Enden, wie sie bereits in der früheren Literatur als Kügelchen der Achsenzylinder beschrieben wurden (Popoff, 1894).

Die meisten Axonschollen sind im Zentrum oder am Rand der Plaques gefunden worden, aber auch, wenn auch weniger häufig, in der normal erscheinenden weißen Substanz (Grigoriadis et al., 2004). Mit Hilfe der bioptisch gewonnenen Materialien konnte außerdem gezeigt werden, dass der axonale Schaden früh im Krankheitsverlauf auftritt und das Ausmaß des Axonschadens auch bei Patientengruppen mit einem identischen klinischen Verlauf interindividuell variabel sein kann (Bitsch et al., 2000).

Die höchste Anzahl sowohl APP-positiver Axonschollen, als auch der Entzündungszellen wurde bei Patienten gefunden, die einen Krankheitsverlauf unter einem Jahr hatten (Kuhlmann et al., 2002).

In weiteren Arbeiten, basierend auf post-mortem-Gewebe, wurde die ausgeprägteste Axonerstörung in akuten Plaques und an den Rändern der chronischen aktiven Läsionen gesehen (Ferguson et al., 1997, Trapp et al., 1998). Der akute Axonschaden zeigte sich anhand der APP-Färbung in den akuten Entzündungs- und Entmarkungsarealen, weniger jedoch in den Zentren der eher chronischen Areale der Läsion (Ferguson et al., 1997).

Die histomorphologische Darstellung eines akuten axonalen Schadens gelingt mit der immunhistochemischen APP-Färbung (Perry und Anthony, 1999), die zum Bild der

klassischen Spheroide oder auch Axonschollen führt, wie sie schon früh in der historischen Literatur beschrieben wurden (Popoff, 1894, Doinikow, 1914).

Aus Studien über Schädel-Hirn-Traumata (Gentleman et al., 1993, Neumann, 2003) und ischämische Hirninfarkte (Ohgami et al., 1992) ist bekannt, dass es innerhalb einer Zeit von weniger als 30 Tagen zu einer Akkumulation von APP in den proximalen Enden des Axons kommt (Bitsch et al., 2000, Kuhlmann et al., 2002).

Unter normalen Bedingungen werden APP und andere axonale Proteine anterograd entlang den Mikrotubuli in Axonen transportiert. Auf diese Art und Weise dient das APP als Rezeptor für verschiedene neuronale Proteine, die es zu den Nervenenden transportiert (Neumann, 2003). Der intakte axonale Transport ist essentiell für die Aufrechterhaltung und Integrität der Axone und ihrer terminalen Enden (Neumann, 2003).

In verletzten Axonen bricht das Zytoskelett zusammen, der Axonfluss wird unterbrochen und es kommt zu einer Akkumulation der intrazellulären Organellen (Ferguson et al., 1997).

APP ist assoziiert mit dem lysosomalen System, so dass ein gestörter axonaler Fluss eine Akkumulation von APP zur Folge hat (Ferguson et al., 1997).

So könnten die Spheroide eine Anhäufung von Proteinen zeigen, die über den anterograden Transport zu den Axonenden gelangt sind (Perry und Anthony, 1999).

Im Gegensatz zu der Möglichkeit einer Remyelinisierung im Bereich der Markscheiden, ist es bislang unklar, ob wenigstens einige der verletzten Axone im Läsionsbereich regenerieren können (Ferguson et al., 1997).

Außerdem scheint die Remyelinisierung einen relativen Schutz gegen die Entmarkung darzustellen (Kuhlmann et al., 2002). Die Möglichkeit einer Remyelinisierung scheint abhängig von der Läsionslokalisation zu sein, so gibt es ein höheres Remyelinisierungspotential in der subkortikalen und tiefen weißen Substanz im Vergleich zu der periventriculären weißen Substanz (Lassmann et al., 2007). Inwieweit das Remyelinisierungspotential außerdem von genetischen Faktoren abhängig ist, bleibt unklar (Lassmann et al., 2007).

Die meisten bisher erarbeiteten Daten zur Pathogenese und Immunologie der Multiplen Sklerose basieren auf einem Tiermodell für die Experimentelle Autoimmune Enzephalomyelitis (EAE), die histopathologisch dem Bild der Multiplen Sklerose während des schubförmigen Verlaufs sehr ähnlich ist (Wekerle et al., 1994). In den letzten 75 Jahren sind verschiedene Variationen dieses Tiermodells entwickelt worden, die verschiedene Aspekte der Pathologie, wie sie auch bei der MS zu finden sind, widerspiegeln (Steinmann und Zamvil, 2006).

Eines der Prinzipien hierbei ist die Immunisierung verschiedener Tierspezies, wie beispielsweise Mäusen, mit Myelinantigenen (Proteolipid Protein) (Dal Canto et al., 1995, Wujek et al., 2002) oder der Transfer von autoreaktiven T-Zellen (McCarron und McFarlin, 1988).

Die dabei induzierte Enzephalomyelitis kann durch Transfer von myelinspezifischen CD4-positiven T-Zellen von einem erkrankten Tier auf ein gesundes übertragen werden.

Sowohl in diesem Tiermodell als auch bei der Multiplen Sklerose scheint die erste Stufe des Entmarkungsprozesses die Entzündungsreaktion zu sein.

Es konnte ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Entzündung und dem Axonschaden, sowie dem Grad der neurologischen Behinderung der Mäuse in dem Tiermodell für RR-MS beobachtet werden (Wujek et al., 2002).

Dabei herrschte die Entzündung vor und es konnte gezeigt werden, dass in den ersten Stadien dieses Tiermodells die entzündliche Entmarkung für den Axonschaden verantwortlich ist (Wujek et al., 2002).

Dieses Tiermodell der Multiplen Sklerose kann jedoch nur das Muster I und II der schubförmig verlaufenden Multiplen Sklerose, nicht jedoch Muster III und IV reproduzieren (Kornek und Lassmann, 2003).

Ebenso gibt es bisher kein Modell für die chronisch diffuse Schädigung der weißen Substanz während der progressiven Verlaufsformen der Erkrankung (Lassmann, 2007).

Im Vergleich mit den Tiermodellen wird auch bei der MS angenommen, dass das primäre Ereignis der Entzündungsinduktion im Hirngewebe eine Migration von T-Zellen entlang der und durch die Blut-Hirn-Schranke darstellt (Kornek und Lassmann, 2003).

Aktivierte Th 1-Zellen (Helferzellen vom Typ Th1 des Blutsystems) können in der Folge lokale oder sich im Blutsystem befindliche Makrophagen stimulieren, die dann zu einer Zerstörung der Myelinscheiden und Freisetzung von potentiellen ZNS-Autoantigenen führt (Kornek und Lassmann, 2003)

Als eines dieser Zielantigene bei der MS wurde das MBP detektiert (Reindl et al., 1999). Dieses ist ein Protein der Myelinscheide, welches als Autoantigen bei der Entstehung der Multiplen Sklerose vermutlich eine wichtige Rolle spielt.

Die Umgebung einer APP-Expression in MS-Läsionen, insbesondere die begleitende entzündliche Komponente, das Ausmaß einer vorliegenden Entmarkung und die Beschreibung der zu beobachtenden Zusammenhänge dieser 3 Komponenten, sind in den Vordergrund des Interesses neuropathologischer Studien gerückt.

Eine zentrale Frage besteht dabei darin, ob die Pathologie der Axone ein frühes Ereignis der Läsionsformation darstellt, oder ob es sich hierbei lediglich um eine Folge der Entmarkung handelt. Es konnte gezeigt werden, dass der axonale Schaden in der MS zumindest teilweise unabhängig von der Entmarkung geschieht und durch Makrophagen, Mikroglia und CD8-positive T-Lymphozyten als zelluläre Elemente einer Entzündungsreaktion vermittelt wird (Bitsch et al., 2000). Demnach müssen die Axone zumindest nicht komplett entmarkt sein, um einen Schaden zu erfahren.

Diese Beobachtung wird in einer weiteren Studie unterstützt, bei der APP-positive Axone, jedoch keinerlei Zeichen einer Entmarkung, in der peri-Plaque-weißen Substanz gesehen wurden (Kuhlmann et al., 2002).

Damit könnte die Axonschädigung sogar einer Entmarkung vorausgehen oder zumindest unabhängig von ihr geschehen (Kuhlmann et al., 2002).

In engem Kontakt zu den zerstörten Axonen stehen somit einerseits die CD8-positiven T-Zellen. Diese können über eine Interaktion mit MHCI-Molekülen, welche auf Makrophagen, Mikroglia, Astrozyten und Axonen exprimiert sind, eine direkte neurotoxische Wirkung ausüben. In vitro wurde gezeigt, dass CD8-positive T-Zellen zu einer Schädigung von Histokompatibilitätskomplex Klasse I-positive Neuriten geführt haben (Medana et al., 2001). Andererseits wurden auch aktivierte Makrophagen und aktivierte Mikogliazellen, die sich durch das Exprimieren von MHCII-Molekülen auf ihrer Oberfläche auszeichnen, vermehrt in MS-Läsionen gefunden (Trapp et al., 1998).

Diese produzieren Entzündungsmediatoren, wie NO, welches für einen direkten toxischen Effekt verantwortlich zu sein scheint (Lassmann, 2006/2007). Die Bildung von NO wird, stimuliert durch pro-inflammatorische Zytokine wie TNF- $\alpha$  und Interferon- $\gamma$ , durch die Phagozytose von Myelin in Astrozyten und Makrophagen induziert (van der Laan et al., 1996).

Es wird in Makrophagen und aktivierter Mikroglia von dem Enzym NO-Synthetase (NOS), welches in drei Isoformen existiert, produziert (Hendriks et al., 2005).

Die neuronale (nNOS) und die endotheliale (eNOS) Isoform wird ständig exprimiert und ist  $Ca^{++}$ -abhängig (Hendriks et al., 2005). In dem normalen ZNS-Gewebe stellt NO einen Neurotransmitter dar, der in den Neuronen durch die neuronale NO-Synthase (nNOS) freigesetzt wird und in relativ kleinen Mengen physiologischerweise die Erregbarkeit der umgebenden Neurone beeinflusst (Redford et al., 1997).

Die induzierbare Isoform (iNOS) wird durch erneute Enzymsynthese, induziert durch proinflammatorische Zytokine, exprimiert und ist  $Ca^{++}$ -unabhängig (Hendriks et al., 2005). Sie wird in größeren Mengen während einer Entzündung durch entsprechend rekrutierte Entzündungszellen wie Makrophagen, aber auch Astrozyten exprimiert und führt zu einer zusätzlichen Freisetzung von NO (Redford et al., 1997, Hendriks et al., 2005).

NO ist ein potentiell neurotoxischer Mediator, der sehr reaktiv ist und durch eine Reaktion mit dem freien Radikal Superoxid weitere toxische Reaktionsprodukte wie Peroxynitrit und 3-Nitrotyrosin hervorrufen kann (Touil et al., 2001, Hendriks et al., 2005).

In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass dieser Entzündungsmediator NO hauptsächlich schmallalibrige elektrisch aktive Axone in vitro zerstören kann (Smith et al., 2001). Es wird angenommen, dass der verantwortliche Mechanismus hierfür die Inhibition der Mitochondrien-Atmungskette durch NO ist, was zu einem Energieverlust durch eine Hemmung des mitochondrialen Elektronentransports und damit der oxidativen Phosphorylierung und in der Folge zu einer Zunahme der intraaxonalen  $Na^{+}$ -Konzentration führt (Grigoriadis et al., 2004).

In gesunden Axonen stellen ATP-abhängige Membranpumpen,  $Na^{+}$ - $K^{+}$ -ATP-asen, durch aktiven Transport von  $Na^{+}$  aus der Zelle und  $K^{+}$  in die Zelle entgegen den Ionengradienten, ein Ionengleichgewicht her. Wenn jedoch die Energiezufuhr, z.B. durch ischämische Zustände oder Mitochondriendysfunktion oder vermehrtem Sauerstoffverbrauch, z.B. über entmarkte Axone, limitiert ist, brechen diese Ionengradienten zusammen (Dutta et al., 2006).

$Na^{+}$  strömt über  $Na^{+}$ -Kanäle in das Axoninnere, führt zu einer Depolarisation und nachfolgend zu einem Ausstrom von  $K^{+}$  entlang des Ionengradienten in den Extrazellulärraum. In der Folge kommt es zu einer Öffnung spannungsabhängiger  $Ca^{++}$ -Kanäle und zu einer Stimulation des  $Na^{+}$ - $Ca^{++}$ -Austauscher-Kanals mit einem Austausch von axoplasmatischem  $Na^{+}$  gegen extrazelluläres  $Ca^{++}$  (Grigoriadis et al., 2004).

Der intrazelluläre Energieverlust fördert außerdem die  $Ca^{++}$  Freisetzung aus intrazellulären Speichern durch eine Störung der sarkoplasmatischen endoplasmatischen Retikulum  $Ca^{++}$ -ATP-ase. Das bringt in der Folge ein Überangebot von  $Ca^{++}$  intra-axonal mit sich, welches wiederum zu einer Depolymerisation von Mikrotubuli und zu einer Aktivierung von  $Ca^{++}$ -abhängigen Enzymsystemen wie Proteasen, Phospholipasen, Proteinkinase C, Calpain und NO-Synthase führt, welche Neurofilamente fragmentieren und durch NO die mitochondriale Atmungskette inhibiert (Dutta et al., 2006).

Die Zerstörung des Zytoskeletts und die verminderte ATP-Produktion vermindert den axonalen Transport, reduziert die Dichte von axoplasmatischen Organellen und führt schließlich zu einem Axonschaden und Leitungsverlust (Dutta et al., 2006)

Prädisponierend für diese Reaktionen sind weniger bemerkte Axone.

Es konnte gezeigt werden, dass diese empfänglicher für eine Schädigung durch NO sind; in einer Studie mit normal bemerkten, entmarkten und früh remyelinisierten Axonen, betraf ein NO-induzierter Leitungsblock vorwiegend die entmarkten und früh remyelinisierten Axone im Vergleich zu den normalen Axonen (Redford et al., 1997).

Es wird angenommen, dass die Myelinscheide für das Überleben der Axone und die Vereinfachung der Nervenleitung notwendig ist (Grigoriadis et al., 2004).

Ein Verlust der Bemerkung führt demzufolge zu einer Degeneration der Axone und damit zu einer neurologischen Dysfunktion (Grigoriadis et al., 2004).

Andererseits sind jedoch APP-positive Axonschollen auch in inaktiven und aktiven entmarkten und in remyelinierten Läsionen gesehen worden, was auch einen Axonschaden unabhängig von der Bemerkung wahrscheinlich macht (Bitsch et al., 2000).

Gleichzeitig konnten *in vitro* (Kapoor et al., 2003), *in vivo* während einer Ischämie (Stys und Lesiuk, 1996) und in dem Tiermodell der Autoimmunen Enzephalomyelitis (Lo et al., 2002) Na<sup>+</sup>- und Ca<sup>++</sup>-Kanal-Blocker die Axone vor einer NO-induzierten Schädigung schützen (Stys et al., 1992).

Das ist dadurch zu erklären, dass eine Entmarkung Veränderungen zur Adaptation hervorruft. Ein Teil davon betrifft die Na<sup>+</sup>-Kanäle, welche diffus über entmarkte Axone verteilt sind und damit eine verlangsamte aber noch effektive Nervenleitung ermöglichen (Stys, 2005).

Gleichzeitig geht hierfür ein vermehrter Energieaufwand einher im Vergleich zu der normalerweise vorhandenen Verteilung der spannungsabhängigen Na<sup>+</sup>-Kanäle an den Ranvier'schen Schnürringen und der saltatorischen Erregungsfortleitung (Stys, 2005). Dieses führt zu einem Zustand, der als chronische „virtual hypoxia“ (Stys, 2005) bezeichnet werden

kann und letztendlich zu einer strukturellen Veränderung führt, die sich in einer Spheroidformation manifestiert und letztendlich den Axonschaden anzeigt (Stys, 2005).

In diesem Zusammenhang wurde außerdem im betroffenen Kortex eine signifikante Reduktion von Genprodukten nachgewiesen, die für den Transport von Elektronen in der mitochondrialen Atmungskette (Dutta et al., 2006) und damit Energieproduktion in Form von ATP zuständig sind. Außerdem scheinen inhibitorische Prozesse an kortikalen Interneuronen vermindert stattzufinden, was wiederum zu einem vermehrten Energieverbrauch beisteuern kann (Dutta et al., 2006).

Dazu kann die aktivierte Mikroglia beitragen, die im Sinne einer initialen Neuroprotektion den Zelltod durch Bildung von neurotrophen Faktoren, wie dem BDNF entgegenwirkt und zu einer Reduzierung hemmender Aktivitäten der Interneurone führt (Dutta et al., 2006).

Diese Einflüsse scheinen somit über die ATP-abhängige Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase negative Effekte auf das Ionengleichgewicht an den entmarkten Abschnitten der Axone dieser Motoneurone auszuüben, die einen erhöhten Energiebedarf und verminderte Möglichkeit der Energiebildung zeigen, und damit zu der Axondegeneration beitragen.

In anderen Arbeiten konnte jedoch kein klarer Zusammenhang zwischen NO-Synthase und TNF- $\alpha$  mRNA, als weiterer Entzündungsmediator, mit dem Vorhandensein von APP festgestellt werden.

Es wurde lediglich eine signifikante Korrelation zwischen der Axondichte und der Anzahl iNOS mRNA-positiver Zellen, nicht aber TNF- $\alpha$  exprimierender Zellen gesehen (Bitsch et al., 2000).

Gleichzeitig liegt jedoch eine klare Assoziation zwischen der aktiven Entmarkung und der Anzahl TNF $\alpha$  mRNA exprimierender Zellen, nicht aber iNOS mRNA positiver Zellen vor (Bitsch et al., 2000).

TNF $\alpha$  ist ein proinflammatorisches Zytokin, welches induziert von Myelin-phagozytierenden Makrophagen und anderen Entzündungszellen produziert wird und die Bildung von NO stimuliert, zytotoxisch auf Oligodendrozyten wirkt und über einen Ca<sup>++</sup> Einstrom zu einer Membrandepolarisation in Astrozyten führt (Selmaj und Raine 1988, Koller et al., 1996, van der Laan et al., 1996). Durch die zytotoxische Wirkung auf die Oligodendrozyten erhöht es die Vulnerabilität der Axone, indem es zur Entmarkung beiträgt.

Aufgrund unterschiedlicher Ergebnisse in Tiermodellen der MS und einer klinischen Studie, bei der Antikörper gegen TNF $\alpha$  sich nachteilig auswirkten, während sie bei der EAE zu einem Benefit führten, ist die exakte Rolle dieser und anderer Zytokine hinsichtlich der Neuroinflammation und Induktion von neuronalem Schaden bisher nicht geklärt (Hendriks et al., 2005). Ein anderes Molekül, welches für neurodegenerative Prozesse verantwortlich gemacht werden kann, ist der excitatorische Neurotransmitter Glutamat (Grigoriadis et al., 2004). Es besitzt eine Excitoxizität, die über einen spezifischen Rezeptor, den AMPA /kainate Typ, vermittelt wird und in der Folge sowohl Neurone, als auch Oligodendrozyten zerstören, und damit neurodegenerative Prozesse einleiten kann (Grigoriadis et al., 2004). Oligodendrozyten, insbesondere Oligodendrozyten-Vorläufer-Zellen, die besonders sensitiv auf eine Ischämie reagieren, und die Astrozyten der weißen Substanz exprimieren diese Rezeptoren auf ihrer Oberfläche (Stys, 2005).

Ob auch bemerkte Axone selbst diese Rezeptoren exprimieren, ist bisher nicht bewiesen.

Es wurde jedoch in vitro gezeigt, dass die Struktur der Myelinscheide durch eine Exposition mit Glutamat geschädigt wird (Li und Stys, 2000).

Der entsprechende Mechanismus besteht wahrscheinlich aus einer Freisetzung von Ca $^{++}$  aus intrazellulären Speichern über eine Phospholipase C-abhängige Aktivierung des IP $_3$ -Rezeptors des axoplasmatischen Retikulums (Stys, 2005).

Aktivierte Mikroglia kann toxische Stoffe aussenden, die neuronale Glutamat-Rezeptoren aktivieren und somit in vitro eine Neurotoxizität in cerebellären Neuronen induzierten (Piani und Fontana, 1994).

Ein verändertes intraaxonales Ionengleichgewicht in Folge eines vermehrten Na $^{+}$ -Einstroms mit der Folge einer Depolarisation aufgrund einer primären Dysfunktion der Na $^{+}$ -K $^{+}$ -ATP-ase, führt über eine Aktivierung des Na-abhängigen Glutamat Transporter zu einer Freisetzung von Glutamat aus Axonen und glialen Zellen.

Ein Überangebot von extrazellulärem Glutamat kann außerdem die Folge einer gestörten Glutamat-Entfernung und fehlenden Abbau durch Astrozyten und Oligodendrozyten in Anwesenheit proinflammatorischer Zytokine wie TNF $\alpha$  sein.

So verbesserte ein Antagonist gegen den AMPA-Rezeptor einen klinischen Schub unabhängig von einer Immunmodulation in einem Tiermodell der MS (Pitt et al., 2000).

Ein ähnliches Prinzip der Axondegeneration von bemerkten Axonen ist in experimentellen Modellen für hypoxische oder ischämische ZNS-Schädigungen beobachtet worden (Stys, 2005).

In verschiedenen Studien über anoxische und ischämische Hirnschädigungen der weißen Substanz wurden diese Mechanismen der Axonschädigung gefolgt von einem Versagen der Na $^{+}$ -K $^{+}$ -Pumpe mit einer anschließenden Kaskade der Verschiebung des Ionengleichgewichts und der Freisetzung von Neurotransmittern und Proteasen untersucht.

Die vorliegenden Daten weisen interessanterweise darauf hin, dass gleichartige Mechanismen für eine Axonschädigung der weißen Substanz bei Anoxie und Hypoxie wie bei der neuroinflammatorischen Erkrankung eine Rolle spielen (Stys, 2005).

Es konnte ein Zusammenhang zwischen Entzündungsprozessen und ischämischen Schlaganfällen gezeigt werden. So scheint beispielsweise IL-1 einen neuronalen Schaden in Modellen der cerebralen Ischämie hervorzurufen (Aktas et al., 2007), gleichzeitig besteht die Vorstellung auf der Grundlage einer klinischen Studie, daß der IL-1-Rezeptor-Antagonist einen neuroprotektiven Effekt hat (Allan et al., 2005). Darüberhinaus gibt es parallel zu den Vorstellungen über neuroprotektive Mechanismen von Kanalblockern bei der Multiplen Sklerose (Stys et al., 1992) ebenfalls Hinweise für eine Axonprotektion durch

Ionenkanalblocker während einer cerebralen Hypoxie (Stys et al., 1992). Doch ähnlich wie bei Beobachtungen der MS-Forschung scheint es auch im Rahmen ischämischer Läsionen auf ein Gleichgewicht bzw. auf das Ausmaß des entzündlichen Prozesses anzukommen. So ist im Sinne einer „benignen Autoimmunität“ in ischämischen Hirnläsionen der Tumor Nekrose Faktor in Zusammenhang mit einer neuroprotektiven Funktion gebracht worden (Aktas et al., 2007). Inwieweit die Entzündungsreaktionen bei der Multiplen Sklerose jedoch einen notwendigen Vorläufer für die Läsionsformationen darstellen, ist bisher nicht eindeutig durch Studien belegt.

### **1.1.5 Aktueller Stand therapeutischer Möglichkeiten:**

Die Langzeittherapie der Multiplen Sklerose beruht auf einer immunmodulatorischen Stufentherapie. Nach den aktuellen Kriterien der Deutschen Multiplen Sklerose Therapie Konsensus Gruppe von 2006 ist die Therapie des Akuten Schubes, basierend auf der pathogenetischen Erkenntnis, dass es sich um eine akute Entzündungsreaktion handelt, die intravenöse Hochdosiscortisontherapie, bevorzugt über 5 Tage und ggf. einer sich anschließenden oralen Ausschleithherapie nach dem Beck-Schema (Beck et al., 1992).

Bezüglich einer immunmodulatorischen oder immunsuppressiven Dauertherapie bzw. Intervalltherapie gibt es seit kürzerer Zeit einige vielversprechende Therapieansätze, die in die unterschiedlichen Schritte der immunpathogenetischen Kaskade eingreifen.

Hierzu gehören als Medikamente der 1. Wahl die  $\beta$ -Interferone ( $\beta$ -IFN) der Klassen 1a (Avonex®, Rebif®)-oder 1b (Betaferon®).

Alle 3 Medikamente sind zugelassen für die schubförmig verlaufende Multiple Sklerose (Rieckmann et al., 2005.).

Sie unterscheiden sich hinsichtlich der Applikationsart-und häufigkeit (Avonex® i.m. 1x/Woche, Rebif®s.c.3x/Woche, Betaferon®s.c. jeden 2. Tag).

In Vergleichsstudien konnte hinsichtlich studiendefinierter Endpunkte eine signifikant bessere Wirksamkeit von der dreimal pro Woche subkutan angewendeten Therapie mit Rebif® 44 $\mu$ g gegenüber der einmal pro Woche intramuskulär angewendeten Therapie mit Avonex® 30 $\mu$ g (EVIDENCE-Studie, Panitch et al., 2002) und jeden 2. Tag die subkutan applizierte Therapie mit Betaferon® 250 $\mu$ g gegenüber Avonex® (INCOMIN-Studie, Durelli et al, 2002) festgestellt werden, wobei sich kein signifikanter Unterschied zwischen Betaferon® und Rebif® zeigen ließ (Koch-Henrikson et al., 2006).

Allerdings finden sich Neutralisierende Antikörper in ansteigender Häufigkeit bei Avonex®, Rebif® und Betaferon®, die das Risiko eines Therapieversagens steigen lassen (Bertolotto, 2004, Hemmer et al., 2005).

Das pathogenetische Konzept dieser Glykoproteine aus der Familie der Zytokine beruht auf den antiviralen sowie immunaktivierenden und immunmodulierenden Effekten dieser Substanzen. Sie reduzieren eine Expression von Adhäsionsmolekülen und Oberflächenantigenen, wie MHC-KlasseII, inhibieren Metalloproteinasen und Chemokine, steigern die T-Suppressoraktivität, induzieren immunmodulatorische Zytokine und vermindern die Blut-Hirn-Schranken-Permeabilität.

Der therapeutisch angewendete Nutzen beruht auf einem immunologischen Nettoeffekt.

Alternativ zu der Therapie mit Interferonen als Therapie der ersten Wahl steht bei niedrigem Behinderungsgrad das Glatirameracetat (Copaxone®) (Flechter et al., 2002) zur Verfügung.

Es ist ein Peptidgemisch, wie es hinsichtlich des molaren Peptidverhältnisses wie im basischen Myelinprotein vorkommt (Neuhaus et al., 2001)

Damit erfüllt es als einziges immunmodulatorisches Therapeutikum die Kriterien eines Antigen kompetitiven Wirkstoffes.

Die hieraus ableitbaren vier Wirkmechanismen bestehen aus einer Konkurrenz mit MBP um die Bindung an MHC-Oberflächenmolekülen, einer Konkurrenz mit MBP um die Bindung an T-Zell-Rezeptoren in Komplex mit MHC, Toleranzinduktion MBP-spezifischer T-Zellen und Induktion regulatorischer Helferzellen des Typs Th2.

Zur Therapieeskalation steht das immunsuppressive Zytostatikum Mitoxantron (Ralenova®) zur Verfügung, das unter definierten Bedingungen bei Therapieversagen mit der Basistherapie eingesetzt wird, jedoch die Gefahr erheblicher Nebenwirkungen, insbesondere einer Kardiotoxizität birgt (Hartung et al., 2002).

Seit Juli 2006 ist im Rahmen der Therapieeskalation außerdem der Antikörper Natalizumab (Tysabri®) in Deutschland zugelassen. Er richtet sich gegen ein Adhäsionsmolekül  $\alpha 4\beta 1$ , welches sich an der Oberfläche von Entzündungszellen befindet (Hohlfeld und Wekerle, 2005). Dadurch wird die Transmigration von Leukozyten durch die Blut-Hirn-Schranke, sowie die Wechselwirkung von  $\alpha 4\beta 1$  und Molekülen der Extrazellulären Matrix behindert und damit eine Aufrechterhaltung der Entzündungsreaktion blockiert (Rice et al., 2005).

Zwei zulassungsrelevante Studien (Affirm-Studie, Polman et al., 2006; Sentinel-Studie, Rudick et al., 2006) führten aufgrund überzeugender Ergebnisse hinsichtlich Schubratenreduktion, Krankheitsprogression und MR-Läsionen zu einer Zulassung des Medikaments unter definierten Bedingungen und Beachtung möglicher gravierender Nebenwirkungen. Diesbezüglich traten im Vorfeld im Rahmen der klinischen Studien bei insgesamt 3 von etwa 3000 Patienten, die immunsupprimiert vorbehandelt waren und außerdem auch aus anderer Indikation (Morbus Crohn, Rheumatoide Arthritis) Natalizumab erhielten, eine progressive multifokale Leukenzephalopathie auf, die in einem Fall zum Tod des Patienten führte (Yousry et al., 2006).

Ziel therapeutischer Strategien sollte in Zukunft neben der „symptomatischen Therapie“, die in die Entzündungskaskade eingreift, das Prinzip einer Neuroprotektion, sowie eine Verhinderung der Lymphozytenaktivierung bereits in der Peripherie sein, was jedoch kaum möglich erscheint solange die auslösenden Faktoren nicht bekannt sind.

Ein aktuell in verschiedenen Studien untersuchter Mechanismus zur Verhinderung der Rekrutierung von Lymphozyten aus den peripheren Lymphknoten ohne die Funktion der Lymphozyten zu stören, findet sich in der Anwendung von Fingolimod (FTY720), einer erstmalig oral einzunehmenden Substanz wieder und findet in klinischen Studien bereits Anwendung (FREEDOMS, Kappos et al., 2005).

Weitere auf dem Hintergrund neuroprotektiver Mechanismen basierende Überlegungen, die jedoch aktuell in der klinischen Praxis noch keine Anwendungen finden, wären eine pharmakologische Beeinflussung relevanter Zielmoleküle, wie insbesondere der axolemmalen spannungsabhängigen  $\text{Na}^+$ -Kanäle, der  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Austauscher, der  $\text{Na}^+$ -abhängigen Glutamat-Transporter, oder der AMPA/kainat-Rezeptoren.

So konnte in Tiermodellen der autoimmunen Enzephalomyelitis ein signifikanter Benefit mit den  $\text{Na}^+$ -Kanal-Blockern Phenytoin und Flecainid und AMPA/kainat-Rezeptor blockierenden Substanzen gezeigt werden (Kapoor et al., 2003, Stys, 2005).

Eine mögliche und nach den aktuellen pathogenetischen Vorstellungen erfolgversprechende Therapiestrategie wäre eine duale Behandlung aus einer, wie aktuell klinisch bereits angewandten, Immunmodulation und einer die möglicherweise sekundären Mechanismen betreffende Axondegeneration im Sinne einer Neuroprotektion (Stys, 2005).

**1.2 Zielsetzung der Arbeit:**

Der aktuelle Wissensstand über die histomorphologischen Merkmale und pathogenetischen Vorstellungen der Läsionen von MS-Patienten beruhte in der Mehrzahl der Fälle auf Ergebnissen von Untersuchungen anhand von Autopsien gewonnener Gewebeproben.

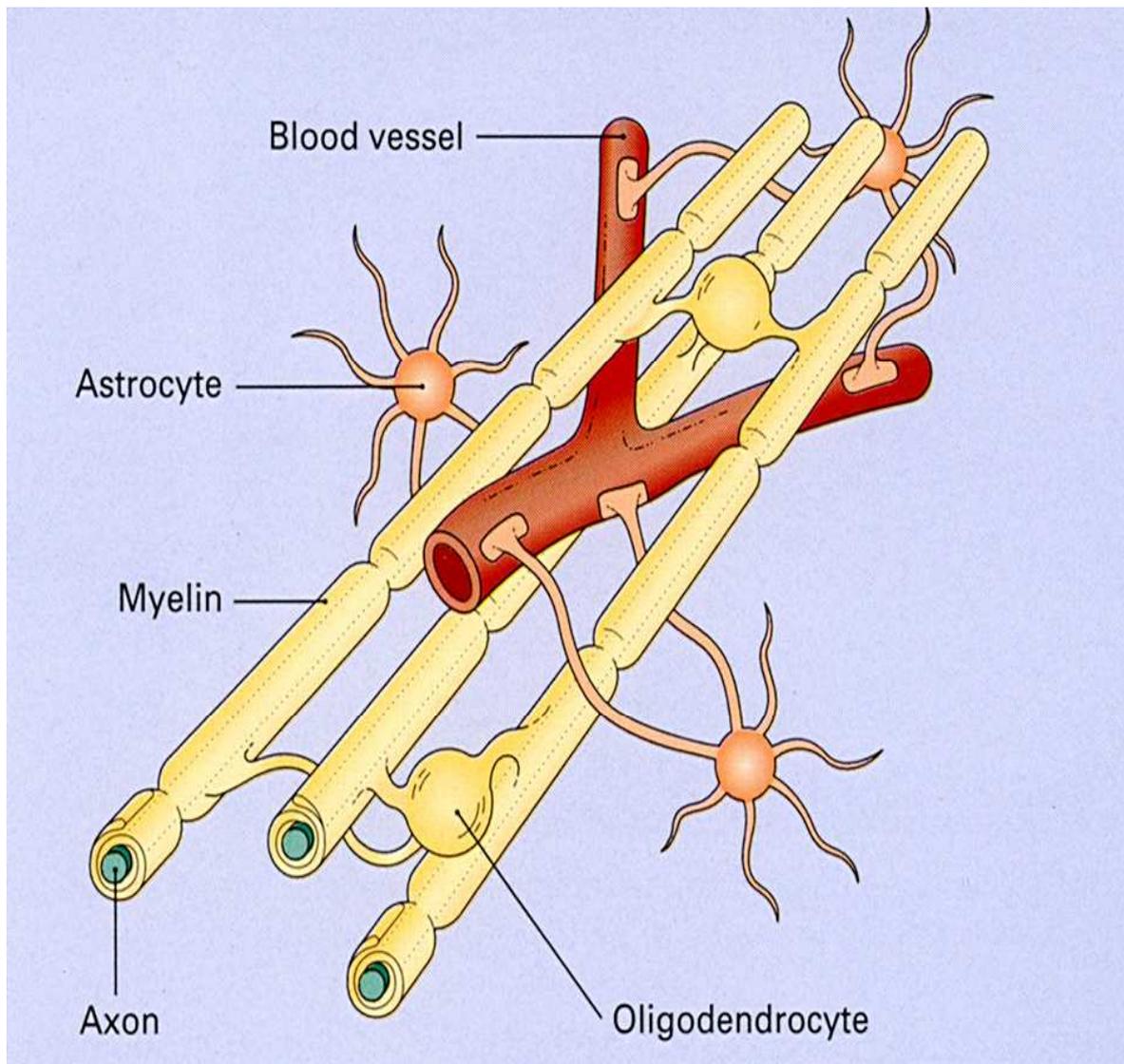
Erst in den letzten Jahren ergab sich zunehmend die Möglichkeit anhand stereotaktischer Biopsien Hirngewebe von MS-Patienten und damit histomorphologische Merkmale bereits früher Läsionsformationen zu untersuchen.

In dieser Arbeit soll anhand von stereotaktisch, z.T. auch offen gewonnener Hirnbiopsien, eine Charakterisierung der Läsionsformation während der ersten klinischen Schübe der Erkrankung dargestellt werden.

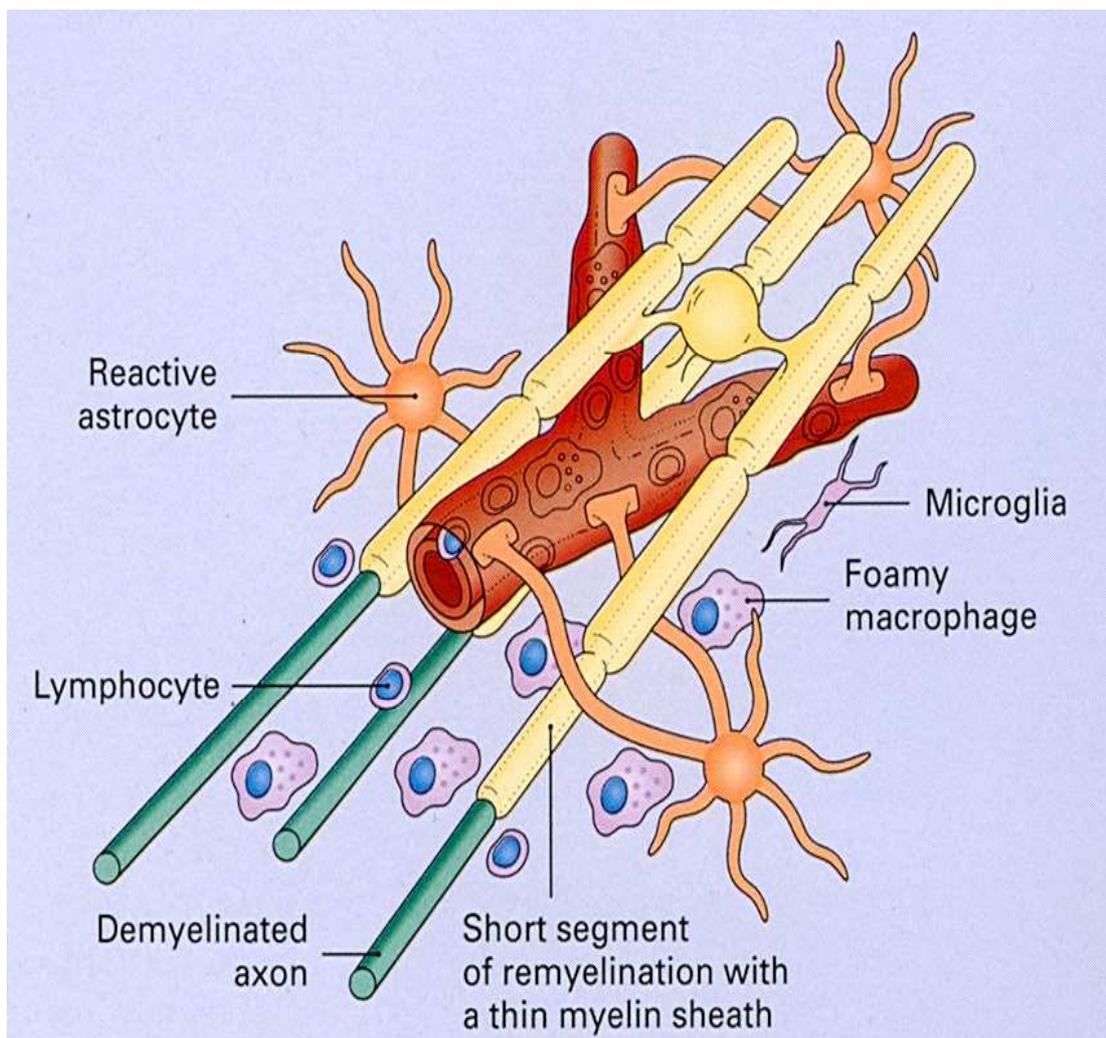
Es soll eine Korrelation zwischen akuter Axonschädigung, detektiert durch APP-positive Axonschollen, und der Gewebeumgebung hinsichtlich Entmarkung, lymphozytärer, monozytärer und glialer Umgebungsreaktion hergestellt werden.

Die gewonnenen Daten werden nachfolgend anhand der klinischen Angaben bezüglich der vorhergegangenen Dauer der Erkrankung, sowie der vorhergegangenen Schubfrequenz ausgewertet. Folgende Fragen sollen in dieser Arbeit damit beantwortet werden:

- Herrscht in den ersten Schüben der Erkrankung die Entmarkung vor, oder prädominiert der Axonschaden? Gibt es damit einen Hinweis für eine primäre Verletzung der Axone, unabhängig von der Bemerkung?
- Gibt es eine Korrelation zwischen Axonschädigung und Entzündungsreaktion und welche Zelltypen herrschen dann vorwiegend vor?
- Gibt es eine Korrelation zwischen Anzahl der vorhergegangenen klinischen Schübe und der Axonverletzung?
- Gibt es eine Korrelation zwischen der Zeit seit der ersten Krankheitsmanifestation und der Axonverletzung?

**Immunhistologische Reaktionen der Multiplen Sklerose Läsion:**

A) Gesundes Hirngewebe (Abb. aus Neuropathology, Ellison et al., 2004):



B) Reaktion in MS-Läsion (Abb. aus Neuropathology, Ellison et al., 2004):

Präexistente autoreaktive T-Zellen-  
Periphere Aktivierung-  
Adhäsion, Penetration-  
Lokale Aktivierung-  
Entmarkung

Tabelle 1.a)

<b>Diagnostische Kriterien der schubförmigen MS (modifiziert nach Poser et al., 1983)</b>				
	<b>Klinische Präsentation (Schübe)</b>	<b>Objektivierbare klinische Läsion</b>	<b>Paraklinisch evidente Läsion</b>	<b>Liquor (OKB, erhöhter IgG- Index)</b>
<b>Klinisch gesicherte MS</b>	a)2 /b) 2	a)2 / b)1 UND	a)- /b) 1	
<b>Laborunterstützt gesicherte MS</b>	a)2 /b) 1 / c)1	a)1 oder /b) 2 / c)1 UND	a)1 /b) - /c) 1	a)+ /b) + /c) +
<b>Klinisch wahrscheinliche MS</b>	a)2 /b) 1 / c)1	a)1 / b)2 / c)1 UND	a)- /b) - /c) 1	
<b>Laborunterstützt wahrscheinliche MS</b>	a)2 /b) 1	a)1 / b)2 oder mehr oder	a)- / b)1	a)+ /b) +

Tabelle 1.b) (modifiziert nach McDonald et al., 2001)		
Klinische Präsentation	Objektivierbare klinische Läsion	Weitere erforderliche Kriterien
2 oder mehr	2 oder mehr	Keine; klinische Evidenz ausreichend (zusätzliche wünschenswert und muss dann mit MS vereinbar sein)
2 oder mehr	1	räumliche Dissemination im MRI oder positiver Liquorbefund und 2 oder mehr MS-typ. Läsionen im MRI oder weiterer klinischer Schub
1	2 oder mehr	zeitliche Dissemination im MRI oder zweiter klinischer Schub
1 (monosymptomatische Präsentation)	1	räumliche Dissemination im MRI oder 2 oder mehr MS-typ. Läsionen im MRI mit positivem Liquorbefund und zeitliche Dissemination im MRI oder zweiter klinischer Schub
0 (primär progredienter Verlauf)	1	positiver Liquorbefund und räumliche Dissemination im MRI (>9 T2-Läsionen im Gehirn oder >2 Läsionen im RM oder 4-8 Gehrin 1 RM-Läsion oder positive VEPs + 4-8 MRT-Läsionen oder positive VEPs + <oder=4 MRT-Läsionen + 1 RM-Läsion) und zeitliche Dissemination im MRI oder kontinuierliche Progression für 1 Jahr
<p>Die Demonstration einer räumlichen Dissemination muss die entsprechenden Kriterien nach Barkhof et al., 1997 und Tintoré et al., 2000 erfüllen.</p> <p>Ein positiver Liquorbefund liegt beim Nachweis oligoklonaler Banden bzw. eines erhöhten Liquor-IgG-Index vor.</p> <p>Die zeitliche Dissemination muss die entsprechenden MRI-Kriterien erfüllen.</p> <p>Pathologische visuell evozierte Potentiale müssen typisch für die MS sein.</p>		

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Gewebe:**

In dieser Arbeit wurden bioptisch gewonnene Gewebeproben aus MRT-morphologisch gesicherten cerebralen Prozessen von insgesamt 16 Patienten mit Verdacht auf Multiple Sklerose bei akuter neurologischer Symptomatik histologisch untersucht.

Das histologische und elektronenmikroskopische Material stammte aus der Sammlung des Neuropathologischen Instituts der Freien Universität Berlin aus den Jahren 1991-2006 (Geschäftsführender Direktor Univ.- Prof. Dr. Dr. hc. mult. J. Cervos-Navarro bzw. Prof. Dr. med. A. von Deimling).

Davon waren in 16 Fällen cerebrale Herdbefunde klinisch dokumentiert.

Die Zeitspanne zwischen 1. klinischem Ereignis und Biopsie lag bei 11 Patienten unter 1 Jahr, bei 3 Patienten über 1 Jahr, bei 2 Patienten war die entsprechende Zeitspanne nicht bekannt, so dass es sich bei mindestens 11 von 16 Fällen um relativ frühe Stadien innerhalb des Krankheitsverlaufes handelte.

Die bis zur Biopsie eingetretenen neurologischen Ereignisse variierten von 1-4 Ereignissen, in 1 Fall ist der vorhergehende klinisch-neurologische Befund nicht bekannt.

Die Probenentnahme erfolgte in 12 Fällen über eine stereotaktische Hirnbiopsie (über die Neurochirurgische Klinik der Freien Universität Berlin, Krankenhaus Ludmillenstift Meppen und Neurochirurgie Krankenhaus Friedrichshain), in 3 Fällen über eine offene Biopsie mit Hilfe der Kraniotomie (über die Neurochirurgische Klinik der Freien Universität Berlin und Neurochirurgie des St. Gertrauden Krankenhaus Berlin), in 3 Fällen liegen Biopsate aus externen Kliniken vor (Ludmillenstift Meppen, Krankenhaus im Friedrichshain Berlin, St. Gertrauden Krankenhaus Berlin), in 1 Fall ist die exakte Probenentnahme nicht bekannt.

Die primäre Indikation zur neurochirurgischen Probenentnahme stellte sich bei 8 Patienten zum Ausschluss einer Neoplasie, in 2 Fällen zur Zuordnung unklarer nicht näher zuzuordnender Raumforderungen, in 2 Fällen zum Ausschluss eines Lymphoms und bei 4 Patienten zur Diagnosesicherung bei Verdacht auf Multiple Sklerose.

In Zusammenschau der klinischen, paraklinischen und histologischen Merkmale ergab sich bei allen Fällen bei retrospektiver Auswertung die wahrscheinliche Diagnose einer Multiplen Sklerose.

Die klinischen Daten sind in den Tabellen 2. b) und 2. c) zusammengefasst.

Die Einteilung der Fälle nach klinischen Gesichtspunkten erfolgte nach den MS-Diagnosekriterien nach Poser et al. von 1983 (Tabelle 1.a) und ist in Tabelle 2.a) aufgeführt, sowie nach den McDonald Kriterien von 2001 (Tabelle 1.b) und ist den einzelnen Fallbeschreibungen zu entnehmen.

Tabelle 2.a)

Fallnummer, Name	klinisch gesicherte MS	Laborunterstützt gesicherte MS	Klinisch wahrscheinliche MS	Laborunterstützt wahrscheinliche MS	Neuropathologie
D487/03			nach Poser "c"		Entmarkung in Abräumung mit reaktiver astrozytärer Gliose
N690-04		nach Poser "a"			Entmarkungsenzephalitis
D2358/94		nach Poser "a"			floride Entmarkung mit gliöser Defektdeckung
D1225/97		nach Poser "a"			Histologischer Befund vereinbar mit Enzephalitis disseminata
D130/99			nach Poser "c"		Entmarkungsprozess mit Nekrosen u. lymphocellulärer Entzündung, sowie reaktiver Gliose
D1051/96			nach Poser "c"		Multiple Sklerose mit pseudotumoröser Manifestation
D1347/95			nach Poser "b"		hochgradiger V.a. einen Entmarkungsprozeß
D921/91	nach Poser "a"				schwerer fokaler entzündlicher Entmarkungsprozeß
D5/92			nach Poser "c"		V.a. MS
D402/93			nach Poser "c"		Reaktive Veränderungen mit Markscheidenabbau u. starker Astroglie, kein Anhalt für das Vorliegen eines Tumors
D995/97	nach Poser "a"				Leukenzephalitis, entzündlicher Prozeß, geringe Myelinschädigung
N1044/06		nach Poser "c"			entzündliche Entmarkungserkrankung aus dem Formenkreis der MS
24040/05	nach Poser "a"				am ehesten demyelinisierende Enzephalitis
N01614/04					Entzündlich-entmarkende ZNS-Läsion
N00213/02					Entzündlich-entmarkender ZNS-Prozess
1797/02			nach Poser "c"		Entzündlich-demyelinisierende ZNS-Läsion

Tabelle 2.b

Fallnr., Geschlecht	Alter	1. klin. Ereignis	Infektasso ziiert	vorherige neurologische Ereignisse	familiäre Belastung
D487/03 W	geb.: 27.08.1947 Biopsie: 18.06.2003	05.2003 Zeitspanne 1. klin. Ereignis- Biopsie: 1 Monat	nicht bekannt	intermittierende Hemihypästhesie und Hemiparese links seit 1 Monat	keine Angaben
N690/04 M	geb.: 31.03.1974 Biopsie: 04. 2004	11.2003 Zeitspanne 1. klin. Ereignis - Biopsie: 6 Monate	grippaler Infekt vorausgeh end	Koordinationsstörungen re. Hand vor etwa 6 Monaten (11.2003), Gesichtsfeldausfall nach re. und motorische Aphasie vor etwa 1 Woche (04. 2004)	keine Angaben
D2358/94 W	geb.: 19.09.1964 Biopsie: 24.06.19 94	1987 (mit 23 J.) Zeitspanne 1. klin. Ereignis- Biopsie: 7 Jahre	nicht bekannt	mit 23 J. spastische sensorische Hemiparese li., mit 25 J. zunehmende Visusminderung bds. Monate später Aphasie, Epilepsie, mit 27J. erneute Hemiparese u. Aphasie, choreo- athetische Bewegungsstörg., dementielle Entwicklung	unauffällige Familienanam nese über 3 Generationen
D1225/97 W	geb.: 30.07.1968 offene Biopsie über Kraniotomie: 21.11.1997	09.1997 Zeitspanne 1. Klin. Ereignis- Biopsie: 2 Monate	nicht bekannt	Schleiersehen vor dem li. Auge mit Visusminderung mit V.a. Opticus- Neuritis vor 2 Monaten (09.1997), fokaler Krampfanfall im Bereich des li. Oberschenkels mit Taubheitsgefühl vor 1 Monat, seit 3 Monaten interm. Gesichtsschmerzen	keine Angaben
D130/99 M	geb.: 14.06.1970 offene Biopsie über Kraniotomie: 01.0 2.1999	12.1998 Zeitspanne 1. klin. Ereignis- Biopsie: etwa 1 Monat	nicht bekannt	am 27.12.1998 Taubheit der Fußaußenkante re. mit Fußheberparese re., post- OP: Zunahme der Hemiparese , neu aufgetretene Ungeschicklichkeit des re. Armes, parietal stechender Kopfschmerz li. über 2 Tage, leichte faziale Parese re.	keine Angaben
D1051/96 W	geb.: 18.02.1946 stereotaktische Biopsie: 16.10.1996	vor 5 Wochen, supraselläre RF seit Feb. 1995 bekannt Zeitspanne 1. klin. Ereignis- Biopsie: etwa 5 Wochen	nicht bekannt	vor 5 Wochen 4-malig Taubheitsgefühl re. Unterlippe, sowie Nasenflügel u. Zucken re. Augenlid für ca. 1 Minute, Taubheitsgefühl re. Handteller, permanents pelziges Gefühl in allen Fingern der re. Hand	keine Angaben
D1347/95 W	geb.: 18.12.1969 stereotaktische Biopsie: 24.11.1995	1990 Zeitspanne 1. klin. Ereignis- Biopsie: etwa 5 Jahre	nicht bekannt	1990 linksseitig fokale Anfälle, Taubheitsgefühl li. Gesichtshälfte, li. Arm u. Rumpf	keine Angaben
D921/91 M	geb.: 23.04.1970 stereotaktische Biopsie: 26.07.1991	vor 4 Wochen Zeitspanne 1. klin. Ereignis- Biopsie: etwa 4 Wochen	grippaler Infekt vorausgeg angen	vor 4 Wochen zunehmend Vergeßlichkeit, Schläfrigkeit, Sprachstörungen, torkelnder Gang, Doppelbilder	keine Angaben

Tabelle 2.b (Fortsetzung)

Fallnummer , Name Geschlecht	Alter	1. klin. Ereignis	Infektassoziiert	vorherige neurologische Ereignisse	familiäre Belastung mit MS
N1044/06 M	geb.: 24.12.1977 Biopsie: 13.06.2006	vor 4 Wochen	keine Angaben	Hemisymptomatik rechts	keine Angaben
24040/05 W	geb.: 10.06.1965 Biopsie: 25.11.2005	vor 4-6 Wochen Zeitspanne 1. klin. Ereignis- Biopsie: etwa 6 Wochen	nein	vor 4-6 Wochen Koordinationsschwierigkeiten , Schwindel, Sehstörungen, kognitive und mnestiche Störungen	keine Angaben
N01614-04 M	geb.: 11.0.1064 Biopsie:etwa 06.09.2004	keine Angaben	keine Angaben	Erstmaliger einmaliger GM	keine Angaben
N00213/02 W	geb.: 30.12.1968 Biopsie:etwa 13.02.2002	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben
1797/06 M	geb.: 19.03.1951 Biopsie: etwa 24.10.2006	10.2005 Zeitspanne 1.klin.Ereignis -Biopsie: etwa 1Jahr	keine Angaben	Oktober 2005 zunehmende Gangstörung und Fallneigung nach rechts, Feinmotorikstörung rechter Arm, im Verlauf progrediente ataktische Hemiparese rechts.	keine Angaben

Tabelle 2.b (Fortsetzung)

Fallnummer, Geschlecht	neurologischer Befund	Liquor	Evozierte Potenziale	MRT	Therapie	Neuropathologie
D487/03 W	anamnestisch intermittierend linksseitige sensibel betonte Hemisymptomatik	keine Angaben	keine Angaben	cMRT: rechtsseitige paraventriculäre parietal gelegene Läsion	postoperativ Strahlentherapie und Kortikoide	1. histologischer Befund: Fehldiagnose eines Astrozytoms, 2. histologischer Befund: Entmarkung mit reaktiver astrozytärer Gliose
N690/04 M	leicht somnolent, nicht orientiert, keine PDZ, Reflexe seitengleich lebhaft, unzureichende Kooperation	Pleozytose, normales Gesamteiweiß, oligoklonale Banden positiv	keine Angaben	cMRT: 4 Herde supratentoriell	Kortikoidstoßtherapie vor und nach Biopsie	vor Histologie: V.a. Metastasen bei unbekanntem Primarius, DD Abszessherde, nach Histologie: Entmarkungsenzephalitis
D2358/94 W	bettlägerige Pat., schwere Demenz, spastische Parese re., choreo-athetotische Hyperkinesen re., positiver Babinski re., Urin- und Stuhlinkontinenz, mangelnde	oligoklonale Banden positiv	unzureichende Angaben	cMRT: in T2 hyperintense Läsion frontal, sowie im Marklager re. u. li. okzipital	hochdosierte Kortikoidtherapie vor Biopsie(?)	vor Histologie: V.a. Multiple Sklerose, nach Histologie: floride Entmarkung mit gliöser Defektdeckung
D1225/97 W	Visusminderung li. Auge, direkte u. indirekte Lichtreaktion re. etwas träger, monopodales Hüpfen re. diskret plumper	keine Pleozytose, leichte Eiweißerhöhung, oligoklonale Banden positiv, im Serum: fraglich	VEP's li. verzögert, re. normal	cMRT: vor Operation: frontale RF re., am 18.11.1998 cMRT: multiple perikallosale Herde, alter Herd re. frontal	vor Operation kein Glukocorticoidbehandlung, nach Operation hochdosierte Kortikoidtherapie	vor Histologie: unklarer rechts frontaler Prozeß, nach Histologie: Veränderungen vereinbar mit Enzephalitis disseminata
D130/99 M	vor Operation: beinbetonte Hemiparese re., unscharf begrenzte Hypästhesie re. Unterschenkel, Zeigeataxie des re. Beines	nach OP: Pleozytose, Gesamtprotein erhöht, oligoklonale Banden: negativ	nach Operation: VEP: re. verzögert, li. regelrecht, Tibialis-SEP: Latenz und-Amplitudenminderung re., Medianus-SEP: regelrechte Latenz, re. Giant-Potentiale aufgrund eines Bohrloches li.	cMRT 26.01.1999: linkspostzentrale RF, cMRT 05.03.1999: kein Nachweis einer Zweitläsion	vor Operation keine Glukocorticoidbehandlung, nach Operation i.v. Solu-Decortin u. antibiotische Therapie	vor Histologie: V.a. Glioblastom, nach Histologie: Entmarkungsprozess sowie reaktive Gliose
D1051/96 W	Feinmotorik und Koordination der re. Hand gestört	keine Angaben	keine Angaben	cMRT: RF Gyrus postzentralis li., Hirngewebehyperintensives Areal im oberen Ponsgebiet re.	vor Biopsie (März-September 1995): Glukocorticoide, nach Biopsie: Glukocorticoide	vor Histologie: V.a. malignes Lymphom, nach Histologie: Multiple Sklerose mit pseudotumoröser Manifestation
D1347/95 W	spastische Hemiparese li., an o.E. gesteigerte MER, an u.E. unerschöpfliche Klone bei Auslösung ASR u. PSR, suszeptor Babinski li., abgeschwächte BHR li., leichte zentrale Fazialisparese li., unvollständige Hemiparästhesie-algesie	Liquorbefund unauffällig	keine Angaben	cMRT: rechts fronto-parietale Rfen, links-frontale Marklagerläsionen	vor Biopsie: Glukocorticoide oral	vor Histologie: atypischer Verlauf einer E.d. DD: Immunvaskulitis, nach Histologie: hochgradiger V.a. auf einen Entmarkungsprozeß
D921/91 M	verlangsamer Patient, kloßige Sprache, internukleäre Ophthalmoplegie re., ataktisches Gangbild, Dysmetrie o.E. li., Dysdiadochokinese li. Hand	entzündliches Liquorzellbild, oligoklonale Banden: positiv	VEP: Normalbefund	cMRT: multiple in T2-Sequenzen hyperintense, z.T. massiv KM-anreichernde Herde periventriculär u. in beiden Temporallappen, kleinere Herde in der Pons	vor Biopsie: Glukocorticoide oral, nach Biopsie: Glukocorticoide i.v.	vor Histologie: V.a. MS, nach Histologie: schwerer fokaler entzündlicher Entmarkungsprozess
D5/92 W	antriebslos, rechtsseitige armbetonte Hemiparese, Koordinationsversuche verlangsamt u. unsicher, linksbetonte MER, Babinski bds. positiv, interm. grobschlüssiger Fluhetemor re. Arm	Erhöhung des Liquoreiweißes, keine oligoklonale Banden	keine Angaben	cMRT: in T2-Sequenzen signalreiche Areale in den Marklagern bds. periventriculär bis in den Stammganglienbereich reichend	keine Angaben	vor Histologie: V.a. MS, nach Histologie: V.a. MS
D402/93 M	dezente mimische Fazialis Mundastschwäche li., MER u. E. etwas linksbetont, deutliches Absinken des li. Armes, Babinski li. positiv	normale Zellzahl, keine oligoklonale Banden	VEP: nicht signifikante Veränderungen	cMRT: Herdbefund Capsula interna u. Thalamus re.	vor Biopsie: Glukocorticoide, nach Therapie: Glukocorticoide	vor Histologie: V.a. E.d. DD: Astrozytom, nach Histologie: reaktive Veränderungen mit Markscheidenabbau u. starker Astrogliose, kein Anhalt für das Vorliegen eines Tumors
D995/97 W	zentrale Fazialisparese li., mittelgradige armbetonte Hemiparese li.	keine Angaben	keine Angaben	cMRT: multiple Rfen im Bereich des Marklagers beider Hemisphären	vor Biopsie: Glukocorticoide, nach Biopsie: Glukocorticoide	vor Histologie: multiple cerebrale Rfen, V.a. MS, nach Histologie: Leukenzephalitis, entzündlicher Prozeß, geringe Myelinschädigung

Tabelle 2.b (Fortsetzung)

Fallnummer, Name Geschlecht	neurot.Befund	Liquor	Evozierte Potenziale	MRT	Therapie	Neuropathologie
N1044/06 M	AHV und BHV Absinken rechts, Kordiantion rechts dysmetrisch	intratheale IgG-Synthese	keine Angaben	links parietale RF mit Kontrastmittelanreicherung	keine Angaben	vor Histologie: V.a. höhergradigs Gliom Histologie: vereinbar mit Erkrankung aus dem Formenkreis der Multiplen Sklerose
24040/05 W	Hemianopsie nach rechts, Koordination unsicher, ASR re. gesteigert, Babinski re. Suspekt	unauffälliger Befund	VEP: erheblich artefaktgestört, soweit beurteilbar Latenzen im Normbereich liegend, SEP: N. medianus normwertig, N. tibialis: li. Normwertig, re. nicht auswertbar	periventrikuläre Raumforderung im Occipitallappen li., multiple periventrikuläre Marklagerläsionen bds.	vor Biopsie: Glukocorticoide, nach Biopsie: Glukocorticoide	vor Histologie: hochgradiger Verdacht auf tumorösen Prozess, Histologie: am ehesten demyelinisierende Enzephalitis
N01614-04 M	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	Entzündlich-entmarkende ZNS-Läsion
N00213/02 W	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	vorbehaltlich: multiple rundliche Herde bds. mit geringgradiger Kontrastmittelaufnahme	keine Angaben	Entzündlich-entmarkender ZNS-Prozess
1797/06 M	progrediente Hemiataxie rechts	Erhöhung des Liquoreiweißes, lymphozytäre Pleozytose, identische Banden im Serum und Liquor	keine Angaben	Links um das Hinterhorn, links im Centrum semiovale und links am Thalamusrand gelegene Schrankenstörung mit umgebendem Ödem, kleine Schrankenstörung auch bds. pontin.	keine Angaben	Entzündlich- demyelinisierende ZNS- Läsion

Tabelle 2.c

Schubanzahl bis zur Biopsie im Sinne von klinischen Ereignissen.	Axonaler Schaden deutlich	Axonaler Schaden gering
Schubfrequenz <3	in 4 Fällen	in 9 Fällen
Schubfrequenz >2	in 2 Fällen	in 0 Fällen
	In 1 Fall Krankheitsvorgeschichte nicht eruierbar.	
Neuropathologie	Axonaler Schaden deutlich	Axonaler Schaden gering
Krankheitsdauer < 1Jahr	in 4 Fällen	in 7 Fällen
Krankheitsdauer >1 Jahr	in 0 Fällen	in 3 Fällen
	In 2 Fällen Krankheitsvorgeschichte nicht eruierbar.	
Neuropathologie	Axonaler Schaden deutlich	Axonaler Schaden gering
Aktive Phagozytose assoziierter Axonschaden	in 4 Fällen	in 8 Fällen
Lymphozyten assoziierter Axonschaden	in 0 Fällen	in 0 Fällen
Phagozytose und Lymphozyten assoziierter Axonschaden	in 1 Fall	in 2 Fällen
Weder Phagozytose noch Lymphozyten assoziierter Axonschaden	in 0 Fällen	in 1 Fall

## 2.2. Neuropathologische Routinefärbungen:

Zur Darstellung der Zellkerndichte im Rahmen einer Entzündungsreaktion, zur Darstellung der Myelinscheiden und des Myelinabbaus, sowie zur Darstellung des umgebenden Gewebes lagen neuropathologische Routinefärbungen wie H&E, LFB/PAS, MS und EvG vor.

## 2.3. Immunhistochemie:

Die immunhistochemischen Färbungen wurden durchgeführt mit Antikörpern gegen APP (Monoclonal Antibody, Mouse Anti-Alzheimer Precursor Protein A4, Clone22C11, Catalog Number MAB348, Lot Number 23112927, Chemicon), MBP (Polyclonal Rabbit, Anti-Human Myelin Basic Protein, Code No. AO623, Lot 092, Edition 16.09.02, DAKO), NF

(Monoclonal Mouse, Anti-Human Neurofilament Protein, Clone 2F11, Code No. M0762, Lot 117, DAKO), GFAP (Monoclonal Mouse, Anti-Human-Glial-Fibrillary Acidic Protein, Clone 6F2, Code No M0761, DAKO), CD68 (Monoclonal Mouse, Anti-human CD68, Macrophagen, Clone KP1, Code No. M0814 Lot.092, Edition 16.09.02, DAKO), LCA, CD3.

Zur Visualisierung wurde für APP die Streptavidin-Biotin-Complex (A-B-C-Methode), für MBP, NF, GFAP, CD68 die LSAB-Methode verwendet.

Prinzip der A-B-C-Methode: siehe Abbildung 2.1.

Prinzip der LSAB-Methode: siehe Abbildung 2.2.

### Die Antikörper im Einzelnen:

-APP (Monoclonal Antibody, Mouse Anti-Alzheimer Precursor Protein A4, Clone22C11, Catalog Number MAB348, Lot Number 23112927, Chemicon):

Menge: 50µg

Konzentration: 1mg/mL

Spezifität: Reagiert mit Pre-A4. Der Antikörper erkennt Aminosäuren 66-81 des N-terminalen Endes des Pre-A4-Moleküls. Der Klonale Antikörper 22C11 erkennt alle Isoformen des APP.

Anwendung: Immunhistochemie, Paraformaldehyd fixierte und in Paraffin eingebettete Gewebe, Western blot.

Spezies –Reaktivität: Mensch, Ratten, Maus, Affe und Fisch.

Format: Gereinigtes Immunglobulin.

Darreichungsform: Löslich in 0,02M Phosphat-Puffer, 0,25 M NaCl, pH 7,6 mit 0,1% NaHCl.

Lagerung: 2-8°C in unverdünnten Aliquots bis zu 6 Monate.

-MBP (Polyclonal Rabbit, Anti-Human Myelin Basic Protein, Code No. AO623, Lot 092, Edition 16.09.02, DAKO):

Konzentration: 10,7mg/mL

Spezifität: Reagiert mit MBP, MW 19,6kDa mit einem hohen basischen isoelektrischen Punkt von 12, dieses wird produziert von Oligodendrozyten und ist lokalisiert im Myelin, die spezialisierte ehrsichtige Membran, die die Nervenfasern sowohl des Zentralen, als auch des Peripheren Nervensystems umgibt. Im ZNS macht das MBP etwa 30% des gesamten Myelin Proteins aus. Das andere Hauptprotein des ZNS ist das Proteolipid.

Anwendung: Formalin-fixierte und Paraffin-eingebettete Schnitte

Spezies-Reaktivität: Mensch

Format: Gereinigtes Immunglobulin

Darreichungsform: Löslich in 0,05mol/L Tris HCL, pH 7,6 und 15mmol/L NaHCl.

Lagerung: 2-8°C

-NF (Monoclonal Mouse, Anti-Human Neurofilament Protein, Clone 2F11, Code No. M0762, Lot 117, DAKO):

Konzentration: Maus Ig Konzentration:270mg/L

Spezifität: Reagiert mit den phosphorylierten Formen der 70 kDa Komponente der drei Haupt Polypeptid Untereinheiten, die in Neurofilamenten präsentiert sind

Anwendung: Formalin-fixierte und Paraffin-eingebettete Schnitte

Spezies-Reaktivität: Der Antikörper zeigt Kross-Reaktivität, in dem er neben der Reaktion im menschlichen Gewebe auch in Maus, Ratten und Kaninchen wirkt.

Format: Gereinigtes Immunglobulin

Darreichungsform: Löslich in fetalem Schafserum in 0,05 M Tris/HCl, pH 7,2 in 15mm Na3.

Lagerung: 2-8°C

-GFAP(Monoclonal Mouse, Anti-Human-Glial-Fibrillary Acidic Protein, Clone 6F2, Code No M0761, DAKO):

Spezifität: Wie immunzytochemisch nachgewiesen, markiert der Antikörper GFAP in Astrozyten und in Zellen astrozytärer Abstammung.

Anwendung: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Der Antikörper kann für die Markierung azetonfixierter Gefrierschnitte genutzt werden.

Spezies-Reaktivität: GFAP aus humanen Gehirnen.

Format: Gereinigtes Immunglobulin.

Darreichungsform: In flüssiger Form als Zellkulturüberstand, gegen 0,05mol/L Tris/HCl, pH-Wert 7,2 dialysiert und enthält 15mmol/L NaN3.

Lagerung: 2-8°C.

-CD68(Monoclonal Mouse, Anti-human CD68, Makrophagen, Clone KP1, Code No. M0814 Lot.092, Edition 16.09.02, DAKO):

Konzentration: Maus-IgG-Konzentration:425mg/L.

Spezifität: In Makrophagen -reichen B-Zell-Lymphomen zeigte sich eine Reaktion mit einem 110 kDa Polypeptid, das mit CG68 korrespondiert. CD68 wird überwiegend exprimiert in zytoplasmatischen Granula und schwächer auf der Oberfläche von Makrophagen, Monozyten, Neutrophilen, Basophilen und NK-Zellen. Außerdem gibt es eine CD68 Exprimierung bei Zellen des peripheren Blutes wie B-Zellen und des nicht -hämatologischen Systems wie Zellen der Leber, der Nieren-Glomeruli-und Tubuli.

Anwendung: Formalin fixierte oder Paraffin-eingebettete Schnitte.

Spezies-Reaktivität: Lysosomale Fraktion von menschlichen Lungenmakrophagen.

Format: Gereinigtes Immunglobulin.

Darreichungsform: In flüssiger Form as Zellkulturübertand gegen 0,05mol/L Tris/HCl, pH-Wert 7,2 dialysiert und enthält 15mmol/L NaN3.

Lagerung: 2-8°C.

**Färbeprotokoll der APP-Färbung (Monoclonal Antibody, Mouse Anti-Alzheimer Precursor Protein A4, Clone22C11, Catalog Number MAB348, Lot Number 23112927, Chemicon), Verdünnung 1:3000.:**

1. Entparaffinieren: Xylol (20°)-Xylol (20°)-Ethanol 99%-Ethanol 99%-Ethanol 70%- Ethanol 50%-Aqua dest.
2. Vorbehandeln: Mikrowelle (in Citratpuffer) 3x6 Minuten, zwischen durch mit Citratpuffer auffüllen.
3. Schnitte in PBS-Puffer.
4. 10 Minuten in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, danach 3 Mal spülen mit PBS.
5. Schnitte in PBS
6. 10 Minuten Blockieren in 10% FCS(Fetales Kälberserum)/PBS
7. Primärantikörper; über Nacht bei 4°C im Kühlschrank stehen lassen.
8. Mit PBS Waschen.
9. Sekundärantikörper (biotinylierter goat/sheep anti-mouse von amersham:1:200 in 10° FCS/PBS 50 Minuten bei Raumtemperatur einwirken lassen.
10. Mit PBS Waschen.
11. Streptavidin-Peroxidase (Sigma) 1:1000 50 Minuten bei Raumtemperatur einwirken lassen.
12. Mit PBS Waschen.
13. Entwickeln mit 3-Diaminobenzidin (braun) unter mikroskopischer Kontrolle, 15 Minuten.  
DAB 3-Diaminobenzidin Stocklösung: 1g DAB in 40ml PBS lösen zu 1ml Aliquotieren, bei -20°C aufbewahren, Entwicklungsansatz: 50ml PBS+1ml Stocklösung+20µl 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
14. In Aqua dest. Spülen.
15. Gegenfärben mit Mayer´Hämalaun., Abspülen kurz in HCL-Alkohol.
16. Bläuen in Leitungswasser, mind 10 Minuten.
17. In aufsteigender Alkoholreihe dehydrieren bis Xylol.
18. In Depex Eindeckeln, dabei Objektträger derweil in Xylol aufbewahren.
19. Über Nacht eingedeckelte Objektträger trocknen lassen.

Für das Coverplate –System werden jeweils 120µl pro Schnitt pro Lösung berechnet.

Die Elektronenmikroskopie wurde im Labor der Neuropathologie des Klinikums Steglitz nach den dort üblichen Methoden erstellt.

Abbildung 2.1: Prinzip der Strept-A-B-C-Methode:

Die Abkürzung Strept-ABC-Methode steht für **StreptAvidin-Biotin-Complex**.

Das Streptavidin ist ein Protein, das eine hohe Affinität zu Biotin besitzt.

Im Gegensatz zu der Avidin-Biotin-Methode kommt es bei der Streptavidin-Biotin-Methode aufgrund des unterschiedlichen isoelektrischen Punktes (bei Streptavidin liegt er im neutralen Bereich) zu keiner elektrostatisch bedingten Hintergrundfärbung.

Der Sekundärantikörper ist an Biotin gekoppelt.

Schematische Darstellung des Streptavidin-Biotin-Complexes:

- 1) Antigen
- 2) Primärantikörper
- 3) Brückenantikörper, biotinyliert
- 4) Streptavidin-Biotin-Enzymkomplex
- 5) Streptavidin
- 6) Biotinyliertes Enzym

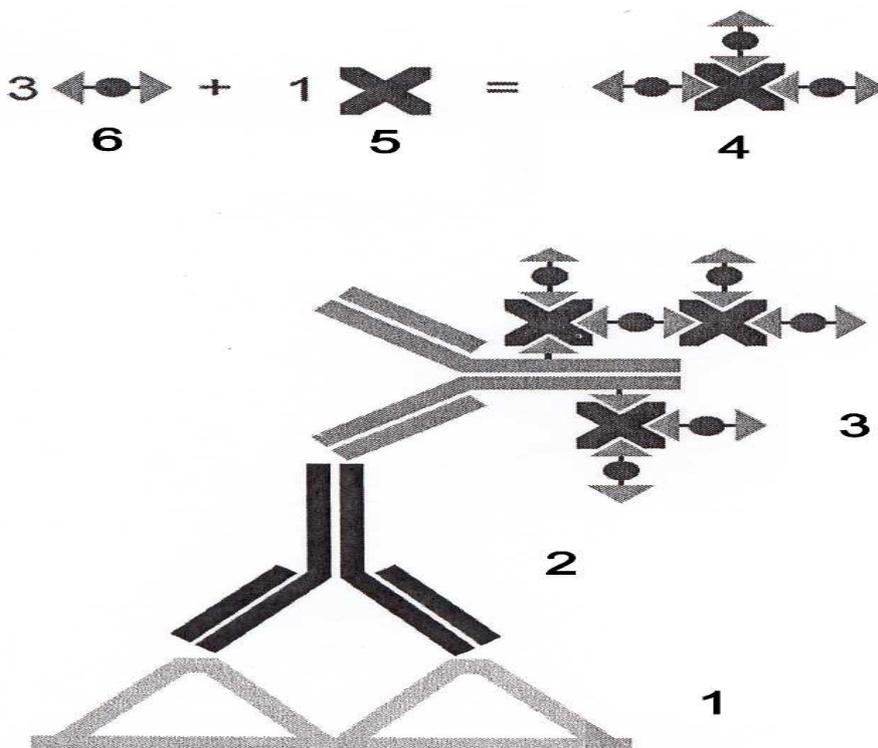


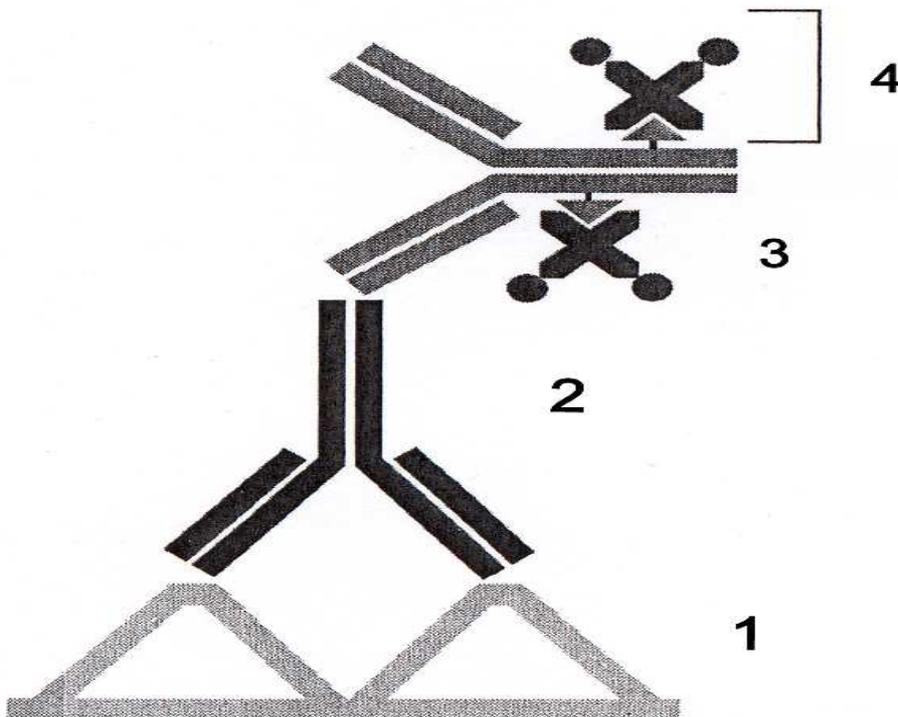
Abbildung 2.2.: Prinzip der LSAB-Methode:

Die Abkürzung LSAB-Methode steht für Labeled-StreptAvidin-Biotin-Methode

Bei dieser Methode wird nach Zugabe des biotinylierten Brückenantikörpers nur mit enzymmarkiertem Streptavidin inkubiert. Eine Zuführung von zusätzlichem Streptavidin wie bei der SteptABC-Methode findet nicht statt. Dadurch können bei der LSAB-Methode keine sterischen Behinderungen stattfinden.

Schematische Darstellung der LSAB-Methode:

- 1) Antigen
- 2) Primärantikörper
- 3) Brückenantikörper, biotinyliert
- 4) Streptavidin-Enzym-Konjugat



### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Fallbeschreibungen:**

Im Folgenden werden die histopathologischen Merkmale der 16 Fälle mit bioptisch gewonnenem Gewebe bei klinisch, paraklinisch und /oder histopathologisch evidenten Hinweisen für eine Multiple Sklerose getrennt voneinander beschrieben.

Dabei wird auf der Grundlage der angefertigten histologischen Routine- und immunhistochemischen Spezialfärbungen, sowie einer elektronenmikroskopischen Aufnahme, insbesondere auf die Entzündungsreaktion im Zusammenhang mit dem Myelinabbau und der zellulären Abräumreaktion im Sinne der Läsionsaktivität eingegangen.

Diese Reaktionen werden in Bezug zu der axonalen Schädigung gesetzt.

Es soll beschrieben werden inwieweit der Axonschaden mit dem Auftreten von Entzündungszellen und Phagozytoseaktivität im Läsionsgebiet korreliert bzw. ob entsprechende Axonschollen auch ohne eine Entzündungs- oder zelluläre Abräumreaktion zu finden sind.

Bezüglich der klinischen Daten wird neben der Angabe über die genaue Lokalisation der entnommenen Biopsie, auch die Zeitspanne von der ersten klinischen Symptomatik bis zur Biopsie beschrieben.

Es wird in diesem Zusammenhang auch die Anzahl der bei den einzelnen Patienten bis zur Biopsie stattgefundenen neurologischen Ereignisse auf dem Hintergrund der Poser-Kriterien von 1983 und McDonald Kriterien von 2001 genannt.

Außerdem wird die Operationsindikation genannt und Angaben zur Operationsmethodik gemacht.

Es folgt im Weiteren die histologische Auswertung mit der Darstellung von gemeinsamen Merkmalen bezüglich der Läsionsaktivität im Sinne eines vorliegenden Myelinabbaus und der zellulären Reaktion sowie bezüglich des axonalen Schadens.

Im Anschluss wird ein Zusammenhang zwischen den histopathologisch morphologischen Ergebnissen und der Krankheitsdauer sowie der Schubfrequenz hergestellt.

Dazu werden die Patienten in 2 entsprechende Gruppen eingeteilt. Siehe Tabelle 2. c).

Die morphologischen Charakteristika werden durch fotografische Beispiele näher erläutert.

Auf der Grundlage der angefertigten Färbungen sind die vorliegenden histopathologischen Gewebe nicht eindeutig einem immunpathologischen Subtyp der MS (nach Lucchinetti, et al. 2000) zuzuordnen.

Eine Differenzierung in die Subtypen I-IV mittels immunhistochemischer Färbungen wurde aufgrund des insgesamt stark eingeschränkten Materialbestandes nicht durchgeführt.

Zu den jeweiligen klinischen Daten siehe auch Tabelle 2. b) und 2. c) in Teil 2.1.

Zur Einteilung der Patienten nach den Poser-Kriterien von 1983 siehe Tabelle 2. a) in Teil 2.1.

**1.Fall: D487/03:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 55 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, rechts parietal periventrikulär.

Cerebrales MRT: Kreisförmige Raumforderung mit randständiger Kontrastmittelaufnahme, periventrikulär mit mäßigem Ödem im Bereich des Hinterhorns des rechten Seitenventrikels..

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: 1 Monat

Vorherige neurologische Ereignisse: 1

MS-Diagnostik: Nach Poser „c“, klinisch wahrscheinliche MS, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: nein

Operationsindikation: V.a. höhergradiges Gliom. Stereotaktische Nadelbiopsie.

Histologie: In der Läsionsformation sind reaktiv monströs veränderte Astrozyten mit einem sehr großen und GFAP-positiven Zytoplasma und zahlreichen langen Fortsätzen nachzuweisen (Abb. 2). Daneben zeigen sich zahlreiche zum Teil sehr dicht liegende Makrophagen (Abb. 1)

Es zeigt sich gleichzeitig eine geringe lymphozelluläre Infiltration, die Infiltratzellen liegen bevorzugt perivaskulär.

Es dominieren deutlich die Makrophagen, die als Schaumzellen imponieren. Zwischen den Macrophagen liegt keine andere Zellpopulation vor.

Gleichzeitig kommen in dem von Makrophagen dominierten Läsionsort kaum APP-positive Axonschollen vor. Es liegt eine deutliche Reduktion der Axone vor.

Neuropathologische Diagnose: Nekrose oder Entmarkung in Abräumung mit reaktiver astrozytärer Gliose, Korrektur der intraoperativ gestellten Schnellschnittdiagnose Astrozytom Grad III.

Abb. 1 schaumzellartige Makrophagen  
Pat. D487/03; Färbung H E, Vergr. 20-fach

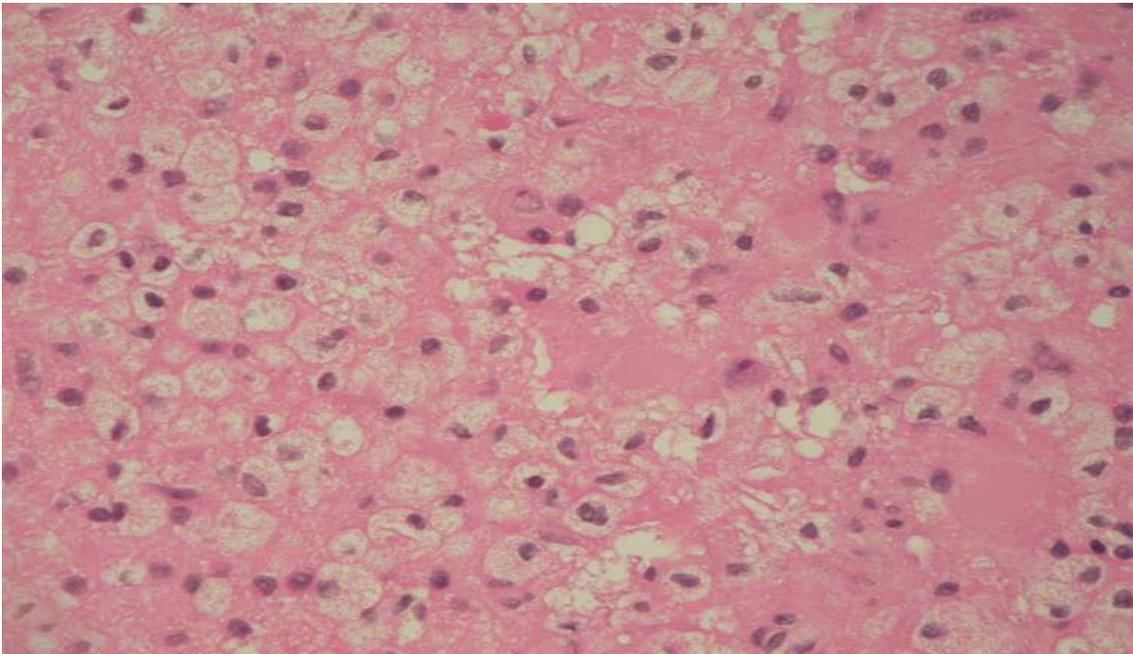
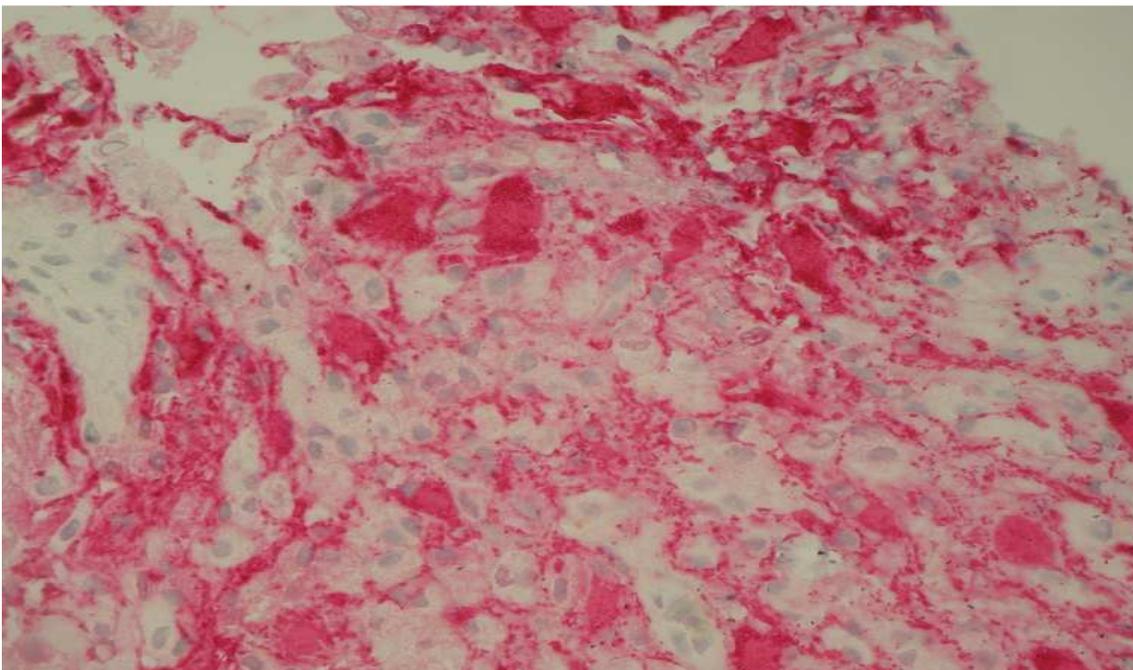


Abb. 2 reaktiv veränderte Astrozyten  
Pat. D487/03, Färbung GFAP, Vergr 40-fach



**2. Fall: N690/04:**

Geschlecht, Alter: Männlicher Patient, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 30 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, links postzentral.

Cerebrales MRT: 4 kleinere Raumforderungen (postzentral linksseitig; am Ende des linken Hinterhorns; auf dem Vorderhorn des rechten Seitenventrikels und links-occipital) mit Begleitödem. Die Herde zeigen sich kontrastmittelanreichernd.

Zeitspanne 1.klin.Ereignis-Biopsie: 6 Monate

Vorherige neurologische Ereignisse: 2

MS-Diagnostik: Nach Poser „a“, laborunterstützt gesicherte MS, nach McDonald et al. Diagnosekriterien erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: ja

Operationsindikation: V.a. Metastasen bei unbekanntem Primarius, DD Abszessherde. Navigationsgestützte endoskopische Punktion und Probiopsie über eine li.-parieto-occipitale Borlochtrepanation.

Histologie: Es findet sich in der Läsionsformation vorrangig eine perivaskuläre lymphozytäre Reaktion.

Diffus in der Läsion verteilt zeigt sich eine ausgeprägte Makrophageninfiltration im Sinne von Schaumzellen mit PAS-positivem Zytoplasma als Zeichen der aktiven Phagozytose.

In diesem Bereich liegt ein deutlicher Axonschaden mit Auftreten von Axonschollen diffus im Gewebe zwischen den Makrophageninfiltraten vor (Abb. 3, 4, 5).

Hier zeigen sich außerdem Entmarkungszeichen bei gleichzeitig geringerer lymphozytärer Infiltration mit nur vereinzelt Lymphozyten (Abb. 6).

Die Entmarkung, die aktive Phagozytose und die Axonschollen befinden sich bevorzugt diffus im Gewebe. Es liegt eine insgesamt deutliche Reduktion der Axone vor.

Die Lymphozyten sind nur vereinzelt im Gewebe zu finden, akzentuiert jedoch perivaskulär. Perivaskulär und diffus zeigt sich eine reaktive Gliose.

Neuropathologische Diagnose: Entmarkungsenzephalitis.

Abb. 3 Axonschollen

Pat. N690/04; Färbung APP, Vergr. 20-fach

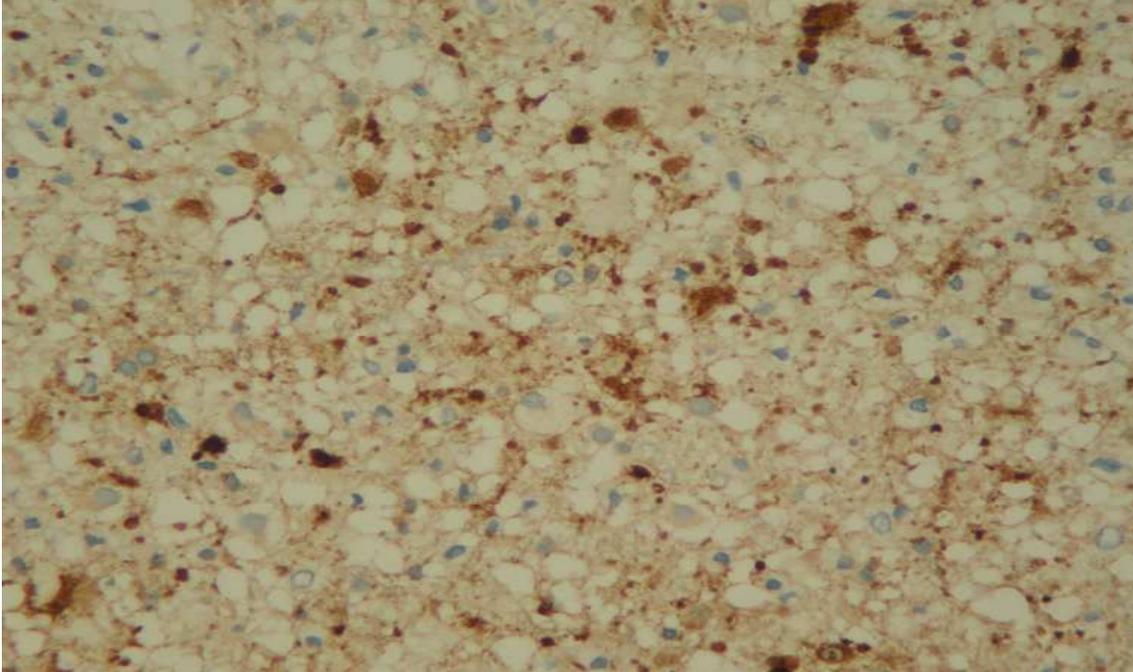


Abb. 4 Axonschollen

Pat. N690/04; Färbung NF, Vergr. 40-fach

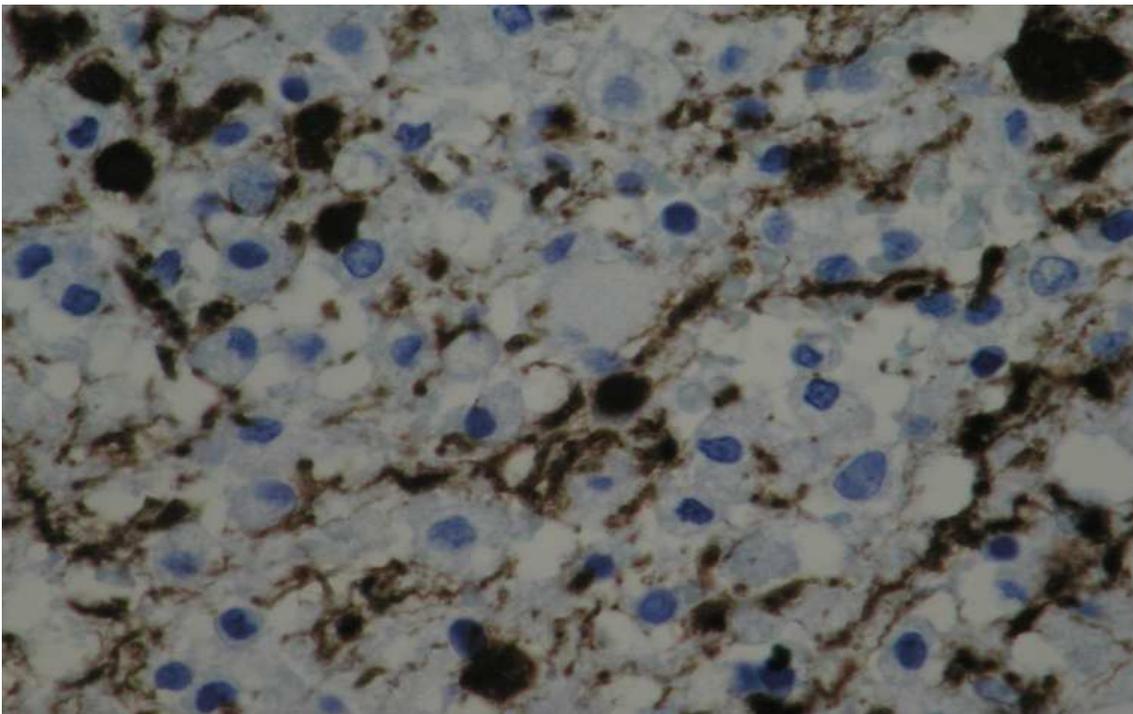


Abb. 5 aktivierte Makrophagen  
Pat. N690/04; Färbung CD68, Vergr. 20-fach

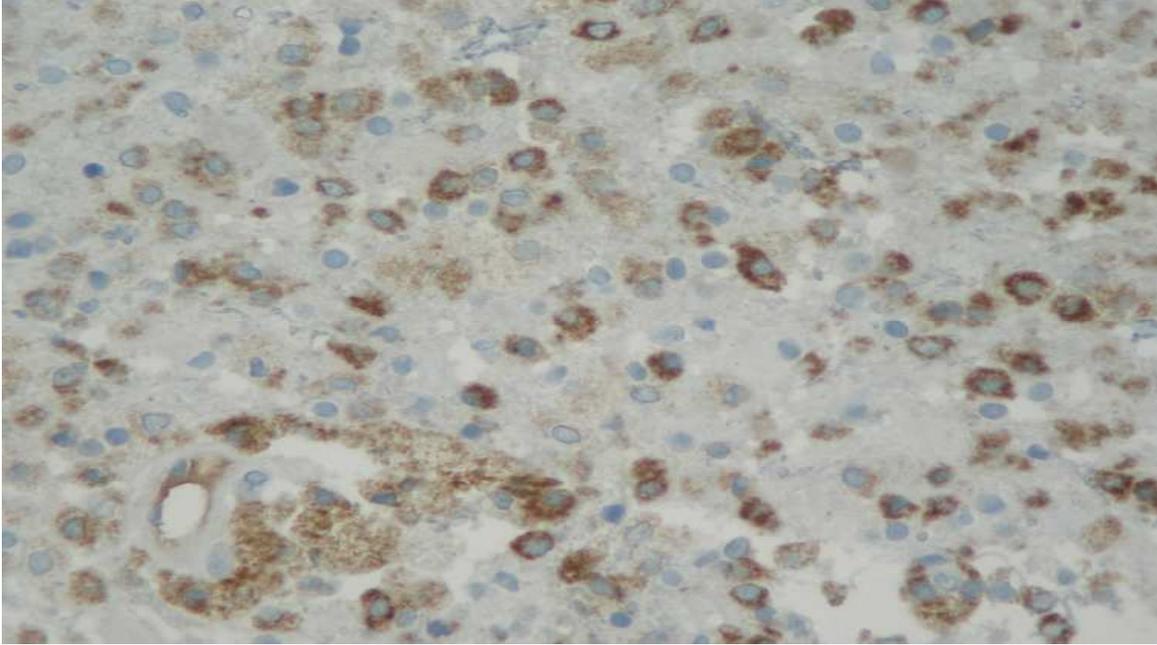
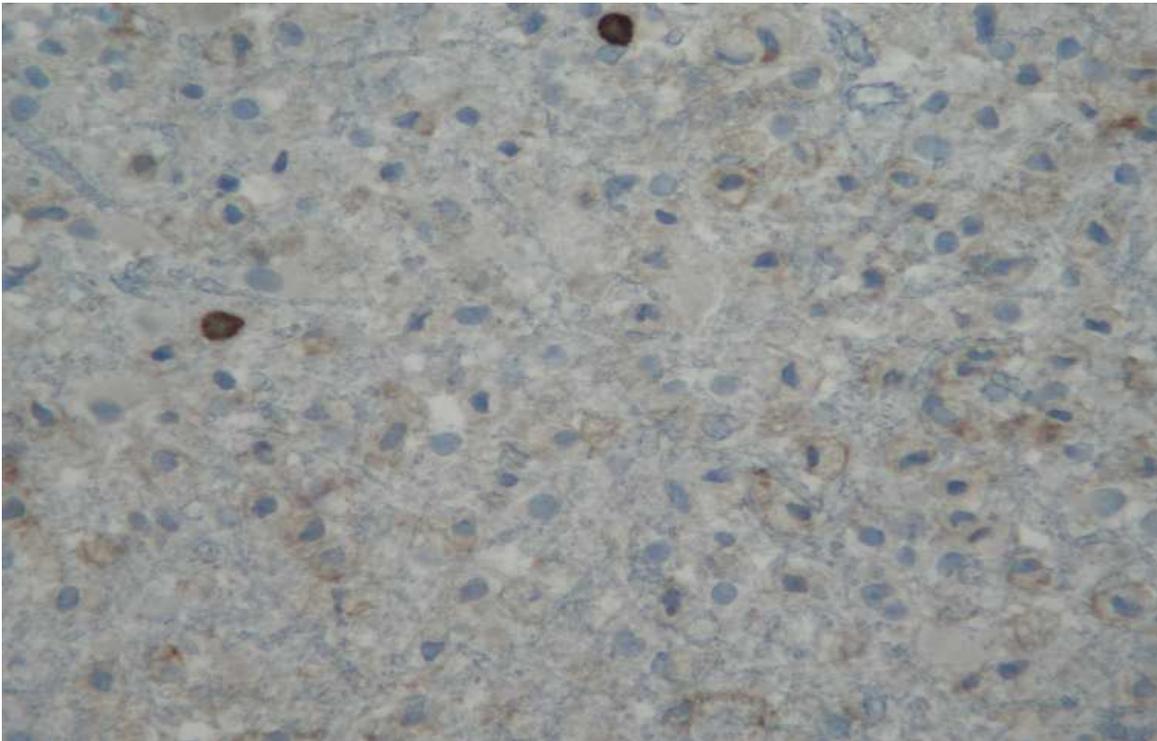


Abb.6 Lymphozyten  
Pat. N690/04; Färbung LCA, Vergr. 20-fach



**3. Fall: D2358/94:**

Geschlecht,Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 29 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: 2 subcortikale, 2 periventrikuläre Marklagerläsionen.

Cerebrales MRT: In T2-Wichtung hyperintense Veränderungen im Marklager rechts und links okzipital und frontal.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie : Etwa 6 Jahre

Vorherige neurologische Ereignisse: 4

MS-Diagnostik: Nach Poser „a“ laborunterstützt gesicherte MS, nach McDonald et al. Diagnosekriterien erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: nicht sicher bekannt

Operationsindikation: V.a. Encephalomyelitis disseminata, Hirnbiopsie.

Histologie: Es zeigt sich eine deutliche Entmarkungszone mit deutlicher aber unscharfer Grenze zum erhaltenen Myelin als Zeichen eines floriden Prozesses.

Im Entmarkungsbereich sind die Markscheiden nicht mehr erhalten, es findet sich kein erhaltenes basisches Myelinprotein (Abb. 7).

Nur vereinzelt findet man im Gewebe innerhalb der Entmarkungszone freiliegende Lymphozyten. Dort zeigt sich eine schütterere Lymphozytenreaktion in der Umgebung von dünnwandigen Venolen. Dagegen findet man innerhalb des Entmarkungsprozesses zahlreiche Makrophagen, außerdem aktivierte Mikrogliazellen (Abb. 8).

Es findet sich jedoch nur vereinzelt ein Axonschaden, der mit der NF-Färbung detektiert werden kann. Insgesamt liegt eine deutlich reduzierte Dichte an Axonen vor.

Der Myelindefekt ist glioses gedeckt und durch faserbildende Astrozyten vernarbt.

Elektronenmikroskopie: Es ist zeigt sich eine intraaxonale Akkumulation von Vesikeln und Mitochondrien, die auf einen gestörten axonalen Transport hinweisen. Die Myelinscheide ist gleichzeitig erhalten (Abb. 21).

Neuropathologische Diagnose: Floride Entmarkung mit gliöser Defektdeckung, auch immunhistochemisch nur wenige lymphozelluläre Zellelemente nachweisbar.

Abb.7 Entmarkung

Pat. D2358-94; Färbung MBP, Vergr. 40-fach

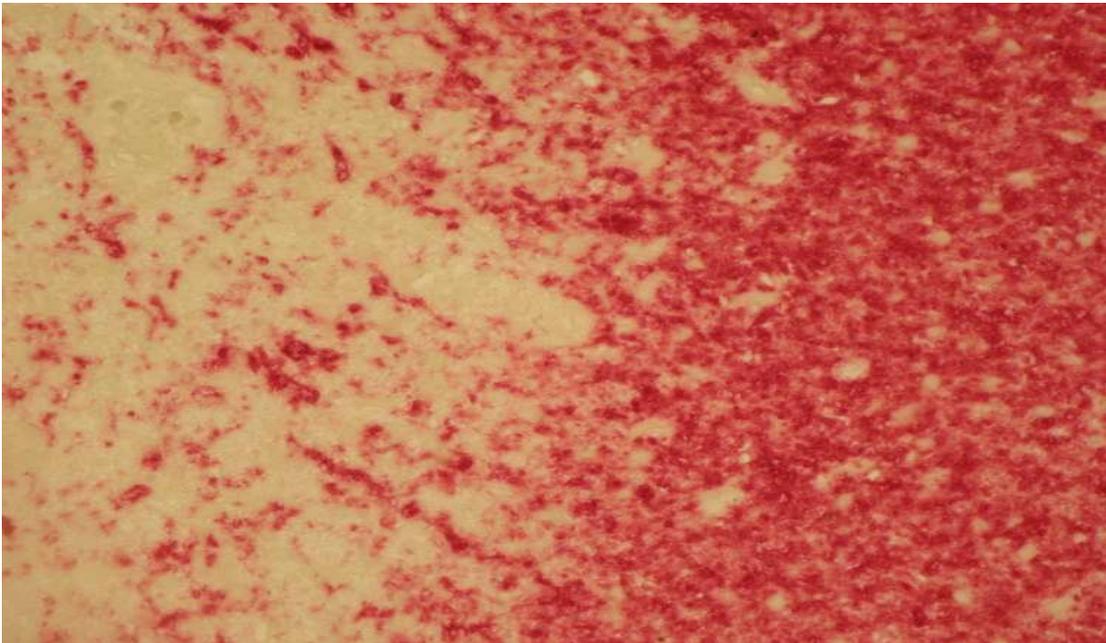


Abb.8 aktivierte Makrophagen

Pat. D2358-94; Färbung KP1; Vergr. 40-fach

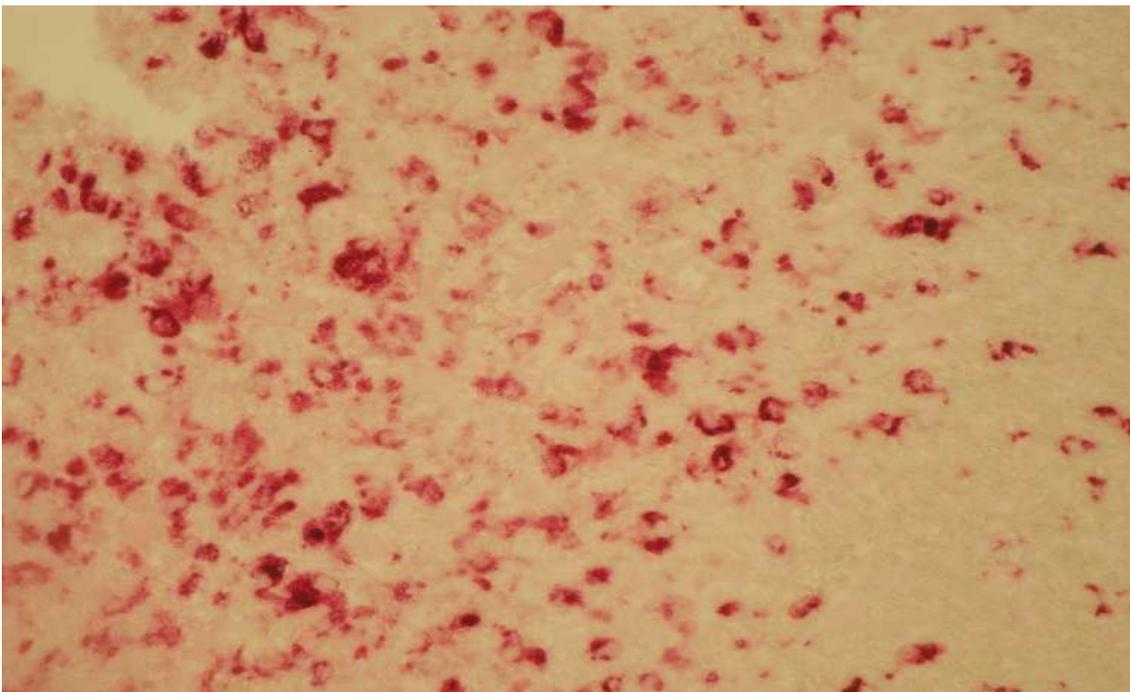
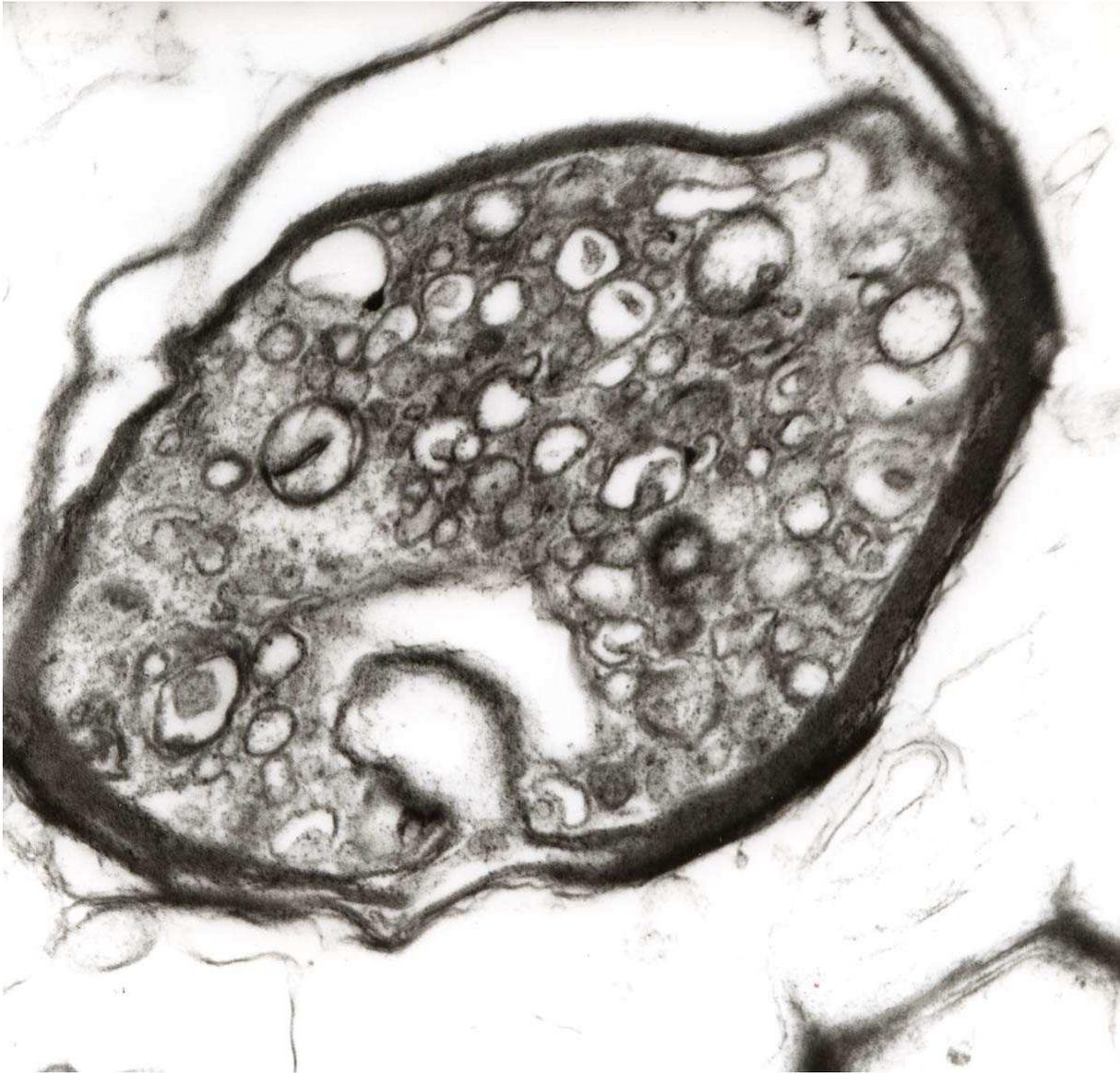


Abb. 21 intraaxonaler gestörter Transport  
Pat D2358-94; elektronenmikroskopische Abbildung; Vergr. x 3000.



**4. Fall: D1225/97:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 29 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager rechts frontal.

Cerebrales MRT: Multiple perikallosale Herde um 1cm Größe ohne Schrankenstörung.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: 2 Monate

Vorherige neurologische Ereignisse: 2

MS-Diagnostik: Nach Poser „a“ laborunterstützt gesicherte MS, nach McDonald et al. Diagnosekriterien erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: nein

Operationsindikation: Unklare Raumforderung rechts frontal. Offene Biopsie über eine rechts frontale osteoplastische Kraniotomie.

Histologie: Man erkennt in der Läsion manschettenförmig um die Venolen liegende, sowie diffus verteilt insbesondere im entmarkten Gewebe Makrophagen und Lymphozyten mit deutlichem Übergewicht der Makrophagen.

In der MBP-Färbung erkennt man an dem Ort der starken zellulären Infiltration eine starke Reduktion der Markscheiden, in diesem Gebiet zeigt sich eine starke Zellzahlerhöhung mit bevorzugter Makrophagenpräsenz (Abb. 9 und 10).

Gleichzeitig besteht eine reaktive Astrozytose.

Nur vereinzelt sind randständig APP-positive Axonschollen sichtbar, in der NF-Färbung ist ebenfalls kein quantitativ überzeugender Axonschaden erkennbar. Es liegt jedoch eine deutliche Reduktion des axonalen Gerüsts vor.

Neuropathologische Diagnose: Es besteht kein Anhalt für Malignität, vorliegende Veränderungen sind vereinbar mit einer Enzephalitis disseminata.

Abb.9 Entmarkungszone

Pat. D1225-97; Färbung MBP, Vergr. 40-fach

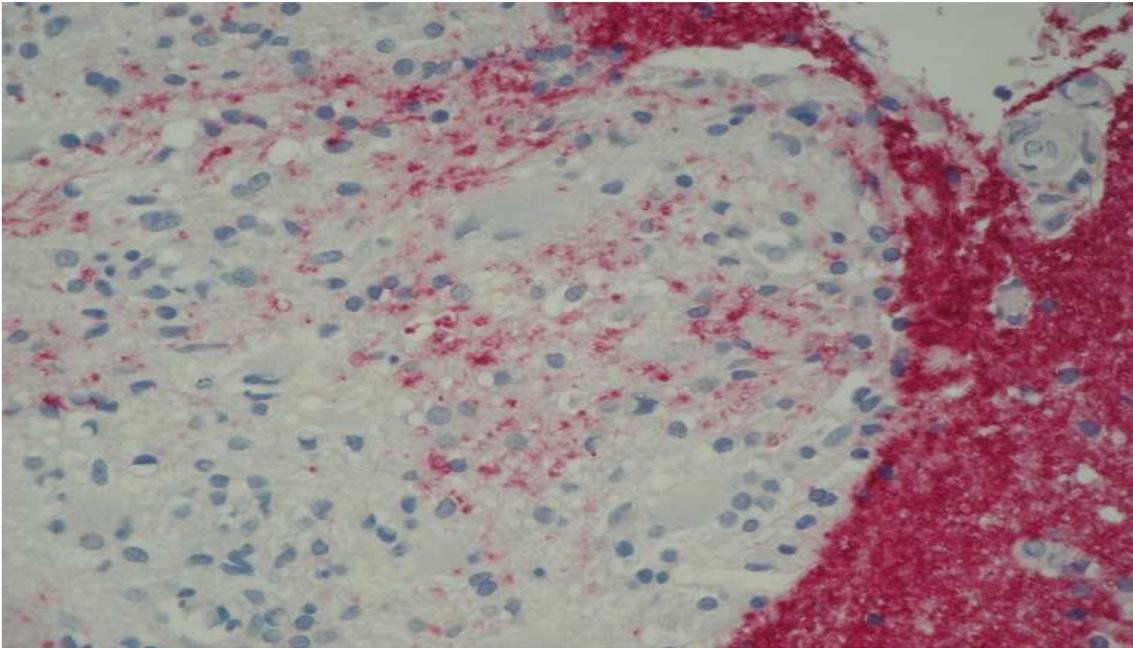
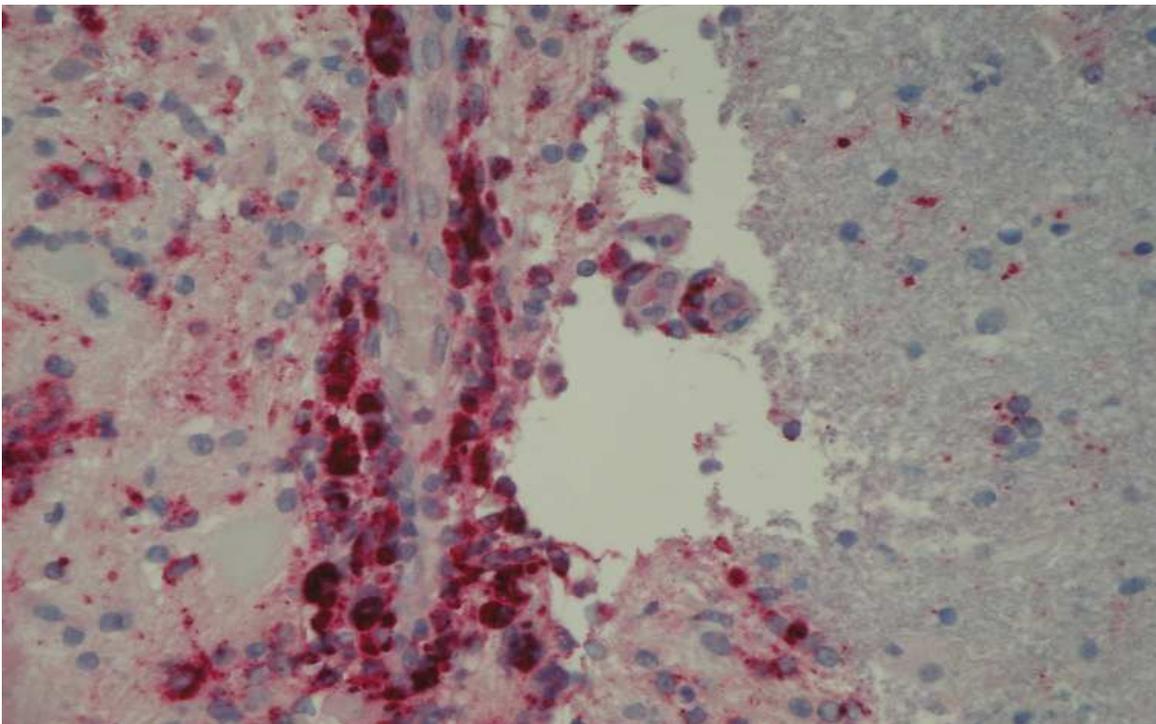


Abb.10 Makrophagen im Entmarkungsbereich

Pat. D1225-97; Färbung KP1, Vergr. 40-fach



**5. Fall: D130/99:**

Geschlecht, Alter: Männlicher Patient, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 28 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, links parietal.

Cerebrales MRT: Linkszentral und parietal zystische Raumforderung mit Schrankenstörung und begleitendem perifokalen Ödem.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Etwa 1 Monat

Vorherige neurologische Ereignisse: 1

MS-Diagnostik: Nach Poser „c“ klinisch wahrscheinlich, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: nein

Operationsindikation: Ausschluss Glioblastom. Osteoplastische Kraniotomie links parietal.

Histologie: In der Läsionsformation sieht man ein deutliches Entmarkungsareal.

Die Reaktion mit basischem Myelinprotein zeigt dort nur noch minimale Reste bemerkter Fasern, die in Arealen mit heftiger entzündlicher Infiltration liegen

In unmittelbarer Gefäßnähe liegen besonders dicht und manschettenförmig gepackte lymphozelluläre Infiltrate (Abb. 12), das Gewebe ist jedoch auch diffus durchsetzt von Lymphozyten und von Makrophagen, die fettiges Material phagozytiert haben und im Paraffin-Schnitt optisch leer erscheinen.

Außerdem sind reaktive Astrozyten sichtbar.

Die Neurofilament –Darstellung zeigt innerhalb der Entmarkungszonen außerordentlich zahlreiche Axonschollen, in denen die Neurofilamente aufgestaut sind und der Axondurchmesser enorm vergrößert ist im Sinne von terminalen Axonovoiden. Die Axondichte ist reduziert (Abb. 11). Ebenfalls sind in dem Entmarkungsgebiet deutliche und zahlreiche Axonschollen in der APP-Färbung sichtbar.

In den Entmarkungsarealen finden sich außerordentlich zahlreiche Makrophagen, jedoch auch T-Zellen.

Die perivaskulären lymphozellulären Manschetten sind ebenfalls an ihrem äußeren Rand von Makrophagen gesäumt.

B-Zellen lassen sich in den entzündlichen Infiltraten nur ganz vereinzelt beobachten.

Der überwiegende Teil der Lymphozyten besteht aus T4-Lymphozyten.

Teilweise Nekrose.

Neuropathologische Diagnose: Entmarkungsprozeß mit lymphozellulärer Entzündung und reaktiver Gliose.

Abb.11 Axonschollen  
Pat. D130-99; Färbung NF, Vergr. 40-fach

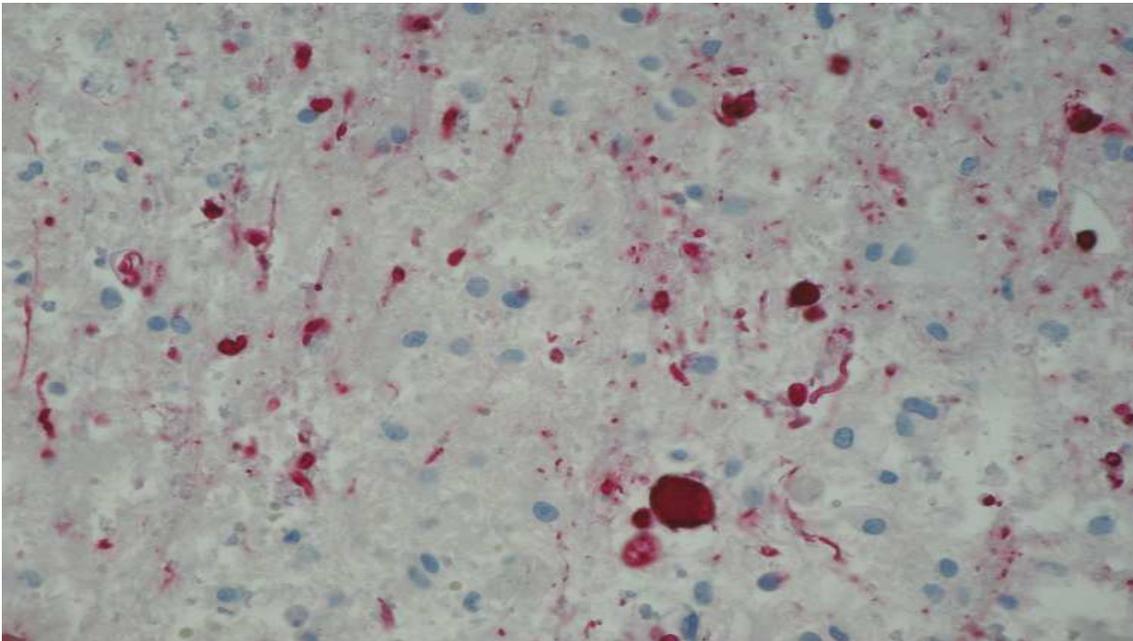
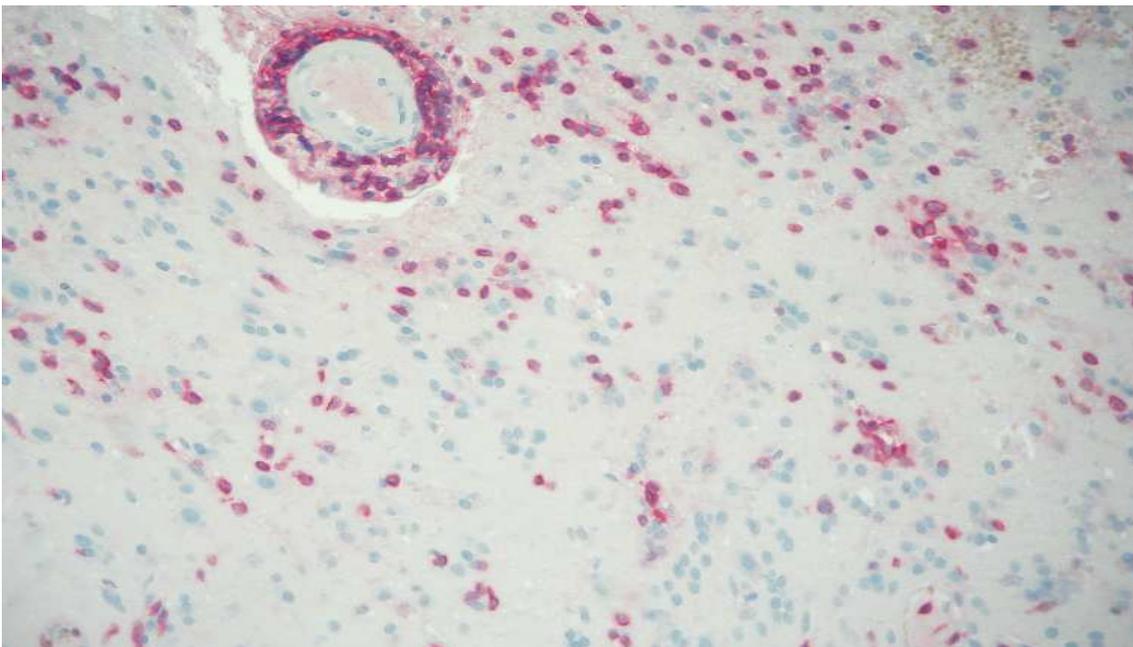


Abb.12 perivaskuläre Lymphozytenmanschette  
Pat. D130-99; Färbung LC, Vergr. 20-fach



**6.Fall: D1051/96:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 50J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, links parietal.

Cerebrales MRT: Etwa 2 cm im Durchmesser betragender kontrastmittelanreichernder Herd links-zentral und ein hyperintenses Areal im oberen Ponsgebiet rechts.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Etwa 5 Wochen.

Vorherige neurologische Ereignisse: 2

MS-Diagnostik: Nach Poser „c“ klinisch wahrscheinlich, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht sicher erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: ja

Operationsindikation: V.a. Lymphom. Stereotaktische Biopsie.

Histologie: Es zeigt sich im Zentrum der Läsion eine starke Reduktion der Markscheiden.

Ebenso zeigt sich eine starke Reduktion der Neurofilamente.

Lediglich in der Mitte des kleinen Biopsates erkennt man eine stärkere Anfärbung dieser Strukturen. In diesem Bereich finden sich nur vereinzelt Makrophagen, kein Nachweis von Lymphozyten diffus im Gewebe.

Kein Nachweis von Axonschollen mit der APP oder NF-Färbung. Insgesamt deutlich reduzierte Axondichte.

In der Peripherie des Biopsates ist das Hirngewebe zusätzlich mikrovakuolär, ödematös aufgelockert. Insgesamt liegt das Bild einer diskreten Marklagerläsion im Sinne eines Entmarkungsprozesses mit sehr geringer entzündlicher Reaktion und ohne Hinweis auf einen akuten Axonschaden vor.

Neuropathologische Diagnose: Hirngewebe mit einer diskreten Marklagerläsion im Sinne eines Entmarkungsprozesses, es handelt sich in erster Linie um eine multiple Sklerose mit pseudotumoröser Manifestation. Ein Anhalt für Tumorwachstum ergibt sich nicht.

**7. Fall: D1347/95:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 25 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, rechts frontal.

Cerebrales MRT: Multiple , deutlich perifokal kontrastmittelanreichernde Raumforderungen.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Etwa 5 Jahre

Vorherige neurologische Ereignisse: 2

MS-Diagnostik: Nach Poser „b“ klinisch wahrscheinlich, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht sicher erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: ja

Operationsindikation: Unklare multiple cerebrale Raumforderungen. Stereotaktische Biopsie.

Histologie: In der Läsion liegt eine deutliche Entmarkung vor.

Im Entmarkungsbereich erkennt man eine diskrete Zellzahlerhöhung und eine diffuse perivaskulär betonte Fasergliose.

In einem Bereich zeigt sich eine hydropische Schwellung der Markscheiden, hier zeigt sich eine schütterere Infiltration durch Lipid speichernde Makrophagen mit Zeichen der aktiven Phagozytose. Die Reaktion in diesem Bereich mit dem Pan-Lymphozytenmarker LCA verläuft negativ.

Außerdem erscheinen die Axone in der NF und APP-Färbung überwiegend intakt erhalten, es findet sich allenfalls vereinzelt eine APP-positive Axonscholle oder eine perlschnurförmige Konfiguration bei der NF-Färbung. Insgesamt liegt jedoch eine deutlich reduzierte Axondichte vor.

Neuropathologische Diagnose: Es handelt sich insgesamt um Hirngewebe mit massiver Gliose und herdförmigem Markscheidenzerfall bei erhaltenen Axonen. Es liegt ein hochgradiger Verdacht auf einen Entmarkungsprozess vor. Für eine Vaskulitis oder ein Tumorwachstum gibt es keinen Anhalt.

**8. Fall: D921/91:**

Geschlecht, Alter: Männlicher Patient, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 21 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, rechts zentral.

Cerebrales MRT: Multiple, max. 2cm große in den T2-Sequenzen hyperintense, nach Kontrastmittelgabe z.T massiv anreichernde Herde periventrikulär und in beiden Temporallappen. Kleinere Herde in der Pons.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Etwa 4 Wochen

Vorherige neurologische Ereignisse: 3

MS-Diagnostik: Nach Poser „a“ klinisch gesichert, nach McDonald et al. Diagnosekriterien erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: ja

Operationsindikation: V.a. MS. Stereotaktische Biopsie.

Histologie: Es findet sich eine deutliche, perivaskulär betonte Zellzahlerhöhung mit einer diffusen Infiltration des Gehirngewebes durch mononukleäre Zellen (Abb. 13).

In der Markscheidenfärbung zeigt sich eine deutliche Entmarkung, viele Markscheiden sind beträchtlich aufgetrieben und verschmälert.

Die immunhistochemische Darstellung der Leukozyten zeigt allenfalls eine leichte Infiltration des Gehirngewebes.

B-Lymphozyten kommen nicht vor, T-Lymphozyten können nur als eine äußerste Ausnahme nachgewiesen werden.

Dagegen zeigt sich eine starke Markierung bei der Darstellung von Makrophagen mit einer intensiven diffusen Infiltration, mit einer perivaskulären Akzentuierung und Zeichen der aktiven Phagozytose mit MBP-positiven Fettkörnchenzellen.

Hinsichtlich der astrozytären Reaktion ist eine starke faserige Gliose und Proliferation von reaktiven Astrozyten in dem stark entmarktem Gebiet zu finden (Abb. 14).

Eine axonale Schädigung ist dagegen kaum nachzuweisen. Allenfalls lassen sich vereinzelt APP-positiv Axonschollen darstellen. Es liegt jedoch eine deutlich reduzierte Axondichte vor.

Neuropathologische Diagnose: Insgesamt handelt es sich um einen schweren fokalen entzündlichen Entmarkungsprozess mit im Vordergrund stehenden Zeichen des Abbaus und der Abräumung, sowie der reaktiven Astrogliose.

Abb.13 Makrophagen und zelluläre Infiltration  
Pat. D921-91; Färbung H.E., Vergr. 20-fach

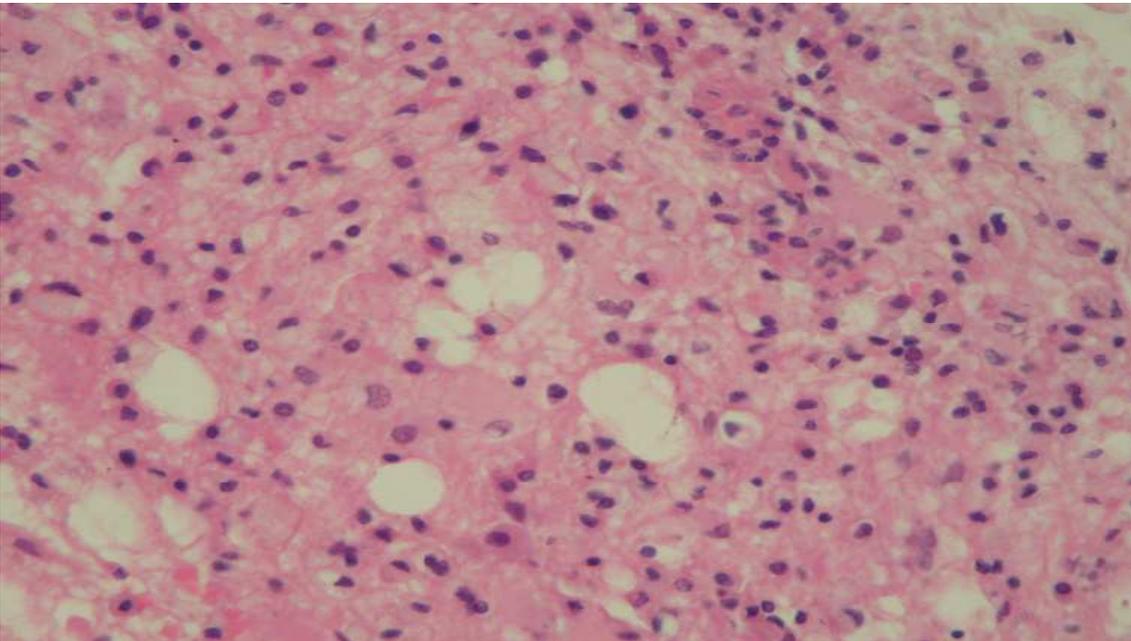
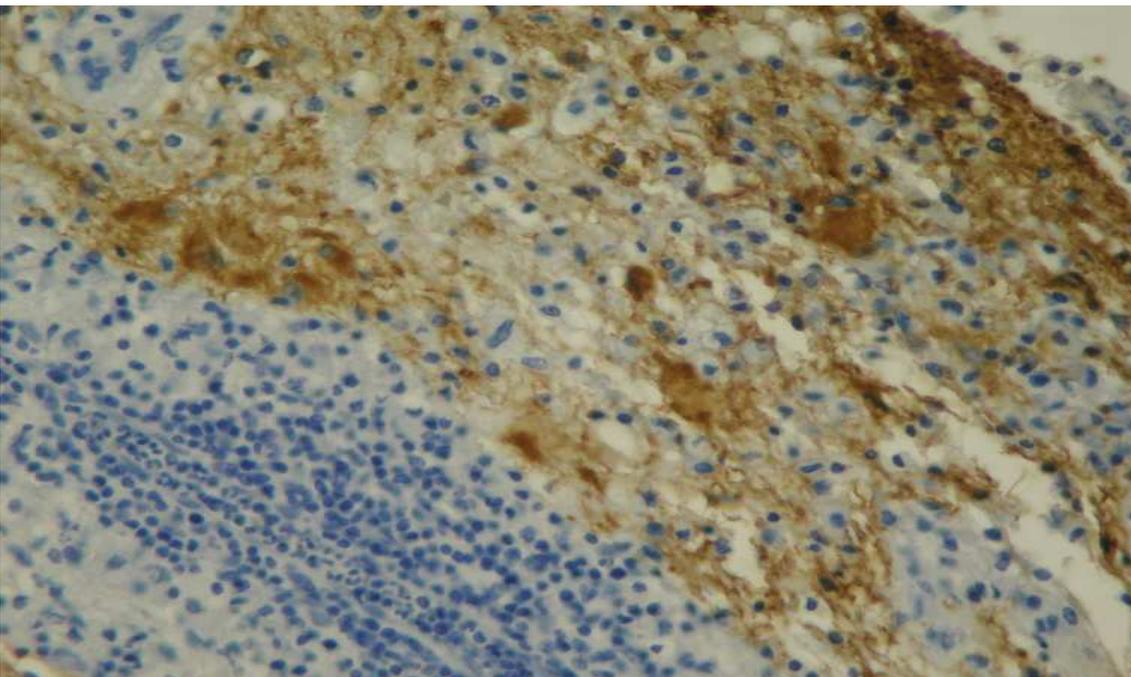


Abb.14 perivaskuläre Entzündung, reaktive Astrogliose  
Pat. D921-91; Färbung GFAP, Vergr. 20-fach



**9. Fall: 05/92:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 45 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, rechts parietal.

Cerebrales MRT: T2-hyperintense Areale in den Marklagern beidseits periventrikulär bis in den Stammganglienbereich reichend mit geringem inhomogenem Kontrastmittelenhancement in T1-Wichtung.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Etwa 7 Monate

Vorherige neurologische Ereignisse: 1

MS-Diagnostik: Nach Poser „c“ klinisch wahrscheinlich, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: keine Angaben

Operationsindikation: V.a MS. Stereotaktische Biopsie.

Histologie: Es findet sich eine mäßige zelluläre Infiltration mit bevorzugter perivaskulärer Zellzahlerhöhung.

Es zeigen sich großleibige Zellen mit optisch leerem Inhalt, die am ehesten Makrophagen entsprechen.

Daneben zeigt sich eine deutliche Gliose.

Eine akute axonale Schädigung ist kaum nachzuweisen. Es liegt jedoch eine deutlich reduzierte Axondichte vor.

Neuropathologische Diagnose: Relativ zellarmes Gewebe mit deutlicher Gliose und perivaskulären Infiltraten. Insgesamt besteht der Verdacht auf eine MS. Tumorgewebe ist nicht nachweisbar.

**10.Fall: D402/93:**

Geschlecht, Alter: Männlicher Patient, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 43 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebral, rechter Stammganglienbereich.

Cerebrales MRT: Im Bereich der inneren Kapsel und des Thalamus rechts hyperintenser Herdbefund bis an das Ventrikelsystem heranreichend mit zartem Enhancement nach KM-Applikation.

Zeitspanne 1.klin.Ereignis-Biopsie: Etwa 2 Monate

Vorherige neurologische Ereignisse: 1

MS-Diagnostik: Nach Poser“a“ klinisch wahrscheinlich, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: ja

Operationsindikation: V.a. Astrozytom. Stereotaktische Biopsie.

Histologie: Es zeigt sich eine mäßiggradige Entmarkung mit im Vordergrund stehender diffuser Infiltration von Makrophagen, die sich in der KP-1-Färbung positiv darstellen und als Fettkörnchenzellen imponieren.

Ebenso mäßig zeigt sich eine astrozytäre Fasergliose.

Es finden sich kaum Zeichen eines akuten axonalen Schadens. Es liegt jedoch eine deutlich reduzierte Axondichte vor.

Neuropathologische Diagnose: Insgesamt lassen sich reaktive Veränderungen mit Markscheidenabbau und Astrogliose erkennen. Es liegt kein Anhalt für das Vorliegen eines Tumors vor.

**11. Fall: D995/97:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 44 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, links frontal.

Cerebrales MRT: Multiple Raumforderungen im Bereich des Marklagers beider Hemisphären.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Etwa 3 Monate

Vorherige neurologische Ereignisse: 2

MS-Diagnostik: Nach Poser "a" klinisch gesichert, nach McDonald et al. Diagnosekriterien erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: ja

Operationsindikation: V.a. MS. Stereotaktische Biopsie.

Histologie: Es zeigt sich ein Bereich mit geringer Myelinschädigung.

Die Markscheiden-Färbung und die Reaktion gegen das basische Myelinprotein zeigen eine Auflockerung und Rarefizierung des Myelins, keinesfalls liegt aber eine schwere Entmarkung vor. Es findet sich dort eine geringe perivaskulär betonte lymphozytäre Infiltration (Abb. 16), bei jedoch stärkerer und deutlich im Vordergrund stehender Präsenz von Makrophagen, die sich mit Hilfe der KP1-Färbung deutlich nachweisen lassen und auch diffus im Gewebe auftreten (Abb. 15). Teilweise zeigt sich eine beginnende schaumzellige Abwandlung.

Ebenfalls kaum Nachweis eines Axonschadens mittels der APP-Färbung, bei insgesamt deutlich reduzierter Axondichte.

Allenfalls vereinzelt sind APP-positive Axonschollen nachweisbar.

Neuropathologische Diagnose: Lymphozytäre Leukenzephalitis mit bizarrer Astrogliose unter Beteiligung der Oligodendroglia mit geringer Myelinschädigung.

Abb. 15 Makrophagen, Astrogliose  
Pat. D995-97; Färbung KP1, Vergr. 40-fach

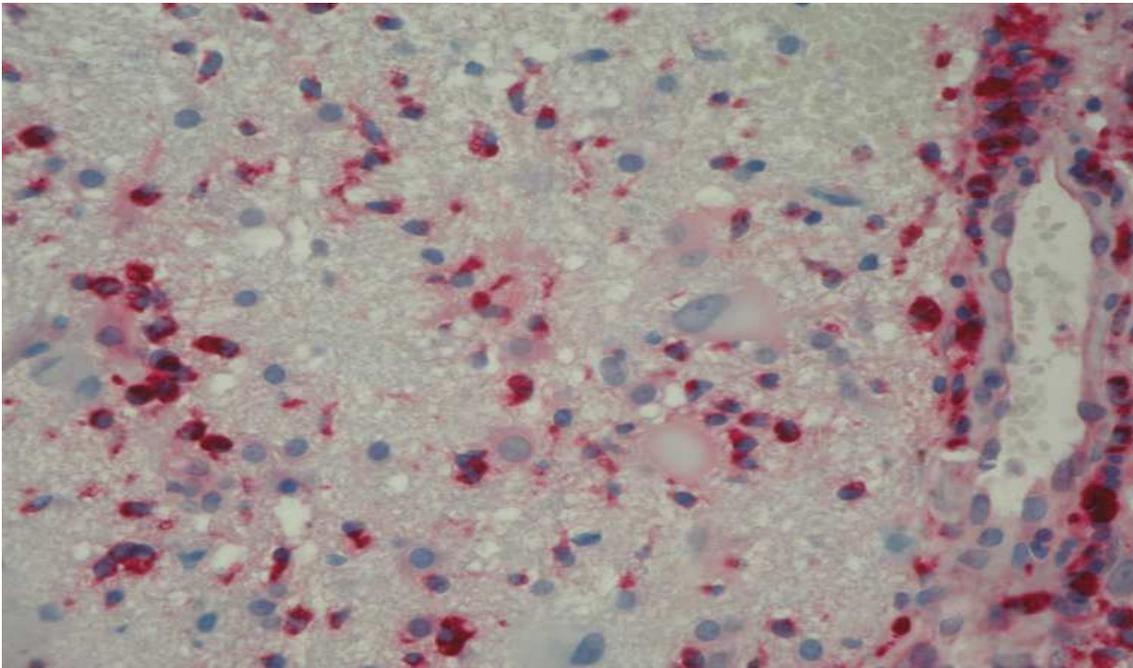
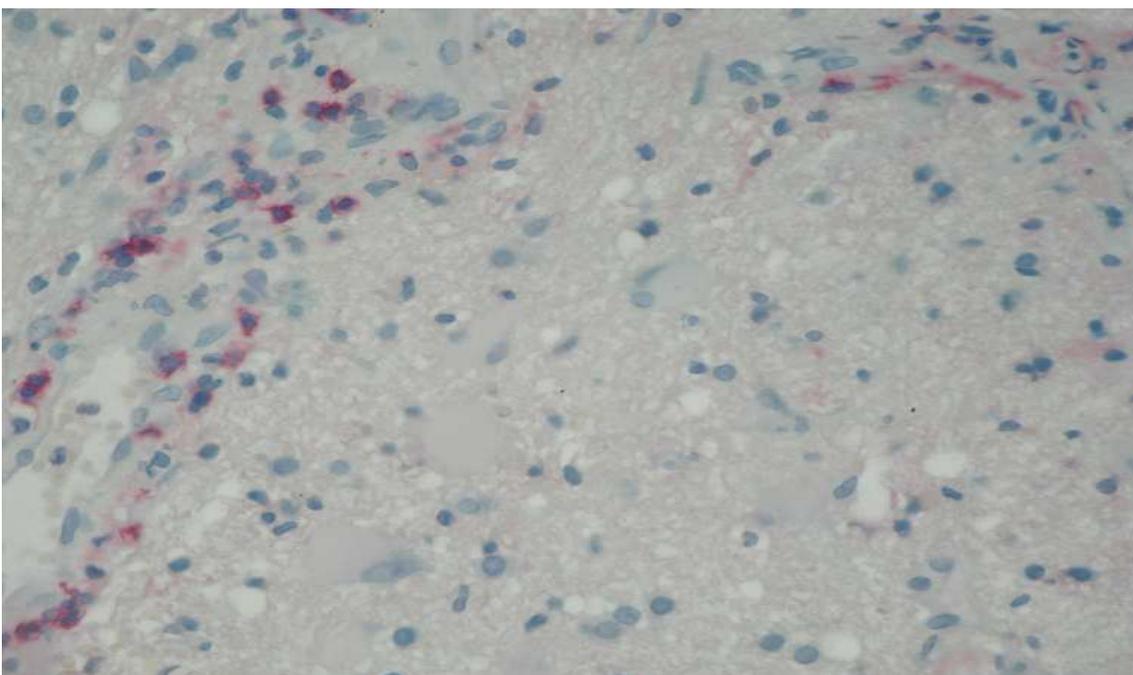


Abb. 16 in Kontrast dazu nur vereinzelt Lymphozyten  
Pat. D995-97; Färbung LC; Vergr. 40- fach



**12.Fall: N1044/06:**

Geschlecht, Alter: Männlicher Patient, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 28 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, links parietal zentral.

Cerebrales MRT: Zentral gelegene, KM-anreichernde, links parietale Läsion von 2-3 cm Größe.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Etwa 4 Wochen

Vorherige neurologische Ereignisse: 1

MS-Diagnostik: Nach Poser "c" laborunterstützt gesicherte MS, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: keine Angaben

Operationsindikation: V.a. höhergradiges Gliom. Stereotaktische Biopsie.

Histologie: Es zeigt sich ein Bereich mit deutlicher fast vollständiger Entmarkung. In diesem Bereich liegen zahlreiche Myelin phagozytierende Makrophagen. Gleichzeitig deutlich APP-positive Axonschollen als Zeichen der akuten Axonschädigung. Außerdem reduzierte Axondichte. Lymphozytäre Zellelemente sind seltener als Makrophageninfiltrate zu sehen und liegen außerdem deutlicher perivaskulär akzentuiert. Es zeigen sich im Entmarkungsgebiet relativ plumpe reaktive Astrozyten.

Neuropathologische Diagnose: Entzündlich entmarkender ZNS-Prozess.

**13.Fall: 24040/05=D01/06:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 40 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, links posterior parietal.

Cerebrales MRT: Multiple periventrikuläre Marklagerläsionen bds.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: 4-6 Wochen

Vorherige neurologische Ereignisse: 3

MS-Diagnostik: Nach Poser „a“ klinisch gesichert, nach McDonald et al. Diagnosekriterien nicht sicher erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: ja

Operationsindikation: V. a. tumorösen Prozess. Offene Biopsie.

Histologie: Es zeigt sich zentralnervöses Gewebe mit reaktiver Astrogliose, Spongiose, Entmarkung und perivasal und interstitieller T-Zell-Infiltration, am ehesten einer demyelinisierenden Enzephalitis (ADEM, MS) entsprechend.

Es können Myelinfragmente im Zytoplasma von Makrophagen nachgewiesen werden, die sich diffus im Gewebe, akzentuiert perivaskulär, befinden.

In den noch nicht entmarkten Abschnitten liegen Fragmentationen und Auftreibungen des Myelins vor.

Mit dem Antikörper NF werden in den demyelinisierten Abschnitten die leicht gelichteten und partiell aufgetriebenen Axone dargestellt (Abb. 18).

Mit dem Antikörper NF gelingt ebenfalls eine deutliche Darstellung von Axonschollen (Abb. 18). Diese lassen sich als Zeichen des akuten Axonschadens auch in der APP-Färbung darstellen (Abb. 17).

Außerdem liegt insgesamt eine reduzierte Axondichte vor.

Mit dem Makrophagenmarker KP1 kann eine diffuse Aktivierung der Mikroglia und zahlreiche Schaumzellen dargestellt werden (Abb. 19).

Das entzündliche Infiltrat, das sowohl im Gewebe als auch perivasal nachzuweisen ist, besteht zu einem weitaus geringeren Teil aus T-Zellen, sowohl aus Helferzellen (CD 4 -Positivität) als auch aus zytotoxischen T-Zellen (CD8-Positivität) (Abb. 20).

CD 79a-positive B-Zellen lassen sich nicht erkennen.

Die großleibigen Astrozyten sind GFAP-positiv, z.T. mehrkernig und reaktiv verändert.

Neuropathologische Diagnose: Zentral nervöses Gewebe mit reaktiver Astrogliose, Spongiose, Entmarkung und perivasaler und interstitieller T-Zell-Infiltration, am ehesten einer demyelinisierenden Enzephalitis entsprechend. Keine Parasiten, kein Anhalt für Tumorwachstum, kein Anhalt für Spezifität.

Abb.17 Axonschollen  
Pat. D01-06, Färbung APP, Vergr. 20- fach



Abb.18 Axonschollen  
Pat. D01-06; Färbung NF, Vergr. 20-fach

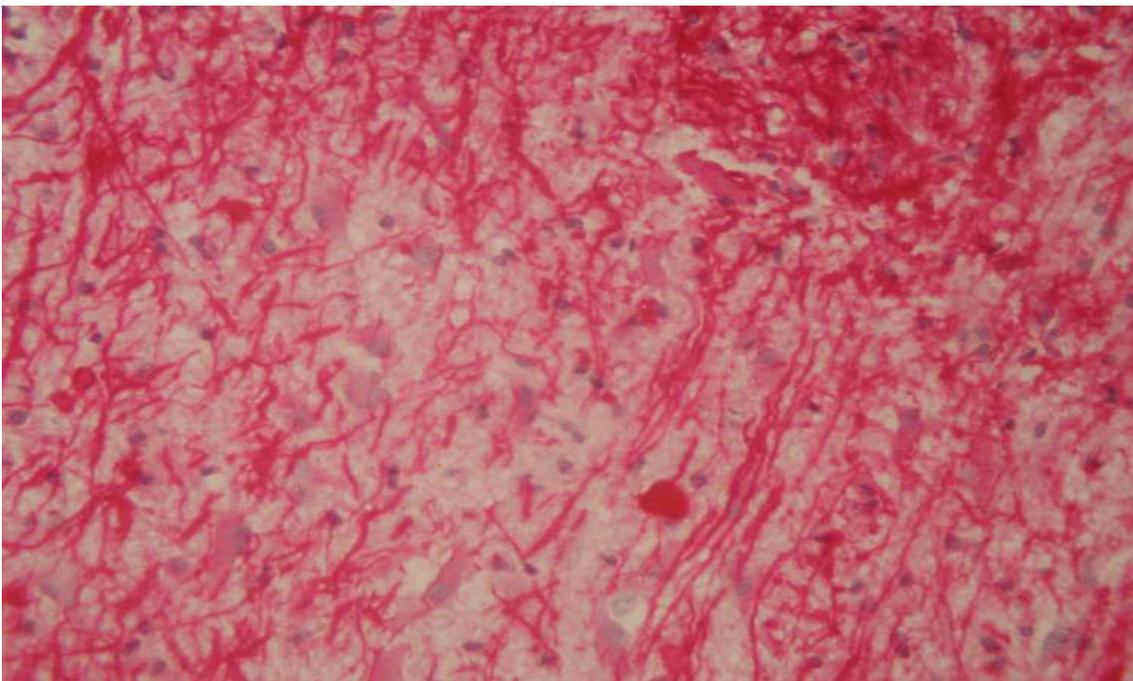


Abb.19 aktivierte Makrophagen  
Pat. D01-06; Färbung KP1, Vergr. 20-fach

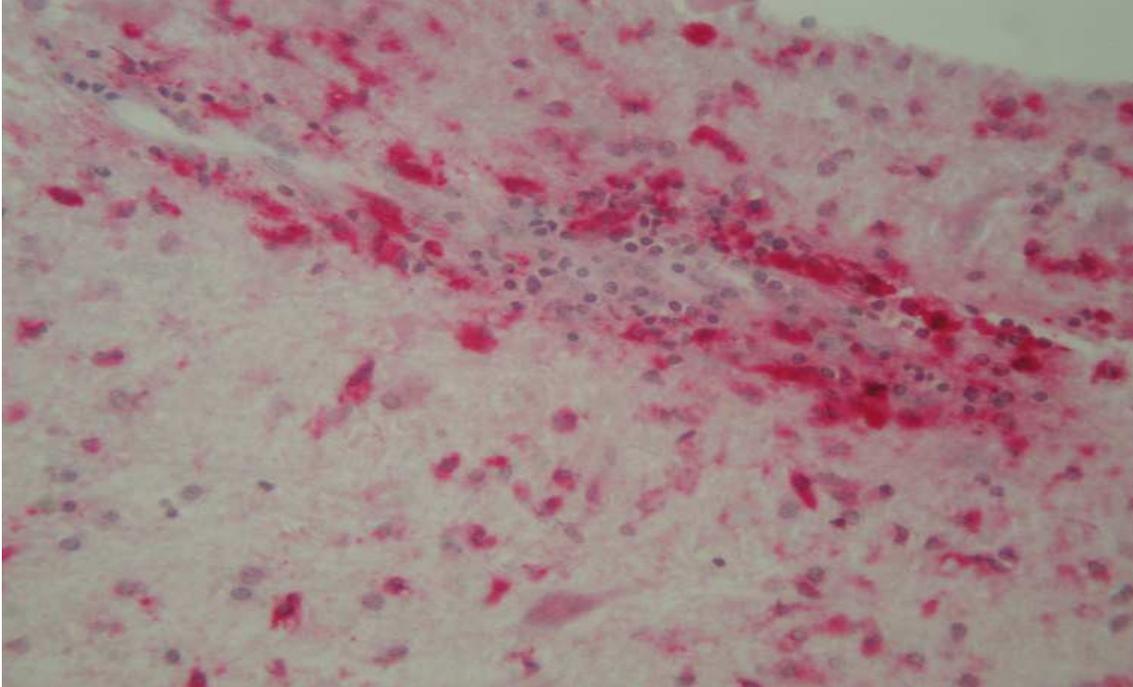
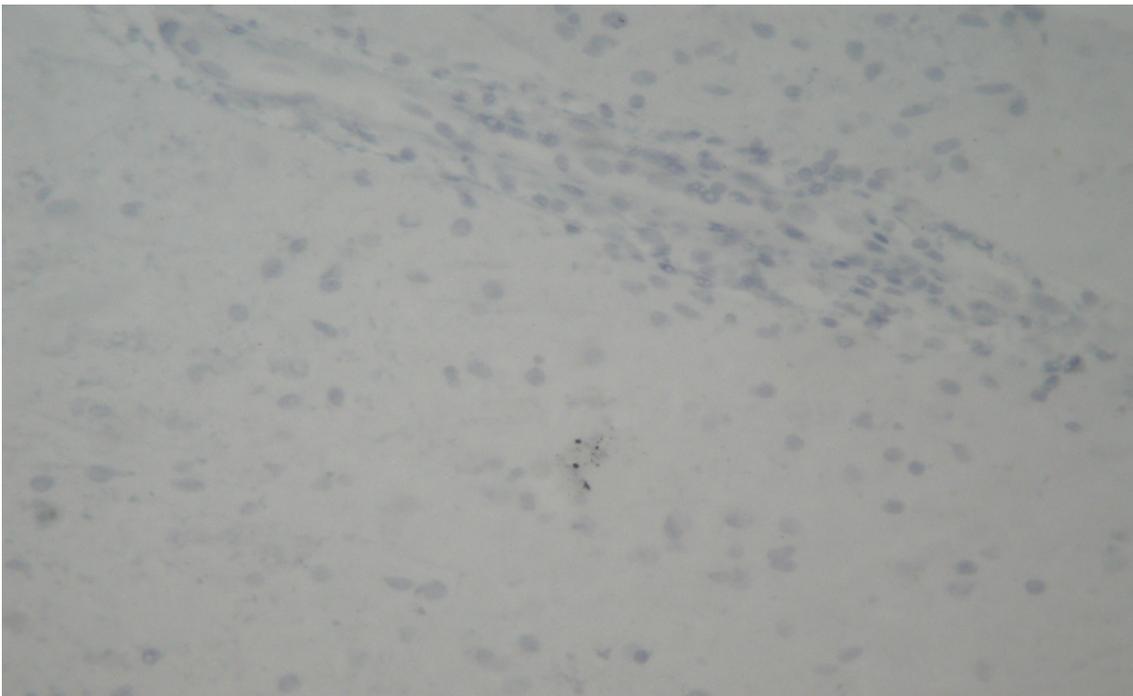


Abb.20 keine lymphozytäre Reaktion  
Pat. D01-06; Färbung CD8, Vergr. 20-fach



**14. Fall: N01614/04:**

Geschlecht, Alter: Männlicher Patient, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 40 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager, rechts temporal.

Cerebrales MRT: Keine Aussage möglich.

Zeitspanne 1.klin. Ereignis-Biopsie: Keine Aussage möglich.

Vorherige neurologische Ereignisse: 1

MS-Diagnostik: Keine Aussage möglich.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: keine Angaben

Operationsindikation: V.a. Gliom. Stereotaktische Hirnbiopsie.

Histologie: Man erkennt einen relativ scharf abgegrenzten entmarkten Bereich.

Man erkennt hierin schaumzellig umgewandelte Makrophagen und ein diffuses sowie perivaskulär akzentuiertes, entzündliches, lymphozytäres Infiltrat, welches jedoch weniger ausgeprägt als die Makrophageninfiltration erscheint.

Gleichzeitig kommen plumpe, reaktiv veränderte Astrozyten mit Bildung einer diffusen Fasergliose zur Darstellung.

Innerhalb der Läsion liegen deutliche axonale Ballons als Zeichen der Axonschädigung vor und eine reduzierte Axondichte.

Neuropathologische Diagnose: Entzündlich entmarkende ZNS-Läsion, vereinbar mit einer Erkrankung aus dem Formenkreis der Multiplen Sklerose.

**15. Fall: N00213/02:**

Geschlecht, Alter: Weibliche Patientin, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 33 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager

Cerebrales MRT(unter Vorbehalt): Multiple rundliche Herde bds. Mit geringgradiger Kontrastmittelaufnahme.

Zeitspanne 1.klin.Ereignis-Biopsie: nicht bekannt

Vorherige neurologische Ereignisse: nicht bekannt

MS-Diagnostik: nicht bekannt

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: keine Angaben

Operationsindikation: V.a. Lymphom, DD hirneigener Tumor, Astrozytom, stereotaktische Probenentnahme.

Histologie: In dem vorliegenden Präparat ist ein weitgehender Myelinverlust mit nur vereinzelt Myelinscheiden zu sehen. Vereinzelt sind Makrophagen mit Myelinproteinen als Zeichen einer aktiven Entmarkung zu finden. Die CD68-positiven Makrophagen sind perivaskulär akzentuiert, ebenfalls perivaskulär betont liegen CD3-positive Entzündungszellen, etwa die Hälfte von diesen gehört der CD8-Zellpopulation an. CD20-positive B-Zellen sind nicht vorhanden. Es sind APP-positive Axonschollen, als Zeichen der Transportstörung und akuten axonalen Schädigung vorhanden. Das Axongerüst erscheint geringgradig reduziert. Außerdem zeigen sich zahlreiche reaktive Astrozyten.

Neuropathologische Diagnose: Entzündlich-entmarkender ZNS-Prozess, Korrektur der Diagnose Astrozytom Grad III.

**16.Fall: 1797-06:**

Geschlecht, Alter: Männlicher Patient, Alter zum Zeitpunkt der Biopsie: 54 J.

Neurotopologische Einordnung des Biopsates: Cerebrales Marklager

Cerebrales MRT: Links am Hinterhorn, links im Centrum semiovale und links am Thalamusrand gelegene Schrankenstörung mit umgebendem Ödem. Kleine Schrankenstörung auch bds. pontin.

Zeitspanne 1.klin Ereignis-Biopsie: Etwa 1 Jahr

Vorherige neurologische Ereignisse: 1

MS-Diagnostik: Nach Poser „c“ klinisch wahrscheinliche MS, nach McDonald et al. Diagnosekriterien erfüllt.

Therapie mit Glukokortikoiden vor Operation: keine Angaben

Operationsindikation: Re-Biopsie bei Vordiagnose eines Astrozytoms Grad I, neue DD: multifokales Gliom DD Lymphom. Biopsie, exakte Probenentnahme nicht bekannt.

Histologie: Man sieht Marklager mit aufgelockerter Gewebematrix. In der entmarkten Läsion zeigen sich diffuse rundzellige Infiltrate, die sich als CD3- und CD8-positive Lymphozyten erweisen, CD20-positive Zellen sind nicht zu detektieren. Man sieht außerdem schaumig umgewandelte Makrophagen, ohne PAS-positives Material. Das axonale Gerüst ist gut erhalten, nur vereinzelt sind geschädigte Axone zu finden, jedoch keine sicheren Spherioide. Das Axongerüst ist überwiegend erhalten.

Neuropathologische Diagnose: Entzündlich-demyelinisierende ZNS-Läsion.

Zusammenfassend sind bei 6 Patienten die klinischen Diagnosekriterien nach McDonald et al. erfüllt gewesen. In 2 Fällen (D487/03, 1797/06) ist neuropathologisch die Erstdiagnose falsch als Astrozytom eingeschätzt worden. In 9 Fällen erfolgte die Biopsie aufgrund der Verdachtsdiagnose eines primären oder metastatischen tumorösen Prozesses.

#### **4. Diskussion**

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, den aktuellen Wissensstand über die Läsionsformation der Multiplen Sklerose in klinisch frühen Phasen und während der ersten Krankheitsmanifestationen zu ergänzen.

Außerdem werden diese morphologischen Veränderungen in einer Multiplen Sklerose-Läsion in konkreten Bezug zu klinischen Daten wie Krankheitsdauer und vorhergegangene Anzahl klinischer Ereignisse gesetzt.

Einschränkend ist anzumerken, daß die definitive Diagnose einer Multiplen Sklerose in der Mehrzahl der Fälle klinisch nicht gestellt werden konnte bzw. wurde, was zu einer operativen Indikation, zumeist unter der Verdachtsdiagnose eines tumorösen Prozesses geführt hat.

Die histologische Diagnose war dann mit einer entzündlichen Erkrankung aus dem Formenkreis der Multiplen Sklerose vereinbar, oder fand zumindest keine eindeutigen Hinweise, die die klinisch differentialdiagnostisch in Betracht zu ziehenden Erkrankungen belegen würden.

In 4 Fällen war die klinische Verdachtsdiagnose am ehesten die einer chronisch entzündlichen ZNS-Erkrankung aus dem Formenkreis der Multiplen Sklerose und in 3 von diesen 4 Fällen waren formal auch die Diagnosekriterien nach McDonald et al. hierfür erfüllt. Diese Konstellation wirft einerseits kritische Fragen über eine möglicherweise mangelhafte interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Neuroradiologie, Neurochirurgie und Neurologie auf. Denn üblicherweise sollte die primäre Verdachtsdiagnose einer MS nicht zu einer operativen Intervention führen müssen. Andererseits werden anhand dieser Fälle gleichzeitig die Grenzen formaler Diagnosekriterien deutlich, die gerade bei einem akuten und teilweise dramatischem Krankheitsverlauf trotz paraklinischen und klinischen Hinweisen für die entsprechende Diagnose eine endgültige Sicherheit nicht liefern können. Denn wie schon bei Poser und Brinar steht: ``MS is what a good clinician would call MS`` (Poser, Brinar, Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review, p. 158, 2004).

Doch auch nach langjähriger klinischer Erfahrung bleibt der interindividuelle Krankheitsverlauf so variabel und die Anzahl der möglichen und teilweise rasch letal verlaufenden Differentialdiagnosen so vielfältig, dass, wie auch an diesen Beispielen deutlich wird, erst die histologische Untersuchung, als letzte Instanz, eine Sicherung erbringen kann; zumal zur Diagnosestellung der Multiplen Sklerose auch der Ausschluss differentialdiagnostisch ähnlicher Krankheitsbilder gehört. Ob und wann die histologische Untersuchung durchzuführen ist, sollte jedoch gerade bei dem Vorhandensein klar definierter Diagnosekriterien mit größter Sorgfalt bedacht und nur als ultima ratio anzuwenden sein.

Es ist aufgrund mangelnder Dokumentationen statt von einem Schub mit seiner aktuellen Definition von abgrenzbaren neu aufgetretenen klinischen Ausfällen, die länger als 24 Stunden dauern, abzusehen und im Folgenden stattdessen von einem klinischen Ereignis auszugehen, welches aber retrospektiv am ehesten als Schub bewertet werden kann.

Die im Folgenden erläuterten Einschätzungen der vorliegenden Ergebnisse sind aufgrund der insgesamt relativ niedrigen Fallzahl und individueller Krankheitsvorgeschichten dadurch konsequenterweise nur eingeschränkt auf eine größere Allgemeinheit anwendbar.

In unserer Untersuchung konnte in 6 der 16 untersuchten Fälle ein schwerer akuter Axonschaden beobachtet werden, in allen Fällen sind, teils vereinzelt vorliegende, akute Axonschädigungen zu finden.

Der Nachweis des akuten Axonschadens gelang in der neuesten Literatur u.a. im Rahmen von Untersuchungen des hypoxischen oder ischämischen Hirnschadens, vorwiegend anhand der

APP-Färbung, die eine axonale Transportstörung für einen Zeitraum von etwa 30 Tagen detektiert (Li et al. 1995, Bitsch et al., 2000, Kuhlmann et al., 2002). Ein gleichartiger Axonschaden mit derselben Färbemethode ist außerdem in chronisch entzündlichen ZNS-Läsionen wie der Multiplen Sklerose zu sehen (Perry and Anthony, 1999). Das Prinzip der APP-Färbung beruht dabei darauf, dass im Vergleich zu anderen Proteinen, die axonal transportiert werden, bei der Färbung mittels Antikörpern, die sich gegen das APP richten, eine relativ sensitive Detektion des Axonschadens gelingt. Dieser wird indirekt durch eine Akkumulation des APP angezeigt (Medana und Esiri, 2003).

Die meisten histomorphologischen Untersuchungen hierzu basierten bisher auf Material autoptisch gewonnenen Gewebes (Ferguson et al., 1997, Trapp et al., 1998, Kornek et al., 2000, Lucchinetti et al., 2000, Kuhlmann et al., 2002,). So konnte jedoch bereits gezeigt werden, dass die Zerstörung der Axone bereits früh in der Krankheitsentwicklung auftritt und der axonale Schaden sowohl von der entzündlichen Infiltration, als auch von der Entmarkung abhängig zu sein scheint (Trapp et al., 1998).

Erst in den letzten Jahren wurden zunehmend bioptisch gewonnene Gewebeproben untersucht (Annesley-Williams et al., 2000, Bitsch et al., 2000, Kornek et al., 2000, Lucchinetti et al., 2000, Kuhlmann et al., 2002, Di Patre et al., 2003) und damit eine Beurteilung von Läsionen in der frühen Krankheitsphase und während akuter Schübe möglich gemacht.

Die Detektion von APP-positiven Axonschollen konnte hiermit die Annahme, dass der Axonschaden früh im Krankheitsverlauf auftritt, bestätigen (Kuhlmann et al., 2002).

Auch in der vorliegenden Arbeit lässt sich, in unterschiedlicher Ausprägung, in allen Fällen ein axonaler Schaden, teils in Form einer Reduktion des Axongerüsts, zeigen. Es zeigte sich jedoch eine große interindividuelle Variabilität, die u.a. mit dem Vorherrschen eines unterschiedlichen morphologischen Subtyps (nach Lucchinetti et al., 2000) erklärt werden kann. Außerdem ist auf die Winzigkeit der Proben bei stereotaktischer Entnahme, die nicht repräsentativ für den gesamten Prozess ist, hinzuweisen.

Diese besondere Problematik zeigt sich auch an 2 Fällen dieser Arbeit, in denen in einer neuropathologischen Erstbefundung aufgrund der zu beobachtenden Zellformationen die Diagnose eines Astrozytoms gestellt wurde. Wie schon 2000 von Annesley-Williams et al. beschrieben, kann eine solche Fehldiagnose dann passieren, wenn das winzige Gewebematerial direkt einer gliotischen Randzone entnommen wurde.

Eine Subtypendifferenzierung kann in dieser Arbeit aus Gründen des stark eingeschränkten Materialbestandes nicht erfolgen.

Gleichzeitig repräsentieren alle Fälle jedoch die ersten Krankheitsmanifestationen und frühe klinische Stadien der Erkrankung.

Ein notwendiger Zusammenhang zwischen Entmarkung und Axonschaden konnte in früheren Studien nicht konstant belegt werden.

Vielmehr wurde in bioptischen Studien die Beobachtung gemacht, dass der Axonschaden unabhängig von der Entmarkung geschieht und durch Makrophagen, Mikroglia und CD8 positive T-Lymphozyten vermittelt wird (Bitsch et al. 2000).

Es gibt außerdem Hinweise dafür, dass in der histologisch und MRT-bildmorphologisch normal erscheinenden weißen Substanz, insbesondere bei Patienten mit langer Krankheitsvorgeschichte ein beachtlicher Axonverlust vorliegt (Bjartmar et al., 2003).

Für einen unabhängig voneinander stattfindenden Prozess spricht auch das Ergebnis einer Studie, in der, in der den Plaque umgebenden weißen Substanz, APP-positive Axone ohne Zeichen einer gleichzeitigen Entmarkung gefunden wurden (Kuhlmann et al., 2002).

Die Entmarkung geschieht dabei über eine Produktion von Entzündungsmediatoren wie TNF- $\alpha$  und NO, die hauptsächlich von Makrophagen und aktivierter Mikroglia gebildet werden (Selmaj und Raine, 1988; Mitrovic et al. 1994).

Es konnte andererseits gezeigt werden, dass in remyelinisierten Läsionen, trotz einer bestehenden Entzündungsreaktion, der Axonschaden signifikant geringer war, als in den inaktiven, aber entmarkten Läsionen (Kornek et al., 2000). In einer anderen Arbeit wird darüber berichtet, dass bei Mäusen, denen das Proteolipid Protein oder das Myelin-assoziierte Glykoprotein fehlte, pathologische Axonveränderungen wie Atrophie, Schwellungen und Degeneration aufzuweisen waren (Bjartmar et al., 2003). Diese Beobachtungen sprechen dafür, dass die Bemerkung von Axonen einen protektiven Effekt gegen eine Axonschädigung darstellt. Dieses könnte ein schützender Effekt bezüglich einer Zerstörung durch NO sein, oder vorrangig durch eine Ernährungsfunktion der Oligodendrozyten erklärt werden.

Die Entmarkung könnte teilweise auch das Ergebnis einer Zerstörung der Oligodendrozyten darstellen. Als fehlgesteuerte Antwort auf eine Entmarkung kann es dann- im Sinne einer erworbenen „Kanalkrankheit“- zu einer abnormalen Expression von Na<sup>+</sup>-Kanälen kommen, welche die Axone wiederum verletzlich für eine Degeneration macht (Waxman, 2001, Rammohan, 2003). Oligodendrozyten können über verschiedene Mechanismen, wie TNF $\alpha$ -, NO, Glutamat, das Komplementsystem, proteolytische Enzyme, T-Zell-Produkte, CD8-Klasse I -MHC- vermittelte Zytotoxizität, oder auch über eine chronische Virusinfektion zerstört werden (Brück und Stadelmann, 2003).

Andererseits konnte in Tiermodellen mit knock-out Mäusen für das MHC-Klasse I-Antigen eine von der Entmarkung unabhängige Axonschädigung dargestellt werden (Rivera-Quinones et al., 1998). Diese Mäuse entwickelten nach einer Virusinfektion mit dem Theiler Virus, ohne das Vorhandensein von CD8-positiven T-Zellen, zwar eine Entmarkung, die Axone blieben jedoch verschont (Rivera-Quinones et al., 1998).

Die Einteilung der Entmarkung in 4 Muster hat gezeigt, dass verschiedene Komponenten des Entzündungsprozesses im Vordergrund stehen können, bis hin zur scheinbar primären Oligodendrozytendegeneration (Lucchinetti et al., 2000).

In der vorliegenden Arbeit kann als charakteristisches Krankheitsmerkmal in allen 16 Fällen eine Entmarkung festgestellt werden.

Diese befindet sich in 15 der Fälle in einem Stadium der aktiven Phase, welches sich durch die Phagozytoseaktivität der Makrophagen ausdrückt.

Jedoch nur in 6 Fällen, d.h. 40 %, zeigt sich ein deutlicher und häufiger akuter Axonschaden.

Das weist daraufhin, daß die Entmarkung zwar einen nicht unerheblichen Vulnerabilitätsfaktor, nicht aber einen im Vordergrund stehenden Mechanismus einer möglicherweise sekundären Axonschädigung darstellt.

Die histopathologischen Kennzeichen der Multiplen Sklerose-Läsion ist der entmarkte Plaque auf dem Hintergrund einer Entzündungsreaktion (Trapp et al., 1999).

Diese besteht aus T-Zellen, einer kleineren Anzahl von B-Zellen und Plasmazellen und einer ausgeprägten Makrophagen- und Mikrogliaaktivierung (Lassmann, 1998, Ellison et al., 2004, Abb. A, B, Lassmann, 2005).

Im Vordergrund der Entzündungsaktivität stehen innerhalb der T-Zellen die CD8-positiven T-Zellen (Lassmann, 2003). Bezüglich des pathophysiologischen Mechanismus wird angenommen, dass CD4- positive Helferzellen des Th1-Typs Komponenten der Myelinscheiden erkennen und in der Folge einen autodestruktiven Prozess im ZNS in die

Wege leiten (Kornek und Lassmann, 2003, Linker et al., 2005). CD4-positive Helferzellen des Th2-Typs wirken eher antiinflammatorisch (Frohmann et al., 2006).

Es wurde jedoch gezeigt, dass der Axonschaden in der MS-Läsion mit den CD8 T-Zellen und Makrophagen assoziiert ist (Bitsch et al., 2000).

Die klonale Expansion der CD8-positiven-Zell-Population im MS-Plaue übertrifft die der CD4-positiven Zell-Population, und die Anzahl der CD8-positiven Zellen korreliert besser mit dem Ausmaß des Axonschadens als die Anzahl der CD4-positiven Zellen (Kornek, Lassmann, 2003).

Mit der Entzündungsreaktion geht eine entsprechende Produktion von Zytokinen, wie IL2, Interferon  $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und Chemokinen einher (Brück, 2005).

Auch in der vorliegenden Arbeit liegen diese charakteristischen histomorphologischen Merkmale vor.

Dabei ist ein ausgeprägter axonaler Schaden immer mit einer aktiven Phagozytose einer spätaktiven Läsion, d.h. mit MBP enthaltenden Makrophagen assoziiert.

In 2 von den 6 Fällen mit einem ausgeprägten akuten Axonschaden, ist neben der deutlichen Makrophagenaktivierung auch eine deutliche Lymphozytenpräsenz zu erkennen.

In keinem einzigen Fall ist jedoch eine Assoziation des akuten deutlichen Axonschadens allein mit einer Leukozyteninfiltration festzustellen.

Diese Beobachtung unterstützt die bisherigen Forschungsergebnisse bezüglich der außerordentlich bedeutsamen Rolle der Makrophagen-vermittelten Neurodegeneration im Zentralen Nervensystem. So werden von den Makrophagen pro-inflammatorische Zytokine produziert, die zum einen zu einer Zerstörung von Oligodendrozyten beitragen können, zum anderen wird die Produktion von freien Radikalen und excitotoxischen Neurotransmittern induziert (NO, Glutamat), für die es in tierexperimentellen Studien Hinweise für ein neurotoxisches Potential gibt (Bitsch et al., 1998, Hendriks et al., 2005).

Lediglich in einem Fall in der aktuell vorliegenden Arbeit kann weder ein Zusammenhang des Axonschadens zur aktiven Phagozytose, noch zur Lymphozytenrekrutierung hergestellt werden.

In diesem Fall ist jedoch auch das Ausmaß der akuten Axonschädigung sehr gering.

In der Mehrzahl der vorliegenden Fälle (10 von 16 Fällen, d.h. in 62%) ist insgesamt nur ein sehr geringer akuter Axonschaden festzustellen, obwohl auch in 8 dieser Fälle, d.h. 80 % eine deutliche Makrophagenaktivierung und Phagozytoseaktivität vorliegt; nur in einem Fall liegt gleichzeitig in gleichem Ausmaß auch eine Lymphozyteninfiltration vor.

Die Präsenz von Makrophagen ohne einhergehende Axonerstörung kann mit der andererseits auch neuroprotektiven Wirkung der Makrophagen bzw. Entzündungsreaktionen erklärt werden (Martino et. al, 2002, Stadelmann et al., 2002).

Es konnte in Studien gezeigt werden, dass Immunzellen zur Produktion von neurotrophischen Faktoren, wie dem BDNF befähigt sind (Stadelmann et al., 2002).

Dieser kann nach einer Hirnschädigung Axone und Neurone vor einem Schaden schützen, was in vitro Modellen gezeigt werden konnte (Kerschensteiner et al., 1999).

Eine axonale Regeneration und Aussprossung kann direkt durch BDNF vermittelt werden (Mamounas et al., 2000).

In einer Studie mit autoptisch gewonnenem Hirngewebe von MS-Patienten wurde in aktiven und inaktiven MS-Läsionen eine signifikante Anzahl von BDNF enthaltenden Immunzellen gefunden, die Mehrzahl bestand aus Makrophagen, Mikroglia und T-Lymphozyten (Stadelmann et al., 2002).

Im Vergleich zu der gesunden Hirnsubstanz enthielt in den aktiven Entmarkungsarealen ein größerer Prozentsatz der Immunzellen BDNF (Stadelmann et al.,

2002). Im Übrigen zeigten auch Astrozyten eine erhöhte Immunreaktivität in aktiven Entmarkungsarealen (Stadelmann et al., 2002).

Unter einem ähnlichen Gesichtspunkt ist auch der Entzündungsmediator TNF zu sehen. In Autoimmunerkrankungen des Menschen und in Tiermodellen blockiert er einerseits die Aufrechterhaltung und die Reparatur von Nervenzellgewebe, andererseits werden gleichzeitig einige Entzündungsvorgänge verhindert (Steinman und Zamvil, 2006).

Es ist also davon auszugehen, dass auch in der vorliegenden Arbeit die Läsionen, die einen relativen Erhalt der Axone zeigen, trotz phagozytärer Aktivität eventuell unter einem vorwiegenden Schutz durch neurotrophe Faktoren stehen, bei eventuell außerdem noch ausreichendem Schutz der vorliegenden Restbemarkung.

Eine deutliche Präsenz von Makrophagen und zusätzlich Lymphozyten, wie sie in zwei Fällen zu beobachten ist, lässt aufgrund des hier vorliegenden geringen Axonschadens nicht notwendigerweise auf eine Potenzierung der neurotoxischen versus einer neuroprotektiven Immunkaskade schließen. In 1 Fall ist jedoch ein schwerer Axonschaden mit der Kombination aus Phagozytoseaktivität und Lymphozyten korreliert.

Ein interessanter therapeutischer Ansatzpunkt diesbezüglich wäre die Verwendung eines Art „trojanischen Pferdes“ (Kieseier, 2007) im Sinne einer „Einschleusung“ von Entzündungszellen in das ZNS zur letztendlich vermehrten Produktion neurotropher Faktoren, oder die direkte Gabe neurotropher Faktoren wie dem BDNF.

In Tiermodellen wurde in knock-out Mäusen mit vermindertem BDNF in Immunzellen eine schwerere Entmarkung und ein größerer axonaler Schaden beobachtet.

Eine möglicherweise zusätzlich im Vordergrund stehende andere Komponente, wie beispielsweise die Komplementfaktoren im Sinne eines Suptyp II der MS-Läsionsformation sollte außerdem diskutiert werden und würde eine entsprechende Suptypenanalyse notwendig machen.

Ein weiterer zu bedenkender Einflussfaktor auf die entzündliche Reaktion in den vorliegenden histologischen Präparaten ist selbstverständlich die vorherige Einleitung einer immunsuppressiven Glukokortikoidtherapie. Es wurde bereits gezeigt, dass eine Entmarkung auch ohne einhergehende Entzündungsreaktionen, beispielsweise im Rahmen einer Glukokortikoidtherapie zu beobachten ist (Lassmann, 1999).

In 7 Fällen der vorliegenden Arbeit ist eine präoperative Glukokortikoidtherapie bekannt. In all diesen 7 Fällen liegt eine deutlich gegenüber der Makrophageninfiltration gering ausgeprägte Lymphozyteninfiltration vor, wie es bis auf drei Fälle im gesamten Kollektiv dieser Arbeit beobachtet wurde. In 2 Fällen ist außerdem ein deutlicher akuter Axonschaden zu erkennen. Bei den insgesamt 6 Fällen, in denen ein akuter Axonschaden beobachtet wurde konnte bei 33% hiervon, also mindestens 2 Fällen, kein Hinweis darauf geliefert werden, dass eine zeitnahe Glukokortikoidtherapie den APP-positiven Axonschaden unmittelbar mindert. In 2 Fällen mit deutlicher akuter Axonschädigung ist keine Glukokortikoidbehandlung der Operation vorausgegangen, in den übrigen 2 Fällen gibt es hierzu keine näheren Angaben. Es ist aus dem pathophysiologischen Verständnis heraus zu postulieren, dass eine Glukokortikoidtherapie, sicherlich in Abhängigkeit der Dosis und Anwendungsart, evtl. zeitlich verzögert, über den indirekten Weg einer Beeinflussung der Entzündungsreaktionen, zu einem Schutz der Axone beitragen kann. Weitere gezielte Untersuchungen hierüber an bioptisch gewonnenem Gewebe während der ersten Schubereignisse einer MS wären sicherlich hilfreich zur Klärung dieser Frage. Neben der Axonpathologie kommt es während des Entzündungsprozesses ebenfalls zu einer Störung der Blut-Hirn-Schranke (Perry und Anthony, 1999, Lassmann et al., 2007). Diese ist jedoch reversibel (Perry und Anthony, 1999). Durch die Blut-Hirn-Schranken-Störung gelangen pathogenetisch wichtige Entzündungszellen in des Hirngewebe; der Mechanismus

der Schrankenstörung funktioniert dabei vermutlich über inflammatorische Zytokine, die die Expression von endothelialen Oberflächenmolekülen wie dem VCAM-1 induzieren (Wingerchuck et al., 2001)-ein Mechanismus der bereits hinsichtlich der aktuellen therapeutischen Anwendungen einen wichtigen Ansatzpunkt darstellt (Rice et al., 2005). Es wurde andererseits außerdem gezeigt, dass eine intakte Blut-Hirn-Schranke nicht gegen eine Entzündung im ZNS spricht (Lassmann et al., 2007). So scheint eine voranschreitende Chronifizierung des Entzündungsprozesses zu einer weiteren Entzündungsreaktion hinter einer intakten Blut-Hirn-Schranke und unabhängig von einer Kontrolle des peripheren Nervensystems abzulaufen – eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die fehlende Effektivität aktueller Immuntherapien in chronischen Phasen der Erkrankung (Lassmann et al., 2007).

Auch eine teilweise Remyelinisierung entmarkter Axone durch die Oligodendrozyten ist möglich (Perry und Anthony, 1999, Linker et al., 2005). So werden remyelinisierte Plaques auch als “shadow plaques“ bezeichnet - scharf demarkierte Areale mit reduzierter Myelindichte und disproportional dünnen Myelinscheiden, die bildgebend nicht von entmarkten Läsionen eines Patienten unterschieden werden können (Ellison et al., 2004,

Lassmann et al., 2007). Man findet sie hauptsächlich in den akuten Plaques oder an den Rändern der chronischen Läsionen (Wingerchuck et al., 2001).

In aktiven Plaques während früher Erkrankungsphasen sind solche Remyelinisierungen häufig zu sehen, sie scheinen über eine Rekrutierung von Oligodendrozytenvorläuferzellen in den Entmarkungsbereich zu funktionieren (Brück et al., 2003, Lassmann et al., 2007). Aber auch in den progredienten Phasen der Erkrankung ist eine Remyelinisierung möglich (Lassmann et al., 2007). Bemerkenswerterweise scheint die Lokalisation der Läsion eine wichtige Rolle zu spielen. So haben Läsionen, die subkortikal oder in der tiefen weißen Substanz liegen, ein höheres Remyelinisationspotential als solche der periventrikulären weißen Substanz (Lassmann et al., 2007). Das Ausmaß einer Regenerationsfähigkeit der Axone im ZNS ist noch weitgehend unklar (Perry und Anthony, 1999).

Ein anderer Aspekt bezüglich der zellulären Infiltration des MS-Plaques betrifft einen möglichen Zusammenhang zwischen neuroradiologisch morphologischem Erscheinungsbild und Histopathologie bzw. klinischem Erkrankungsverlauf. In einzelnen Fallberichten (Chakraborty et al., 1995, Annesley-Williams et al., 2000, Di Patre et al., 2003) wurden in der Literatur Fälle behandelt, die in der (MRT-)Bildgebung einen Tumor-ähnlichen Aspekt zeigten; im bioptisch gewonnenem Gewebe ergab sich jedoch das Bild einer Entmarkungserkrankung. Auffallend an diesen Fällen war lediglich eine vorwiegend histiozytäre, Makrophagen-dominierte Infiltration des Gewebes gegenüber der lymphozytären Reaktion (Annesley-Williams et al., 2000). Diese Beobachtung weicht formal von dem bestehenden Konzept einer überwiegend T-Lymphozyten gesteuerten und lediglich untergeordneten monozytären Läsionsformation ab. Es ist ein weiterer Hinweis dafür, dass gerade in den aktiven, tumorartigen MS-Läsionen die Makrophagen hauptverantwortlich in der Pathogenese zu sein scheinen. Es wurde der Verdacht geäußert, dass eine solche “Tumor- artige “MS einen aggressiveren Verlauf als die klassische MS nimmt (Di Patre et al., 2003). Außerdem besteht die Vermutung, dass eine solche Präsentation eine intermediäre Entität zwischen MS und akuter disseminierter Enzephalomyelitis darstellt (Kepes, 1993).

Auch in der vorliegenden Studie sind in mindestens 9 von 16 Fällen auf der Grundlage von Klinik und neuroradiologischem Befund Operationsindikationen zum Ausschluss eines primären oder metastatischen Tumors gestellt worden. Und auch in diesen Fällen ist histomorphologisch ein Überwiegen der Makrophagen festzustellen. In 2 dieser Fälle wurde sogar histologisch initial die Diagnose eines Astrozytoms gestellt, die nach weitergehenden

Untersuchungen revidiert werden musste. In diesen beiden Fällen war interessanterweise der Axonschaden sehr gering; in einem Fall imponierten monströs veränderte Astrozyten, in dem anderen Fall schaumzellig umgewandelte Makrophagen und eine entzündliche Gewebsinfiltration. Hieraus wäre möglicherweise eine weitergehende Subtypendifferenzierung innerhalb der bekannten 4 Unterformen der MS zu erwägen. Dabei ist im übrigen darauf hinzuweisen, dass trotz der Möglichkeit einer histologischen Subtypendifferenzierung dieses theoretische Wissen, sicherlich unter anderem gerade aufgrund fehlender Gewebekorrelate, in der klinischen Praxis und damit auch der konkreten individuellen Therapiewahl, bisher keine ausreichende Entsprechung findet.

Neben der Darstellung von Axonovoiden als Zeichen der akuten Schädigung axonaler Strukturen bzw. der Detektion einer axonalen Transportstörung, wie sie durch die APP-Färbung zur Darstellung gebracht werden kann, ist auch, und gerade hinsichtlich der klinischen Relevanz, der Axonverlust zu beachten. Ein solcher Axonverlust konnte in vorhergegangenen Studien, insbesondere in Zusammenhang mit einer lang andauernden MS bzw. chronischen Läsionen, anhand der Axondichte beobachtet werden (Silber und Sharief, 1999). So wurde in einer Studie (Bjartmar et al., 2003) in Rückenmarksläsionen von MS-Patienten mit einer Krankheitsdauer zwischen 12 und 39 Jahren ein mittlerer Axonverlust von 68% und eine Reduktion der Axondichte von etwa 58% beobachtet. Eine ähnliche Reduktion der Axondichte von 61% wurde bei Patienten mit einem sekundär chronisch progredienten Verlauf beobachtet.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Axondegeneration die Hauptursache des bleibenden neurologischen Defizits in chronischen und/oder progressiven Phasen der Erkrankung darstellt, wie schon bei Trapp et al., 1998 berichtete wurde.

Interessanterweise finden sich außerdem vornehmlich bei Patienten mit progressiver MS topographisch im Bereich kortikaler Entmarkungsareale gelegene Follikel-ähnliche Strukturen aus B-Zellen und Plasmazellen, ähnlich wie sie bei der Hashimoto-Thyreoiditis gefunden werden (Lassmann et al., 2007). Inwieweit dabei der Nachweis von Auto-Antikörpern wie Anti-TPO-Antikörpern, wie sie bei der Hashimoto-Thyreoiditis und teilweise bei der MS gefunden werden, einen relevanten Zusammenhang zeigen wäre eine interessante weitere Frage. Es konnten bisher zumindest einige Zytokine und Chemokine, die für zu einer Formation von B-Zell-Follikel beitragen in chronisch entzündlichen MS-Läsionen gefunden werden (Meinl et al., 2006). Die Degeneration der Axone in der weißen Substanz und der Neurone im Kortex der MS-Patienten kann einerseits sekundär, in Folge der entzündlichen Entmarkung und damit fehlender trophischer Faktoren durch die Oligodendrozyten geschehen (Lassmann et al., 2007). Andererseits sind in der Nähe der Neurone auch aktivierte Mikrogliazellen gesehen worden, die direkt eine Zerstörung der Neurone veranlassen können (Lassmann et al., 2007). Ein möglicher löslicher Faktor, der in erhöhter Konzentration im Liquor und im ZNS-Gewebe von MS-Patienten gefunden wurde und eine Einwanderung von Entzündungszellen und neurotoxische Aktivität durch erhöhte Exprimierung von NO-Synthetase triggern könnte ist das Cholesteroxid 7-Ketocholesterol (Aktas et al., 2007). Dieses entsteht als Aufspaltungsprodukt der Myelinscheiden im Rahmen des entzündlichen Entmarkungsprozesses (Aktas et al., 2007). Das freie Radikal NO führt in der Folge zu einem axonalen Leitungsblock, zu einer irreversiblen degenerativen Zerstörung und letztendlich zu einem Schaden der Neurone (Aktas, 2007). Ein weiterer wichtiger Faktor neben der Antigen-abhängigen Neurotoxizität der CD8-positiven T-Lymphozyten, der in menschlichem Hirngewebe den neuronalen Zelltod vermitteln kann, ist der Antigen-unabhängige Weg über TRAIL (Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand) (Aktas et al., 2007). TRAIL-Rezeptoren werden auf Neuronen und Oligodendrozyten gefunden, gleichzeitig

können TRAIL exprimierende CD4-positive T-Lymphozyten mit dem neuronalen Zelltod und der Aufrechterhaltung der EAE in Zusammenhang gebracht werden (Aktas, et al., 2007).

In einer anderen Arbeit (Bitsch et al., 2000) gab es keine statistisch signifikante Korrelation zwischen einem bestimmten Zelltyp und der relativen Axondichte oder dem Ausmaß der Axonreduktion. Hingegen gab es eine Korrelation von APP-positiven Axonen mit der Anzahl der CD8-positiven T-Zellen und der Zellen der Makrophagen/Mikroglia Zelllinie.

Es gab ebenfalls keine Korrelation zwischen der Anzahl TNF- $\alpha$ -exprimierender Zellen und der Axondichte, jedoch konnte ein Zusammenhang zwischen der Axondichte und der Anzahl iNOS-mRNA-exprimierender Zellen festgestellt werden (Bitsch et al., 2000).

Ähnliche Beobachtungen können auch in dieser Arbeit gemacht werden.

Einschränkend ist darauf hinzuweisen, dass aufgrund der Winzigkeit der Proben eine topologische Zuordnung hinsichtlich Läsionsrand oder Zentrum der Läsion nicht gelingen kann. In chronisch aktiven Läsionen wurde in der Literatur die größte Anzahl von Axonvoiden am Läsionsrand gesehen (Bjatmar et al., 2003).

In der vorliegenden Arbeit liegen mit 10 von 16 Fällen überwiegend Herde mit nur geringem Axonschaden bezüglich einer APP-positiven Axonschädigung vor. In mindestens 14 Fällen zeigt sich jedoch, teilweise unterstützt durch die NF-Färbung, welche intraaxonale Neurofilamente detektiert, eine zerstörte Axonstrukturierung bzw. eine Axonreduktion im Gewebe an. Das heißt, dass es sich hier am ehesten um frühe Stadien einer Axondegeneration handelt. Eine vollständige Axonzerstörung bzw. eine länger bestehende Axondegeneration, die für mehr als etwa 14 Tage besteht, kann mit der APP-Färbung, die nur den frühen Axonschaden anzeigt (etwa 2 Stunden nach bis zu etwa 14 Tage nach Einsatz der Axonverletzung, Kornek et al., 2000), nicht detektiert werden, so daß in diesen Fällen vordergründig statt einer akuten Axonzerstörung eine bereits eingesetzt habende Axondegeneration zu diskutieren ist.

Diese Annahme kann für mindestens 9 von den insgesamt 10 Fällen, in denen der akute Axonschaden anhand der APP-Färbung nur gering ist, angenommen werden. Hier zeigt sich eine reduzierte Axondichte. In 4 Fällen liegt keine NF-Färbung zur weitergehenden Darstellung des axonalen Gerüsts vor, in 1 Fall scheint das Axongerüst überwiegend intakt erhalten.

In mindestens 12 von den 14 Fällen liegt gleichzeitig eine aktive Phagozytose vor.

Diese Beobachtung lässt vermuten, dass auch schon in den ersten Jahren der Krankheitsmanifestation eine axonale Degeneration eintreten kann, die wiederum mit der Aktivität von Makrophagen assoziiert ist.

In dem einzigen Fall aus dem Materialbestand dieser Arbeit, in dem weder eine Infiltration durch Lymphozyten, noch durch Makrophagen zu prädominieren erscheint, liegt anhand der APP-Färbung auch kein deutlicher akuter Axonschaden vor, gleichzeitig erscheint jedoch das gesamte Axongerüst anhand der NF-Färbung reduziert. Unter der Annahme einer bereits eingetretenen Axondegeneration, ist daher ebenfalls zu diskutieren, ob eine Axondegeneration auch unabhängig von der Entzündungsaktivität eintreten kann.

Hierbei ist beispielsweise an eine möglicherweise im Vordergrund stehende Entmarkung als hauptverantwortlicher Faktor, oder an eine teilweise sekundär eintretende Na<sup>+</sup>-Kanal-Veränderung zu denken. Für diese pathophysiologische Vorstellung spricht, dass auch in diesem Fall eine starke Reduktion der Markscheiden augenscheinlich ist.

Das Eintreten einer Axondegeneration schon in frühen Phasen der Erkrankung ist ein neuer Aspekt der pathophysiologischen Erkenntnisse und bekräftigt die Vorstellungen bezüglich der Notwendigkeit einer frühzeitigen therapeutischen Intervention mit zunehmender Fokussierung auch auf neuroprotektive Therapieansätze.

Zur Entwicklung solcher therapeutischer Ansatzpunkte wurden in den vergangenen Jahren mit über 5000 Publikationen seit 1933 eine Vielzahl verschiedener Tiermodelle entwickelt, die eine disseminierte Enzephalomyelitis darstellen sollten (Steinman und Zamvil, 2006).

Darunter existiert auch das Modell einer MOG-induzierten chronischen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE, Experimentelle Autoimmune Enzephalomyelitis). Das Prinzip dieses Tiermodells beruht auf einer aktiven Sensibilisierung mit rekombinantem MOG (Storch et al., 1998). In diesem Modell konnte ein großes Spektrum der MS-Pathologie dargestellt werden. Dazu gehört neben der klassischen MS auch die Neuritis nervi optici, die Devic Erkrankung und die Marburg Variante.

Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Sensibilisierung wird das entsprechende Gewebe untersucht. Dieses Tiermodell zeigt in Lewis N Ratten fokale, sehr ausgedehnte Entmarkungsplaques. Die Axonpathologie in den entzündlich entmarkten Läsionen dieses Tiermodells ähnelt solcher der Multiplen Sklerose. Im Gegensatz zu der MS ist in einer Vergleichsstudie (Kornek et al., 2000) zu einem inaktiven Läsion und zum anderen eine Entmarkungsaktivität auch in den remyelinierten Plaques beobachtet worden. Somit gelingt

mit diesem Modell eine Darstellung der Axonpathologie in aktiven Entmarkungsläsionen, nicht jedoch ein Erkenntnis zu den langsamen Axondegenerationen in chronischen MS-Fällen (Kornek et al., 2000) oder eine Darstellung der chronischen diffusen Schädigung der

weißen Substanz (Lassmann, 2007). Ein weiterer wichtiger Unterschied betrifft die Zusammensetzung der entzündlichen Infiltratzellen. Während in einem Tiermodell der EAE der Entzündungsprozess durch autoreaktive MHC-Klasse II T-Lymphozyten vermittelt wird und somit die CD4-positiven T-Lymphozyten dominieren, stehen im MS-Herd die MHC-Klasse I-T-Lymphozyten und damit die CD8-positiven T-Lymphozyten im Vordergrund (Lassmann, Brück, Lucchinetti, 2007). Diese grundlegenden Unterschiede könnten die unterschiedlichen Erfolge therapeutischer Ansätze erklären (Lassmann, Brück, Lucchinetti, 2007).

Gleichzeitig wird deutlich, dass nicht ein einzelnes Modell der autoimmunen Enzephalomyelitis alleine, sondern vielmehr die Vielzahl der existierenden Tiermodelle der autoimmunen Enzephalomyelitis mit ihren jeweils verschiedenen Aspekten der Histopathologie und Pathophysiologie, für die Entwicklung therapeutischer Ansatzpunkte herangezogen werden müssen. So führte die EAE direkt zu der Entwicklung von drei heute in der klinischen Praxis verwendeter Therapien: Glatirameracetat, Mitoxantron und Natalizumab (Steinman und Zamvil, 2006).

Ein weiterer Einflussfaktor, der die in dieser Arbeit vorliegenden Läsionsformationen wesentlich mit beeinflussen könnte, ist die Anzahl der bis zur Biopsie aufgetretenen Krankheitsereignisse im Sinne eines Schubes mit der oben genannten Einschränkung bezüglich seiner Definition.

Unter der Vorstellung, dass ein vorhergegangener schubförmiger Verlauf zu einer sekundären Progression führt, würde eine früh einsetzende immunmodulatorische Therapie vor einer voranschreitenden Behinderung schützen können (Trapp et al., 1999, Palace, 2003).

In der vorliegenden Arbeit ist in jedem Fall von den ersten klinischen Ereignissen auszugehen. In der Mehrzahl der Fälle (12 von 15 Fällen, d.h. 80%, in einem Fall war die klinische Anamnese nicht eruierbar) liegt bei einer niedrigen Schubfrequenz von weniger als 3 Schüben bis zur Biopsie ein allenfalls minimaler akuter Axonschaden vor.

Lediglich in 4 Fällen ist bei Vorliegen eines ersten oder zweiten Krankheitsereignisses bereits ein deutlicher akuter Axonschaden erkennbar.

Bei den drei Fällen, bei denen mehr als 2 Schübe bekannt sind, liegen in 2 Fällen deutliche Axonschädigungen vor. Das heißt, dass, gemessen an den insgesamt wenigen Fällen

mit einem ausgeprägten Axonschaden (6 Fälle mit bekannter Krankheitsvorgeschichte) und der relativ kleineren Anzahl von Fällen mit einer Schubfrequenz von über 2 Schüben (3 von 15 Fällen mit bekannter Krankheitsvorgeschichte), eine akute Verletzung der Axone mit einer höheren Anzahl von akuten Krankheitsereignissen einherzugehen scheint. In einem Fall mit höherer Schubfrequenz kam es zu einem elektronenmikroskopisch gesicherten akuten Axonschaden mit Zeichen der axonalen Transportschädigung. In diesem Fall gibt es wiederum Hinweise für eine bereits eingetretene Reduktion der axonalen Strukturen. Diese Beobachtung könnte die Vorstellung stützen, dass während eines jeden einzelnen Schubes die vorliegende entzündliche Infiltration des Hirngewebes zum einen die Markscheiden zerstört und damit zum anderen auch die Vulnerabilität der Axone für einen eventuell von der Entmarkung unabhängigen Zerstörungsprozess erhöht. Eine Anhäufung solcher Schübe, geschweige denn von klinisch inapparenter Entzündungsaktivität, führt dann im Sinne einer Potenzierung und axonalen Dekompensation zu einem axonalen Transportschaden und konsequenterweise zu einer Anhäufung von APP in den proximalen Enden der Axone. Darüberhinaus wird hiermit die Beobachtung, dass bereits während der ersten klinischen Schübe eine akute Axonschädigung einsetzt, wie es schon bei Kuhlmann et al. 2002 beschrieben wurde, unterstützt.

Zum anderen muss ebenfalls eine bereits eingetretene Axondegeneration, die auch in den überwiegenden Fällen mit wenig eingetretenen Schüben bis zur Biopsie möglich ist, diskutiert werden.

Hiermit wird das aktuelle Bestreben einer möglichst frühzeitigen therapeutischen Intervention bekräftigt.

So konnte in klinischen Phase III-Studien für die beiden IFN- $\beta$ 1a-Präparate gezeigt werden, dass die Applikation nach einem ersten MS-verdächtigen Ereignis die Manifestation eines 2. Schubes um mehrere Monate verzögert (Comi et al., 2001).

Durch die neuen Diagnosekriterien nach McDonald et al. von 2001, sowie der Revision der McDonald-Kriterien von 2005, ist auf dem Hintergrund der hinzugetretenen modernen Bildgebung mit der Kernspintomographie eine frühzeitige Diagnosestellung bereits nach einem isolierten klinischen Symptom möglich und kann zu unmittelbaren therapeutischen Konsequenzen führen.

Neben der Anzahl vorhergegangener Schübe ist außerdem die Rolle der Krankheitsdauer bis zur Biopsie in die zur Läsionsformation führenden Einflussfaktoren mit einzubeziehen.

Eine Studie, in der Hirnbiopsien von MS-Patienten während der ersten Krankheitsjahre untersucht wurden, zeigte die höchste Anzahl APP-positiver Axone bei Patienten mit einer Krankheitsdauer <1 Jahr (Kuhlmann et al., 2002).

Gleichzeitig nahm die Anzahl inflammatorischer Zellen und APP-positiver Axone mit Zunahme der Erkrankungsdauer ab.

Dabei war der akute axonale Schaden immer begleitet von einem Entzündungsinfiltrat, welches hauptsächlich aus Makrophagen, einigen T-Zellen und nur wenigen Plasmazellen bestand.

Die meisten Plasmazellen waren bei Patienten gefunden worden, die eine Krankheitsdauer von >10 Jahren hinter sich hatten.

In der aktuell vorliegenden Arbeit basieren die meisten Fälle (11 von 14 Fällen, d.h. 78%, in zwei Fällen war die Krankheitsvorgeschichte nicht bekannt) auf Krankheitsstadien von <1 Jahr. In 4 Fällen, d.h. 36% konnte dabei ein akuter Axonschaden beobachtet werden.

Gleichzeitig gab es 3 Fälle mit einer Krankheitsdauer > 1 Jahr und nur in einem Fall lag ein deutlicher akuter Axonschaden vor. In einem dieser 3 Fälle scheint das Axongerüst überwiegend intakt erhalten.

In Vergleich zu den Ergebnissen hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen Axonschaden und Schubfrequenz ist zu vermuten, dass der akute axonale Schaden besser mit der Schubfrequenz als mit der Krankheitsaktivität insgesamt zu korrelieren ist. Es wird jedoch auch hier gezeigt, dass bereits nach einer relativ kurzen Erkrankungszeit bereits ein akuter Axonschaden eintreten kann. Diese Beobachtung ist auch aus dem aktuellen pathophysiologischen Verständnis der Erkrankung heraus gut zu erklären.

Denn der entscheidende Faktor der Läsionsformation ist die Entzündungsaktivität, während im Laufe der Zeit zunehmend regenerative Prozesse eingreifen können.

So konnte in Studien gezeigt werden, dass der akute Axonschaden während der schubförmig verlaufenden MS eindrucksvoll zu finden ist, während in den chronisch progredienten Erkrankungsstadien der akute Axonschaden niedriger ist und sich im Laufe der Zeit nicht stark verändert (Kuhlmann et al. 2002).

Die niedrigste Anzahl APP-positiver Axone konnte in der PP-MS gefunden werden (Bitsch et al., 2000).

Diese Beobachtung stärkt die Annahme, dass nicht der Axonschaden allein für das progrediente neurologische Defizit verantwortlich zu sein scheint.

Anzumerken ist abschließend, dass zur Reevaluation bzw. Sicherung der Diagnosestellung einer Multiplen Sklerose in der Patientenauswahl der vorliegenden Arbeit eine Nachuntersuchung mit Verlaufsbeobachtungen der bearbeiteten Fälle sinnvoll, notwendig und wünschenswert erscheint.

## **5. Zusammenfassung**

In der vorliegenden Arbeit sollte eine Darstellung des akuten Axonschadens in Hirnbiopsien von Patienten während der ersten klinischen Ereignisse einer chronisch entzündlichen ZNS-Erkrankung aus dem Formenkreis der Multiplen Sklerose erfolgen.

Aus vorhergegangenen Studien ist die Pathologie der MS-Läsion bekannt. Es handelt sich um eine fokale Entmarkung mit einer perivaskulär akzentuierten Entzündungsreaktion mit einem Vorwiegen von CD8 T-Zellen und Monozyten/Makrophagen, sowie aktivierter Mikroglia, einem kleineren Anteil von CD4 T-Zellen und Plasmazellen, einhergehend mit einer astrozytären Gliose.

Schon in der sehr frühen historischen Literatur des 19. Jahrhunderts konnte bereits ein Axonschaden beschrieben werden, der in der ersten Zeit der MS-Forschung hinter der Entmarkung als wesentliche histologische Auffälligkeit und als hauptverantwortlicher Mechanismus für die klinischen Symptome verantwortlich gemacht wurde.

Im Laufe der Zeit fokussierte sich das Interesse zunehmend auf die Pathologie der Axone. Neben Tiermodellen wie der Autoimmunen Enzephalomyelitis, anhand derer pathophysiologische Mechanismen der MS verstanden werden sollten, wurde humanes Gewebe aus Autopsien verstorbener Patienten und schließlich auch bioptisch gewonnenes Material histologisch untersucht. Anhand verbesserter Färbemethoden gelang es, den akuten Axonschaden immunhistologisch mit der APP-Färbung darzustellen.

Damit konnte zunehmend, eine Korrelation zwischen klinischen Verläufen und histomorphologischen Charakteristika hergestellt werden.

So konnte gezeigt werden, dass schon während der ersten Erkrankungsjahre neben der Entmarkung auch ein deutlicher Axonschaden vorliegt.

Dieser wird nach der aktuellen Forschung als hauptverantwortlich für das bleibende neurologische Defizit angesehen.

In der vorliegenden Arbeit wurden 16 Hirnbiopsien von Patienten untersucht und anhand konventioneller, sowie immunhistochemischer Färbemethoden charakterisiert.

Zu 14 der 16 Fälle lagen außerdem MS-relevante Krankheitsvorgeschichten vor.

Eine Korrelation der Anamnese mit dem histologischen Bild führte zu einer Bestätigung der aktuellen Vorstellungen der Pathologie in MS-Läsionen.

Außerdem wurden die histologischen Merkmale bezüglich der Verteilung einzelner Entzündungszellen in Bezug zu der Axonschädigung dargestellt.

Aufgrund des eingeschränkten Materialbestandes und der geringen Fallzahl mit unterschiedlichen klinischen Verläufen, erfolgte die Ergebnisauswertung fallbezogen und beschreibend.

-In allen 16 Fällen lag eine Entmarkung vor, in 6 Fällen lag ein deutlicher akuter axonaler Schaden vor.

-Es gelang die Darstellung von APP-positiven Axonschollen mit zahlenmäßig deutlich unterschiedlicher Ausprägung in allen 16 Fällen.

-In mindestens 14 Fällen lag darüberhinaus der Hinweis für einen eindeutigen Axonverlust vor, der unterschiedlich stark ausgeprägt war.

- In der Mehrzahl der Fälle zeigte sich eine Assoziation von aktiven Makrophagen mit einem gestörten Axontransport.
- In keinem einzigen Fall war ein Axonschaden allein mit einer Lymphozyteninfiltration assoziiert.
- Bei 2 von 3 Patienten, die eine Schubfrequenz von  $>2$  aufwiesen, zeigte sich ein deutlicher akuter Axonschaden, während nur bei 4 von 12 Patienten mit einer Schubfrequenz von  $<3$  ein deutlicher akuter Axonschaden vorlag.
- Bereits während der ersten Schubereignisse kommt es zu einem akuten Axonschaden.
- In 4 von 11 Fällen von Patienten mit einer Krankheitsdauer bis zur Biopsie von  $<1$  Jahr lag ein deutlicher akuter Axonschaden vor, während bei 1 Fall von 3 Fällen mit einer Krankheitsdauer  $>1$  Jahr ein deutlicher akuter Axonschaden zu beobachten war, in 1 weiteren Fall war das Axongerüst überwiegend erhalten und der akute Axonschaden sehr gering.
- Bereits in frühen Krankheitsstadien kommt es zu einem akuten Axonschaden.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen vermuten, dass im Vordergrund der pathophysiologischen Mechanismen, die zu einer Axonzerstörung führen, die Entzündungsaktivität, insbesondere das Vorhandensein aktiver Makrophagen steht.

Ursächlich für eine eintretende Axonverletzung könnte das Auftreten von Entzündungsschüben, weniger die Krankheitsdauer insgesamt sein. Gleichzeitig gibt es Hinweise, dass bereits während der ersten Schübe eine akute Axonschädigung eintritt.

Einschränkend ist dazu natürlich anzumerken, dass auch während einer asymptomatischen Klinik des Patienten eine Entzündungsaktivität vorliegt und diese dann über die Zeit ähnliche Effekte wie eine größere Anzahl klinisch symptomatischer Ereignisse hat.

Hieraus ist zu schließen, dass therapeutische Interventionen so früh wie möglich eingesetzt werden sollten.

Dabei sollte das Ziel aller Bemühungen sein, neben den etablierten immunmodulatorischen Therapiemöglichkeiten, neue Strategien im Sinne einer Neuroprotection zur Verhinderung einer Axondegeneration zu entwickeln.

**6. Literaturverzeichnis**

Aktas O., Ulrich O., Infante-Duarte C., Nitsch R., Zipp F.. Neuronal damage in brain inflammation. *Arch Neurol*; 64:185-189, 2007.

Allan S. M., Tyrell P. J., Rothwell N. J.. Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol*; 5: 629-640, 2005.

Annesley-Williams D., Farrell M. A., Staunton H., Brett F. M., D.. Acute demyelination, neuropathological diagnosis, and clinical evolution. *J Neuropathol Exp Neurol*; 59: 477-489, 2000.

Barkhof F., Filippi M., Miller D. H., Scheltens P., Campi A., Polman C. H., et al.. Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain*; 12: 2059-2069, 1997.

Beck R. W., Clearly P. A., Anderson M. M., Keltner J. L., Shults W. T., Kaufman D. I., et al.. A randomized, controlled trial of corticosteroids in the treatment of acute optic neuritis. The Optic Neuritis Study Group. *N Engl J Med*; 326(9):581-588, 1992.

Bertolotto, A.. Neutralizing antibodies of interferon beta: implications for the management of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*; 17(3):241-246, 2004.

Bitsch A., da Costa C., Bunkowski S., Weber F., Rieckmann P., Brück W.. Identification of macrophage populations expressing tumor necrosis factor- $\alpha$  mRNA in acute multiple sclerosis. *Acta Neuropathol*; 95: 373-377, 1998.

Bitsch A., Schuchardt J., Bunkowski S., Kuhlmann T., Brück W.. Acute axonal injury in multiple sclerosis Correlation with demyelination and inflammation. *Brain*; 123: 1174-1183, 2000.

Bjartmar C., Wujek J. R., Trapp B. D.. Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease. *J Neurol Sci*; 206:165-171, 2003.

Brück W., Kuhlmann T., Stadelmann C.. Remyelination in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*; 206:181-185, 2003.

Brück W., Stadelmann C.. Inflammation and degeneration in multiple sclerosis. *Neurol Sci*; 24: 265-267, 2003.

Brück W.. Inflammatory demyelination is not central to the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neurol*; 252 (Suppl 5): V/10-V/15, 2005.

Brück W.. Clinical implications of neuropathological findings in multiple sclerosis. *J Neurol*; 252 (Suppl 3): III/10-III/14, 2005.

Brück W.. New insights into the pathology of multiple sclerosis: towards a unified concept?. *J Neurol*; 254 (Suppl1): 1/3-1/9, 2007.

Brück W.. New insights into the pathology of multiple sclerosis: towards a unified concept?. *J Neurol*; 254 (Suppl1): 1/3-!/9, 2007.

Chakraborty S., Nagashima T., Saitoh M., Hanada Y, Hiyama K., Tamaki N.. Intracerebral ring-enhancing lesions In a patient with multiple sclerosis: A case report. *Surg Neurol*; 43: 591-594, 1995.

Charcot J.. *Histologie de la sclérose en plaque*. *Gaz Hôp (Paris)*, 4: 554-558, 1868.

Comi G., Filippi M., Barkhof F., Durelli L., Edan G., Fernandez O., Hartung H., Seeltrayers P., Sorensen P. S., Rovaris M., Martinelli V., Hommes O. R.. Early treatment of multiple sclerosis study group. Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomized study. *Lancet*; 357: 1576-1582, 2001.

Dal Canto M., Melvolv R., Kim B, Miller S.. Two models of multiple sclerosis: experimental allergic encephalomyelitis (EAE) and Theiler`murine encephalomyelitis virus (TMEV) infection. A pathological and immunological comparison. *Mico. Re. Tech.*; 32:215-29, 1995.

Di Patre P. L., Castillo V., Delavelle J., Vuillemoz S., Picard F., Landis T.. "Tumor-mimicking" multiple sclerosis. *Clin Neuropathol*; 22 (5): 235-239, 2003.

Doinikow B.. *Über De-und Regenerationserscheinungen an Achsenzylindern bei der multiplen Sklerose*. Aus dem Neurologischen Institut in Frankfurt, 1914.

Durelli L., Verdun E., Barbero P., et al..Evey-other day interfeon beta 1b versus once-weekly interferon beta 1a for multiple sclerosis: a result of a 2-year prospective randomised multicentre stuy (INCOMIN). *Lancet*; 359:1453-1460, 2002.

Dutta R., Mc Donough J., Yin X., Peterson J., Chang A., Torres T., Gudz T., Macklin W. B., Lewis D. A., Fox R. J., Rudick R., Mirnics K., Trapp B. D.. Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol*; 59: 478-489, 2006.

Ebers G. C., Bulman D. E., Sadovnick A. D., Paty D. W., Warren S., Hader W., Murray T. J., Seland T. P., Duguette P., Grey T.. A population -based study of multiple sclerosis in twins. *N Engl J Med*; 315 (26): 1638-1642, 1986.

Ebers G. C., Sadovnick A. D.,Risch N.J. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collebarative Study Group. *Nature*; 377 (6545):150-151, 1995.

Ellison D., Love S., Chimelli L., Harding B., Lowe J. S. and Vinters H.. *Neuropathology*, 2<sup>nd</sup> edition A Reference Text of CNS Pathology, Mosby, chapter 19.1-19.12, 2004.

Ferguson B., Matyszak M. K., Esiri M. M., Perry V. H.. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain*; 120: 393-399, 1997.

Flechter S., Vardi J., Pollak L, Rabey J.M.. Comparison of glatiramer acetate (Copaxone®) and interferon b-1b (Betaferon®) in multiple sclerosis patients: an open-label 2year follow-up. *J Neurol Sci*; 197:51-55, 2002.

- Fraenkel M., Jakob A.. Zur Pathologie der multiplen Sklerose mit besonderer Berücksichtigung der akuten Formen. Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie, zehnter Band; Seite 565-603, 1912.
- Frohman E. M., Racke M. K., Raine C. S.. Multiple sclerosis-the plaque and its pathogenesis. N Engl J Med; 354: 942-955, 2006.
- Gentleman S. M., Roberts G. W., Gennarelli T. A., Maxwell W. L., Adams J. H., Kerr S., et al.. Axonal injury: a universal consequence of fatal closed head injury? Acta Neuropathol (Berl); 9: 537-543, 1993.
- Grigoriadis N., Ben-Hur T., Karussis D., Milonas I.. Axonal damage in multiple sclerosis: a complex issue in a complex disease. Clin Neurol Neurosurg; 106: 211-217, 2004.
- Hartung H. et al.. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial.. Lancet; 360: 2018-2025, 2002.
- Haines J. L., Ter-Minassian M., Bazyk A., Gusella J. F., Kim D. J., Terwedow H.. A complete genomic screen for multiple sclerosis underscores a role for the major histocompatibility complex. The Multiple Sclerosis Genetics Group. Nat Genet; 13 (4): 469-471, 1996.
- Hendriks J., Teunissen C., Vries H., Dijkstra C.. Macrophages and neurodegeneration. Brain Res Rev; 48: 185-195, 2005.
- Hemmer B., Stüve O., Kieseier B., Schellekens H., Hartung P-P.. Immune response to immunotherapy: the role of neutralising antibodies to interferon beta in the treatment of multiple sclerosis. Lancet Neurol; 4: 403-412, 2005.
- Hohlfeld R., Wekerle H.. Drug Insight: using monoclonal antibodies to treat multiple sclerosis. Nat Clin Pract Neurol; 1: 34-40, 2005.
- Kapoor R., Davies M., Baker P. A., Hall S. M., Smith K. J.. Blockers of sodium and calcium entry protect axons from nitric oxide-mediated degeneration. Ann Neurol; 53: 174-180, 2003.
- Kappos L., Radü E. W., Antel J., et al.. FTY720 in relapsing MS: results of a double blind placebo controlled trial with a novel oral immunomodulator. J Neurol; 252: II/41, 2005.
- Keegan B. M., Noseworthy J. H.. Multiple sclerosis. Annu. Rev. Med.; 53: 285-302, 2002.
- Kerschensteiner M., Gallmeier E., Behrens L., Leal V. V., Misgeld T., Klinkert W. E., et al.. Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? J Exp Med; 189: 865-870, 1999.
- Kepes J. J.. Large focal tumor-like demyelinating lesions of the brain: intermediate entity between multiple sclerosis and acute disseminated encephalomyelitis? A study of 31 patients. Ann Neurol, 33:18-27, 1993.

Kieseier B. C., Hartung H.-P.. Multiple paradigm shifts in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*; 16:247-252, 2003.

Kieseier B. C.. Innovative Wirkansätze, MS-Symposium:“Quo vadis, MS?”, Berlin, 2007.

Koch-Henriksen N, Sorensen PS, Christensen T, Frederiksen J, Ravnborg M, Jensen K, Heltberg A, Kristensen O, Stenager E, Petersen T, Hansen T; Danish Multiple Sclerosis Group.. A randomised study of two interferon-beta treatments in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology*; 66 (7): 1056-1060, 2006.

Koller H, Thiem K, Siebler M. Tumour necrosis factor-alpha increases intracellular Ca<sup>2+</sup> and induces a depolarization in cultured astroglial cells. *Brain*; 119 (6): 2021-2027, 1996.

Kornek B., Storch M. K., Weissert R., Wallstroem E., Stefferl A., Olsson T., Lington C., Schmidbauer M., Lassmann H.. Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis, *AJP*; 157 (1): 267-276, 2000.

Kornek B., Lassman H.. Neuropathology of multiple sclerosis- new concepts. *Brain Research Bulletin*; 61: 321-326, 2003.

Kuhlmann T., Lingfeld G., Bitsch A., Schuchardt J., Brück W.. Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain*; 125: 2202-2212, 2002.

Kurtzke J.F.. Epidemiologic contributions to multiple sclerosis: an overview . *Neurology*; 30 (7 Pt 2): 61-79, 1980.

Lassmann H.. Pathology of multiple sclerosis aus McAlpine´s Multiple Sclerosis, third edition, Verlag Churchill Livingston, page 323-358, 1998.

Lassmann H.. The pathology of multiple sclerosis and its evolution. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*; 354: 1634-1640, 1999.

Lassmann H.. Axonal injury in mutiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, Editorial; 74: 695-697, 2003.

Lassmann H.. Hypoxia-like tissue injury as a component of multiple sclerosis lesions. *J Neurol Sci*; 206: 187-191, 2003.

Lassmann H.. Multiple sclerosis pathology: Evolution of pathogenetic concepts. *Brain Pathol*; 15: 217-222, 2005.

Lassmann H.. Multiple sclerosis beyond autoimmunity. Neuroscience Colloquium, Berlin, 2006/2007.

Lassmann H.. Multiple sclerosis: Is there neurodegeneration indepent from inflammation? *J Neurol Sci*; 14: 1-4, 2007.

Lassmann H., Brück W., Lucchinetti C. F.. The immunopathology of multiple sclerosis: An overview. *Brain Pathol*; 17: 210-218, 2007.

Li G. L., Farooque M., Holtz A., Olsson Y.. Changes of beta-amyloid precursor protein after compression trauma to the spinal cord: an experimental study in the rat using immunohistochemistry. *J Neurotrauma*; 12:269-77, 1995.

Li S., Stys P. K.. Mechanisms of ionotropic glutamate receptor-mediated excitotoxicity in isolated spinal cord white matter. *J Neurosci*; 20: 1190-1198, 2000.

Linker R.A., Stadelmann C., Diem R., Bähr M., Brück W., Gold R.. Fortschritte in Pathogeneseforschung und Therapie der Multiplen Sklerose. *Fortschr Neurol Psychiat*; 73: 715-727, 2005.

Lo A. C., Black J. A., Waxman B., S.. Neuroprotection of axons with phenytoin in experimental allergic encephalomyelitis. *Clinical Neuroscience*; 13: 1909-1912, 2002.

Lublin F. D., Reingold S. C.. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology*; 46 (4): 907-911, 1996.

Lucchinetti C., Brück W., Parisi J., Scheithauer B., Rodriguez M., Lassmann H.. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: Implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*; 47: 707-717, 2000.

Lucchinetti C., Brück W., Noseworthy J.. Multiple sclerosis: recent developments in neuropathology, pathogenesis, magnetic resonance imaging studies and treatment. *Current Opinion in Neurology*; 14: 259-269, 2001.

Mamounas L. A., Altar C. A., Blue M. E., Kaplan D. R., Tessarollo L., Lyons W. E.. BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *J Neurosci*; 20: 771-782, 2000.

Martino G., Adorini L., Rieckmann P., Hillert J., Kallmann B., Comi G., Filippi M.. Inflammation in multiple sclerosis: the good, the bad, and the complex. *Lancet Neurology*; 1: 499-509, 2002.

McCarron R., McFarlin D. E.. Adoptively transferred experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J, PL/J, and (SJL/JxL/J)F1 mice. Influence of I-A haplotype on encephalitogenic epitope of myelin basic protein. *J Immunol*; 141: 1143-1149, 1988.

McDonald W. I., Ron M. A.. Multiple sclerosis: the disease and its manifestations. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*; 354: 1615-1622, 1999.

McDonald W, Compston A., Edan G., Hartung H.-P., Lublin F., McFarland H., et al.. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the international panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 50: 12-17, 2001.

- Medana M., Martinic M. A., Wekerle H., Neumann H.. Transection of major histocompatibility complex class I-induced neurites by cytotoxic T-lymphocytes. *AJP* 2001; 159: 809-815, 2001.
- Medana M., Esiri M.. Axonal damage: a key predictor of outcome in human CNS diseases. *Brain*; 126: 515-530, 2003.
- Meinl E., Krumbholz M., Hohlfeld R.. B lineage cells in the inflammatory central nervous system environment: migration, maintenance, local antibody production and therapeutic modulation. *Ann Neurol*; 59: 880-892, 2006.
- Mitrovic B., Ignarro L J., Montestrucque S., Smoll A., Merrill J. E.. Nitric oxide as a potential pathological mechanism in demyelination: its differential effects on primary glial cells in vitro. *Neuroscience*; 61: 575-85, 1994.
- Multiple Sklerose Therapie Konsensus Gruppe. Immunmodulatorische Stufentherapie der Multiplen Sklerose-Aktuelle Therapieempfehlungen, update Juli, 2006, dem Nervenarzt zur Vorlage, bisher unveröffentlicht.
- Neuhaus O., Farina C., Wekerle H., Hohlfeld R.. Mechanisms of action of glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology*; 56(6): 702-708, 2001.
- Neumann H.. Molecular mechanisms of axonal damage in inflammatory central nervous system diseases. *Curr Opin Neurol*; 16: 267-273, 2003.
- Noseworthy J. H., Lucchinetti C., Rodriguez M., Weinshenker B. G.. Multiple sclerosis. *N Engl J Med*; 343: 938-952, 2000.
- Ohgami T., Kitamoto T., Tateishi J.. Alzheimer`s amyloid precursor protein accumulates within axonal swellings in human brain lesions. *Neurosci Lett*; 136: 75-78, 1992.
- Oppenheim H, Finkelnburg R.. Über Myeloencephalitis disseminata und Sclerosis multiplex acuta mit anatomischem Befund. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*;6: 408-425, 1912.
- Palace J.. Clinical and laboratory characteristics of secondary progressive MS. *J Neurol Sci*; 206: 131-134, 2003.
- Panitch H., Goodin D. Francis G.. Evidence of interferon dose-response: European north america comparative efficacy. *Neurology*; 59: 1496-1506, 2002.
- Perry V. H., Anthony D. C.. Axon damage and repair in multiple sclerosis. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*; 354: 1641-1647, 1999.
- Piani D., Fontana A. Involvement of the cystine transport system xc- in the macrophage-induced glutamate-dependent cytotoxicity to neurons. *J Immunol*; 152: 3578-3585, 1994.
- Perry V. H., Anthony D. C.. Axon damage and repair in multiple sclerosis. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*; 354: 1641-1647, 1999.

Perry V. H., Anthony D. C.. Axon damage and repair in multiple sclerosis. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*; 354: 1641-1647, 1999.

Piani D., Fontana A. Involvement of the cystine transport system xc<sup>-</sup> in the macrophage-induced glutamate-dependent cytotoxicity to neurons. *J Immunol*; 152: 3578-3585, 1994.

Pitt D., Werner P., Raine C. S.. Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis. *Nat Med*; 6 (1): 67-70, 2000.

Polman C. H., O'Connor P.W., Havdova E. et al.. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*; 354: 899-910, 2006.

Popoff M.. Zur Histologie der disseminierten Sklerose des Gehirns und Rückenmarks. *Neurologisches Centralblatt*; Nr. 9, 1894.

Poser C., Paty D., Scheinberg L., McDonald W., Davis F., Ebers G, et al.. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*; 13: 227-31, 1983.

Poser C. M., Brinar V. V.. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review. *Clin Neurol Neurosurg*; 106: 147-158, 2004.

Rammohan K. W.. Axonal injury in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep.*; 3(3): 231-237, 2003.

Redford E. J., Kapoor R., Smith K. J.. Nitric oxide donors reversibly block axonal conduction: demyelinated axons are especially susceptible. *Brain*; 120: 2149-2157, 1997.

Reindl M., Linington C., Brehm U., Egg R., Dilitz E., Deisenhammer F., Poewe W., Berger T.. Antibodies against the myelin oligodendrocyte glycoprotein and the myelin basic protein in multiple sclerosis and other neurological diseases: a comparative study. *Brain*; 122: 2047-2056, 1999.

Rice G., Hartung H.-P., Calabresi P.. Anti  $\alpha$ -4 integrin therapy for multiple sclerosis. Mechanisms and rationale. *Neurology*; 64: 1336-1342, 2005.

Rieckmann P., Toyka K. und MSTKG. Diagnostik und Therapie der Multiplen Sklerose. Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Thieme Verlag, 3. Auflage, Seite 298-316, 2005.

Rivera-Quinones C., McGaver D., Schmelzer J., Hunter S. F., Low P.A., Rodriguez M.. Absence of neurological deficits following extensive demyelination in a class-I  $\beta$ -deficient murine model of multiple sclerosis. *Nat. Med.*; 4: 187-193, 1998.

Roemer S. F., Parisi J. E., Lennon V. A., Benarroch E. E., Lassmann H., Bruck W., Mandler R. N., Weinshenker B. G., Pittock S. J., Wingerchuck D. M., Lucchinetti C. F.. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Brain*; 130: 1194-1205, 2007.

- Rudick R. A., Stuart W. H., Calabresi P. A. et al.. Natalizumab plus interferon beta 1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*; 354: 911-923, 2006.
- Selmaj K.W., Raine C.S.. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann Neurol*; 23: 339-346, 1988.
- Silber, E., Sharief M. K.. Axonal degeneration in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neurol Sci*; 170: 11-18, 1999.
- Smith K.J., Kapoor R., Hall S. M., Davies M.. Electrically active axons degenerate when exposed to nitric oxide. *Ann Neurol*; 49: 470-476, 2001.
- Stadelmann C., Kerschensteiner M., Misged T., Brück W., Hohlfeld R., Lassmann H.. BDNF and gp145trkB in multiple sclerosis brain lesions: neurprotective interactions between immune and neuronal cells? *Brain*; 125: 75-85, 2002.
- Steinman L., Zamvil S.. How to successfully apply animal studies in experimental allergic encephalomyelitis to research on multiple sclerosis. *Ann Neurol*; 60: 12-21, 2006.
- Storch M. K. , Stefferl A., Brehm U., Weissert R., Wallstrom E., Kerschensteiner M., Olsson T., Linington C., Lassmann H.. Autoimmunity to myelin oligodendrocyte glycoprotein in rats mimics the spectrum of multiple sclerosis pathology. *Brain Pathol*; Oct, 8(4): 681-694, 1998.
- Stys P. K., Waxman S. G, Ransom B. R.. Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian CNS white matter: a role of Na-channels and Na-Ca exchanger. *J Neurosci*; 12: 430-439, 1992.
- Stys P. K., Lesiuk H.. Correlation between elektophysiological effects of mexiletine and ischemic protection in central nervous system white matter. *Neuroscience*; 71: 27-36, 1996.
- Stys P. K.. General mechanisms of axonal damage and its prevention. *J Neurol Sci*; 233: 3-13, 2005.
- Tintoré M., Rovira A., Martinez M., Rio J., Diaz-Villoslada P., Briva L., et al.. Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *AJNR*; 21: 702-706, 2000.
- Touil T., Deloire-Grassin M. S. A., Vital C., Petry K. G., Brochet B.. In vivo damage of CNS myelin and axons induced by peroxynitrite. *Neuroreport*; 12 (16): 3637-3644, 2001.
- Trapp B. D., Peterson J., Ransohoff R. M., Rudick., Mörk S., Bö L.. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med*; 338: 278-285, 1998.
- Trapp B. D., Bö L., Mörk S., Chang A.. Pathogenesis of tissue injury in MS lesions. *J Neuroimmunol*; 98: 49-56, 1999.

- Van der Laan L. J., Ruuls S. R., Weber K. S., Lodder I. J., Dopp E. A., Dijkstra C. D.. Macrophage phagocytosis of myelin in vitro determined by flow cytometry: phagocytosis is mediated by CR3 and induces production of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide. *J Neuroimmunol*; Nov, 70(2): 145-152, 1996.
- Waxman S. G.. Acquired channelopathies in nerve injury and MS. *Neurology*; 56: 1621-1627, 2001.
- Weinshenker B. G.. Epidemiology of multiple sclerosis. *Neurol Clin*; 14(2): 291-308, 1996.
- Wekerle H., Kojima K., Lannes-Vieira J., Lassmann H., Linington C.. Animal models. *Ann Neurol*; 36: 47-53, 1994.
- Wiendl H., Melms A., Hohlfeld R. Multiple Sklerose und andere demyelinisierende Erkrankungen aus Brandt, Dichigans, Diener. Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen. Kohlhammer Verlag, 4. Auflage, 2003.
- Wiendl H., Kieseier B. C, Gold R., Hohlfeld R., Bendszus M., Hartung H.-P.. Multiple Sklerose-Revision der neuen McDonald- Diagnosekriterien. *Nervenarzt*; 77: 1235-1245, 2006.
- Wingerchuk D. M., Lucchinetti C., Noseworthy J.. Multiple sclerosis: Current pathophysiological concepts. *Lab Invest*; 81: 263-281, 2001.
- Wujek J., Bjartmar C., Richer E., Ransohoff R. M., Yu M., Tuhoy V. K., Trapp B. D.. Axon loss in the spinal cord determines permanent neurological disability in an animal model of multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*; 61: 23-32, 2002.
- Yousry T., Major E., Ryschkewitsch C., et al.. Evaluation of patients treated with natalizumab for progressive multifocal leucoencephalopathy. *N Engl J Med*; 354: 924-933, 2006.

**7. Abkürzungsverzeichnis:**

ADEM	Akute demyelinisierende Enzephalomyelitis
Anti-TPO Antikörper	Anti-Thyreoidale Peroxidase-Antikörper
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propionsäure
APP	amyloid precursor protein, Amyloid-Vorläuferprotein
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
CD	Cluster of Differentiation
EAE	experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis
eNOS	endotheliale NOS
GFAP	Gliafaserprotein
HLA	human leukocyte antigen
IgG	Immunglobulin G
IL1	Interleukin1
iNOS	induzierbare Nitric Oxyde Synthetase
IP3-Rezeptor	Inositoltrisphosphat3-Rezeptor
LCA	Leucocyte Common Antigen
MBP	myelin basic protein
MHC	Major Histocompatibility Complex
MOG	Myelin-Oligodendrozyten Glykoprotein
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
NF	Neurofilament
NO	Nitric Oxyd, Stickoxid
NOS	NO-Synthetase

nNOS	neuronale NOS
PAS	Perjodic-acid-Schiff - Reaction
PBS	phosphate-buffered saline
Th1-Zellen	Helferzellen des Typs Th1
Th2-Zellen	Helferzellen des Typs Th2
TNF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , Tumornekrosefaktor $\alpha$
TRAIL	Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand
ZNS	Zentralnervensystem

**Danksagung:**

Ich danke:

Frau Prof. Dr. med. Gisela Stoltenburg-Didinger für die Überlassung des Themas und die anregende und eingehende Unterstützung und Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. Altenkirch für die Anregungen und Informationen hinsichtlich der klinischen Angaben des Patientenkollektivs dieser Arbeit.

Frau Prof. Stadelmann und Frau Dr. med. Kuhlmann aus dem neuropathologischen Institut Universitätsmedizin Göttingen für die Möglichkeit und konstruktive Hilfe bei den immunhistochemischen Färbungen und Bereitstellung der dafür notwendigen Mittel, inklusive dem Antikörper APP.

Den Mitarbeiter/Innen des neuropathologischen und anatomischen Labors des Campus Benjamin-Franklin/FU-Berlin, sowie des Campus Virchow und Campus Mitte der Charité Universitätsmedizin Berlin für die Durchführung der Routine- und immunhistochemischen Färbungen und Bereitstellung der dafür notwendigen Mittel.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie für die langjährige Unterstützung.

**Erklärung an Eides statt:**

„Ich, Annette Beseler, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Über den akuten Axonschaden während der ersten klinischen Ereignisse einer Multiplen Sklerose-eine neuropathologische Arbeit mit klinischen Korrelationen 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.“