

Aus der Klinik für Neurologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Lymphozytäre DNA-Schäden als diagnostische- und  
krankheitsaktivitäts-Biomarker bei Patienten mit früher  
Multipler Sklerose

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ludwig Rasche

aus Berlin

Datum der Promotion: 10.03.2017

<b>1 Abstracts</b> .....	<b>3</b>
1.1 <i>Abstract in Deutsch</i> .....	3
1.2 <i>Abstract in Englisch</i> .....	4
<b>2 Eidesstattliche Versicherung einschließlich Anteilserklärung</b> .....	<b>6</b>
2.1 <i>Eidesstattliche Versicherung</i> .....	6
2.2 <i>Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation</i> .....	7
<b>3 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge<sup>SM</sup>):</b> .....	<b>10</b>
<b>4 Druckexemplar der ausgewählten Publikation</b> .....	<b>11</b>
<b>5 Lebenslauf</b> .....	<b>26</b>
<b>6 Vollständige Publikationsliste</b> .....	<b>27</b>
<b>7 Danksagung</b> .....	<b>30</b>

# 1 Abstracts

## 1.1 Abstract in Deutsch

**Hintergrund:** In eukaryoten Zellen kommt es als Reaktion auf DNA-Doppelstrangbrüche zur Phosphorylierung des Histon Proteins H2AX in der Umgebung der DNA-Bruchstelle. Phosphoryliertes H2AX wird als  $\gamma$ -H2AX bezeichnet und lässt sich immunfluoreszenzmikroskopisch als intranukleärer Focus darstellen und quantifizieren. In ähnlicher Weise wird auch p53 bindendes Protein 1 (53BP1), welches einen Regulator der zellulären Antwort auf DNA Doppelstrangbrüche darstellt, zu DNA-Doppelstrangbrüchen rekrutiert. Die Expression von  $\gamma$ -H2AX in mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) wurde unlängst als möglicher diagnostischer und Krankheitsaktivitäts-Biomarker bei schubförmig remittierender Multipler Sklerose (RRMS) vorgeschlagen.

**Ziel:** Untersuchung der Bedeutung von  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Foci in PBMCs als diagnostische- und krankheitsaktivitäts-Biomarker bei Patienten mit klinisch isoliertem Syndrom (CIS) und früher RRMS.

**Methoden:** Von 25 Patienten mit einem CIS oder früher RRMS und 27 gesunden Kontrollen wurden frische PBMCs aus Vollblut isoliert, immunzytochemisch für  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 markiert und mittels automatisierter indirekter Immunfluoreszenzmikroskopie hinsichtlich der  $\gamma$ -H2AX- und 53BP1-Expression ausgewertet. Alle Patienten erhielten eine 3 Tesla MRT Untersuchung und eine ausführliche klinische Untersuchung mit Erhebung des Expanded Disability Status Scale (EDSS) Scores. Weiterhin wurden zuvor gefrorene PBMCs von 10 Patienten mit und ohne kontrastmittelaufnehmenden Läsionen in der kraniellen MRT, sowie PBMCs von 10 gesunden Kontrollen hinsichtlich ihrer  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Expression verglichen. Die statistische Auswertung erfolgte mittels des Mann-Whitney Tests für den Gruppenvergleich der  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Level, sowie mit Spearman Korrelationen für die Korrelation der  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Level mit dem EDSS und MRT-Parametern.

**Ergebnisse:** Die  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Level frischer PBMCs waren insgesamt niedrig und vergleichbar mit zuvor veröffentlichten Werten bei gesunden Probanden. Der Median (Range) betrug bei allen Studienteilnehmern für  $\gamma$ -H2AX 0,04 (0-0,5) Foci/Zelle und für 53BP1 0,005 (0-0,2) Foci/Zelle. Es bestand kein signifikanter

Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe. Es bestand für beide Parameter keine statistisch signifikante Korrelation mit Anzahl und Volumen T2-gewichteter Läsionen im MRT oder dem EDSS Score. In dem Gruppenvergleich zuvor gefrorener PBMCs von Patienten mit kontrastmittelaufnehmenden Läsionen zeigten sich gegenüber Patienten ohne kontrastmittelaufnehmende Läsionen erhöhte  $\gamma$ -H2AX Level.  $\gamma$ -H2AX Level beider Gruppen überlappten jedoch stark und es zeigte sich keine Korrelation der  $\gamma$ -H2AX Level mit Anzahl oder Volumen kontrastmittelaufnehmender Läsionen. Für 53BP1 bestand kein Gruppenunterschied. **Fazit:** Lymphozytäre  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Foci scheinen keinen geeigneten diagnostischen und/oder Krankheitsaktivitätsmarker bei Patienten mit früher MS darzustellen. Die hier erhobenen Daten sprechen nicht dafür, dass lymphozytäre DNA Doppelstrangbrüche eine wesentliche Rolle in der Pathogenese der MS spielen.

## 1.2 Abstract in Englisch

**Background:** In eukaryotic cells, DNA double-strand breaks lead to phosphorylation of the histone protein H2AX close to the break site. Phosphorylated H2AX is termed  $\gamma$ -H2AX and can be quantified via immunofluorescence microscopy as intranuclear foci. Likewise, p53-binding protein (53BP1), a regulator of the cellular response to DNA double-strand breaks, is recruited to sites of DNA double-strand breaks.  $\gamma$ -H2AX expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) was recently proposed as a diagnostic and disease activity marker in patients with relapsing remitting multiple sclerosis (RRMS).

**Objective:** To study the significance of  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 foci in PBMCs as diagnostic and disease activity markers in patients with clinically isolated syndrome (CIS) and early RRMS.

**Methods:** Freshly isolated PBMCs of patients with CIS/early RRMS (n = 25) and healthy controls (n = 27) were stained with specific antibodies for  $\gamma$ -H2AX and 53BP1. Nuclear  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 expression was determined via fully automated indirect immunofluorescence microscopy. Patients underwent 3 Tesla MRI and clinical examination including expanded disability status scale (EDSS) score. Furthermore,  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 were also compared in previously frozen PBMCs of each 10 CIS/early RRMS patients with and without contrast enhancing lesions and

10 healthy controls. Statistics were performed using Mann Whitney test for group comparisons and Spearman correlation for correlation of EDSS and MRI-parameters.

**Results:** In fresh PBMCs, the  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 levels were low and similar to previously reported values in healthy individuals. The median (range) across all study participants for  $\gamma$ -H2AX was 0.04 (0–0.5) foci/cell and for 53BP1 0.005 (0–0.2) foci/cell. For both parameters, there was no significant difference between patients and healthy controls. Both parameters neither correlated with the number nor volume of T2-weighted lesions on MRI, nor with the EDSS.  $\gamma$ -H2AX, but not 53BP1, levels were higher in previously frozen PBMCs of patients with than without contrast enhancing lesions but  $\gamma$ -H2AX values of both groups overlapped and  $\gamma$ -H2AX did not correlate with the number or volume of contrast enhancing lesions.

**Conclusion:** Lymphocytic  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 foci do not seem to be promising diagnostic and/or disease activity biomarkers in patients with early multiple sclerosis. Lymphocytic DNA double-strand breaks are unlikely to play a major role in the pathophysiology of multiple sclerosis.

## **2 Eidesstattliche Versicherung einschließlich Anteilserklärung**

### **2.1 Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Ludwig Rasche, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema: „Lymphozytäre DNA-Schäden als diagnostische- und krankheitsaktivitäts-Biomarker bei Patienten mit früher Multipler Sklerose“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

---

Unterschrift

## 2.2 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

### Publikation:

#### **Autoren:**

Rasche L, Heiserich L, Behrens JR, Lenz K, Pfuhl C, Wakonig K, Gieß RM, Freitag E, Eberle C, Wuerfel J, Dörr J, Bauer P, Bellmann-Strobl J, Paul F, Roggenbuck D, Ruprecht K.

#### **Titel:**

Analysis of Lymphocytic DNA Damage in Early Multiple Sclerosis by Automated Gamma-H2AX and 53BP1 Foci Detection: A Case Control Study.

#### **Journal:**

PLOS ONE. 2016 Jan 28;11(1):e0147968.

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0147968>

#### **Veröffentlichung:**

28.01.2016

**Eigenanteil an der Publikation:** 70%

### **Beitrag im Einzelnen:**

Die vorliegende Arbeit wurde in gemeinschaftlicher Zusammenarbeit von den oben genannten Autoren in der Klinik für Neurologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin, sowie am klinischen Forschungszentrum des NeuroCure Clinical Research Centers an der Charité-Universitätsmedizin Berlin unter Leitung von Herrn PD Dr. med. Klemens Ruprecht erstellt. Teilschritte der Versuche (insbesondere die maschinelle Auswertung der angefertigten Objektträger), wurden in Kooperation durch Mitarbeiter der Medipan GmbH in Dahlewitz bei Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dirk Roggenbruck durchgeführt.

Das Konzept und Design der Studie wurde von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dirk Roggenbuck und Herrn PD Dr. med. Klemens Ruprecht gemeinschaftlich erarbeitet. Das Projekt war in eine laufende Beobachtungsstudie – die Berliner CIS-Kohorte eingebettet, welche seit 2011 besteht und federführend durch Herrn Prof. Dr. med. Friedemann Paul, PD Dr. med. Klemens Ruprecht und Frau Dr. med. Judith Bellmann-Strobl konzipiert wurde.

Durch folgende Beiträge konnte ich die Erstautorenschaft der oben aufgeführten Publikation erwerben:

1. Patientenbetreuung und Akquise klinischer Daten:

Während des Zeitraumes zwischen März 2014 und Juli 2014 war ich bei einem maßgeblichen Anteil der eingeschlossenen MS-Patienten für die Organisation und Durchführung vollständiger Studienvisiten inklusive Blutabnahme verantwortlich. Supervidiert wurde ich dabei durch Frau J. Behrens und Frau Dr. med. J. Bellman-Strobl, welche auch den ärztlichen Teil der Datenakquise inkl. klinisch neurologischer Untersuchung mit Bestimmung des EDDS und MRT Untersuchung beaufsichtigten. Für die Krankheitsaktivitäts-Messungen konnte ich auf zuvor generierte, gefrorene Proben zurückgreifen. Studienvisiten zu diesen Patientensamples wurden neben mir durch E. Freitag, R.M. Gieß, C. Pfuhl und K. Wakonig durchgeführt.

2. Akquirierung und Matching von Kontrollprobanden:

Alle in diese Studie eingeschlossenen Blutproben von gesunden Probanden (healthy controls) wurden durch mich akquiriert. Ein Matching der Probandengruppe hinsichtlich Alter und Geschlecht erfolgte durch mich unter Supervision meines Betreuers und Doktorvaters PD Dr. med. Klemens Ruprecht.

3. Isolation und Fixierung der frischen PBMCs und Fixierung zuvor gefrorener PBMCs:

Die Isolation der PBMCs aus den Blutproben von Patienten erfolgte zum Teil durch mich und zum Teil durch Frau B. Seeger. Die PBMC-Isolation aus den Blutproben der gesunden Kontrollen, sowie die Weiterverarbeitung und Fixierung aller frisch isolierten Zellen auf Objektträgern wurde alleinig durch mich durchgeführt. Weiterhin fertigte ich alle Objektträger aus zuvor gefrorenen PBMCs selbstständig an. Fachliche Unterstützung erhielt ich hierbei durch Frau Dr. L. Heiserich und Frau C. Eberle.

4. Katalogisieren des Datensatzes und der klinischen Patientendaten:

Die Rohdaten der gammaH2AX und 53BP1 Messungen wurden mir in Form von Excel Files zugeschickt. Das Zusammentragen der relevanten klinischen



Patientendaten wurde von mir größtenteils aus den jeweiligen Patientenakten durchgeführt. Einen Teil der Daten konnte ich aus digitalisierten Listen übernehmen (Rauchverhalten, MRT-Parameter).

#### 5. Statistische Datenanalyse:

Die statistische Gesamtauswertung der erhobenen Daten wurde von mir in Eigenverantwortung mithilfe der Statistiksoftware GraphPad Prism (Version 5.0d) und in enger Supervision durch Herrn PD Dr. med. K. Ruprecht durchgeführt. Unterstützung und Beratung erhielt ich hierbei durch Herrn Dipl.-Math. K. Lenz, Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie, Charité Berlin.

#### 6. Verfassung und Bearbeitung des Manuskripts:

Die Erstfassung des Manuskriptes wurde durch mich angefertigt. Die weitere Bearbeitung und Verbesserung des Manuskriptes erfolgte durch Herrn PD Dr. med. K. Ruprecht sowie die oben aufgelisteten Koautoren, wobei insbesondere Herr Prof. Roggenbuck zu nennen ist. Im Rahmen des Review Prozesses wurde das Manuskript weiter modifiziert, wobei neben mir Herr PD Dr. med. K. Ruprecht den entscheidenden Anteil an der Fertigstellung des Manuskriptes trug.

Die Tabellen und Abbildungen wurden von mir angefertigt und in enger Zusammenarbeit mit Herrn PD Dr. med. K. Ruprecht finalisiert.

Unterschrift des Doktoranden

---

Ludwig Rasche

### 3 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge<sup>SM</sup>):

Gemäß den „Journal Citation Reports“ von 2014 ist das Journal „PLOS ONE“ im Fachbereich „Multidisciplinary Sciences“ von insgesamt 57 nach Impact Factor sortierten Journalen auf Rang 9 gelistet (siehe Abbildung 1 und 2). Es liegt somit in den oberen 30%. Bei einem Impact Factor von 3,234 und einem Eigenfaktor von 1,533 zählt es also zu den „Topjournals“.

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <small>(linked to journal information)</small>	ISSN	JCR Data <small>(j)</small>					Eigenfactor <sup>®</sup> Metrics <small>(j)</small>		
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor <sup>®</sup> Score	Article Influence <sup>®</sup> Score
	1	NATURE	0028-0836	617263	41.456	41.296	9.585	862	>10.0	1.49669	21.960
	2	SCIENCE	0036-8075	577559	33.611	35.283	7.221	820	>10.0	1.22204	17.885
	3	NAT. COMMUN.	2041-1722	39396	11.470	11.904	1.706	2788	1.9	0.26326	5.723
	4	P. NATL. ACAD. SCI. USA	0027-8424	586144	9.674	10.563	1.967	3579	8.4	1.41641	4.733
	5	SCI. REP.-UK	2045-2322	22836	5.878	5.597	0.722	3931	1.7	0.11476	2.075
	6	ANN. NY. ACAD. SCI.	0077-8923	46641	4.383	3.838	1.106	246	9.9	0.06676	1.371
	7	J. R. SOC. INTERFACE	1742-5689	7717	3.917	4.550	0.680	344	4.4	0.03088	1.701
	8	RES. SYNTH. METHODS	1759-2879	369	3.898	4.000	0.185	27	2.9	0.00358	2.478
	9	PLOS ONE	1932-6203	332716	3.234	3.702	0.489	30040	2.7	1.53341	1.209
	10	P. JPN. ACAD. B-PHYS.	0386-2208	1080	2.652	3.096	0.182	33	5.2	0.00349	1.008
	11	P. ROY. SOC. A-MATH. PHY.	1364-5021	17231	2.192	2.372	0.405	220	>10.0	0.01866	1.215
	12	PHILOS. T. R. SOC. A	1364-503X	13901	2.147	3.038	1.287	293	8.4	0.03112	1.294
	13	PLoS ONE	2167-8359	655	2.112	2.112	0.350	471	1.3	0.00277	0.752
	14	NATURWISSENSCHAFTEN	0028-1042	6500	2.098	2.076	0.261	122	>10.0	0.00747	0.721
	15	P. ROMANIAN. ACAD. A	1454-9869	256	1.658	0.927	0.102	49	2.2	0.00078	0.198
	16	CHINESE. SCI. BULL.	1001-6538	10429	1.579	1.519	0.285	632	6.6	0.01997	0.415
	17	JOVE: J. VIS. EXP.	1940-087X	4651	1.326	0.201	0.941	941	3.3	0.02280	0.226
	18	FRAC-TALS	0218-348X	650	1.220	0.702	0.444	27	>10.0	0.00067	0.388
	19	INT. J. BIFURCAT. CHAOS	0218-1274	4576	1.078	1.113	0.233	219	8.5	0.00849	0.388
	20	SCI. AM.	0036-8732	4730	1.070	1.373	0.221	100	>10.0	0.00513	0.666

Abbildung 1: Auszug aus der Journal Summary List (Rang 1-20 aller 57 nach Impact Factor geordneten Journale im Fachbereich „Multidisciplinary Sciences“. (<http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR>; 22.01.2016).

8	RES. SYNTH. METHODS	1759-2879	369	3.898	4.000	0.185	27	2.9	0.00358
9	PLOS ONE	1932-6203	332716	3.234	3.702	0.489	30040	2.7	1.53341
10	P. JPN. ACAD. B-PHYS.	0386-2208	1080	2.652	3.096	0.182	33	5.2	0.00349

Abbildung 2: Ausschnitt aus der Journal Summary List mit „PLOS ONE“ auf Rang 9, Impact Factor 3,234 und Eigenfaktor 1,533 (<http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR>; 22.01.2016).

#### 4 Druckexemplar der ausgewählten Publikation

***Autoren:***

Rasche L, Heiserich L, Behrens JR, Lenz K, Pfuhl C, Wakonig K, Gieß RM, Freitag E, Eberle C, Wuerfel J, Dörr J, Bauer P, Bellmann-Strobl J, Paul F, Roggenbuck D, Ruprecht K.

***Titel:***

Analysis of Lymphocytic DNA Damage in Early Multiple Sclerosis by Automated Gamma-H2AX and 53BP1 Foci Detection: A Case Control Study.

***Journal:***

PLOS ONE. 2016 Jan 28;11(1):e0147968.

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0147968>

***Veröffentlichung:***

28.01.2016

***Ausgeschriebener Journal-Titel:***

PLOS ONE

***Impact Factor (2014):***

3,234

***Eigenfactor (2014):***

1,533

Seiten 12-25

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*



*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*



*Druckexemplar der ausgewählten Publikation*

## **5 Lebenslauf**

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

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

## 6 Vollständige Publikationsliste

### Originalarbeiten:

Association of serum Epstein-Barr nuclear antigen-1 antibodies and intrathecal immunoglobulin synthesis in early multiple sclerosis.

Pfuhl C\*, Oechtering J\*, **Rasche L\***, Gieß RM, Behrens JR, Wakonig K, Freitag E, Pache FC, Otto C, Hofmann J, Eberspächer B, Bellmann-Strobl J, Paul F, Ruprecht K. J Neuroimmunol. 2015 Aug 15;285:156-60. doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.06.012. Epub 2015 Jun 25.

**Journal:** Journal of Neuroimmunology

**Impact Factor (2014):** 2,467

Low 25-hydroxyvitamin D, but not the bioavailable fraction of 25-hydroxyvitamin D, is a risk factor for multiple sclerosis.

Behrens JR, **Rasche L**, Gieß RM, Pfuhl C, Wakonig K, Freitag E, Deuschle K, Bellmann-Strobl J, Paul F, Ruprecht K\*, Dörr J\*. Eur J Neurol. 2016 Jan;23(1):62-7. doi: 10.1111/ene.12788. Epub 2015 Jul 28.

**Journal:** European Journal of Neurology

**Impact Factor (2014):** 4,055

Next-generation sequencing identifies altered whole blood microRNAs in neuromyelitis optica spectrum disorder which may permit discrimination from multiple sclerosis.

Keller A, Leidinger P, Meese E, Haas J, Backes C, **Rasche L**, Behrens JR, Pfuhl C, Wakonig K, Gieß RM, Jarius S, Meder B, Bellmann-Strobl J, Paul F, Pache FC\*, Ruprecht K\*.

J Neuroinflammation. 2015 Oct 31;12:196. doi: 10.1186/s12974-015-0418-1.

**Journal:** Journal of Neuroinflammation

**Impact Factor (2014):** 5,408

Analysis of lymphocytic DNA damage in early multiple sclerosis by automated gamma-H2AX and 53BP1 foci detection: A case control study.

**Rasche L**, Heiserich L, Behrens JR, Lenz K, Pfuhl C, Wakonig K, Gieß RM, Freitag E, Eberle C, Wuerfel J, Dörr J, Bauer P, Bellmann-Strobl J, Paul F, Roggenbuck D\*, Ruprecht K\*.

PLOS ONE. 2016 Jan 28;11(1):e0147968. doi: 10.1371/journal.pone.0147968.

**Journal:** PLOS ONE

**Impact Factor (2014):** 3,234

**Wissenschaftliche Vorträge/ Poster-Präsentationen:**

*Vortrag, Medipan GmbH / GA Generic Assays GmbH, Dahlewitz, 12.09.2014: DNA Doppelstrangbrüche bei Patienten mit Multipler Sklerose.*

Rasche L.

*Poster Präsentation, ECTRIMS Congress 10/2015, Barcelona:*

Analysis of lymphocytic DNA damage in early multiple sclerosis by automated gamma-H2AX and 53BP1 foci detection.

**Rasche L**, Heiserich L, Behrens JR, Lenz K, Pfuhl C, Wakonig K, Gieß RM, Freitag E, Eberle C, Bauer P, Bellmann-Strobl J, Paul F, Roggenbuck D\*, Ruprecht K\*.

## 7 Danksagung

Zunächst möchte ich meinem Betreuer und Doktorvater Herrn PD Dr. med. Klemens Ruprecht danken. Er hat mich in der gesamten Zeit durch seine kompetenten Anregungen unterstützt und motiviert. Er war stets für Fragen erreichbar und hat mir somit den Einstieg in das wissenschaftliche Arbeiten ermöglicht. Seine Kompetenz und Leidenschaft auf vielen Gebieten der Neurologie sind eine Inspiration.

Mein Dank gilt außerdem dem gesamten Team des NeuroCure Clinical Research Centers, sowie der Gesamtheit aller an der CIS-Studie teilnehmenden Patienten ohne die diese Arbeit undenkbar gewesen wäre.

Weiterhin gilt mein Dank auch Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dirk Roggenbuck und den Mitarbeitern der Medipan GmbH. Insbesondere danke ich Frau Dr. Lisa Heiserich, die mich in einer von produktivem Austausch geprägten Atmosphäre in der Fertigstellung meiner Publikation unterstützte.

Ich danke auch meinem guten Freund und Studienkollegen Dr. med. Wolf Julian Neumann, für seine immerwährende Unterstützung und Motivation in allen Lebenslagen.

Schließlich danke ich meiner Familie und meinen Freunden, die das Projekt zum Teil unter persönlichem Einsatz erst ermöglichten.

Zuletzt möchte ich meiner Freundin Katerina für ihre Unterstützung und ihre Geduld danken. Ich schätze mich sehr glücklich.