

Aus der Abteilung Neuropathologie
(Prof. Dr. med. W. Brück)
im Zentrum Pathologie und Rechtsmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Reaktive Astrozytenveränderungen in Multiple-Sklerose-Läsionen:
Morphologische und immunhistochemische Analyse unter
Berücksichtigung verschiedener Läsionsaktivitäten und
immunpathologischer Subtypen**

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Anna Löscher
aus
Karl-Marx-Stadt/ Chemnitz

Göttingen 2010

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Brück

II. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. med. B. Kitze

III. Berichterstatter/in: -

Tag der mündlichen Prüfung: 06.07.2011

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Multiple Sklerose | 1 |
| 1.1.1 | Epidemiologie | 1 |
| 1.1.2 | Ätiologie | 2 |
| 1.1.3 | Klinik | 3 |
| 1.1.4 | Diagnostik | 4 |
| 1.1.5 | Therapie | 5 |
| 1.1.6 | Pathologie | 6 |
| 1.1.6.1 | Läsionsaktivitäten | 8 |
| 1.1.6.2 | Immunpathologische Subtypen der Multiplen Sklerose | 10 |
| 1.1.7 | Pathogenese | 12 |
| 1.2 | Progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML) | 15 |
| 1.3 | Astrozyten | 16 |
| 1.3.1 | Morphologie und Identifikation | 17 |
| 1.3.2 | Funktionen der Astrozyten | 17 |
| 1.3.3 | Reaktiv veränderte Astrozyten bei Multipler Sklerose | 19 |
| 1.3.3.1 | Die Glianarbe bei Multipler Sklerose – eine mechanische Barriere? | 21 |
| 1.3.3.2 | Astrozyten und ihr Einfluss auf die Remyelinisierung bei Multipler Sklerose | 21 |
| 1.3.3.3 | Astrozyten und die Immunantwort | 22 |
| 1.3.4 | Reaktive Astrozyten und astrozytäre Zelleinschlüsse bei Multipler Sklerose | 24 |
| 1.4 | Fragestellung | 25 |
| | | |
| 2 | Material und Methoden | 27 |
| 2.1 | Material | 27 |
| 2.1.1 | Zuordnung des untersuchten Materials | 27 |
| 2.2 | Patientendaten | 28 |
| 2.3 | Immunhistochemie | 28 |
| 2.3.1 | Antikörper | 29 |
| 2.3.1.1 | Das „saure Gliafaserprotein“ (GFAP): astrozytenspezifisches Antigen | 30 |
| 2.3.1.2 | Der Primärantikörper 2003 (PAb 2003): JC-Virus-spezifisches Antigen | 30 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 2.3.2 | Avidin-Biotin-Methode..... | 31 |
| 2.3.3 | Alkalische-Phosphatase-anti-alkalische-Phosphatase (APAAP)-Methode..... | 31 |
| 2.4 | Morphometrische Auswertung..... | 32 |
| 2.4.1 | Mapping..... | 33 |
| 2.5 | Statistik..... | 33 |
| 3 | Ergebnisse | 35 |
| 3.1 | Reaktiv veränderte Astrozyten in Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 35 |
| 3.2 | Astrozytäre Fasergliose in Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 36 |
| 3.3 | Reaktiv veränderte Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen in Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 37 |
| 3.4 | Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 38 |
| 3.5 | Auswertung der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) bezüglich der Subtypen frühaktiver Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 39 |
| 3.6 | Auswertung der Läsionen progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML) im Vergleich zu den Subtypen Multipler-Sklerose-Läsionen..... | 40 |
| 3.7 | Korrelation klinischer Daten von Patienten mit Multipler Sklerose..... | 40 |
| 3.7.1 | Reaktiv veränderte Astrozyten in Korrelation zu klinischen Daten..... | 42 |
| 3.7.2 | Astrozytäre Fasergliose in Korrelation zu klinischen Daten..... | 43 |
| 3.7.3 | Reaktiv veränderte Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen in Korrelation zu klinischen Daten..... | 43 |
| 3.7.4 | Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Korrelation zu klinischen Daten..... | 44 |
| 3.8 | Auswertung der klinischen Daten der Patienten mit progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML)..... | 44 |
| 3.9 | Zusammenfassung der Ergebnisse..... | 45 |
| 4 | Diskussion | 47 |
| 4.1 | Astrozytäre Veränderungen der Subtypen frühaktiv entmarkender Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 48 |
| 4.2 | Astrozytäre Veränderungen der verschiedenen Läsionsaktivitäten in Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 50 |
| 4.2.1 | Auswirkungen astrozytärer Veränderungen auf die Remyelinisierung..... | 51 |
| 4.2.1.1 | Inhibierende Einflüsse der Astrozyten auf die Remyelinisierung..... | 51 |
| 4.2.1.2 | Fördernde Einflüsse der Astrozyten auf die Remyelinisierung..... | 52 |

| | |
|---|------------|
| 4.2.1.3 Astrozytäre Zelleinschlüsse bei Multipler Sklerose und ihre Bedeutung bei der Remyelinisierung..... | 53 |
| 4.2.2 Auswirkungen astrozytärer Veränderungen auf die Entzündungsreaktion | 56 |
| 4.2.2.1 Inhibierende Einflüsse der Astrozyten auf die Entzündungsreaktion..... | 56 |
| 4.2.2.2 Fördernde Einflüsse der Astrozyten auf die Entzündungsreaktion | 57 |
| 4.2.2.3 Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Multiple-Sklerose-Läsionen – die Folge einer massiven Entzündungsreaktion?..... | 59 |
| 4.3 Astrozytäre Veränderungen in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) von frühaktiven Multiple-Sklerose-Läsionen..... | 60 |
| 4.4 Astrozytäre Veränderungen in Korrelation zu demographischen und klinischen Patientendaten..... | 60 |
| | |
| 5 Zusammenfassung | 64 |
| | |
| 6 Anhang | 66 |
| 6.1 Tabellen..... | 66 |
| 6.2 Graphische Darstellungen..... | 91 |
| 6.3 Abbildungen..... | 106 |
| 6.3.1 Neuropathologische Befunde bei Multipler Sklerose..... | 106 |
| 6.3.2 Reaktive astrozytäre Veränderungen..... | 107 |
| 6.3.3 Heterogenität der astroglialen Veränderungen..... | 108 |
| 6.3.4 Läsionsaktivitäten..... | 109 |
| 6.3.5 Remyelinisierung..... | 110 |
| 6.3.6 Progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML)..... | 111 |
| | |
| 7 Literaturverzeichnis | 112 |

Abkürzungsverzeichnis

| | | | |
|-------|---|------|---|
| Abb. | Abbildung | IA | inactive/ inaktiv |
| APAAP | alkalische-Phosphatase-anti- Alkalische-Phosphatase | IFN | Interferon |
| BDNF | brain-derived-neurotrophic- factor | Ig | Immunglobulin |
| Bx | Biopsie | IGF | insulin-like-growth-factor |
| bzw. | beziehungsweise | IL | Interleukin |
| CD | cluster of differentiation | IPS | immunpathologischer Subtyp |
| CFPZ | Creutzfeldt-Peters-Zelle | LA | late active/ spätaktiv |
| CIS | clinically isolated syndrome | LFB | luxol-fast-blue |
| CNP | zyklische Nukleotidphosphohydrolase | LRM | late remyelinated/ spät-remyelinisiert |
| CNTF | ciliar-neurotrophic-factor | MAG | Myelin-assoziiertes Glykoprotein |
| CXCL | Chemokin CXC-Ligand | MBP | basisches Myelinprotein |
| DM | demyelinated/ demyelinisiert | MCP | monocyte-chemoattractant- protein |
| EA | early active/ frühaktiv | MHC | major histocompatibility complex |
| EAE | experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis | MMP | Matrix-Metalloproteinasen |
| ED | Encephalomyelitis disseminata | MOG | Myelin-Oligodendrozyten- Glykoprotein |
| ERM | early remyelinating/ früh-remyelinisierend | MRT | Magnetresonanztomographie |
| FGF | fibroblast-growth-factor | MS | Multiple Sklerose |
| GFAP | glial fibrillary acidic protein/ saures Gliafaserprotein | MW | Mittelwert |
| GLAT | Glatiramerazetat | NAWM | normal appearing white matter/ normal erscheinende weiße Substanz |
| HE | Hämatoxylin-Eosin | NO | Stickstoffmonoxid |
| HLA | humanes Leukozytenantigen | NT | Neurotrophin |

| | | | |
|-----|--|--------------------|--|
| OPC | oligodendrocyte precursor cell/ Oligodendrozytenvorläuferzellen | SA | Standardabweichung |
| PAb | Primärantikörper | SP | secondary progressive/ sekundär chronisch-progredient |
| PAS | periodic-acid-schiff | TGF | transforming-growth-factor |
| PLP | Proteolipidprotein | T _H 1/2 | T-Helfer-Zelle 1/2 |
| PML | progressive multifokale Leukenzephalopathie | TNF | Tumornekrosefaktor |
| PP | primary progressive/ primär chronisch-progredient | ZNS | zentrales Nervensystem |
| RR | relapsing remitting/ schubförmig-remittierend | | |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|--------|---|----|
| Bild 1 | Schematische Darstellung der Avidin-Biotin-Methode..... | 31 |
| Bild 2 | Schematische Darstellung der APAAP-Methode | 32 |

1. Einleitung

1.1 Multiple Sklerose

Die Multiple Sklerose (MS), die auch als Encephalomyelitis disseminata (ED) bezeichnet wird, ist eine chronische autoaggressive entzündliche Entmarkungskrankheit des zentralen Nervensystems, welche vorwiegend die weiße Substanz des Gehirns und des Rückenmarks betrifft. Weltweit leiden etwa 2 Millionen Erwachsene an MS (Fox et al. 2006). Sie wurde erstmals 1835 und 1837 von Cruveilhier und Carswell beschrieben (Timme 1950). Eine detaillierte Beschreibung in Bezug auf Klinik und Pathologie erfolgte 1868 von dem französischen Neurologen J. M. Charcot (Charcot 1868). In autoptischen Hirnpräparaten beschrieb er multiple diffuse verhärtete Läsionen, die der Erkrankung letztlich ihren Namen gaben - „Sclérose en plaques“. Schon damals wurde die Ätiologie der MS kontrovers diskutiert und bis heute sind die Entstehungsmechanismen dieser Erkrankung nicht völlig geklärt. Heutzutage geht man bei der Multiplen Sklerose von einer Autoimmunkrankheit aus, wobei multifaktorielle Faktoren bei der Krankheitsentstehung eine Rolle spielen. Morphologisch ist die MS durch vorwiegend in der weißen Substanz des Zentralnervensystems auftretende Entmarkungsherde gekennzeichnet, die örtlich und zeitlich disseminiert auftreten. Durch eine Zerstörung der Markscheiden wird die Nervenleitung blockiert, wobei es je nach Lokalisation der Läsionen zu unterschiedlichsten Symptomen kommen kann.

Des Weiteren ist die Multiple Sklerose durch ihre Heterogenität gekennzeichnet. Diese spiegelt sich im klinischen Verlauf, im Therapieansprechen und auch in der Histopathologie wider (Lucchinetti et al. 2000) und stellt die Grundlage dieser Arbeit dar.

1.1.1 Epidemiologie

Die jährliche Inzidenz der Multiplen Sklerose beträgt 7 von 100 000 Einwohnern, wobei am häufigsten junge Erwachsene zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr betroffen sind. Frauen erkranken dabei doppelt so häufig wie Männer (Compston und Coles 2002). In Deutschland beträgt die Prävalenz 127 Erkrankte pro 100 000 Einwohner (Hein und Hopfenmüller 2000).

Bei der geographischen Verteilung zeigt sich auf der Nordhalbkugel ein Nord-Süd-Gefälle. Dem gegenüber verhält sich die Verteilung auf der Südhalbkugel spiegelbildlich. Gebiete mit hohem Erkrankungsrisiko sind den gemäßigten Klimazonen zuzuordnen und finden sich

dementsprechend in Nordeuropa und Nordamerika, Südastralien und Neuseeland. Die geringste Prävalenzrate stellt sich in Äquatornähe dar.

Migrationsstudien haben gezeigt, dass Personen, die nach der Pubertät (15. Lebensjahr) aus ihrem Ursprungsland auswandern, das Erkrankungsrisiko des Ursprungslandes beibehalten. Im Gegensatz dazu übernehmen sie das Risiko ihres Einwanderungslandes, wenn sie vor der Pubertät migrieren (Hemmer et al. 2001). Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass ein gewisses „Vulnerabilitätsfenster“ während der Pubertät vorhanden sein könnte (Kesselring 1990).

Es ist nicht endgültig geklärt, inwieweit unterschiedliche Umwelteinflüsse, ethnische und sozioökonomische Faktoren einen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko besitzen.

1.1.2 Ätiologie

Die Ursache der Multiplen Sklerose ist weiterhin ungeklärt. Es gibt zahlreiche Hypothesen, welche eine genetische Disposition, verschiedene Umweltfaktoren und ein multifaktorielles Autoimmungeschehen mit einschließen. So werden familiäre Häufungen bei der MS beobachtet. Das Risiko von Verwandten ersten Grades, an MS zu erkranken, ist 30-50fach gegenüber Nichtverwandten erhöht (Sadovnick et al. 1988). Humane Leukozytenantigene (HLA), welche auf Chromosom 6 kodiert werden und für die Kontrolle der Immunregulation verantwortlich sind, werden mit der MS assoziiert. Insbesondere die Merkmale des HLA-DR-2-Gens finden sich gehäuft bei MS-Patienten (Kesselring 1990). Darüber hinaus werden verschiedene Umweltfaktoren, wie z.B. Virusinfektionen, für die Krankheitsentstehung verantwortlich gemacht. Bei gleicher geografischer Lage tritt die MS in bestimmten Regionen häufiger auf als in anderen, benachbarten Regionen. So weisen die Orkney- und Shetlandinseln mit 309 bzw. 184 Erkrankungen pro 100 000 Einwohnern eine deutlich höhere Prävalenz auf als die nahegelegenen Färöerinseln mit nur 34 Erkrankungen pro 100 000 Einwohnern (Bronnum-Hansen et al. 1994). Bemerkenswert ist auch, dass auf den Färöerinseln die MS bis 1940 völlig unbekannt war. Erst durch die Besetzung britischer Soldaten traten sogenannte MS-Epidemien auf (Kurtzke und Hyllested 1979). Dies legt die Beteiligung einer infektiösen Genese nahe. Insbesondere Virusinfektionen werden in Erwägung gezogen, da bei ihnen lange Latenz- und Persistenzperioden bekannt sind, denen oft chronische Erkrankungen folgen können. Allerdings gelang es bis jetzt noch nicht, einen bestimmten Erreger zu isolieren, der für die Pathogenese der MS verantwortlich gemacht werden könnte.

Man geht derzeit davon aus, dass der MS autoimmunologische Prozesse zugrunde liegen (Lucchinetti et al. 2005, Linker et al. 2005). Vor allem autoreaktive T-Lymphozyten, die gegen Myelinantigene gerichtet sind, scheinen dabei eine große Rolle zu spielen. Viele Erkenntnisse, die diese Annahme unterstützen, entstammen Tiermodellen. Hierbei spielt die experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis (EAE) eine wesentliche Rolle. Dabei werden Tieren, meist Ratten oder Mäusen, myelinspezifische T-Lymphozyten injiziert, welche die Blut-Hirn-Schranke durchdringen und autoimmun-vermittelte Enzephalomyelitiden auslösen können (Wekerle et al 1994). Die EAE zeigt ähnliche histopathologische Veränderungen im ZNS wie die MS und kann hilfreich sein, die Pathogenese der MS besser zu verstehen und dadurch spezifischere Therapien zu entwickeln.

1.1.3 Klinik

Das klinische Bild der Multiplen Sklerose ist sehr variabel und vielfältig. Dies spiegelt sich sowohl in der Symptomenvielfalt als auch in den klinischen Verläufen wider. Je nach Lokalisation der Entzündung kann fast jede neurologische Funktion betroffen sein. Häufige Symptome sind Optikusneuritiden, Sensibilitätsstörungen, zentrale Paresen, Ataxien und Blasen- und Sexualstörungen. Auch psychische Symptome, wie das hirnorganische Psychosyndrom, Konzentrationsschwäche, sowie pathologische Ermüdungserscheinungen, das sogenannte Fatigue-Syndrom, werden beobachtet (Schumacher 1950, Fox et al. 2006).

Es gibt verschiedene Verlaufsformen der Encephalomyelitis disseminata. Diese lassen sich einteilen in einen primär schubförmig-remittierenden (relapsing-remitting: RR-MS), einen sekundär chronisch-progredienten (secondary-progressive: SP-MS) und einen primär chronisch-progredienten (primary-progressive: PP-MS) Verlauf. Bei ca. 80% der Patienten beginnt die Erkrankung mit einem schubförmig-rezidivierenden Verlauf (Weinshenker et al. 1999). Diese Verlaufsform zeichnet sich durch eine teils vollständige Rückbildung der Symptome nach Erkrankungsschub und zwischenzeitliche klinische Stabilisierung des Zustandes aus. Im weiteren Krankheitsverlauf geht diese Phase bei ca. der Hälfte aller Patienten nach 10-20 Jahren in einen sekundär chronisch-progredienten Verlauf über. Hierbei können die Symptome persistieren oder sich nicht bzw. nur unvollständig zurückbilden (Weinshenker et al. 1989). 10-20% aller Patienten weisen einen primär chronisch-progressiven Verlauf auf, bei dem sich keine einzelnen Schübe abgrenzen lassen. Bei ihnen schreiten die Symptome von Beginn an kontinuierlich fort, ohne dass sich eine Remission abzeichnet. Dieser Erkrankungsverlauf tritt häufig bei Patienten auf, die in einem höheren Lebensalter erkranken (Lublin und Reingold 1996).

Darüberhinaus kann die MS in eine benigne und eine maligne Verlaufsform eingeteilt werden. Es wird vermutet, dass bei etwa 30% der Patienten die Erkrankung gutartig verläuft (Amato et al. 1999). Bei ihnen kommt es auch nach Jahrzehnten zu keinen wesentlichen neurologischen Einschränkungen. Dagegen führt die maligne Form schon nach kürzester Zeit zu schweren bleibenden Behinderungen oder zum Tode. Hierzu gehört der Typ Marburg, welcher sich durch einen foudroyanten Krankheitsverlauf auszeichnet, welcher innerhalb von wenigen Jahren zum Tode oder zu schwersten neurologischen Schäden führen kann. Die Zahl der betroffenen MS-Patienten wird mit ca. 5% angegeben (Bitsch und Brück 2002).

Als weitere Sonderformen der MS sind die konzentrische Sklerose Typ Baló, die ebenso wie der Typ Marburg fulminant verlaufen kann, sowie die Neuromyelitis optica, auch als Devic-Erkrankung bekannt, zu nennen. Letztere Erkrankungsform ist durch Optikusneuritiden und eine spinale Symptomatik charakterisiert, welche häufig durch schwere respiratorische Störungen zum Tode führen kann (Wingerchuk et al. 1999).

1.1.4 Diagnostik

Die Anamnese und der klinische Befund stellen wichtige Säulen in der Diagnostik der Multiplen Sklerose dar. Weiterhin kommt auch der Liquoruntersuchung große Bedeutung zu. In 80% der Fälle lässt sich eine intrathekale Immunglobulinvermehrung, insbesondere von Immunglobulin G (IgG), feststellen. Bei mehr als 90% der Patienten werden in der isoelektrischen Fokussierung oligoklonale IgG nachgewiesen. Diese sogenannten oligoklonalen Banden lassen sich zwar gehäuft im Liquor von MS-Patienten identifizieren, sind jedoch nicht spezifisch, da sie auch bei anderen entzündlichen Erkrankungen des ZNS auftreten können.

Eine weitere Säule zur Diagnosesicherung der MS ist die Magnetresonanztomographie (MRT). Mit ihrer Hilfe lassen sich entzündliche Plaques unterschiedlicher Aktivität unterscheiden. Darüberhinaus können asymptotische Läsionen identifiziert werden, welche Hinweise auf das Ausmaß der Entzündungsaktivität und der Läsionslast geben. Weiterhin kann die Bildgebung Informationen für mögliche Remyelinisierungstendenzen oder axonale Schädigungen liefern.

Weitere Untersuchungsmöglichkeiten im Rahmen der MS-Diagnostik stellen sogenannte evozierte Potentiale dar. Hierbei können durch Reizung entstehende elektrische Ableitungen unterschiedlicher Funktionssysteme des ZNS, wie z.B. des N. opticus als visuell evoziertes Potential (VEP), dargestellt werden. Somit kann zur Identifikation der Lokalisation entmarkender Prozesse mit entsprechender Leitungsverzögerung beigetragen werden.

Bis vor wenigen Jahren basierte die Diagnostik der Encephalomyelitis disseminata auf den sogenannten Poser-Kriterien, welche 1983 entwickelt wurden (Poser et al. 1983). Durch klinische Kriterien und laborgestützte Diagnostik ermöglichten sie die Unterteilung in eine „gesicherte“ und eine „wahrscheinliche“ MS. Dabei wurden in der Regel mindestens zwei Schübe gefordert. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt stellen die McDonald-Kriterien, welche 2005 überarbeitet wurden, den internationalen Standard zur Diagnosestellung der MS dar. Hierbei steht der Nachweis einer örtlichen und zeitlichen Disseminierung entzündlich-entmarkender Läsionen in der MRT im Vordergrund (McDonald et al. 2001, Polman et al. 2005). So kann bereits nach dem Auftreten des ersten Schubes bei entsprechender Bildgebung die Diagnose gestellt werden und somit eine frühzeitige immunmodulatorische Behandlung eingeleitet werden. Dies ist für den Patienten von entscheidender Bedeutung, da durch eine früh einsetzende Therapie das Fortschreiten der MS verzögert werden kann (Goodin et al. 2002).

1.1.5 Therapie

Eine kausale heilende Therapie für die MS steht zum jetzigen Zeitpunkt nicht zur Verfügung. Derzeit existieren jedoch unterschiedliche Therapiekonzepte, die im Folgenden kurz erläutert werden. Ein aktuelles Therapieschema wurde von der Multiple-Sklerose-Therapie-Konsensus-Gruppe (MSTKG) der Deutschen Multiple-Sklerose-Gesellschaft verabschiedet und enthält Vorschläge zur Schub-, Basis- und Eskalationstherapie der MS (MSTKG 2001). Im akuten Schub werden intravenös hochdosierte Kortikosteroide von 1000 mg/Tag für 3 bis 5 Tage eingesetzt (Pozzilli et al. 2004). Diese Therapie besitzt eine immunsuppressive Wirkung und verkürzt die Dauer des Schubes. Sie kann bei ungenügender Besserung der Symptome in höherer Dosierung wiederholt werden. Die Plasmapherese stellt bei Steroidresistenz im akuten Schub eine weitere Therapieoption dar (Weinshenker et al. 1999). In der Basistherapie der MS empfiehlt die MSTKG als Langzeittherapeutika derzeit die Gabe von Immunmodulatoren, wie β -Interferonen (β 1a-IFN, β 1b-IFN), Glatiramerazetat (GLAT) oder Alternativoptionen, wie Azathioprin (Goodin et al. 2002, Gold und Rieckmann 2007, Ellison et al. 1984). Diese Medikamente können die Anzahl, die Schwere und die Dauer der Schübe verringern, bzw. mildern. Zeigt die Krankheit trotz Therapie eine fortschreitende schubförmige und/ oder progrediente Aktivität, kann mit immunsuppressiven Therapeutika, wie Cyclophosphamid oder Mitoxantron eskalierend behandelt werden (Hartung et al. 2002, Pette et al. 1994). Neue Medikamente, wie z.B. der monoklonale Antikörper Natalizumab erweitern das Spektrum der MS-Therapeutika (MSTKG 2001, Rieckmann 2006). Hierbei ist

hervorzuheben, dass unter der Therapie mit Natalizumab eine Häufung der multifokalen progressiven Leukenzephalopathie (PML), eine ebenfalls mit Demyelinisierung einhergehende virale Infektion des ZNS, beobachtet wurde, sodass die Indikationsstellung für diese Substanz sorgfältig geprüft werden sollte (Langer-Gould et al. 2005, Kleinschmidt-DeMasters und Tyler 2005). Diese Befunde legen den Verdacht nahe, dass bei einer Modulation des Immunsystems, sei es erkrankungsbedingt als auch iatrogen verursacht, durch einen zusätzlichen Trigger, wie z.B. einer Viruserkrankung, das Bild einer entzündlichen Entmarkung ausgelöst werden kann. In Kapitel 1.2 wird die PML eingehender besprochen. Neben immunmodulatorischen oder -suppressiven Therapiekonzepten kann, je nach individuellem Bedarf, eine symptomatische Therapie zur Behandlung von Komplikationen, z.B. durch Gabe von Spasmolytika bei Spastiken, erfolgen. Darüberhinaus sind Bewegungstherapien, wie Krankengymnastik oder Physiotherapie von großer Bedeutung, um die Leistungs- und Funktionsfähigkeit des Patienten so weit wie möglich zu erhalten (Henze 2004).

1.1.6 Pathologie

Die Multiple Sklerose ist eine chronische entzündliche Entmarkungskrankheit des zentralen Nervensystems (Brück 2005 a). Makroskopisch kann man im Hirngewebe verstorbener MS-Patienten mit bloßem Auge beliebig gelegene Herde unterschiedlicher Größe, Gestalt und Konsistenz, vornehmlich im Marklager lokalisiert, erkennen (Lumsden 1970). Frische, aktiv entzündlich-entmarkende Herde sind meist weniger scharf begrenzt und gelblich bis lachsfarben, wohingegen ältere inaktive Plaques gräulich und verhärtet erscheinen. Es können unterschiedliche Stadien der Remyelinisierung nachgewiesen werden. Hierbei werden Läsionen, die Zeichen der fortgeschrittenen Remyelinisierung mit dünnen neugebildeten Markscheiden aufweisen, als sogenannte Markschattenherde oder Shadowplaques bezeichnet (Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 1996).

MS-Plaques können im gesamten Zentralnervensystem auftreten. Prädilektionsstellen sind hierbei insbesondere der Sehnerv, die periventriculär gelegene weiße Substanz, der Hirnstamm, myelinhaltige Strukturen des Rückenmarks und das Kleinhirn (Lucchinetti et al. 2005). Auch im Kortex und der tiefen grauen Substanz, wie z.B. den Basalganglien können Läsionen nachgewiesen werden (Vercellino et al. 2005). Bei langandauernden Krankheitsverläufen kann zudem eine symmetrische Hirnatrophie beobachtet werden.

Histologisch ist die Multiple Sklerose gekennzeichnet durch entzündliche Läsionen mit Zeichen der Entmarkung, axonaler Schädigung und reaktiver Astrogliose (Lucchinetti et al.

2000). Das entzündliche Infiltrat besteht hauptsächlich aus T-Lymphozyten, wenigen B-Lymphozyten und einer großen Anzahl phagozytischer, myelinbeladener Makrophagen, welche das Gewebe diffus infiltrieren. Im entzündlichen Infiltrat der T-Lymphozyten lassen sich sowohl CD4-positive T-Helferzellen, als auch zytotoxische CD8-positive T-Lymphozyten identifizieren (Al-Omaishi et al. 1999, Frohman et al. 2006). Des Weiteren beobachtet man eine Aktivierung der Mikroglia, des Komplementsystems und eine Ablagerung von Antikörpern und Komplementbestandteilen (Lucchinetti et al. 2000, Storch et al. 1998). In der akuten, früh-aktiven Phase ist das Bild der Entzündung besonders stark ausgeprägt. Diese Entzündungsreaktionen führen zur Zerstörung der Myelinscheiden.

Hierbei zeigt sich das Bild einer segmentalen Entmarkung, in der lediglich axonale Strukturen innerhalb der Läsion betroffen, d.h. entmarkt, sind. Ihre proximalen und distalen Anteile sind hingegen nicht mitbeteiligt. Darüber hinaus kommt es auch in unterschiedlichem Ausmaß zu einem Verlust myelinbildender Oligodendrozyten. Lucchinetti und Brück unterscheiden hierbei zwei Muster der Oligodendrozytenpathologie (Lucchinetti et al. 1999). Während bei einem Großteil der Läsionen mit aktiver Entzündungsphase eine Reduktion der Oligodendrozytenzahl festgestellt werden kann, finden sich in 70% der inaktiven Läsionen Zeichen der Remyelinisierung, in denen sich Oligodendrozyten erneut darstellen lassen. Man vermutet, dass sich diese Oligodendrozyten aus einem Pool von Oligodendrozyten-Vorläuferzellen ableiten lassen. Im Gegensatz dazu, beobachtet man bei den verbleibenden 30% der Fälle sowohl in aktiven als auch in inaktiven Plaques eine ausgedehnte Zerstörung myelinbildender Zellen mit nur spärlicher oder ausbleibender Remyelinisierung (Lucchinetti et al. 1999). Die Neubildung von Markscheiden in MS-Plaques lässt somit eine ausgeprägte intraindividuelle Variabilität erkennen. Auch nach dem Abklingen der akuten Entzündungsphase und Fortschreiten der Remyelinisierung bleibt diese inkomplett. Es lassen sich hierbei dünnere Myelinscheiden und kürzere internodale Abstände als im ursprünglichen Myelin der weißen Substanz nachweisen (Brück 2005 b).

Ein weiteres histopathologisches Merkmal ist die Schädigung und der Verlust an Axonen, welcher schon früh im Krankheitsverlauf auftreten kann. Es wird vermutet, dass der axonale Schaden verantwortlich für permanente neurologische Defizite von MS-Patienten sein könnte (Ferguson et al. 1997, Trapp et al. 1998). In-vivo-Studien zeigen, dass das Ausmaß der Axondegeneration der Läsionen mit der Anzahl der Makrophagen und CD8-positiven T-Lymphozyten korreliert (Bitsch et al. 2000a). Des Weiteren wurde beobachtet, dass zytotoxische CD8-positive T-Zellen die Fähigkeit zur Zerstörung von Axonen besitzen (Neumann et al. 2002).

Durch ablaufende Entzündungsvorgänge kommt es zur reaktiven Aktivierung und Proliferation von Astrozyten, welche mit ihren zytoplasmatischen Fortsätzen ein dichtes Netzwerk bilden (Schönrock et al. 1998, Norenberg 1994). Diese sogenannte Fasergliose führt zur sklerotischen Verhärtung der Plaques und entspricht dem makroskopischen Bild der Glianarbe.

1.1.6.1 Läsionsaktivitäten

MS-Plaques lassen sich durch den Nachweis unterschiedlicher Myelinabbauprodukte in Makrophagen, sowie dem Stadium der Demyelinisierung und der Entzündungsaktivität in unterschiedliche Entwicklungsstadien einteilen. Dabei kann man die Läsionen nach dem Alter ihres Entwicklungsstadiums in früh-aktive Läsionen (early active lesions (EA)), in spät-aktive Läsionen (late active lesions (LA)) sowie inaktive Läsionen (inactive lesions (IA)) unterscheiden. Hinsichtlich der Remyelinisierungskapazität werden die Plaques in demyelinisierte (demyelinated (DM)), früh-remyelinisierende (early remyelinating (ERM)) und spät-remyelinisierte Läsionen (late remyelinated (LRM)) unterteilt (Brück et al. 1994, Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 1996).

Früh-aktive Läsionen (EA):

Diese Läsionen zeichnen sich durch eine hohe Zelldichte mit zahlreichen T-Lymphozyten und Makrophagen aus, welche in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) gut dargestellt werden können. Mit Hilfe der Luxol-Fast-Blue-Periodic-Acid-Schiff-Färbung (LFB-PAS) kann die Entmarkung mit zahlreichen myelinbeladenen Makrophagen dargestellt werden. Während sich die zellarme nicht-entmarkte weiße Substanz homogen blau darstellt, erscheinen entmarkte Areale weißlich bis blass-rosafarben. Hier finden sich zahlreiche Makrophagen welche blaue, vereinzelt auch pinkfarbene Myelinabbauprodukte inkorporiert haben. Immunhistochemisch lassen sich inkorporierte Myelindegradationsprodukte für fünf unterschiedliche Myelinproteine innerhalb von Makrophagen identifizieren. Neben den Myelinproteinen basisches Myelinprotein (MBP) und Proteolipidprotein (PLP), lassen sich auch Myelinproteine, wie die Zyklische Nukleotidphosphohydrolase (CNP), das Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG) und das Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG) in den Makrophagen nachweisen (Brück et al. 1994, Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 1996).

Spät-aktive Läsionen (LA):

In diesen Läsionen findet sich ebenfalls das oben beschriebene Entzündungsinfiltrat aus T-Zellen und Makrophagen. Der Myelinabbau ist jedoch weiter fortgeschritten. Es stellt sich

eine beginnende Myelindegradation innerhalb von Makrophagen dar. Immunhistochemisch sind im Zytoplasma der Makrophagen Myelinabbauprodukte, welche immunoreaktiv für die Myelinproteine MBP und PLP sind, enthalten. Die Myelinproteine MOG, MAG und CNP wurden jedoch bereits verdaut und sind in diesem Entmarkungsstadium typischerweise nicht mehr nachweisbar (Brück et al. 1994, Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 1996).

Inaktive demyelinisierte Läsionen (IA DM):

Ältere inaktive Plaques sind durch einen fortgeschrittenen Markscheidenabbau gekennzeichnet. Das Inflammationsinfiltrat erscheint deutlich geringer, als in aktiv-entmarkenden Läsionen. Makrophagen lassen entweder leere Vakuolen oder vereinzelt grobkörnige PAS-positive Myelinabbauprodukte erkennen, welche sich auch noch über Monate identifizieren lassen. Immunhistochemisch lassen sich keine Myelinproteine innerhalb der Makrophagen nachweisen (Brück et al. 1994, Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 1996).

Remyelinisierung

Unabhängig vom Entwicklungsstadium, d.h. vom Alter der Plaques, lassen sich in den Läsionen Remyelinisierungen unterschiedlichen Ausmaßes identifizieren. Neuropathologische Untersuchungen an Gehirnen verstorbener MS-Patienten haben gezeigt, dass 40% der Plaques bereits Zeichen der Remyelinisierung aufweisen können, während die anderen Plaques eine komplette Demyelinisierung (DM) ohne wiedereinsetzende Remyelinisierung, erkennen ließen (Barkhof et al. 2003). Histologisch werden remyelinisierte Läsionen in Plaques mit früher Remyelinisierung, sog. early remyelination (ERM) und spät remyelinisierte Plaques, auch als late remyelinated (LRM) bezeichnet, unterschieden, welche im Folgenden näher charakterisiert werden.

Früh-remyelinisierende Läsionen (ERM):

Man beobachtet hier ein Konglomerat aus sehr zarten neugebildeten, unregelmäßig konfigurierten Myelinscheiden, die sich clusterförmig um die Axone legen. In größeren Läsionen kann hierbei eine zentripetale Remyelinisierung vom äußeren Rand ausgehend ins Zentrum der Läsion fortschreitend beobachtet werden. Zeichen der frühen Remyelinisierung können sowohl zeitgleich mit dem Myelinabbau in EA-Läsionen, als auch zu späteren Zeitpunkten der Läsionsentwicklung auftreten (Brück et al. 1994, Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 1996).

Spät-remyelinisierte Läsionen (LRM):

Hier finden sich nur noch wenige Entzündungszellen und kaum noch Makrophagen. Es handelt sich bei diesen Läsionen in der Regel um ältere inaktive Entwicklungsstadien. Die Remyelinisierung erscheint weit fortgeschritten, so dass sie mit konventionellen Färbemethoden nur noch schwer von angrenzender normal erscheinender weißer Substanz, so genannter normal appearing white matter (NAWM) zu unterscheiden ist. In der LFB-PAS-Färbung weisen LRM-Plaques ein im Vergleich zur NAWM aufgelockertes und helleres Myelin auf, da die neu gebildeten Myelinscheiden zarter und kürzer sind. Auch können vereinzelte PAS-positive Makrophagen und eine reaktive Gliose zu einer geringgradigen Zellzahlerhöhung führen. Aus diesem Grunde werden diese Läsionen auch als Markschattenherde bzw. Shadowplaques bezeichnet. Häufig dominiert hier zusätzlich eine ausgeprägte reaktive Fasergliose, in der reaktive Astrozyten durch die Ausbildung langer faseriger Zytoplasmaausläufer eine dichte gliotische faserfilzartige Gewebematrix bilden (Brück et al. 1994, Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 1996).

1.1.6.2 Immunpathologische Subtypen der Multiplen Sklerose

Das Ausmaß der Entzündung, der De- bzw. Remyelinisierung, des axonalen Verlustes und auch das der Astroglieose kann zwischen einzelnen Patienten deutlich variieren. Anhand dieser Befunde, aber auch vor dem Hintergrund der Heterogenität des klinischen Bildes, des Therapieansprechens sowie der Bildgebung werden unterschiedliche immunpathogenetische Mechanismen bei der MS vermutet, die letztlich in einer gemeinsamen Wegstrecke, der entzündlichen Entmarkung, münden. So identifizierten Lucchinetti et al. in einer Studie an humanen MS-Biopsien und MS-Autopsien anhand des entzündlichen Infiltrates und der Oligodendrozytenpathologie vier unterschiedliche immunpathologische Subtypen (Lucchinetti et al. 2000). Während Subtyp I und II an eine primär immunologisch induzierte Entmarkung denken lassen, wird bei Subtyp III und IV eine Störung des Oligodendrozytenstoffwechsels vermutet. Zu bemerken ist, dass ausschließlich Läsionen mit früh-aktiven Gewebemerkmale den verschiedenen Subtypen zugeordnet werden können.

Subtyp I und II

Die Subtypen I und II sind durch ein dichtes entzündliches Infiltrat, bestehend aus Lymphozyten und schaumzelligen Makrophagen, gekennzeichnet. Dabei zeigen sich vor allem T-Lymphozyten, vereinzelt auch B-Lymphozyten oder Plasmazellen. Die Läsionen grenzen sich relativ scharf durch einen dichten Makrophagen-Wall von der umgebenden NAWM ab und konzentrieren sich meist auf Gebiete rund um kleine Venolen. Zusätzlich

weist ausschließlich Subtyp II pathologische Ablagerungen von Immunglobulinen, insbesondere IgG, sowie aktivierte Komplementbestandteile auf, die sich im Subtyp I nicht nachweisen lassen. In beiden Subtypen erscheint die Fähigkeit zur Remyelinisierung erhalten, was durch das Vorhandensein von Markschaten-Herden zum Ausdruck kommt (Lucchinetti et al. 1996, Lucchinetti et al. 2000).

Subtyp III

Auch in den Läsionen dieses Subtyps findet sich ein lymphozyten- und makrophagenreiches Entzündungsinfiltrat, welches jedoch geringer ausgeprägt und diffuser ist als in Subtyp I und II. Im Gegensatz zu Subtyp I und II finden sich in Subtyp III jedoch kaum Anzeichen für eine Remyelinisierung. Das primäre Ziel der Schädigung scheint hier der Oligodendrozyt selbst zu sein. Innerhalb der Läsionen ist die Zahl der vitalen Oligodendrozyten deutlich reduziert. Darüberhinaus weisen Oligodendrozyten Zeichen des apoptotischen Zellunterganges auf. Die Plaquegrenze erscheint, im Gegensatz zu Subtyp I und II, unscharf von der umliegenden weißen Substanz abgrenzbar und konfluierend. Typisch für Subtyp III ist darüber hinaus der selektive Verlust des Myelin-assoziierten Glykoproteins (MAG). Dieses von Oligodendrozyten synthetisierte Myelinprotein umhüllt die Axone in direktem Kontakt und ist somit von den Perikarien der Oligodendrozyten selbst am weitesten entfernt. Deshalb wird dieses Phänomen als distale Oligodendroglieopathie bezeichnet (Lucchinetti et al. 2000). Weiterhin treten bei Subtyp III auch Vaskulitis-ähnliche Veränderungen auf, welche zu sekundären ischämischen Schädigungen der weißen Substanz führen können (Aboul-Enein et al. 2003, Lassmann et al. 2003). Die histopathologischen Merkmale von Subtyp III lassen darüber hinaus Ähnlichkeiten zu Viruserkrankungen mit Oligodendrozytenbefall, wie z.B. der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) erkennen. Auch bei der PML wurde ein selektiver Verlust von MAG beobachtet (Itoyama et al. 1982). Deshalb könnte in Subtyp III auch ein unbekanntes Pathogen, wie ein Virus oder andere Noxen bei der Ätiologie eine Rolle spielen.

Subtyp IV

Dieses Muster ist sehr selten und wurde bisher nur in 1-2% der untersuchten Fälle identifiziert. Bemerkenswert ist, dass dieser Subtyp ausschließlich bei Patienten mit primär-progredienter Krankheitsverlaufsform beobachtet wurde (Lucchinetti et al. 2005). Wie in den anderen Subtypen auch, ist die Entzündung hauptsächlich T-Zell- und Makrophagenvermittelt, wobei hier die Demyelinisierung mit dem Tod von Oligodendrozyten in der angrenzenden weißen Substanz assoziiert zu sein scheint. Dabei stehen degenerative

Oligodendrozytenveränderungen, jedoch ohne Zeichen des apoptotischen Zelltodes im Vordergrund. Als zugrundeliegender Pathomechanismus wird eine metabolisch bedingte Oligodendrozytenschädigung angenommen, welche zu einer erhöhten Vulnerabilität für die von Makrophagen sezernierten Toxine und Mediatorstoffe führen könnte.

1.1.7 Pathogenese

Die exakten Mechanismen der Krankheitsentstehung der MS sind bis heute noch nicht in Gänze aufgeklärt. Viele Aspekte deuten darauf hin, dass der MS autoimmunologische Phänomene zugrunde liegen, wobei eine verminderte Toleranz in Bezug auf ein noch unbekanntes Myelin- und/ oder Oligodendrozytenantigen verantwortlich gemacht wird. Es wird angenommen, dass dieser Toleranzverlust einerseits genetisch determiniert ist, andererseits jedoch auch durch bestimmte Umwelteinflüsse, wie z.B. Virusinfekte, beeinflusst wird (Tejada-Simon et al. 2003, Derfuss et al. 2001). Autoreaktive T-Zellen spielen bei diesem zugrundeliegenden Pathomechanismus eine entscheidende Rolle. T-Lymphozyten sind Träger der spezifischen zellulären Abwehr und können nach antigener Stimulation in verschiedene Subgruppen unterschieden werden. Dies ist aufgrund verschiedener Oberflächenantigene, wie den „cluster of differentiation“ (CD)-Molekülen möglich. Hierbei wird das CD3-Epitop generell auf T-Lymphozyten nachgewiesen und kann in der immunhistochemischen Darstellung als Pan-T-Zellmarker genutzt werden. Die CD3-positive Gesamtpopulation von T-Zellen wird einerseits in CD8-positive (CD8+) zytotoxische T-Zellen, und andererseits in CD4-positive (CD4+) T-Helferzellen unterteilt. Während zytotoxische T-Zellen durch die Sekretion lysosomaler Enzyme z.B. viruserkrankte Zellen zerstören können, besteht die Hauptaufgabe der T-Helfer-Zellen darin, spezifische Antigene zu erkennen und Plasmazellen zur Antikörperbildung anzuregen. CD4+ T-Helferzellen lassen sich aufgrund unterschiedlicher Funktionen und Expression verschiedener Zytokinmuster wiederum in zwei Subtypen unterteilen – in T-Helfer-1 (T_H1)- und T-Helfer-2 (T_H2)-Zellen. Während T_H1-Zellen proinflammatorische Zytokine, wie Interleukin-2 (IL-2), Interferon- γ (IFN- γ) und TNF- α produzieren, welche zu Makrophagenaktivierung, Entzündung und Gewebszerstörung führen können, schütten T_H2 -Zellen vor allem anti-inflammatorische Zytokine, wie die Interleukine IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 und IL-13 aus, die eine humorale Immunantwort vermitteln und makrophagen-vermittelte Immunvorgänge inhibieren (Rengarajan et al. 2000). Außerdem unterdrücken Zytokine, welche in erster Linie von T_H2-Lymphozyten sezerniert werden, eine T_H1-Antwort und die Aktivierung von Makrophagen (Aharoni et al. 2000).

Für die Entzündungsvorgänge der MS wird den CD4+ T-Helferzellen vom T_H1-Subtyp eine entscheidende Rolle zugeschrieben (Linker et al. 2005). Untersuchungen haben gezeigt, dass sich im peripheren Blut von MS-Patienten und gesunden Probanden gleiche Mengen an autoreaktiven T-Zellen, die gegen Myelinantigene gerichtet sind, nachweisen lassen (Frohman et al. 2006). Man beobachtete allerdings, dass T-Zellen von MS-Patienten Zytokine produzieren, welche eher auf eine proinflammatorische T_H1-Immunantwort hinweisen, wohingegen T-Lymphozyten gesunder Probanden ein antiinflammatorisches T_H2-Muster darstellten. So identifizierte man im peripheren Blut, im Liquor und in den Plaques von MS-Patienten vermehrt proinflammatorische Zytokine, wie IFN- γ , TNF- α und IL-2, die von T_H1-Zellen produziert werden (Crawford et al. 2004).

Nach Aktivierung in der Peripherie sind autoreaktive T-Lymphozyten in der Lage, unter chemotaktischen Einflüssen die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Unklar ist allerdings, durch welche Mechanismen diese T-Zellen in einen aktiven autoreaktiven Zustand übergehen können. Im ZNS erkennen die T-Zellen ihr Antigen, als welches z.B. das basische Myelinprotein (MBP), das Proteolipidprotein (PLP) oder das myelin-assoziierte Protein (MAG) fungieren können (Al-Omaishi et al. 1999). Dieses Antigen wird von ortständigen antigenpräsentierenden Zellen, wie Mikroglia oder Makrophagen, über Moleküle des sogenannten „major histocompatibility complex“ (MHC) präsentiert. Die MHC-Proteinkomplexe sind essentiell für die Regulation der Immunvorgänge und sind in der Lage, Antigene zu präsentieren. Hierbei werden zwei Arten von MHC-Komplexen unterschieden: CD4+ T-Zellen erkennen Antigene, die über MHC-II-Moleküle präsentiert werden, wohingegen CD8+ T-Lymphozyten Antigene erkennen, welche über MHC-I-Moleküle präsentiert werden.

Durch den Antigenkontakt kommt es zur Ausschüttung zahlreicher proinflammatorischer Zytokine. Diese führen durch ihre zytotoxischen Eigenschaften zu einer Schädigung des Endothels der Blutgefäße, was wiederum zu einer Schädigung der Blut-Hirn-Schranke führen kann (Yamaoka et al. 2002). Darüberhinaus werden andere Bestandteile des Immunsystems wie z.B. Makrophagen rekrutiert und aktiviert, die ihrerseits Zytokine und Chemokine sezernieren, welche zu einer Entmarkung oder Gewebeerstörung beitragen können. Makrophagen sind letztlich hauptverantwortlich für die Beseitigung von Myelinfragmenten, welches mittels Phagozytose geschieht.

Andererseits ergaben Studien von Diemel et al. und Kerschensteiner et al., dass die Entzündungsreaktionen auch von Nutzen bei der Regeneration von Gewebe sein könnten. In-vitro-Versuche zeigten, dass Makrophagen die Remyelinisierung unterstützen können, indem

sie neurotrophische Faktoren wie z.B. den „brain-derived-neurotrophic-factor“ (BDNF) produzieren (Diemel et al. 1998, Kerschensteiner et al. 1999).

Zytokine, wie IFN- γ und IL 2 können auch zu einer Aktivierung von B-Lymphozyten führen. Letztere produzieren daraufhin Immunglobuline, welche ebenfalls an der Destruktion der Myelinscheiden beteiligt sein können. So wurden Antikörper gegen Myelinproteine, wie MOG und MBP im Serum und im Liquor von MS-Patienten nachgewiesen (Reindl et al. 1999). Auch entlang zerstörter Myelinscheiden, an Oligodendrozyten und innerhalb von Makrophagen ließen sich Ablagerungen von Antikörpern nachweisen (Storch et al. 1998).

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass in MS-Plaques auch zytotoxische CD8+ T-Zellen eine Rolle spielen. Babbe et al. wiesen nach, dass in einer Läsion nahezu 30% aller T-Zellen von nur einem CD8+ Lymphozyten-Klon abstammten (Babbe et al. 2000). Da CD8+ T-Lymphozyten Antigene erkennen, die über MHC-I-Moleküle präsentiert werden, stellen Oligodendrozyten, Astrozyten, Neurone, Axone und Endothelzellen potentielle Ziele für zytotoxische T-Zellen dar. Zudem konnte gezeigt werden, dass der Axonschaden in frühaktiven Läsionen mit der Anzahl an CD8+ T-Lymphozyten korreliert (Bitsch et al. 2000a).

Im Gegensatz zu der vermuteten autoimmunvermittelten Pathogenese der MS, gibt es Studien, die auch eine Funktionsstörung der Oligodendrozyten selbst in Frage kommen lassen. So konnten Barnett und Prineas bei einem Patienten mit schubförmig remittierender MS eine extensive Apoptose von Oligodendrozyten beobachten, während andere Zellen, wie T-Zellen, Makrophagen, Mikroglia und Astrozyten keine Auffälligkeiten aufwiesen (Barnett und Prineas 2004). Ursachen für eine Oligodendrozytenschädigung könnten z.B. Virusinfektionen, Toxine oder Ischämien darstellen. Viren, die bei der Pathogenese der MS eine Rolle spielen könnten, sind das Epstein-Barr-Virus (EBV) und das humane Herpesvirus 6 (HHV-6) (Cepok et al. 2005, Soldan et al. 2000). So konnten in MS-Läsionen Antigene des HHV-6 in Oligodendrozyten nachgewiesen werden (Challoner et al. 1995).

Ebenfalls eine demyelinisierende Erkrankung, welche allerdings gesichert durch ein Virus bedingt ist, stellt die progressive multifokale Leukenzephalopathie dar. Da die PML und die MS Gemeinsamkeiten, wie multifokale entmarkende ZNS-Läsionen mit selektiver Oligodendrozytendestruktion und ausgeprägter astrozytärer Gliose aufweisen, wird im folgenden Kapitel auf die PML näher eingegangen.

1.2 Progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML)

Die PML ist eine demyelinisierende Erkrankung, die, ähnlich der MS, ausschließlich das zentrale Nervensystem betrifft. Sie wird durch das JC-Virus, einem weitverbreitetem Polymyxovirus ausgelöst (Henderson et al. 2002). JC steht hierbei für die Initialen des ersten beschriebenen PML-Patienten namens John Cunningham (Padgett et al. 1971). Es wird ein hoher Durchseuchungsgrad mit dem JC-Virus von bis zu 80% der Erwachsenen beschrieben (Padgett und Walker 1973), wobei bei immunkompetenten Personen die Infektion in der Regel asymptomatisch verläuft. Bei verminderter Abwehrlage, wie sie z.B. bei einer primären Infektion mit dem humanen Immundefizienzvirus (HIV) oder unter immunsuppressiver Therapie besteht, kann eine JC-Virus-Infektion unter Umständen reaktiviert werden (Eng PM et al. 2006). Das Virus führt zu einer Infektion und konsekutiver Zerstörung von markscheidenbildenden Oligodendrozyten. Die Symptome an PML erkrankter Patienten sind mit der Lokalisation entsprechender Entmarkungsherde assoziiert, wobei Verhaltensauffälligkeiten, Sehstörungen und Paresen häufig auftreten (Kneitz und Wiendl 2008). Die Prognose dieser seltenen Erkrankung ist ungünstig. Es gibt aber Einzelfallberichte über PML-Patienten, die mithilfe von Nukleosid-Analoga, wie Cidofovir und Zytarabin, und Zytokinen, wie IFN- α , überlebten (Calabrese et al. 2007).

Prädilektionsstellen PML-assoziiierter Entmarkungsherde bilden Areale der subkortikalen weißen Substanz, wobei sich multifokale Läsionen ausbilden (Richardson EP und Webster 1983). Histopathologisch finden sich kaum Zeichen einer Entzündungsreaktion, was durch eine zugrundeliegende Immunsuppression der erkrankten Patienten erklärbar wäre. Die entmarkten Areale lassen eine unscharfe Begrenzung zur angrenzenden weißen Substanz erkennen. Infizierte Oligodendrozyten zeigen typischerweise vergrößerte Zellkerne mit abgeblasstem Zentrum. Elektronenmikroskopisch können JC-Virione identifizieren werden und die in-situ-Hybridisierung zeigt eine aktive Virusreplikation innerhalb des Kerns (Aksamit 2008, Aksamit 1995). Weiterhin ist eine reaktive Astrogliose, ähnlich der MS, charakteristisch. Bei der PML lassen sich jedoch zum Teil bizarr geformte Astrozyten beobachten. Diese Astrozyten werden insbesondere im Zentrum chronischer PML Läsionen nachgewiesen. Sie lassen bis auf 30 μm vergrößerte Zellkerne erkennen, welche hyperchrom und mehrlappig erscheinen können (Aksamit 1995). Auch hier kann man in seltenen Fällen mit der in-situ-Hybridisierung eine JC-Virus-Infektion nachweisen, obwohl Astrozyten in der Regel nicht infiziert werden (Aksamit et al. 1990).

Die MS und die PML sind demyelinisierende Erkrankungen des ZNS, welche ähnliche klinische Symptome aufweisen können. Da die Ätiologie der MS, im Gegensatz zur PML

nicht endgültig geklärt ist und hier ebenfalls eine mögliche virale Mitbeteiligung diskutiert wird, könnten gemeinsame pathogenetische Mechanismen der ZNS-Entmarkung zumindest für einen Teil der MS-Subtypen eine Rolle spielen. Da beide Erkrankungen neben der Entmarkung mit einer ausgeprägten, reaktiven Astroglieose einhergehen können, wäre es für die in dieser Arbeit fokussierte Fragestellung von Interesse beide Erkrankungen bezüglich ihrer astrozytären Morphologie zu korrelieren.

1.3 Astrozyten

Astrozyten gehören zu den Gliazellen, sind neuroektodermalen Ursprungs und ubiquitär im Zentralnervensystem vorhanden. Gliazellen machen ungefähr 90% des menschlichen Gehirns aus (He und Sund 2007). Als Gliazellen oder Neuroglia werden alle nicht-neuronalen Zellen bezeichnet, welche aufgrund unterschiedlicher Morphologie, Funktionen und Herkunft in Makro- und Mikroglia unterteilt werden können. Zur Makroglia, zählen Astrozyten und Oligodendrozyten. Neben vielfältigen Aufgaben der Astrozyten, die im weiteren Verlauf näher erörtert werden, besteht die Hauptaufgabe der Oligodendrozyten in der Synthese von Myelin, welches die Nervenfasern als sogenannte Markscheiden umhüllt. Als Mikroglia werden die Gehirnmakrophagen bezeichnet, die ontogenetisch von der Monozyten/Phagozyten-Linie abstammen und somit myeloischen Ursprungs sind (Cuadros und Navascués 1998).

Das Wort „Glia“ kommt aus dem Griechischen und bedeutet „Leim“. Längere Zeit wurden Astrozyten als der „Klebstoff“ angesehen, welcher ausschließlich dazu dient, das ZNS zusammenzuhalten (Nair et al. 2008). Heutzutage ist allerdings bekannt, dass diese Zellart an vielen aktiven Vorgängen des Gehirns beteiligt ist und das ZNS ohne Astrozyten seine Funktionen nicht wahrnehmen könnte. So sorgen sie für eine dauerhafte Arbeitsfähigkeit der Neurone, indem sie die pH- und Ionenhomöostase aufrecht erhalten, die Neurone mit Nährstoffen beliefern und neuronale Abbauprodukte entsorgen (Nedergaard et al. 2003). Auch strukturieren sie während der Ontogenese das Hirnwachstum. Bemerkenswert ist, dass mit zunehmender Komplexität des ZNS, die Anzahl der Astrozyten steigt. Während bei Blutegelein auf 25-30 Neurone ein Astrozyt kommt, sind es hingegen beim Menschen für ein einzelnes Neuron 1,4 Astrozyten (Bass et al. 1971).

Bis vor wenigen Jahren standen die Astrozyten in der Pathogenese der MS im Hintergrund und waren meist als narbenbildende Zellen nach entzündlicher Demyelinisierung bekannt. Dabei halten sie vielfältige Aufgaben insbesondere auch in Bezug auf die Pathogenese der MS inne (Nair et al. 2008).

1.3.1 Morphologie und Identifikation

1886 entdeckte Golgi mit der von ihm entwickelten Chromsilbermethode „gewisse Spinnenzellen“ und stellte ihre Nähe zu Gefäßen fest. Allerdings mussten erst verbesserte histologische Methoden entwickelt werden, um die Astrozyten genauer zu analysieren. 1913 gelang es Cajal mit dem von ihm entwickelten Goldsublimatverfahren diese sternförmigen Zellen in großer Vollkommenheit darzustellen (Scholz 1957).

Astrozyten stellen die größten Zellen der Gliazellen des ZNS dar. Sie besitzen einen Durchmesser von 10 - 20 µm. Ihre zytoplasmatischen Fortsätze bedecken sowohl kapilläre Blutgefäße als auch die neuronale Oberfläche. Die Fortsätze eines einzelnen Astrozyten formen ein dreidimensionales Netzwerk, indem sich keine Fortsätzen anderer Astrozyten befinden. Sie berühren sich lediglich an ihren äußersten Enden. Somit bildet jeder Astrozyt einen eigenen Arbeitsbereich (Ogata und Kosaka 2002). Der Zellkern des Astrozyten ist rundlich, hell, d. h. chromatinarm und im Lichtmikroskop gut zu erkennen. Morphologisch können Astrozyten in zwei Gruppen unterteilt werden. Während die protoplasmatischen Typen vor allem in der grauen Substanz vorkommen und kurze aber stark verzweigte Fortsätze besitzen, finden sich in der weißen Substanz eher fibrilläre Astrozyten mit langen, dünnen und weniger zahlreichen Fortsätzen.

Elektronenmikroskopisch erkennt man, neben üblichen Zellorganellen, viele Lysosomen, Glykogengranula sowie das für Astrozyten charakteristische Zytoskelett, welches das restliche Zytoplasma ausfüllt und sich bis in die Fortsätze ausbreitet. Dieses besteht aus dichtgepackten Intermediärfilamenten, welche von Vimentin und dem sauren glialen fibrillären Protein (GFAP) gebildet werden (Cosgrove et al. 1989). Das saure Gliafaserprotein wurde 1971 von Bignami, Eng, Vanderhaegen und Gerstl entdeckt (Eng LF et al. 1971). Es ist spezifisch für Astrozyten und stellt somit einen zuverlässigen Marker zur Identifizierung der Selbigen dar. Antikörper gegen GFAP werden immunhistochemisch genutzt um Astrozyten und ihre Fortsätze lichtmikroskopisch zu darzustellen (Uyeda et al. 1972).

1.3.2 Funktionen der Astrozyten

Astrozyten besitzen eine Vielzahl an Funktionen und Aufgaben. Die intrazellulär gelegenen Fibrillen geben Astrozyten eine strukturelle Festigkeit, wodurch sie das ZNS mechanisch stützen (Williams et al. 2007). Weiterhin bilden die Astrozyten gemeinsam mit Endothelzellen und der Basalmembran von Blutgefäßen die sogenannte Blut-Hirn-Schranke. Diese stellt eine selektive Barriere zwischen dem Zentralnervensystem und den Blutgefäßen

dar. Zwar umhüllen Astrozyten die Endothelzellen vollständig, doch stellen sogenannte tight junctions die eigentliche Schranke zwischen den Endothelzellen dar. „Tight junctions“, zu deutsch „dichte Verbindungen“, sind aus Proteinen bestehende Zellkontakte, welche den Interzellularraum dicht verschließen. Sie üben dadurch eine Barrierefunktion aus. Auf diese Weise wird der Fluss von Ionen und Molekülen durch den Zellzwischenraum kontrolliert. Dabei setzen Astrozyten eine Reihe von Faktoren frei, die für die Aufrechterhaltung der Blut-Hirn-Schranke benötigt werden. So sezernieren sie z.B. „transforming-growth-factor- β “ (TGF- β), „glial-cell-line-derived-neurotrophic-factor“ (GDNF), „basic-fibroblast-growth-factor“ (bFGF) oder IL-6, die die Bildung endothelialer „tight junctions“ unterstützen (Abbott 2002). Durch Diffusion, aktiven Transport oder spezifische Carriersysteme können aber auch Substanzen bzw. Moleküle, wie Sauerstoff, Kohlendioxid, Glukose oder bestimmte Aminosäuren dem ZNS zugeführt werden (Hertz et al. 1990).

Astrozyten sind mittels so genannter „gap junctions“ miteinander und auch mit Oligodendrozyten verbunden und bilden somit ein dreidimensionales Netzwerk (Rash et al. 2001). Als „gap junctions“ werden Kommunikationskontakte bezeichnet, welche aus kanalbildenden Proteinkomplexen bestehen, die benachbarte Zellen direkt miteinander verbinden und somit den direkten Stoffaustausch ermöglichen, ohne dass Moleküle in den Extrazellularraum verloren gehen können. Dieses funktionelle Synzytium ist von entscheidender Bedeutung bei der interzellularen Kommunikation und der zellularen Homöostase (Kettenmann et al. 1983). Informationen können ausgetauscht und Koordinationsaufgaben ausgeführt werden. Vor allen in Zeiten intensiver neuronaler Aktivität versorgen Astrozyten Neurone mit Nährstoffen, wie Laktat, und können ihren Stoffwechsel beeinflussen (Brown und Ransom 2007, Norenberg 1994). Darüber hinaus kontrollieren Astrozyten die Zusammensetzung des Extrazellularraumes, insbesondere des Kaliumhaushaltes. Dieser Prozess wird als „räumliche Pufferung“ bezeichnet (Meeks und Mennericks 2007, Gardner-Medwin 1983). Dabei nehmen Astrozyten Kalium auf und transportieren es durch die Vernetzung mittels „gap junctions“ von Arealen hoher neuronaler Aktivität in Gebiete mit niedrigerer Aktivität. Auf diese Weise wird die Fortleitung der Erregung limitiert (Steward et al. 1992). Weiterhin übernehmen Astrozyten die Beseitigung und Inaktivierung von Neurotransmittern, wie z.B. Glutamat und γ -Aminobuttersäure (GABA), welche von Neuronen freigesetzt werden (Rosenberg 1991, Kang et al. 1998). Da Glutamat neurotoxische Wirkungen besitzt, verhindert dieser Mechanismus die Schädigung neuronaler Strukturen (He und Sun 2007).

Astrozyten selbst produzieren ebenfalls eine Reihe von neurotrophen Substanzen, wie z.B. „brain-derived-neurotrophic-factor“ (BDNF) und Neurotrophin 3 (NT3), und spielen somit für das Überleben von Neuronen eine entscheidende Rolle (Dreyfus et al. 1999). Weiterhin finden sich Hinweise, dass Astrozyten an der Ausbildung von neuronalen Synapsen beteiligt sein könnten. So entwickelten Neurone, welche zusammen mit Astrozyten kultiviert wurden, 7-mal mehr Synapsen, als Kulturen ohne Astrozyten, wobei die wenigen Synapsen, die sich ohne Astrozyten bildeten, unreif waren (Ullian et al. 2001).

1.3.3 Reaktiv veränderte Astrozyten bei Multipler Sklerose

Wird das Zentralnervensystem verletzt, kommt es zu einer astroglialen Reaktion – reaktive Astrozytose oder Astrogliose genannt. Diese Reaktion ist nicht spezifisch und kann bei nahezu jeder Verletzung des ZNS, wie z.B. Infarkt, Trauma und Infektionen auftreten (Fawcett und Asher 1999). Die reaktive Astrogliose ist durch zahlreiche hypertrophierte Astrozytenzellkörper mit zahlreichen feinen fortsatzartigen Zytoplasmaausläufern charakterisiert. Die plumpen Zelleiber lassen ein homogenes eosinophiles Zytoplasma erkennen, so dass ein gemästetzelliger Aspekt zur Darstellung kommen kann. Oft vergrößert sich der Kern und verlagert sich an den Rand der Zellmembran. Ultrastrukturelle Studien zeigten in reaktiven Astrozyten eine erhöhte Anzahl von Zellorganellen, wie z.B. Mitochondrien, Golgiapparat oder Lysosomen (Norenberg 1994). Die astrozytären Reaktionen enden in der Bildung einer glialen Narbe.

Die Glianarbe besteht vorwiegend aus dicht gepackten, hyperfilamentären Astrozyten und deren Fortsätzen, welche dicht aneinander liegen und sowohl durch gap- als auch durch tight junctions miteinander verbunden sind (Fawcett und Asher 1999). Das Narbengewebe ist dichter als normales Hirngewebe und erscheint bei makroskopischer Betrachtung grau, glasig und derb.

Das wohl augenfälligste Merkmal reaktiv veränderter Astrozyten ist die enorm gesteigerte Synthese an GFAP, dem Intermediärfilament der Astrozyten (Holley et al. 2003). Die genaue Funktion dieses betonten GFAP-Anstieges ist jedoch noch unbekannt. Weinstein et al. vermuten, dass erhöhte GFAP-Spiegel benötigt werden, um stabile Astrozytenfortsätze zu bilden (Weinstein et al. 1991). In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass GFAP-negative Mäuse Defizite, wie eine geringe Vaskularisierung des ZNS und Überreaktionen bei Verletzungen des ZNS, aufwiesen (Liedtke et al. 1996, Nawashiro et al. 1998). Darüberhinaus wurde ebenfalls eine Beeinträchtigung der Funktion der Blut-Hirn-Schranke nachgewiesen (Liedtke et al. 1996). Im Gegensatz dazu zeigten Mäuse mit einer

Überexpression von GFAP Ähnlichkeit mit der seltenen neurodegenerativen Alexander-Erkrankung, welche mit massiven Ansammlungen von GFAP-haltigen Rosenthalfasern und Entmarkungsprozessen assoziiert ist (Messing et al. 2001).

Die Aktivierung der Astrozyten geht mit einer vermehrten Expression verschiedener Moleküle, wie Wachstumsfaktoren, Zytokine, Proteasen und Proteaseinhibitoren einher (Eddleston und Mucke 1993). Weiterhin wurden aktivierte Astrozyten bei der Phagozytose von Myelin, Axontrümmern, Makrophagen und apoptotischen Zellen beobachtet (Morcos et al. 2003, Nguyen und Pender 1998, Prineas et al. 1990). Allerdings erreicht ihre Phagozytosekapazität nicht die der Mikroglia (Magnus et al. 2002). Nguyen und Pender beobachteten eine vermehrte Phagozytose apoptotischer Lymphozyten durch Astrozyten nach Glukokortikoidbehandlung, weshalb angenommen wird, dass Astrozyten erst durch einen Anstieg an apoptotischen Zellen zur Phagozytose angeregt werden (Nguyen und Pender 1998). Andererseits wurde auch eine Phagozytose von Myelin- und Axontrümmern durch Astrozyten innerhalb der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM), welche kaum Entzündungszeichen aufwies, nachgewiesen (Morcos et al. 2003). Myelin- und Axonfragmente in unmittelbarer Umgebung reaktiver Astrozyten der weißen Substanz lassen vermuten, dass Astrozyten initial das Gewebe zerstören und es anschließend phagozytieren können (Morcos et al. 2003). Ferner konnten Astrozyten nachgewiesen werden, die sich intaktes Myelin, welches Axone unmittelbar umgab, einverleibten, was ebenfalls einer gewebszerstörenden astrozytären Eigenschaft zugeschrieben werden könnte (Lee et al. 1990). Andererseits wird auch die Möglichkeit diskutiert, dass durch eine Beseitigung des Zellschuttes die Remyelinisierung gefördert werden könnte und die Phagozytoseeigenschaft von Astrozyten somit als gewebeprotectiv gewertet werden könnte. (Morcos et al. 2003).

Eine Sonderform reaktiver Astrozyten stellen die sogenannten Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) dar. Sie werden typischerweise in aktiv demyelinisierenden Läsionen angetroffen, sind jedoch nicht spezifisch für die MS (Zagzag et al. 1993). 1923 wurde diese Zellform erstmals ausführlich von Creutzfeldt beschrieben. Er bezeichnete diese Zellen als „Riesen- oder Monsterzellen“ und vermutete, dass es sich bei den Kernfiguren um eine Form der pathologischen Mitose handelt. Er nahm an, dass diese Riesenzellen „ein Ausdruck der Schwere und des akuten Ablaufs des krankhaften Vorganges“ sei (Creutzfeldt 1923, S. 514). Somit wurde diese astrozytäre Variante initial als atypische Mitosefigur, sog. Granularmitose, reaktiver Astrozyten angesehen. Später entpuppten sie sich jedoch als astrozytäre Reizformen, welche zahlreiche kleine Kernfragmente, sog. Mikronuklei enthielten. CFPZ werden somit nicht als Kernteilungsfigur angesehen sondern eher als extreme Reizform reaktiver

Astrozyten interpretiert (Lucchinetti et al. 2005). So zeigten Schönrock et al. in ihrer Studie, bei der Astrozyten sowohl mit dem Astrozytenmarker anti-GFAP als auch mit dem Proliferationsmarker anti-Ki-67 angefärbt wurden, einerseits proliferierende Astrozyten und andererseits Ki-67-negative GFAP-positive reaktive astrozytäre „mitotische Figuren“, welche sie als Creutzfeldt-Peters-Zellen betitelten (Schönrock et al. 1998). Auch Zagzag et al. unterscheiden zwischen proliferierenden Astrozyten in Mitose und CFPZ (Zagzag et al. 1993).

Ob die oben beschriebenen Veränderungen reaktiver Astrozyten einen positiven oder negativen Verlauf auf die Multiple Sklerose ausüben, wird zurzeit kontrovers diskutiert. Man geht derzeit davon aus, dass ihnen beide Eigenschaften innewohnen (Williams et al. 2007). Im Folgenden wird hierauf näher eingegangen.

1.3.3.1 Die Glianarbe bei Multipler Sklerose – eine mechanische Barriere?

Ob die narbigen Veränderungen von Vorteil oder eher nachteilig für den Verlauf der Multiplen Sklerose Läsionen sind, konnte bis heute nicht endgültig geklärt werden. Durch die Bildung der gliösen Narbe, bei der vermehrt Astrozyten und deren Fortsätze dicht beieinander liegen, könnte somit ein physikalisches Hindernis entstehen, welches sich negativ auf regenerierende Prozesse auswirken kann, in dem z.B. einsprossende neuronale Fortsätze das verletzte Gebiet nicht erreichen (Reier und Houle 1988). Auch Nair et al. vermuten, dass reaktive Astrozyten ein Vordringen von Oligodendrozyten und Axonen zur Läsion verhindern könnten (Nair et al. 2008). Auf der anderen Seite könnte sich die Astrogliose jedoch auch positiv auf die Wundheilung auswirken, indem sie geschädigte, nekrotische Areale von gesundem Gewebe abgrenzt und durch den Anstieg von GFAP das geschädigte Gebiet stabilisiert (Reier 1986, Eddleston und Mucke 1993).

1.3.3.2 Astrozyten und ihr Einfluss auf die Remyelinisierung bei Multipler Sklerose

Astrozyten sind sehr wandelbar und können in Bezug auf die Axonregeneration und Remyelinisierung sowohl fördernde als auch inhibierende Einflüsse aufweisen. In-vitro produzieren Astrozyten Moleküle, wie Chondroitin-Sulfat-Proteoglykane, Tenascin-C und Tenascin-R, welche die Axonregeneration hemmen (Yamada et al. 1997, Gutowski et al. 1999, Grierson et al. 1990). Andere In-vitro-Studien zeigten, dass diese Moleküle die Migration von Oligodendrozyten-Vorläuferzellen, und somit eine mögliche Remyelinisierung inhibieren können (Groves et al 1993). Darüber hinaus wurden in Versuchen mit Säugetieren, denen eine Läsion des Rückenmarks zugefügt wurde, Astrozyten beobachtet, wie sie das

Wachstum von sich regenerierenden Neuronen und ihrer Axone in ihrer Ausdehnung hemmen. (Liuzzi und Lasek 1987). Es wurde gezeigt, dass Stickstoffmonoxid (NO), ein Produkt Stickstoffmonoxid-Synthase produzierender Astrozyten, toxisch auf Oligodendrozyten und Neurone wirkt, was wiederum die Regeneration behindert (De Groot et al. 1997, Al-Omaishi et al. 1999). Andererseits können Astrozyten auch förderlich für das Überleben von Neuronen sein, indem sie Wachstumsfaktoren und Neutrophine produzieren. In-vitro sind Astrozyten fähig den sogenannten „nerve-growth-factor“ (NGF) zu produzieren, welcher für das Überleben von Neuronen eine wichtige Rolle spielt (Bakhit et al. 1991, Morrison et al. 1986). Weiterhin sezernieren Astrozyten das „monocyte-chemoattractant-protein-1“ (MCP-1), welches die Differenzierung von neuronalen Vorläuferzellen beschleunigt und deren Einwanderung ins Läsionsgebiet fördert (Belmadani et al. 2006).

Durch Chemokinproduktion aktivieren und rekrutieren Astrozyten Entzündungszellen in das geschädigte Areal, was zur Unterhaltung einer Entzündungsreaktion führt (Williams et al. 2007). Darüber hinaus konnten Selmaj et al. Astrozyten nachweisen, welche den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) exprimierten (Selmaj et al. 1991). So wurde einerseits beschrieben, dass TNF- α mit einer Apoptose von Oligodendrozyten und einer Demyelinisierung einhergeht (Hohlfeld 1997, Selmaj und Raine 1988). Andererseits zeigten TNF- α -negative Mäusen einen schweren Verlauf im Tiermodell der MS, der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), welcher durch die Gabe von TNF- α gedrosselt werden konnte (Liu et al. 1998). Weiterhin belegen Fok-Seang et al., dass Astrozyten in-vitro hemmend auf Vorläuferzellen der Oligodendrozyten wirken, welche normalerweise eine erfolgreiche Remyelinisierung gewährleisten (Fok-Seang et al. 1995). Dieses Phänomen konnte ebenfalls in in-vivo-Versuchen nachgewiesen werden (Franklin et al. 1997). Schönrock et al. wiederum konnten proliferierende Oligodendrozyten in der Umgebung von Astrozyten nachweisen (Schönrock et al. 1998). Auch haben in-vitro-Studien gezeigt, dass Astrozyten die Teilung und Differenzierung von Oligodendrozyten fördern können, indem sie bestimmte Wachstumsfaktoren und Zytokine produzieren (Webster 1997). Beispielsweise produzieren Astrozyten nach Ischämien den „insulin-like-growth-factor-1“ (IGF-1), welcher die Oligodendrozytenentwicklung und die Myelinisierung in-vitro und in-vivo anregt (Mozell und McMorris 1991, Carson et al. 1993).

1.3.3.3 Astrozyten und die Immunantwort

Für Entzündungsvorgänge der MS werden in erster Linie CD4+ T-Helferzellen vom T_H1-Subtyp verantwortlich gemacht (Chavarria und Alcocer-Varela 2004). Diese werden mittels

Antigenpräsentation über MHC-II-Moleküle aktiviert. „Professionelle“ antigenpräsentierende Zellen des ZNS stellen, Mikroglia, und dendritische Zellen dar, da sie kontinuierlich MHC-II-Moleküle exprimieren und somit zur Antigenpräsentation befähigt sind (Weber et al. 1994, Williams et al. 2007). Kontrovers diskutiert wird, ob reaktiv veränderte Astrozyten als antigenpräsentierende Zellen fungieren und somit auch an der Pathogenese der MS beteiligt sein könnten. Mehrere Studien konnten zeigen, dass Astrozyten unter Stimulation mit dem proinflammatorischen Interferon- γ MHC-II-Moleküle exprimieren können und zur Antigenpräsentation geeignet sind (Weber et al. 1994, De Keyser et al. 2003). Darüber hinaus konnten Zeinstra et al. zeigen, dass Astrozyten in aktiven MS-Plaques MHC-II-Moleküle präsentieren können (Zeinstra et al. 2000). Soos et al. beschrieben weiterhin, dass sowohl IFN- γ behandelte als auch unbehandelte Astrozyten die Proliferation von T_H1 -Lymphozyten fördern können, wohingegen ausschließlich IFN- γ behandelte Astrozyten in der Lage waren naive T-Zellen zu aktivieren. Diesen Beobachtungen zufolge könnten Astrozyten Entzündungsvorgänge in der Multiplen Sklerose fördern, indem sie Myelinepitope präsentieren und die T_H1 -Antwort unterstützen (Soos et al. 1998). Andere Studien hingegen konnten eine Astrozyten-Beteiligung bei der Antigenpräsentation jedoch nicht belegen (Bö et al. 1994).

Astrozyten wird eine immunsuppressive Wirkung zugeschrieben, indem sie Zytokine, wie Interferon- β (IFN- β) und „transforming-growth-factor- β “ (TGF- β) produzieren (da Cunha und Vitkovic 1992, Meinl et al. 1994). Hailer et al. zeigten, dass durch TGF- β , welches von Astrozyten exprimiert wurde, die Produktion von Adhäsions- und MHC-II-Molekülen verhindert werden konnte. Somit wären Astrozyten in der Lage antigenpräsentierende Zellen, wie Makrophagen, zu deaktivieren (Hailer et al. 1998). Darüber hinaus konnten Aloisi et al. nachweisen, dass eine IL-12-Produktion von Mikrogliazellen, welche zu einer T-Zell-Aktivierung führt, durch Astrozyten inhibiert werden konnte (Aloisi et al. 1997). Auch konnte gezeigt werden, dass Astrozyten an der Initiierung einer T_H2 -Immunantwort beteiligt sind, was wiederum zu einer Suppression der Entzündungsreaktion führt, da die T_H2 -Antwort eher mit antiinflammatorischen Molekülen wie IL-4, IL-5 und IL-13 einhergeht und somit z.B. zu einer verminderten Makrophagenaktivierung führt (Becher et al. 2000, Aharoni et al. 2000). Andere Studien lieferten Hinweise dafür, dass Astrozyten eine T-Zell-Antwort limitieren können, indem sie die T-Zell-Proliferation supprimieren und eine Apoptose von CD4+ Zellen induzieren (Meinl et al. 1994, Weber et al. 1994, Gold et al. 1996).

1.3.4 Reaktive Astrozyten und astrozytäre Zelleinschlüsse bei Multipler Sklerose

Zahlreiche Studien beobachteten in Multiple-Sklerose-Läsionen Zelleinschlüsse im Zytoplasma hypertrophierter Astrozyten (Raine et al. 1981, Ghatak et al. 1989). Lichtmikroskopisch ähnelten diese Einschlüsse kleinen rundlichen Zellen mit lymphozytärem Erscheinungsbild. Raine et al. zeigten erstmals an einem aktiv demyelinisierten Multiple-Sklerose-Plaques, dass es sich hierbei jedoch um Oligodendrozyten handelte (Raine et al. 1981). Prineas et al. vermuteten, dass diese Einschlüsse durch astrozytäre Phagozytose neuer unreifer Oligodendrozyten zustande kommen (Prineas et al. 1987). Weiterhin beobachteten sie fragmentierte und pyknotisch veränderte Oligodendrozyten im Zytoplasma reaktiver Astrozyten, wobei sie vermuteten, dass es sich bei diesem Phänomen um einen degenerativen Prozess handelt, bei dem Oligodendrozyten phagozytiert und zerstört werden. Sie vermuteten, dass dies ein Grund für eine fehlende Remyelinisierung bei MS darstellen könnte (Prineas et al. 1990). Andere wiederum interpretierten diese Zelleinschlüsse in Astrozyten eher als „Emperipolesis“, was erstmals von Humble et al. beschrieben wurde und bei verschiedenen Erkrankungen, wie der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, cerebralen Ischämien oder toxoplasmatischer Enzephalitis auftreten kann (Ghatak 1992, Shintaku und Yutani 2004, Sun und Raine 1992). Hierbei dringen kleinere Zellen aktiv in das Zytoplasma von größeren Zellen ein, wobei diese intakt bleiben (Humble et al. 1956).

Ghatak spricht der Astrozyten-Oligodendrozyten-Interaktion einen positiven Effekt auf die Remyelinisierung zu, indem Astrozyten unreife Oligodendrozyten von der entzündlich-entmarkenden Läsion abkapseln und schützen (Ghatak 1992). Diese Annahme wurde durch eine andere Studie von Schönrock et al. gestützt, die innerhalb von Astrozyten proliferierende Oligodendrozyten nachweisen konnte (Schönrock et al. 1998).

Wu und Raine konnten das Astrozyten-Oligodendrozyten-Phänomen in MS-Läsionen unabhängig vom Alter des Plaques nachweisen. Allerdings konnte dieses Phänomen am häufigsten in akuten Läsionsarealen mit zahlreichen Entzündungszellen und Zeichen der Gewebszerstörung beobachtet werden. Sogar in der normal erscheinenden weißen Substanz, welche an MS-Plaques angrenzt, konnten astrozytäre Zelleinschlüsse dargestellt werden (Wu und Raine 1992).

Vorausgegangene Untersuchungen konnten veranschaulichen, dass auch Lymphozyten zu einer so genannten Emperipolesis fähig sein können. Schon 1978 wurde im ZNS eine aktive Penetration von hypertrophierten Astrozyten durch Lymphozyten in einem „granular cell tumor“ beschrieben (Müller W und Dahmen 1978). Auch Nguyen und Pender konnten lebensfähige Lymphozyten in Astrozyten bei der EAE nachweisen. Sie nahmen allerdings an,

dass diese Lymphozyten phagozytiert wurden, da sie elektronenmikroskopisch Zeichen der Apoptose aufwiesen (Nguyen und Pender 1998).

1.4 Fragestellung

Astrozyten bilden als so genannte Makroglia das Stützgerüst des zentralen Nervensystems. Pathologische Gewebeveränderungen können zu einer reaktiven Astroglieose führen, wobei dieser Zellart eine Vielzahl an Funktionen und Fähigkeiten zugeschrieben wird. Andererseits können Astrozyten selbst neoplastisch entarten oder Ziel pathogener Veränderungen, wie z.B. Virusinfektionen sein. Trotz zahlreicher Studien bleibt die Rolle der Astrozyten in Bezug auf die pathogenetische Entwicklung der MS umstritten. Auch bei der Multiplen Sklerose stellen reaktiv veränderte Astrozyten ein wesentliches histopathologisches Merkmal dar, wobei sich Hinweise mehren, dass es sich bei der MS möglicherweise um eine Gruppe unterschiedlicher Erkrankungen mit einer gemeinsamen Endstrecke, der entzündlichen Entmarkung, handeln könnte. Diese Annahme ist unter anderem Grundlage der Hypothese der immunpathologischen Subtypen.

Ziel dieser Arbeit ist es, an humanen Hirnbiopsien von MS-Patienten mittels immunhistochemischer Methoden das Vorkommen von Astrozyten in MS-Läsionen eingehend zu analysieren. Dabei soll insbesondere am Beispiel der Astrozytenpathologie die Hypothese der immunpathogenetischen Heterogenität von MS-Läsionen näher überprüft werden

Hierfür wurden in der vorliegenden Arbeit reaktive Astrozyten und ihre Fortsätze in MS-Plaques hinsichtlich verschiedener Läsionsaktivitäten, Remyelinisierungsgrade und unterschiedlicher Immunsubtypen morphologisch beurteilt und quantifiziert. Darüber hinaus wurden Astrozyten mit intrazytoplasmatische Kerneinschlüssen, sowie das Vorhandensein von ausgeprägten Reizformen, so genannter Creutzfeldt-Peters-Zellen ermittelt.

Dabei stellen sich folgende Fragen:

1. Kann die bereits für Makrophagen und T-Lymphozyten nachgewiesene Heterogenität in den unterschiedlichen immunpathologischen Subtypen auch für die Population reaktiver Astrozyten nachgewiesen werden?
2. Lassen sich spezifische morphologische bzw. pathologische Astrozytenveränderungen innerhalb der postulierten Immunsubtypen nachweisen, die möglicherweise auf

pathogenetische Entstehungsmechanismen, wie zum Beispiel eine Virusinfektion, rückschließen lassen?

3. Wie stellen sich Astrozyten und ihre Fasergliose in unterschiedlichen Entmarkungsaktivitäten, Remyelinisierungsgraden und der angrenzenden weißen Substanz in humanen MS-Biopsien dar?
4. Können durch die ermittelten Ergebnisse Rückschlüsse auf die in der Literatur beschriebene Beteiligung von Astrozyten bei Entzündungsvorgängen und der De- bzw. Remyelinisierung gezogen werden?
5. Können intrazytoplasmatische Kerneinschlüsse und das Vorkommen von Creutzfeldt-Peters-Zellen bestimmten Läsionstypen zugeordnet werden und dadurch Rückschlüsse auf ihre mögliche Bedeutung gezogen werden?

2. Material und Methoden

2.1 Material

Bei dem in dieser Arbeit untersuchten Material handelt es sich um formalinfixierte und paraffin-eingebettete Biopsien humanen ZNS-Gewebes von Patienten mit entzündlicher ZNS-Entmarkung. Die Proben wurden im Zeitraum von 1989 bis 2006 entnommen und von unterschiedlichen neuropathologischen Instituten Deutschlands im Rahmen einer konsiliarischen Stellungnahme an das Institut für Neuropathologie der Universitätsmedizin Göttingen versandt.

Die Gewebeproben wurden stereotaktisch oder im Rahmen einer offenen Biopsie zur differentialdiagnostischen Klärung entnommen. Nicht-operative Untersuchungen, wie Symptomatik, klinischer Verlauf, Bildgebung, Blut- und Liquoruntersuchungen oder Elektrophysiologie hatten im Vorfeld zu keiner eindeutigen Diagnosefindung geführt. Zumeist bestand der differentialdiagnostische Verdacht auf eine tumoröse ZNS-Erkrankung. Die hier durchgeführten Untersuchungen und Auswertungen erfolgten nach Abschluss der konsiliarischen Beurteilung.

2.1.1 Zuordnung des untersuchten Materials

Insgesamt wurden 124 Läsionen von 113 Patienten untersucht. Bei vier Patienten musste eine zweite Biopsie zur Diagnosefindung durchgeführt werden. Bei einem Patient wurde Material in einer Operationssitzung aus zwei Läsionen mit unterschiedlichen Lokalisationen entnommen. Sechs Patienten zeigten innerhalb der biopsierten Läsion unterschiedliche Läsionsaktivitäten oder Remyelinisierungsstadien.

Die in dieser Arbeit untersuchten Läsionen lassen sich in 56 frühaktive (EA), 15 spätaktive (LA) und 53 inaktive (IA) Läsionen unterteilen. Sämtliche Plaques mit Zeichen der frühaktiven Entmarkung konnten in die Immunsotypen nach Lucchinetti und Brück wie folgt eingeordnet werden: Subtyp I n=21, Subtyp II n=22 und Subtyp III n=13 Fälle. Subtyp IV-Läsionen standen nicht zur Verfügung und konnten in dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden. Von den inaktiven Läsionen wiesen 15 Fälle demyelinisierte Plaques ohne Zeichen der Remyelinisierung auf (IA DM) auf, während 29 Fälle Zeichen der frühen Remyelinisierung (IA ERM) zeigten und 9 Fälle spät-remyelinisiert (IA LRM) waren. Frühaktive Plaques mit Zeichen der Remyelinisierung standen nicht zur Verfügung.

Ferner fanden sich in 49 Fällen normal erscheinende weiße Substanz (NAWM), welche gesondert ausgewertet wurde. Diese konnten wie folgt zugeordnet werden: 29 Präparate NAWM von frühaktiven Läsionen, 2 Areale NAWM von spätaktiven Läsionen und 18 Fälle NAWM von inaktiven Fällen. Die Zuordnung der 29 Fälle NAWM von EA-Läsionen gliedern sich folgendermaßen: je 10 mal NAWM bei Subtyp I und II und 9 mal NAWM für Subtyp III. Weiterhin wurden 11 PML-Fälle gesondert untersucht. Hierbei handelte es sich um 3 Biopsien, welche aus diagnostischen Gründen entnommen wurden und um 8 Autopsien. Die Biopsien stammen aus den Jahren 2007 und 2008, während die Autopsien zwischen 1989 und 2008 stattfanden.

Tabelle 1-3 und Graph 1 und 2 im Anhang stellen eine Zusammenfassung der oben beschriebenen Fallzahlen dar.

2.2 Patientendaten

Es wurden Daten von 113 MS-Patienten und 11 PML-Patienten analysiert, wobei von zwei MS-Patienten keine klinischen Daten zur Verfügung standen. Es wurde dabei das Geschlecht, die Biopsielokalisation und das Alter zum Biopsiezeitpunkt dokumentiert. Weiterhin wurden die MS-Patienten und die dazugehörigen Läsionen, bezüglich ihres Alters bei Biopsie, in drei verschiedene Altersgruppen eingeteilt. Gruppe 1 umfasste Patienten mit dem Alter 16-30 Jahre (n=35), in Gruppe 2 sind die Patienten 31-50 Jahre alt (n=63) und Gruppe 3 beinhaltet Patienten über 50 Jahre (n=20). Patienten, die zum Biopsiezeitpunkt jünger als 16 Jahre alt waren (n=4), wurden diesen Altersgruppen nicht zugeordnet, da diese noch unter die sogenannte kindliche bzw. Adoleszenten-MS zählen und gesondert betrachtet werden (siehe Tabelle 8 im Anhang). Darüber hinaus wurde von Patienten mit frühaktiv entmarkenden Läsionen der klinische Krankheitsverlauf erhoben.

Tabelle 13-20 im Anhang gibt einen Überblick über die evaluierten klinischen Daten der MS- und PML-Patienten.

2.3 Immunhistochemie

Die immunhistochemischen Untersuchungen dienen der Identifizierung verschiedener Zelltypen, die sich aufgrund ihrer spezifischen Zellstrukturen unterscheiden. Dabei werden mit Hilfe von Antikörpern zell- und gewebespezifische Antigene, meist Proteine, markiert und visualisiert. Zur Anwendung kommen direkte und indirekte Färbemethoden.

Bei der direkten Färbemethode wird auf das Gewebe ein spezifischer enzym-gekoppelter Antikörper gegeben, welcher an das gesuchte Antigen des Gewebes bindet. Dem Enzym-Antikörper-Komplex, wird ein Substrat zugeführt, welches mit dem Enzym reagiert und zu einem Farbprodukt führt. Diese Methode ist zügig durchführbar, da nur eine einzige Antikörperinkubation benötigt wird. Da an das Antigen jedoch nur ein einziger markierter Antikörper bindet, ist die Signalverstärkung relativ gering. Deshalb lassen sich nur stark exprimierte Antigene mit Hilfe direkter Färbemethoden zuverlässig nachweisen.

Vereinfacht dargestellt:

Antigen + Antikörper gekoppelt mit Enzym + Substrat = Farbe

Die indirekte Färbemethode hingegen ist um ein vielfaches empfindlicher als die direkte Färbung. Hier wird ein spezifischer Antikörper, der so genannte Primärantikörper, der gegen das gesuchte Antigen gerichtet ist, auf das zu untersuchende Gewebe aufgebracht. Dieser Primärantikörper sollte sich durch hohe Spezifität und Affinität auszeichnen und keine Kreuzreaktionen mit ähnlichen Antigenen aufweisen. Danach wird der Sekundärantikörper aufgetragen, welcher sich gegen den Primärantikörper richtet. Der Sekundärantikörper ist mit einem Enzym konjugiert. Hierdurch wird durch Substratzugabe eine Enzym-Substrat-Reaktion und dadurch die Farbentstehung ausgelöst. Stammt der Primärantikörper z.B. aus der Maus, so muss der Sekundärantikörper ebenfalls gegen Mausantikörper gerichtet sein.

Vereinfacht dargestellt:

Antigen + Primärantikörper + Sekundärantikörper gekoppelt mit Enzym + Substrat = Farbe

In dieser Arbeit wurden die indirekte Avidin-Biotin-Methode und die indirekte alkalische-Phosphatase-anti-alkalische-Phosphatase (APAAP)-Methode angewendet, welche nachfolgend in den Kapiteln 2.3.2 und 2.3.3 beschrieben werden.

2.3.1 Antikörper

Als primäre Antikörper finden polyklonale und monoklonale Antikörper ihre Verwendung. Polyklonale Antikörper stammen von verschiedenen Plasmazelllinien ab und werden meist im Kaninchen produziert. Sie reagieren aufgrund ihrer Heterogenität mit verschiedenen Antigenen und können somit zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Auf der anderen Seite gelingt der Antigennachweis auch auf Gewebe, welches durch Fixierung alteriert ist, meist zuverlässig. Monoklonale Antikörper hingegen stammen aus einem einzigen Plasmazellklon

und ihre Produktion findet fast ausschließlich in Mäusen statt. Monoklonale Antikörper sind nur gegen eine einzelne antigene Determinante gerichtet. Dadurch besitzen sie eine höhere Spezifität und Kreuzreaktionen treten seltener auf. Monoklonale Antikörper sind allerdings sehr empfindlich gegenüber Veränderungen ihres zu erkennenden Antigens, z.B. bei Überfixierung des Gewebes, so dass sich Markierungsprobleme oder falsch-negative Ergebnisse ergeben können. Darüberhinaus sind sie anfällig für pH-Verschiebungen und sind meist auch kostenintensiver als polyklonale Antikörper (Noll und Schaub-Kuhnen 2000).

2.3.1.1 Das „saure Gliafaserprotein“ (GFAP): astrozytenspezifisches Antigen

Für die Darstellung aktivierter Astrozyten eignet sich insbesondere die Markierung des Antigens saures Gliafaserprotein (GFAP). Hierbei handelt es sich um ein 50 kD schweres intrazytoplasmatisches Protein, welches Bestandteil der Intermediärfilamente von Astrozyten ist (Chiu et al. 1981). Es wird als das spezifischste Markerprotein für aktivierte Astrozyten angesehen (Bignami und Dahl 1977, Szymas 1986) (siehe Abb. 4 im Anhang), da der Anstieg von GFAP ein Hauptmerkmal reaktiver Astrozyten ist (Eddleston und Mucke 1993). Außer in astrozytären Zellen des ZNS kann GFAP auch in Schwann'schen Zellen des peripheren Nervensystems, glia-ähnlichen Zellen des Magen-Darm-Traktes, Speicheldrüsen, Linsenepithel und Ito-Zellen der Leber nachgewiesen werden (Jessen et al. 1984, Neubauer et al. 1996). Für die Identifikation der Astrozyten wurde in dieser Arbeit der monoklonale Mausantikörper, Klon 6F2 Isotyp IgG1 (DAKO[®], Glostrup, Dänemark), welcher gegen menschliches GFAP gerichtet ist, verwendet.

2.3.1.2 Der Primärantikörper 2003 (PAb 2003): JC-Virus-spezifisches Antigen

Zur beweisenden differentialdiagnostischen Unterscheidung zwischen PML und Entmarkungserkrankungen anderer Ursache, wurde zum Nachweis des JC-Virus immunhistochemische Untersuchungen mit dem Antikörper PAb 2003 durchgeführt. Dies ist ein monoklonaler Antikörper, welcher die mit JC-Virus-befallenen Oligodendrozyten darstellen kann (siehe Abb. 27 im Anhang). Der Antikörper erkennt eine Region des Aminoterminals des Virus, welche allen fünf frühen Proteinen, den T-Proteinen, des JC-Virus gemein sind. Diese T-Proteine werden für die Regulierung der Replikation und der zellulären Transformation benötigt (Prins und Frisque 2001). Somit können auch sehr frühzeitige Infektionen nachgewiesen werden (Munoz-Mármol et al. 2004). Weiterhin wiesen Munoz-Mármol et al. im Vergleich mit anderen Antikörpern, wie SV40, für den Antikörper PAb 2003 eine höhere Sensitivität nach (Munoz-Mármol et al. 2004).

2.3.2 Avidin-Biotin-Methode

Die Avidin-Biotin-Methode (Bild 1) wurde erstmals von Hsu und Raine 1981 beschrieben (Hsu und Raine 1981). Hierbei wird die starke Affinität von Avidin, in neueren Untersuchungen auch Streptavidin, zu dem Vitamin Biotin genutzt. Avidin ist ein Glykoprotein, welches vier Bindungsstellen für Biotin besitzt. Das darzustellende Antigen wird im Gewebe durch den unkonjugierten Primärantikörper erkannt und gebunden. Dieser Erstantikörper wird von einem biotinylierten Zweitantikörper erkannt. Als nächstes folgt die Zugabe und Inkubation des Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Komplexes. An drei von vier Bindungsstellen des Streptavidins bindet die biotinylierte Peroxidase. Das Streptavidin des Komplexes bindet mit seiner freien Bindungsstelle an das Biotin des Sekundärantikörpers. Die Visualisierung des gewebsgebundenen Antigen-Antikörperkomplexes erfolgt mit Hilfe des Substrates 3,3 Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid (DAB), welches mit dem Enzym Peroxidase aus dem Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Komplex und H_2O_2 als Katalysator ein braunes Farbprodukt bildet.

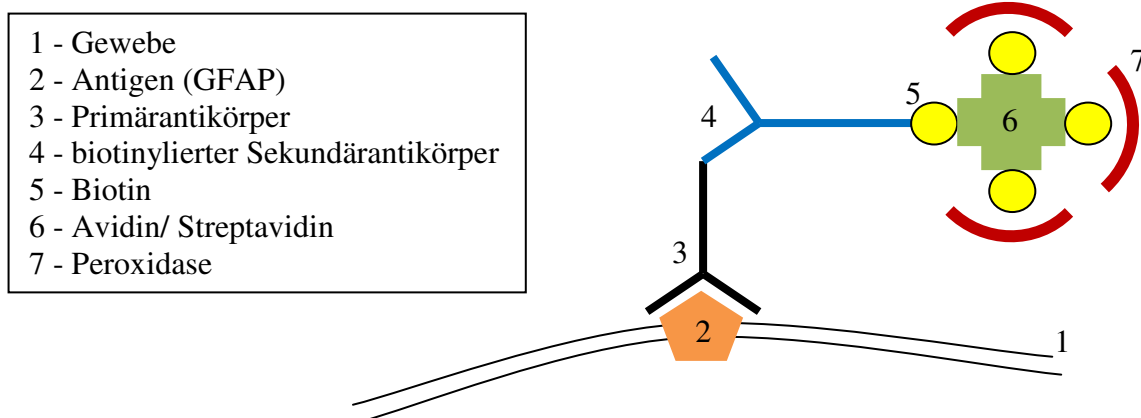


Bild 1: Schematische Darstellung der Avidin-Biotin-Methode

2.3.3 Alkalische-Phosphatase-anti-alkalische-Phosphatase (APAAP)-Methode

Bei dieser Methode handelt es sich um eine Enzym-anti-Enzymkomplextchnik, die erstmals von Cordell et al. beschrieben wurde (Cordell et al. 1984). Dabei wird, wie bei der Avidin-Biotin-Methode, das zu untersuchende Gewebe mit einem unkonjugiertem Primärantikörper beschichtet, welcher sein spezifisches Antigen erkennt (Bild 2). Daraufhin wird ein unmarkierter Sekundärantikörper, auch Brückenantikörper genannt, hinzugegeben. Dann wird der präformierte Enzym-Antikörperkomplex aufgetragen, welcher an dem Brückenantikörper bindet. Dieser Enzym-Antikörperkomplex stellt einen Komplex aus dem Enzym alkalische Phosphatase und dem dagegen gerichteten Antikörper anti-alkalische Phosphatase dar

(APAAP-Komplex). Voraussetzung dieser Methode ist, dass sowohl der Primärantikörper als auch der Antikörper des APAAP-Komplexes aus derselben Tierspezies stammen, damit der Brückenantikörper beide erkennen und verbinden kann. Weiterhin ist es notwendig, dass der Brückenantikörper im Überschuss vorliegt, damit dieser nicht mit seinen beiden Fab-Armen an dem Primärantikörper bindet, sondern eine Fab-Region auch für die Bindung des Antikörpers des APAAP-Komplexes frei bleibt. Zur Sichtbarmachung der Antikörperbindung wird das Substrat Naphtol-As-Bisphosphat zugefügt, welches mit dem Chromogen Neufuchsin ein rotes Farbprodukt ergibt.

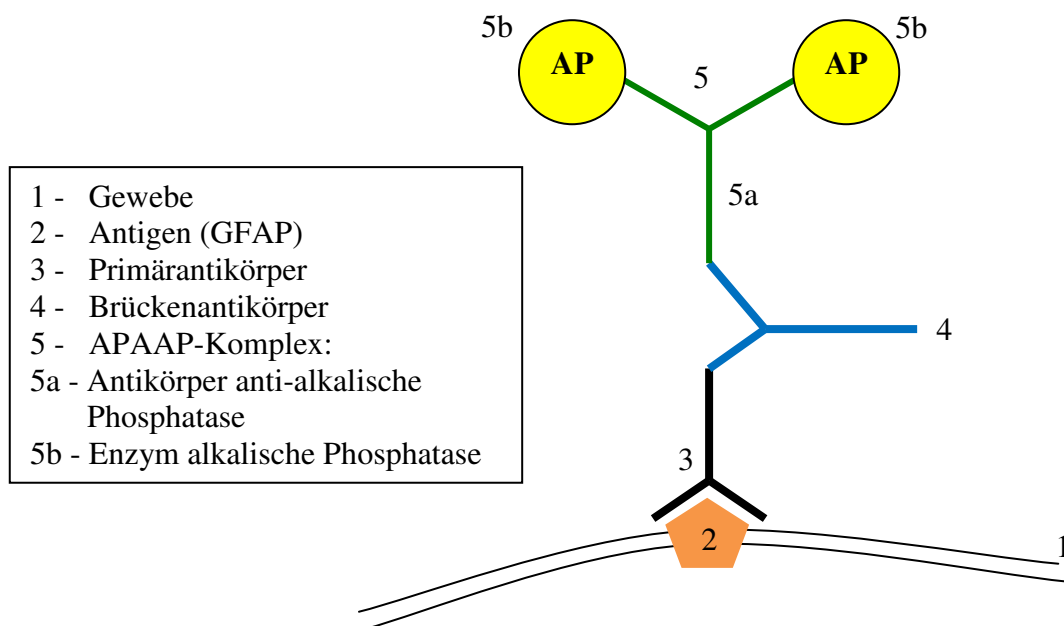


Bild 2: Schematische Darstellung der APAAP-Methode

2.4 Morphometrische Auswertung

Die Auswertung erfolgte an einem Lichtmikroskop der Firma Zeiss (ID-Nr. 44779) mit 400- bzw. 1000-facher Vergrößerung. Für die morphometrische Auswertung wurde die immunhistochemische Färbung anti-GFAP verwendet, welche spezifisch für Astrozyten ist. Beurteilt wurden die Anzahl aktivierter Astrozyten und die Anzahl von Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Kerneinschlüssen, sowie das Ausmaß der Fasergliose und das Vorhandensein von Creutzfeldt-Peters-Zellen sowohl in den MS-Läsionen selbst, als auch in der angrenzenden normal erscheinenden weißen Substanz. Weiterhin wurden ebenfalls die zur Verfügung stehenden PML-Läsionen nach dem oben genannten Schema analysiert.

Unter zu Hilfenahme eines Okularzählgitters der Firma Zeiss wurde die Anzahl aktivierter Astrozyten und Astrozyten mit Zelleinschlüssen bei 400-facher Vergrößerung quantitativ

ermittel. Die mittlere Zelldichte der evaluierten Areale wurde in Anzahl der Zellen pro Quadratmillimeter (mm²) angegeben.

Die Astrozytenfasern wurden hingegen gesondert ausgewertet. Da eine Bestimmung der absoluten Astrozytenfasern, aufgrund ihrer Dichte und Komplexität nicht möglich erschien, wurde ihre relative Dichte erfasst. Hierfür wurde ein Rousseau-Zählgitter mit 25 Zählfeldern der Firma Zeiss bei 1000-facher Vergrößerung verwendet, wobei die Schnittpunkte der Astrozytenfasern an den vorgegebenen Kreuzungspunkten ermittelt wurden. Der Wert der weißen Substanz eines gesunden Gehirnes wurde mit 100% gleichgesetzt und die untersuchte mittlere Faserdichte der evaluierten Proben wurde in Prozent (%) der weißen Substanz angegeben.

Es wurden standardmäßig zehn Gesichtsfelder des zu untersuchenden Areals ausgewertet und die Anzahl der positiven Elemente bestimmt. Kleine suffiziente Biopsien, mit weniger als zehn, jedoch mehr als fünf Gesichtsfeldern wurden ebenfalls erfasst. Kleinere Gewebeproben mit weniger als fünf Gesichtsfeldern wurden nicht berücksichtigt und exkludiert. Danach erfolgte die Berechnung der Mittelwerte der Zählfelder.

Creutzfeldt-Peters-Zellen hingegen wurden mit der Frage nach An- oder Abwesenheit sowohl innerhalb der Läsion als auch in der NAWM ermittelt. Diese Auswertung wurde ebenfalls bei 400-facher Vergrößerung durchgeführt. Eine quantitative Bestimmung der Creutzfeldt-Peters-Zellen erfolgte jedoch nicht.

2.4.1 Mapping

Die untersuchten MS-Biopsien lassen unterschiedliche Läsionsaktivitäten und Remyelinisierungsgrade, teilweise auch nebeneinander in einem Präparat erkennen. Beispielsweise können ältere inaktive Plaques neben frischen frühaktiven Läsionen bestehen. Deshalb wurde eine landkartenartige Skizzierung des jeweiligen Präparats zur besseren Orientierung erstellt – das sogenannte Mapping. Somit konnten für die jeweilige Fragestellung ausschließlich Gewebeareale mit entsprechender Läsionsaktivität evaluiert werden. Für Beispiele verschiedener Läsionsaktivitäten und Remyelinisierungsgrade siehe Abb. 1-4 und 15-24 im Anhang.

2.5 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem rechnergestützten Statistikprogramm GraphPad Prism Version 4 (GraphPad Software, Inc. San Diego, California, USA). Da die Daten der

Gauß'schen Normalverteilung entsprechen, kamen parametrische Tests zur Anwendung. Um festzustellen, ob sich die ermittelten Daten unterscheiden wurde der t-Test und die multiple Varianzanalyse One-way-ANOVA mit Adjustierung nach Bonferoni verwendet. Weiterhin wurde mit den Kontingenztests Chi-Quadrat-Test und exakter Test nach Fischer, der auch bei einer geringen Anzahl von Beobachtungen zuverlässige Resultate liefert, gearbeitet. Die im Ergebnisteil angegebenen Werte entsprechen den Mittelwerten der positiven Zellen pro Quadratmillimeter plus/minus Standardabweichung (Mittelwert/ mm² ± Standardabweichung) bzw. den Mittelwerten der relativen Astrozytenfaserdichte in Prozent plus/minus Standardabweichung (% ± Standardabweichung). Statistische Signifikanz wurde erreicht, wenn der p-Wert kleiner oder gleich als 0,05 ($p \leq 0,05$) war. Graphisch wurden die Daten in Box- und Whiskerdiagrammen nach Tukey (Boxplot), Säulendiagrammen und Tortendiagrammen dargestellt. In den Boxplot-Diagrammen sind die Maximal- und Minimalwerte, der Mittelwert und die Spanne von 25-75% abgebildet.

3. Ergebnisse

Es folgt die Darstellung der ermittelten Werte in Bezug auf aktivierte, reaktiv veränderte Astrozyten, reaktive Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen, relative Fasergliose und Creutzfeldt-Peters-Zellen in den untersuchten MS-Läsionen, der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) und in den PML-Präparaten. Die ermittelten Daten der ausgewerteten MS- und PML-Läsionen und der NAWM sind gesondert in den Tabellen 31-44 im Anhang angegeben.

3.1 Reaktiv veränderte Astrozyten in Multiple-Sklerose-Läsionen

Bei der Analyse der einzelnen immunpathologischen Subtypen untereinander, welche nur auf Läsionen mit früher Entmarkungsaktivität (EA) angewendet werden können, zeigt Subtyp Typ II die höchste Zelldichte an reaktiv veränderten Astrozyten mit $208,6 / \text{mm}^2 (\pm 59,76)$, gefolgt von Subtyp I mit $187,1 \text{ Astrozyten} / \text{mm}^2 (\pm 44,68)$. Die geringste Anzahl der hypertrophen Astrozyten besitzt Subtyp III ($124,2 \text{ Zellen} / \text{mm}^2 \pm 29,03$). Es lässt sich im Vergleich der drei Subtypen ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) aufzeigen. Hierbei zeigt Subtyp I im Vergleich mit Subtyp III signifikant höhere Astrozytenwerte ($p < 0,01$). Darüberhinaus lässt sich auch in Subtyp II, verglichen mit Subtyp III, eine signifikant höhere Astrozytendichte als in Subtyp III ($p < 0,001$) nachweisen.

Bezüglich der Auswertung der Läsionsaktivitäten und Remyelinisierungsstadien untereinander finden sich höchste Zahlen reaktiver Astrozyten in IA DM-Plaques ($203,7 \text{ Zellen} / \text{mm}^2 \pm 24,41$) und in LA-Läsionen ($201,9 \text{ Zellen} / \text{mm}^2 \pm 39,50$). Mit $111,3 \text{ Zellen} / \text{mm}^2 (\pm 23,26)$ finden sich geringste Zahlen aktivierter Astrozyten in IA LRM Markschattenherden. EA-Läsionen und IA ERM-Plaques zeigen eine mittlere Astrozytendichte von $180,9 \text{ Zellen} / \text{mm}^2 (\pm 57,92)$ bzw. $190,6 \text{ Zellen} / \text{mm}^2 (\pm 40,58)$. Somit ergibt sich ein signifikanter Unterschied von $p < 0,0001$ bei dem Vergleich der oben genannten Läsionsaktivitäten untereinander. Es lassen sich in Shadowplaques signifikant weniger reaktive Astrozyten nachweisen, als in den restlichen oben erwähnten Läsionen (jeweils $p < 0,001$). Zwischen den anderen Läsionsaktivitäten lassen sich keine signifikanten Unterschiede ermitteln.

Fasst man sämtliche inaktive Plaques, unabhängig von ihrem Remyelinisierungsgrad ($180,9 \text{ Zellen} / \text{mm}^2 \pm 46,60$) zusammen und vergleicht diese mit den EA- und LA-Läsionen (Werte s.o.) so weisen die spätaktiven Läsionen im Durchschnitt die höchste Anzahl an GFAP-

positiven Zellen auf. Es lässt sich dabei aber kein signifikanter Unterschied bezüglich der Zelldichte reaktiver Astrozyten nachweisen.

Fasst man alle Läsionen, ungeachtet ihrer Aktivität, zusammen, ergibt sich eine mittlere Zelldichte aktivierter Astrozyten von 183,4 Zellen/ mm² (\pm 51,41). In der NAWM stellen sich durchschnittlich 98,85 reaktive Astrozyten/ mm² (\pm 21,49) dar. Es finden sich somit signifikant mehr Astrozyten auf Seiten der Läsionen ($p < 0,0001$).

Siehe Tabellen 21, 23-25, 31-37 und 39-44, Graph 5-8 und Abb. 5, 6 und 11-14 im Anhang.

3.2 Astrozytäre Fasergliose in Multiple-Sklerose-Läsionen

Es wurden bei der Evaluierung der Astrozytenfasern insgesamt 122 von 124 Fälle einbezogen; 2 Fälle mit frühaktiver Entmarkung wurden aufgrund unzureichender Färbequalität und damit eingeschränkter Auswertbarkeit von der Analyse ausgeschlossen.

Bei der Auswertung der verschiedenen Subtypen der frühaktiven Läsionen ergeben sich folgende durchschnittliche Werte: Subtyp I weist die dichtesten Fasergliose auf mit 286,6% (\pm 76,83), gefolgt von Subtyp II (264,1% \pm 62,99). Die geringste Dichte an Fasern weist Subtyp III auf (233,6% \pm 55,73). Somit ergibt sich in Bezug auf die Dichte der Fasergliose kein statistisch signifikanter Unterschied.

Analysiert man nun die verschiedenen Läsionsaktivitäten untereinander, so findet sich die höchste Faserdichte mit 341,1% (\pm 133,6) in den sog. Shadowplaques, d. h. in inaktiven Läsionen mit fortgeschrittener Remyelinisierung (IA LRM). Die niedrigste Dichte an Astrozytenfasern zeigen EA-Läsionen (266,7% \pm 69,09). Mittlere Werte bezüglich der Fasergliosedichte nehmen die IA ERM- (330,3% \pm 83,3), die IA DM- (310,7% \pm 102,8) und die LA-Läsionen (301,3% \pm 82,19) ein. Im Vergleich dieser unterschiedlichen Läsionsaktivitäten zeigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied von $p = 0,0083$. Nach der Adjustierung nach Bonferoni zeigt sich nur im Vergleich zwischen den EA-Läsionen mit den IA ERM-Läsionen eine signifikant geringere Astrozytenfaserdichte ($p < 0,05$). Beim Vergleich der einzelnen Läsionsaktivitäten im t-Test ergibt sich auch eine signifikant höhere Dichte an Astrozytenfasern in den IA LRM-Plaques als in den EA-Läsionen ($p = 0,0127$). Für eine präzisere Aussage, müsste eine größere Fallzahl an spätremyelinisierenden Läsionen untersucht werden.

Im Vergleich der Läsionen bezüglich ihres Entmarkungsstadiums, d.h. frühaktives, spätaktives und inaktives Entmarkungsstadium, lässt sich ein signifikanter Unterschied ermitteln ($p = 0,0015$). So kann man bei inaktiven Läsionen (326,6% \pm 97,19) signifikant höhere Dichten an Astrozytenfasern nachweisen, als in frühaktiven Läsionen ($p < 0,01$).

Betrachtet man die gesamten MS-Plaques im Vergleich zur NAWM bezüglich ihrer Fasergliose, so finden sich in den Läsionen im Durchschnitt eine Faserdichte von 301,2% (\pm 89,05), während sich in der NAWM eine Dichte von 236,5% (\pm 86,48) nachweisen lässt. Somit kann man in den MS-Plaques eine signifikant höhere Astrozytenfaserdichte als in der NAWM feststellen ($p < 0,0001$).

Siehe Tabellen 21, 23-25, 31-37 und 39-44, Graph 9-12 und Abb. 5 6 und 11-14 im Anhang.

3.3 Reaktiv veränderte Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen in Multiple-Sklerose-Läsionen

Bei der Betrachtung der Subtypen frühaktiver Läsionen zeigt sich die höchste Anzahl von Astrozyten mit Zelleinschlüssen in Subtyp II (30,11/ $\text{mm}^2 \pm 16,68$), gefolgt von Subtyp I mit 27,12 Astrozyten mit Einschlüssen/ mm^2 ($\pm 11,90$), während in Subtyp III mit 14,28/ mm^2 ($\pm 9,248$) geringste Anzahl an Astrozyten mit Einschlüssen nachweisbar waren. Es lässt sich dabei ein signifikanter Unterschied von $p = 0,0049$ ermitteln. Somit zeigte sich in Subtyp II eine statistisch signifikant höhere Dichte an astrozytären Zelleinschlüssen, als in Subtyp III ($p < 0,01$). Auch Subtyp I verfügt über signifikant mehr Astrozyten mit Zelleinschlüssen als Subtyp III ($p < 0,05$), während es zwischen Subtyp I und II keine statistisch signifikanten Unterschiede gibt.

Untersucht man die Läsionen hinsichtlich ihrer verschiedenen Entmarkungsaktivitäten und Remyelinisierungsgrade, finden sich mit einer Anzahl von 35,73/ mm^2 ($\pm 12,58$) die meisten reaktiven Astrozyten mit Zelleinschlüssen in IA DM MS-Läsionen. Mit 31,36 Astrozyten mit Kerneinschlüssen/ mm^2 ($\pm 10,58$) und 30,12 GFAP-positiven Zellen mit Einschlüssen/ mm^2 ($\pm 13,66$) zeigen sich annähernd gleich hohe Anzahlen in den LA- und IA ERM-Plaques. In EA-Läsionen beobachtet man durchschnittlich 25,31 Zelleinschlüsse/ mm^2 ($\pm 14,69$). Die geringste Anzahl von Astrozyten mit zytoplasmatischen Einschlüssen weisen mit Abstand die IA LRM-Läsionen auf (8,178/ $\text{mm}^2 \pm 2,706$). Die Unterschiede dieser Läsionsaktivitäten bezüglich Astrozyten mit Zelleinschlüssen sind mit $p < 0,0001$ signifikant. So zeigen sich signifikant weniger astrozytäre Zelleinschlüsse in IA LRM-Läsionen im Vergleich zu allen anderen Läsionsstadien ($p < 0,01$ zu EA-Läsionen und $p < 0,001$ zu LA-, IA DM und IA ERM-Läsionen).

Betrachtet man die Läsionen hinsichtlich ihrer Entmarkungsstadien, also EA, LA und IA, unabhängig des Remyelinisierungsgrades (27,98/ $\text{mm}^2 \pm 15,23$), so finden sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Anzahl der Astrozyten mit Zelleinschlüssen.

Im Gegensatz zur NAWM (6,076 Astrozyten mit Einschlüssen/ mm² ± 5,829) lassen sich in allen entmarkten Läsionen zusammengefasst (27,19 Astrozyten mit Einschlüssen/ mm² ±14,53) im Durchschnitt signifikant mehr Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen nachweisen (p<0,0001).

Siehe Tabellen 21, 23-25 und 31-37 und 39-44, Graph 13-16 und Abb. 7,8 und 11-14 im Anhang.

3.4 Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Multiple-Sklerose-Läsionen

Die statistische Auswertung der unterschiedlichen immunpathologischen Subtypen der EA-Plaques untereinander ergab für Subtyp I 6 von 21 Fällen mit CFPZ (28,6%), in Subtyp II wurden in 5 von 22 Läsionen (22,7%) CFPZ identifiziert und Subtyp III zeigte in 2 von 13 Läsionen CFPZ (15,4%). Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

In der Analyse hinsichtlich der Entmarkungsaktivitäten wurden diese astrozytären Sonderzellen in EA-, LA- und IA ERM-Läsionen nachgewiesen, jedoch nicht in IA DM-Läsionen und IA LRM-Plaques. Von insgesamt 56 EA-Läsionen konnten in 13 Läsionen Creutzfeldt-Peters-Zellen (23,21%) nachgewiesen werden. CFPZ wurden ebenfalls in 4 von 15 LA-Läsionen nachgewiesen, was einem Anteil von 26,6% entspricht. In IA ERM-Läsionen enthielten 3 von insgesamt 29 MS-Plaques Creutzfeldt-Peters-Zellen (10,34%). Vergleicht man diese Läsionen untereinander, findet sich kein signifikanter Unterschied. Bezieht man jedoch sämtliche inaktive Läsionen in die Analyse mit ein, kann man in 3 Läsionen von insgesamt 53 inaktiven Läsionen CFPZ beobachten (5,7%). Somit stellt sich beim Vergleich der EA-, LA- und IA-Läsionen mit p=0,0223 ein signifikanter Unterschied dar. Es finden sich signifikant weniger CFPZ in inaktiven Läsionen als in EA- bzw. LA-Läsionen (p=0,0135 bzw. p=0,0375).

Insgesamt konnten in 20 unterschiedlichen MS-Läsionen CFPZ nachgewiesen werden (16,13%). In der normal erscheinenden weißen Substanz wurden diese astrozytären Zellformationen nicht nachgewiesen. Somit befinden sich im Vergleich mit p=0,0012 signifikant mehr CFPZ in MS-Läsionen als in der NAWM.

Unterscheidet man Läsionen, in denen CFPZ vorhanden waren mit denen ohne Nachweis von CFPZ und stellt sie bezüglich ihrer Anzahl an reaktiv veränderten Astrozyten, Astrozyten mit Zelleinschlüssen und Fasergliose gegenüber, ergeben sich folgende Werte: In Läsionen mit CFPZ lassen sich im Mittel 174,9 Astrozyten/ mm² (± 28) und 31,68 Astrozyten mit Zelleinschlüssen/ mm² (± 11,96) feststellen. Läsionen ohne CFPZ lassen durchschnittlich 185 Astrozyten/ mm² (± 54,78) und 26,18 Astrozyten mit Zelleinschlüssen/ mm² (± 14,74)

erkennen. Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant. Hinsichtlich der Dichte der Fasergliose ließen sich in Läsionen ohne CFPZ (304,2 % \pm 89,23) signifikant dichtere Astrozytenfortsätze nachweisen ($p=0,0392$) als in Läsionen mit Nachweis von CFPZ (260 % \pm 71,96).

Siehe Tabellen 21, 23-26, 31-37 und 39-44, Graph 17-23 und Abb. 9 und 10 im Anhang.

3.5 Auswertung der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) bezüglich der Subtypen frühaktiver Multiple-Sklerose-Läsionen

Für die Beurteilung der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) der frühaktiv entmarkten Läsionen wurden 29 Fälle untersucht, wobei diese sich wie folgt verteilen: Subtyp I $n=10$, Subtyp II $n=10$ und Subtyp III $n=9$. Die Mittelwerte der reaktiv veränderten Astrozyten liegen für Subtyp I bei 77,28 Zellen/ mm^2 (\pm 22,12), für Subtyp II bei 103,4 Zellen/ mm^2 (\pm 23,55) und für Subtyp III bei 79,11 Zellen/ mm^2 (\pm 24,29). Vergleicht man die Anzahl reaktiver Astrozyten in der NAWM der unterschiedlichen Subtypen, zeigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den drei Subtypen ($p=0,0343$). So zeigt sich im t-Test beim direkten Vergleich der Subtypen, dass in der NAWM des Subtyp I und auch des Subtyp III gegenüber der NAWM des Subtyp II signifikant weniger reaktiv veränderte Astrozyten nachweisbar sind ($p=0,02$ bzw. $p=0,0413$). Nach der Adjustierung nach Bonferoni, waren diese Unterschiede nicht signifikant.

In der Analyse der astrozytären Fasergliose verteilen sich die Mittelwerte der NAWM der Subtypen wie folgt – Subtyp I 222 % Faserdichte (\pm 63,21), Subtyp II 244 % (\pm 103) und Subtyp III 182 % (\pm 61,4). Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen der NAWM der einzelnen Immunsotypen.

Hinsichtlich der astrozytären intrazytoplasmatischen Zelleinschlüsse konnte für die NAWM des Subtyp I im Durchschnitt 4,8 Astrozyten mit Zelleinschlüssen/ mm^2 (\pm 4,9), für die NAWM des Subtyp II im Mittel 5,8 astrozytäre Zelleinschlüsse/ mm^2 (\pm 3,9) und für Subtyp III durchschnittlich 2,7 Astrozyten mit Zelleinschlüssen/ mm^2 (\pm 2,4) festgestellt werden, somit kann kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen NAWM der Subtypen nachgewiesen werden.

Es konnten keine Creutzfeldt-Peters-Zellen in der normal erscheinenden weißen Substanz nachgewiesen werden.

Siehe Tabellen 27 und 39-41 und Graph 24-26 im Anhang.

3.6 Auswertung der Läsionen progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML) im Vergleich zu den Subtypen Multipler-Sklerose-Läsionen

Analysiert man die Präparate von Patienten, welche an einer viralen Entmarkung der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) erkrankt sind und vergleicht man diese mit den EA-Läsionen an MS leidender Patienten, so zeigen sich Gemeinsamkeiten zwischen der PML und Subtyp III. In PML-Läsionen wurden durchschnittlich 138,6 reaktiv veränderte Astrozyten/ mm² (\pm 23,6) identifiziert. Auch in Subtyp III fand sich mit 124,2 Zellen/ mm² (\pm 29,03) ähnliche Werte bezüglich der Dichte von reaktiv veränderten Astrozyten. Dagegen wiesen Subtyp I und II mit durchschnittlich 187,1 Astrozyten pro mm² (\pm 44,68) bzw. 208,6/ mm² (\pm 59,76) eine signifikant höhere Anzahl an reaktiv veränderten Astrozyten ($p=0,0022$ bzw. $p=0,0008$) auf. Auch im Vergleich der Fasergliose finden sich in Subtyp I mit durchschnittlich 286,6% \pm 76,83 eine signifikant höhere Fasergliose-Dichte als in PML-Läsionen mit 230% (\pm 44,5) ($p=0,0322$). In Subtyp II war mit 264,1% (\pm 62,99) ebenfalls deutlich höhere Astrozytenfaserdichte nachweisbar als in PML-Läsionen. Dieser Unterschied ist jedoch nicht statistisch signifikant. Subtyp III (233,6% \pm 55,73) und PML-Läsionen unterscheiden sich in der Fasergliose statistisch nicht voneinander. Betrachtet man die Zahl reaktiv veränderter Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen, so findet sich die geringste Anzahl mit 10,76 Einschlüssen /mm² (\pm 6,867) in PML-Läsionen, gefolgt von Subtyp III mit 14,28/ mm² (\pm 9,248). Am häufigsten lassen sich die GFAP-positiven Zellen mit intrazytoplasmatischen Einschlüssen in Subtyp II (30,11/ mm² \pm 16,68) und Subtyp I (27,12/ mm² \pm 11,90) nachweisen. Somit befinden sich signifikant mehr reaktiv veränderte Astrozyten mit Kerneinschlüssen in Subtyp I ($p<0,01$) und Subtyp II ($p<0,001$) als in den PML-Läsionen. Zwischen Subtyp III und PML-Arealen konnte jedoch kein statistisch relevanter Unterschied evaluiert werden. Creutzfeldt-Peters-Zellen ließen sich in einer PML-Läsion nachweisen (9,09%).

Siehe Tabellen 22 und 38 und Graph 27-30 und Abb. 25-28 im Anhang.

3.7 Korrelation klinischer Daten von Patienten mit Multipler Sklerose

Geschlechterverteilung

Für die Läsionen der biopsierten Patienten zeigt sich folgendes Geschlechterverhältnis: 80 Läsionen von weiblichen und 42 Läsionen von männlichen Patienten – dies ergibt eine Geschlechterverteilung von ca. 2:1. Untersucht man das Geschlechterverhältnis der einzelnen Subtypen so liegt in Subtyp I der Anteil weiblicher Patienten mit 12 von 21 Patienten bei

57,1% und der Anteil männlicher Patienten mit 9 Fällen bei 42,2%. In Subtyp II sind 68,2% weiblichen Geschlechts (n=15) und 31,8% männlichen Geschlechts (n=7). Subtyp III weist 61,5% weibliche Patienten (n=8) und 38,5% männliche Patienten (n=5) auf. Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Siehe Tabelle 4 und 13-19 und Graph 3 im Anhang.

Alter zum Biopsiezeitpunkt

Zum Zeitpunkt der Biopsie betrug das durchschnittliche Alter der Patienten 38,4 Jahre, wobei Männer mit 37,3 Jahren geringfügig jünger waren, als Frauen, bei denen das durchschnittliche Alter bei 39,0 Jahren liegt. Dabei reichte die Altersspanne vom jüngsten Patienten mit 10 Jahren mit einer frühaktiven Läsion des Subtyps I bis zu 65 Jahren, des ältesten Patienten dieser Untersuchung, welcher eine spätaktive Läsion aufwies.

Das mittlere Alter zur Biopsie für die einzelnen immunpathologischen Immunsotypen ergab sich wie folgt: Patienten mit Subtyp I waren mit durchschnittlich 33,6 Jahren die jüngsten Patienten, während die Patienten mit Läsionen vom Subtyp II durchschnittlich 38,9 Jahre alt waren. Für Patienten mit Subtyp III Läsionen lag das durchschnittliche Alter mit 41,2 Jahren am höchsten.

Siehe Tabelle 6, 7 und 13-19 und Graph 4 im Anhang.

Biopsielokalisation

In 96 Fällen von 124 untersuchten Gewebeproben, war die Biopsielokalisation innerhalb des ZNS bekannt. Für 28 Fälle lagen hierzu keine näheren Angaben vor. Mit 92 Fällen wurde die Mehrzahl der Gewebeproben supratentoriell entnommen, während in nur 2 Fällen eine infratentorielle Biopsielokalisation und in 2 weiteren Fällen eine spinale Biopsielokalisation vorlag.

Siehe Tabelle 10 und 13-19 im Anhang.

Klinische Krankheitsverläufe

Wie in der Einleitung (Kapitel 1.1.3) beschrieben, werden bei der MS unterschiedliche Krankheitsverläufe beobachtet. Für eine Auswertung standen Daten von Patienten mit frühaktiven Läsionen zur Verfügung (siehe Tabelle 11 und 12 im Anhang).

Zum Biopsiezeitpunkt lag bei 26 Patienten ein schubhaft-remittierender (RR-MS) Verlauf vor (46,4%), wobei 22 Fälle weiblichen Geschlechts waren. Bei Männern wurden mit 4 Fällen signifikant weniger schubförmig-remittierende Verläufe zum Biopsiezeitpunkt nachgewiesen ($p=0,0021$) (siehe Graph 43 im Anhang). Bei 2 Patientinnen bestand bereits zum Zeitpunkt der Biopsie die Diagnose einer sekundär chronisch-progredienten MS (3,6%). Bei Männern

mit frühaktiv entmarkenden MS-Läsionen war diese Verlaufsform zum Biopsiezeitpunkt nicht diagnostiziert worden. Zu einem Großteil erfolgte die Biopsie zu einem sehr frühen Zeitpunkt, in dem die Patienten aufgrund des ersten neurologischen Ereignisses biopsiert wurden und keine Aussage über den folgenden klinischen Verlauf getroffen werden konnte. Diese Patientengruppe wird unter dem Begriff monophasischer Verlauf, oder „clinically isolated syndrome“ (CIS) beschrieben. 28, und somit 50%, der biopsierten Patienten mit EA-Läsionen wiesen ein CIS zum Biopsiezeitpunkt auf. Hierbei waren 17 Patienten männlichen Geschlechts und 11 Patienten weiblichen Geschlechts. In Bezug auf die Immunsotypen der EA-Läsionen ergab sich für die klinischen Verläufe folgende Analyse:

Für Subtyp I konnten 11 Patienten mit einem „clinical isolated syndrome“ (CIS) und 10 Patienten mit einem schubförmig-remittierenden Verlauf (RR-MS) ermittelt werden, während kein Patient einen progredienten Krankheitsverlauf zum Biopsiezeitpunkt aufwies. Subtyp II konnten 8 Fälle einem CIS, 12 Patienten einem schubförmig-remittierenden Verlauf und 2 Patienten einem sekundär chronisch-progredienten Verlauf zugeordnet werden. Für Subtyp III ergaben sich 9 Fälle mit einem CIS und 4 Patienten mit einem schubförmig-remittierenden Krankheitsverlauf, jedoch kein Patient mit einem chronischen Verlauf.

3.7.1 Reaktiv veränderte Astrozyten in Korrelation zu klinischen Daten

Hinsichtlich des Geschlechts gibt es kaum Unterschiede, bezüglich der Astrozytendichte - bei Frauen wurden durchschnittlich 186,6 Zellen/ mm² (\pm 51,21) und bei Männern 176,1 Zellen/ mm² (\pm 52,74) reaktive Astrozyten nachgewiesen. Zur Analyse einer möglichen altersbedingten Ausprägung reaktiver Astrozyten wurden die 3 unterschiedlichen Altersgruppen, welche im Kapitel 2.2 (S. 28) erläutert wurden, miteinander verglichen.

Die unter 30 jährigen Patienten der Altersgruppe 1 und die über 50jährigen Patienten der Altersgruppe 3 zeigten dabei mit durchschnittlich 187,2 Zellen/ mm² (\pm 55,35) bzw. 184 Zellen/ mm² (\pm 64,39) ähnlich hohe Zelldichten an aktivierten Astrozyten. Patienten der Gruppe 2 zwischen 30 und 50 Jahren wiesen mit 177,7 Zellen/ mm² \pm 42,73 die niedrigste Anzahl GFAP-positiver Zellen auf. Hierbei lässt sich jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied feststellen.

Zur Beurteilung reaktiver Astrozyten bezüglich des klinischen Krankheitsverlaufs wird das „clinically isolated syndrome“ (CIS) dem schubförmig-remittierenden Verlauf (RR-MS) gegenübergestellt. Für den sekundär progredienten Krankheitsverlauf sind die Fallzahlen (n=2) für eine statistische Auswertung zu niedrig. Mit durchschnittlich 195,6 reaktiv veränderten Astrozyten/ mm² (\pm 53,85) kann man bei Patienten mit RR-MS die höchste

astrozytäre Zelldichte beobachten. Patienten mit einem monophasischen Verlauf (CIS) weisen durchschnittlich 167,8 Astrozyten/ mm² (\pm 61,08) auf. Zwischen Patienten mit RR-MS und CIS ergibt sich somit kein statistisch signifikanter Unterschied.

Siehe Tabelle 28-30 und Graph 31-33 im Anhang.

3.7.2 Astrozytäre Fasergliose in Korrelation zu klinischen Daten

Bei der Differenzierung der astrozytären Fasergliose hinsichtlich des Geschlechts der Patienten wiesen Männer eine durchschnittliche relative Faserdichte von 293,2% (\pm 91,69) und Frauen von 298,4% (\pm 86,55) auf. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant. Hinsichtlich der Altersgruppenanalyse zeigt sich, dass Patienten zwischen 31-50 Jahren mit 313,5% (\pm 94,67) deutlich höhere Dichten astrozytärer Fasergliose aufwiesen, als jüngere Patienten der Altersgruppe 1 mit durchschnittlich 270,3% (\pm 80,25). Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant. Ältere Patienten der Altersgruppe 3 zeigten eine mittlere Faserdichte von 285,8% (\pm 67,93).

Setzt man die Dichte der Fasergliose mit dem Krankheitsverlauf, welcher zum Biopsiezeitpunkt vorherrschte, in Bezug, so findet sich mit durchschnittlich 279,2% (\pm 72,80) eine höhere Dichte an Fasern in Patienten mit schubförmig-remittierendem Verlauf als bei Patienten mit einem „clinically isolated syndrome“ (255,6% \pm 66,58). Ein signifikanter Unterschied konnte nicht ermittelt werden.

Siehe Tabelle 28-30 und Graph 34-36 im Anhang.

3.7.3 Reaktiv veränderte Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen in Korrelation zu klinischen Daten

Für männliche Patienten wurde mit durchschnittlich 23,81 Astrozyten mit Einschlüssen/ mm² (\pm 12,14) eine etwas niedrigere Anzahl nachgewiesen als bei weiblichen Patienten (28,44 Astrozyten mit Zelleinschlüssen/ mm² \pm 15,32). Eine statistische Signifikanz ließ sich nicht nachweisen.

Vergleicht man die Zahl von Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Einschlüssen hinsichtlich des Alters, so ergeben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Patienten der Altersgruppe 1 (16-30 Jahre) wiesen durchschnittlich 25,65 Astrozyten mit Einschlüssen/ mm² (\pm 12,88) auf, Patienten der Altersgruppe 2 (31-50 Jahre) 26,72 Zellen mit Einschlüssen/ mm² (\pm 13,48) und bei Patienten der Altersgruppe 3 (>50 Jahre) waren 29,12 Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen/ mm² \pm 20,69 nachweisbar.

In der Analyse des Krankheitsverlaufes wurde sowohl die Patientengruppe mit schubförmig-remittierenden Verlauf als auch Patienten mit „clinical isolated syndrome“ bezüglich der Anzahl an Kerneinschlüsse tragender reaktiver Astrozyten statistisch miteinander verglichen. Patienten mit RR-MS wiesen eine höhere Anzahl an GFAP-positiven Zellen mit Kerneinschlüssen auf (28,63 Zellen mit Einschlüssen/ mm² ± 15,29) als Patienten mit CIS (22,17 Zellen mit Einschlüssen/ mm² ± 13,60). Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Siehe Tabelle 28-30 und Graph 37-39 im Anhang.

3.7.4 Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Korrelation zu klinischen Daten

In 7 von 42 Biopsien männlicher Patienten wurden Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) nachgewiesen. Dies entspricht einem Anteil von 16,7%. In Biopsien weiblicher Patienten ließen sich in 13 von 80 Fällen (16,3%) CFPZ nachweisen. Somit findet sich ein nahezu identisches Verhältnis zwischen den Geschlechtern. Es finden sich keine statistischen Unterschiede.

Für die Analyse der Altersgruppen lassen sich CFPZ mit 7 von 35 Fällen am häufigsten in der Altersgruppe 1 jüngerer Patienten nachweisen (20%), gefolgt von der Altersgruppe 2 mittleren Alters mit 15,87% (10 Patienten mit CFPZ von 63). In Patientengruppe 3 der über 50 Jährigen wiesen nur 2 von 20 Fällen CFPZ auf (10%). Hierbei lässt sich keine statistische Signifikanz ermitteln.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der klinischen Verläufe (CIS, RR-MS) bei Patienten mit CFPZ nachgewiesen werden. Die Verteilung stellt sich wie folgt dar: Patienten mit CIS zeigten in 8 von 28 Präparaten CFPZ (28,6%), bei Patienten mit RR-MS wurden in 4 von 26 Fällen CFPZ nachgewiesen (15,4%). Diese Unterschiede sind nicht signifikant.

Siehe Tabelle 28-30 und Graph 40-42 im Anhang.

3.8 Auswertung der klinischen Daten der Patienten mit progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML)

Es wurden insgesamt 11 Präparate von an PML erkrankten Patienten untersucht (als Beispiel siehe Abb. 25-28). 3 Präparate entstammten Hirnbiopsien und für 8 Fälle konnte autoptisches Material genutzt werden. In der Geschlechterverteilung der biopsierten Patienten finden sich 2 weibliche Patienten und 1 männlicher Patient. Unter der Gruppe der Autopsien finden sich 5

weibliche und 3 männliche Patienten (siehe Tabelle 5 im Anhang). Das durchschnittliche Alter zum Todeszeitpunkt der autopsierten Patienten beträgt 56,75 Jahre, wobei die Altersspanne von 34 bis 85 Jahren reicht. Die Patienten, bei denen aus diagnostischen Gründen eine Hirnbiopsie durchgeführt wurde, waren zum Biopsiezeitpunkt durchschnittlich 69 Jahre alt (siehe Tabelle 9 im Anhang). Als Grunderkrankung konnten für die drei biopsierten Patienten in der klinischen Vorgeschichte maligne hämatologische Erkrankungen eruiert werden. Auch bei den 8 Autopsie-Fällen zeigten sich in der Vorgeschichte ebenfalls immunsuppressive Erkrankungen, wie HIV-Infektionen, Leukämien und Lymphome (siehe Tabelle 20 im Anhang).

3.9 Zusammenfassung der Ergebnisse

Vergleich astrozytärer Veränderungen innerhalb der immunpathologischen Subtypen

Betrachtet man zusammenfassend die Ergebnisse der verschiedenen Immunsotypen I-III, so ließen sich in Subtyp I und II signifikant höhere Anzahlen aktivierter Astrozyten und Anzahlen aktivierter Astrozyten mit Zelleinschlüssen als in Subtyp III nachweisen. Hinsichtlich der Astrozytenfaserdichte zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subtypen. Creutzfeldt-Peters-Zellen wurden in Subtyp I und II häufiger nachgewiesen als in Subtyp III, wobei dieser Unterschied statistisch nicht signifikant war. In der Analyse der NAWM konnte für die weiße Substanz des Subtyps II signifikant mehr reaktive Astrozyten nachgewiesen werden als in Subtyp I und III.

Vergleich astrozytärer Veränderungen – Subtypen der MS versus PML

Im Vergleich der Immunsotypen der MS zur PML ließ sich in den Subtypen I und II eine signifikant höhere Anzahl an reaktiv veränderten Astrozyten und von Astrozyten mit Zelleinschlüssen nachweisen. In Läsionen des Subtyp I findet sich auch eine signifikant höhere Dichte an Astrozytenfasern als in PML-Läsionen. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen Subtyp III- und PML-Läsionen konnten nicht nachgewiesen werden. Hier verhielten sich die untersuchten Astrozytenveränderungen ähnlich.

Vergleich astrozytärer Veränderungen in unterschiedlichen Entmarkungs- und Remyelinisierungsstadien

In der Unterteilung der MS-Läsionen nach ihrem Entmarkungs- und Remyelinisierungsstadium zeigen sich in inaktiven Läsionen mit fortgeschrittener Remyelinisierung signifikant weniger reaktiv veränderte Astrozyten, sowohl in ihrer Gesamtzahl als auch hinsichtlich reaktiver Astrozyten mit Zelleinschlüssen als in den anderen

Läsionstypen (EA, LA, IA DM, IA ERM). Weiterhin findet sich in frühremyelinisierenden und spätremyelinisierten Plaques eine signifikant höhere Dichte an astrozytären Fasern als in den EA-Läsionen.

Vergleich astrozytärer Veränderungen in unterschiedlichen Entmarkungsaktivitäten zusammengefasst (EA, LA, IA)

In der Untersuchung der einzelnen Entmarkungsaktivitäten ließen sich keine statistischen Unterschiede in Bezug auf die Anzahl der aktivierten Astrozyten und Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Kerneinschlüssen nachweisen. Inaktive Läsionen wiesen eine signifikant dichtere Astroglieose als frühaktive Läsionen auf. Weiterhin waren Creutzfeld-Peters-Zellen signifikant häufiger in früh- und spätaktiven Läsionen als in den inaktiven Plaques präsent.

Vergleich astrozytärer Veränderungen in MS-Läsionen versus NAWM

Vergleicht man MS-Läsionen, ungeachtet ihrer Aktivität, mit der NAWM, finden sich in den Läsionen deutlich höhere Zahlen aktivierter Astrozyten, eine dichtere Astrofaserglieose, sowie mehr Astrozyten mit Zelleinschlüssen und Creutzfeldt-Peters-Zellen. Mit Ausnahme der Creutzfeldt-Peters-Zellen werden diese histopathologischen Astrozytenveränderungen, wenngleich in geringerem Umfang, in der an die Läsion grenzenden, normal erscheinenden weißen Substanz nachgewiesen.

Vergleich astrozytärer Veränderungen mit klinischen Daten

In der statistischen Analyse der untersuchten Patientenkohorte wiesen signifikant mehr Frauen einen schubförmig-remittierenden Krankheitsverlauf als Männer. Weitere statistisch signifikante Unterschiede in Bezug auf die zur Verfügung stehenden klinischen Daten zum Geschlecht, Alter und Krankheitsverlauf ergaben sich nicht.

4. Diskussion

Die Multiple Sklerose ist eine chronisch entzündliche Erkrankung des Zentralnervensystems, die durch eine Entzündungsreaktion, Demyelinisierung, axonalen Verlust und Gliose gekennzeichnet ist. Die Pathogenese der MS ist bisher noch nicht vollständig geklärt. In einer von Lucchinetti et al. durchgeführten histopathologischen Untersuchung, bei der das Entzündungsinfiltrat von frühaktiven MS-Läsionen analysiert wurde, konnten interindividuelle Unterschiede identifiziert werden (Lucchinetti et al. 2000), so dass angenommen werden könnte, dass verschiedene immunologische Mechanismen in einer gemeinsamen Endstrecke, der entzündlichen Demyelinisierung, münden könnten. Unterschieden werden vier verschiedene Subtypen. MS-Läsionen des Subtyp I und II wurden hierbei als immunologisch-induzierte Überreaktion des Immunsystems gedeutet, wohingegen Läsionen des Subtyp III und IV den auslösenden Faktor für die Demyelinisierung im ZNS selbst vermuten lassen.

Eine Betrachtung reaktiv-veränderter Astrozyten und ihren vielfältigen histopathologischen Veränderungen an ZNS-Biopsien von an Multipler Sklerose erkrankten Patienten unter Berücksichtigung der unterschiedlichen postulierten Subtypen ist bisher noch nicht durchgeführt worden. Dieser Zellpopulation werden vielfältige Funktionen, Fähigkeiten und Interaktionen mit anderen Zellarten, wie T-Zellen, Makrophagen oder Oligodendrozyten zugeschrieben, die möglicherweise die Plaque-Entwicklung entscheidend beeinflussen können. Da die Hypothese zur interindividuellen Heterogenität von MS-Läsionen für Subtyp III eine zusätzliche virus-bedingte Gewebeschädigung diskutiert, wurden in dieser Arbeit zusätzlich humane PML-Läsionen, einer durch den JC-Virus induzierten Entmarkungserkrankung des ZNS, mit Hirnbiopsien unterschiedlicher MS-Immunsotypen verglichen. Zudem wurden in dieser Arbeit unterschiedliche Entmarkungsstadien hinsichtlich ihrer Astrozytenpathologie untersucht. Schließlich wurden die erhobenen histologischen Ergebnisse mit klinischen Patientendaten verglichen, um mögliche Zusammenhänge, wie beispielsweise Geschlechtspräferenzen oder klinische Verlaufsformen in Bezug zu astroglialen Reaktionen, aufzudecken und somit Rückschlüsse auf die klinische Bedeutung astroglialer Veränderungen in MS-Plaques schließen zu können.

Die Rolle der Astrozyten in der Pathogenese der Multiplen Sklerose ist vermutlich vielfältig. Es wurden sowohl fördernde als auch inhibierende Einflüsse auf die Entzündungsreaktion, De- und Remyelinisierung in MS-Läsionen durch diese Zellpopulation nachgewiesen. Auch die Bedeutung bestimmter astrozytärer Veränderungen, wie intrazytoplasmatische

Zelleinschlüsse und Creutzfeldt-Peters-Zellen, ist noch nicht abschließend geklärt. Diese Aspekte werden im Folgenden diskutiert.

4.1. Astrozytäre Veränderungen der Subtypen frühaktiv entmarkender Multiple-Sklerose-Läsionen

Die von Lucchinetti et al. postulierte Heterogenität frühaktiv entmarkender MS-Läsionen konnte in dieser Arbeit bestätigt werden. Die höchste Dichte reaktiver Astrozyten fand sich in den Subtypen I und II, während Subtyp III eine signifikant niedrigere Zahl reaktiver Astrozyten aufweist. Auch Astrozytenfasern beobachtet man weniger häufig in Läsionen des letztgenannten Immunsubtyps. Reaktiv veränderte Astrozyten mit zellulären Einschlüssen wurden signifikant häufiger in Subtyp I und II, als in Subtyp III identifiziert. Somit kann insgesamt festgestellt werden, dass die astrozytären Reaktionen in den autoimmun-medierten Subtypen I und II in größerem Ausmaß nachweisbar sind, als in Subtyp III mit vorherherrschender Oligodendrozytenpathologie.

Hohe Dichten an Makrophagen und T-Lymphozyten wurden in den immunologisch-induzierten Subtypen I und II von den Erstbeschreibern der Subtypen beschrieben (Lucchinetti et al. 2000). Makrophagen und T-Lymphozyten produzieren eine Reihe an Molekülen und Zytokinen, wie Interleukin-1 (IL-1), Interferon- γ (IFN- γ) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), welche stimulierend auf Astrozyten wirken, und somit die astrozytären Reaktionen und die Bildung der astrozytären Narbe fördern können (Giulian und Lachman 1985, Karpus und Ransohoff 1998). Das vermehrte Vorkommen von Entzündungszellen und folglich ihrer sezernierten proinflammatorischen Zyto- und Chemokine könnten die verstärkte astrogliale Reaktion in diesen genannten Subtypen erklären. Andererseits können Astrozyten selbst auch Moleküle, wie beispielsweise TNF- α und Lymphotoxin- α (LT- α), produzieren, welche Entzündungszellen in die Läsionen locken können (Bitsch et al. 2000b, Williams et al. 2007). Möglicherweise können Astrozyten somit selbst spezifisch zur Demyelinisierung beitragen, indem sie im primären Ereignis proinflammatorische Moleküle sezernieren, und eine Wechselwirkung mit Entzündungszellen eingehen, welche dann wiederum eine Gewebszerstörung unterstützen könnten. So vertrat bereits Müller 1904 die Hypothese, dass die Multiple Sklerose eine Erkrankung der Astrozyten sein könnte (Müller E 1904).

Auch in Läsionen des Subtyp III lassen sich Makrophagen und T-Zellen nachweisen – allerdings in geringerem Ausmaß als in Subtyp I und II, (Lucchinetti et al. 2000). Der Mangel an von Lymphozyten und Makrophagen gebildeten astrozyten-stimulierender Mediatoren,

könnte dementsprechend eine geringere Dichte reaktiver Astrozyten in Subtyp III erklären. Andererseits wird für diesen Subtyp eine primäre Störung der Oligodendrozyten selbst angenommen, bei der typischerweise Oligodendrozyten-Apoptosen und ein selektiver Verlust spezifischer Myelinproteine beobachtet werden kann (Lucchinetti et al. 2000, Barnett und Prineas 2004). In experimentellen Studien konnte eine virusinduzierte Oligodendrogliopathie mit Demyelinisierung, wie sie typisch für Subtyp III ist, nachgewiesen werden (Rodriguez 1985), sodass auch eine infektiöse Ursache der Demyelinisierung für Subtyp III diskutiert werden kann. Da auch die progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML) eine humane Viruserkrankung mit selektivem Oligodendrozytenbefall ist, welche unter bestimmten Umständen, z.B. bei Immunsuppression, zu einer Demyelinisierung des ZNS führen kann, wurden in dieser Arbeit zusätzlich humane PML-Läsionen hinzugezogen und mit den immunologischen Subtypen frühaktiver MS-Läsionen verglichen. Dabei konnten Gemeinsamkeiten in Läsionen des Subtyp III und der PML bezüglich ihrer Astrozytenpathologie nachgewiesen werden. Diese unterschieden sich darüber hinaus signifikant von den autoimmun-medierten Subtypen I und II, da sich sowohl im Subtyp III als auch in PML-Läsionen eine ähnliche Anzahl reaktiv veränderter Astrozyten und somit signifikant weniger GFAP-positive Zellen als in Subtyp I und Subtyp II darstellen lassen.

Auch finden sich in PML-Läsionen und in Subtyp-III-Läsionen signifikant weniger Astrozyten mit Kerneinschlüssen, als in den Läsionen des Subtyp I und II. Wu und Raine konnten in ihrer Studie die meisten Astrozyten mit Einschlüssen, welche sie als Oligodendrozyten identifizierten, in frisch entmarkenden makrophagenreichen Läsionen darstellen (Wu und Raine 1992). Diese Ergebnisse stehen mit den Daten dieser Arbeit im Einklang, da die Demyelinisierung in Subtyp I und II entzündlich determiniert zu sein scheint und mit große Mengen an Makrophagen assoziiert wird (Lucchinetti et al. 2000, Lucchinetti et al. 1996). Demgegenüber werden in Subtyp III Läsionen mit selektiver Oligodendrozytenschädigung und geringerem Makrophageninfiltrat identifiziert (Lucchinetti et al. 2000, Barnett und Prineas 2004). Nach einer Hypothese von Ghatak, welche in Kapitel 4.2.1.3 näher ausgeführt wird, „schützen“ Astrozyten möglicherweise Oligodendrozyten vor toxischen Zytokinen, welche Makrophagen und Lymphozyten ausschütten (Ghatak 1992). Darüber hinaus zeigten Diemel et al., dass Makrophagen die Rekrutierung und Proliferation von Oligodendrozyten unterstützen (Diemel et al. 1998).

Weiterhin zeigen PML-Läsionen ähnlich vergleichbare Werte von Astrozyten mit Zelleinschlüssen wie Subtyp III und signifikant geringere Dichten als Subtyp I und II. So auch in einer Untersuchung von Ghatak – dieser konnte in seiner Studie überhaupt keine

Zelleinschlüsse in Astrozyten bei PML-Läsionen nachweisen (Ghatak 1992). Ein Grund für die geringere Anzahl an Zelleinschlüssen in Subtyp-III- und PML-Läsionen könnte der Verlust an Oligodendrozyten sein, der bei der PML virusbedingt und bei Subtyp III durch einen noch unbekanntem oligodendrozytenschädigenden Mechanismus verursacht sein könnte. Ergebnisse von in-vitro-Studien zeigen, dass Astrozyten einen suppressiven Einfluss auf T-Lymphozyten haben können, die bis zur Apoptose derselbigen führt und somit Entzündungsprozesse bei der Multiplen Sklerose inhibieren könnten (Gold et al. 1996, Meinel et al. 1994). Diese Daten werden durch die Ergebnisse dieser Arbeit indirekt unterstützt, da die signifikant geringere Astrozytenzahl des Subtyp III mit dem in der Literatur beschriebenen T-Zell-Infiltrat des genannten Immunsotyps zu korrelieren scheint. Dies könnte zur Annahme führen, dass durch die geringere Anzahl reaktiver Astrozyten in Subtyp III auch weniger T-Zellen inhibiert werden und somit eine Unterhaltung entzündlicher Vorgänge bedingen könnte.

Zusammenfassend kann in der vorliegenden Arbeit ein heterogenes Muster in der Astrozytenpathologie frühaktiv entmarkender MS-Läsionen nachgewiesen werden. Die ermittelten Daten unterstützen, die von Lucchinetti et al. postulierte These der Heterogenität von Multiple-Sklerose-Läsionen und deuten darauf hin, dass für Subtyp III möglicherweise andere Pathomechanismen zur Demyelinisierung führen, als in autoimmun-medierten Subtypen I und II (Lucchinetti et al. 2000).

4.2 Astrozytäre Veränderungen der verschiedenen Läsionsaktivitäten in Multiple-Sklerose-Läsionen

Kommt es im Zentralnervensystem zur Gewebsschädigung, so reagiert das ZNS daraufhin charakteristischerweise mit einer reaktiven Astroglie im Sinne einer Glianarbenbildung. Auch in MS-Läsionen stellt die Astroglie ein augenfälliges Merkmal dar. Sie zeichnet sich durch große hypertrophierte Astrozytenzellkörper mit langen, dicken zytoplasmatischen Fortsätzen aus, welche letztendlich die gliöse Narbe bilden (Norenberg 1994). Diese Astrozyten lassen sich sowohl in aktiven demyelinisierenden Plaques als auch in chronischen inaktiven Läsionen darstellen. Letztere Läsionen erscheinen eher hypozellulär, wobei eine fibrilläre Gliose dominiert (Gallo und Armstrong 2008). Ein entsprechendes histologisches Bild zeigte sich auch in dieser Arbeit. In inaktiven spätremyelinisierten Läsionen zeigte sich die geringste Anzahl an reaktiv veränderten hypertrophen Astrozyten als auch die höchste Dichte an astrozytären Fasern. Auch Schönrock et al. beschrieben in ihrer Studie die geringste Dichte an reaktiv veränderten GFAP-positiven Astrozyten in älteren Läsionen mit

fortgeschrittener Remyelinisierung (Schönrock et al. 1998). Andererseits konnte in der hier vorliegenden Arbeit die höchste Anzahl an Astrozyten mit annähernd gleichen Werten in spätaktiven und inaktiven demyelinisierten MS-Läsionen ohne Hinweise für eine Remyelinisierung ermittelt werden. Andere Studienergebnisse beschrieben im Vergleich unterschiedlicher Läsionsaktivitäten von MS-Läsionen ebenfalls die höchste Zahl an Astrozyten in spätaktiven Läsionen (Schönrock et al. 1998).

4.2.1 Auswirkungen astrozytärer Veränderungen auf die Remyelinisierung

4.2.1.1 Inhibierende Einflüsse der Astrozyten auf die Remyelinisierung

Lange Zeit wurden die Astrozyten als barriere- bzw. narbenbildende Zellen angesehen, die mögliche Regenerationsprozesse behindern (Reier et al. 1983). Durch die Rigidität der glialen Narbe würden Axone und Oligodendrozytenvorläuferzellen daran gehindert in die MS-Läsion vorzudringen, wodurch eine Remyelinisierung behindert werden könnte (Nair et al. 2008). In dieser Arbeit konnte die durchschnittlich höchste Anzahl an reaktiven Astrozyten in inaktiv demyelinisierten Plaques nachgewiesen werden und die niedrigste Dichte in älteren Plaques mit fortgeschrittener Remyelinisierung. Aufgrund dieser Ergebnisse könnte angenommen werden, dass reaktive Astrozyten eine eher hemmende Wirkung auf Remyelinisierungsprozesse ausüben. Vorausgegangene Studien weisen daraufhin, dass Astrozyten Moleküle wie TNF- α und Stickstoffmonoxid (NO) produzieren, welche toxisch auf Oligodendrozyten wirken, und durch den Mangel an myelinbildenden Zellen einer Remyelinisierung entgegenwirken könnten (Selmaj und Raine 1988, Al-Omaishi et al. 1999). Bitsch et al. demonstrierten im Tiermodell der MS, der EAE, dass eine vermehrte Ausschüttung von TNF- α zu einer Zunahme der Entmarkung und zu Oligodendrozyten-Apoptose führt (Bitsch et al. 2000b). Somit könnten Astrozyten auch direkt am Demyelinisierungsprozess beteiligt sein. Andere Moleküle, wie NO, sind darüber hinaus in der Lage Axone zu schädigen, was wiederum zur Verschlechterung klinischer Symptome bzw. zu bleibenden neurologischen Schäden führen kann (De Groot et al. 1997). Weiterhin konnten Fok-Seang et al. zeigen, dass die Migration von Oligodendrozytenvorläuferzellen durch Astrozyten gehemmt wird (Fok-Seang et al. 1995). Dadurch könnten weniger Oligodendrozyten in die Läsion einwandern und zur Remyelinisierung führen. Andere Tierversuche konnten zeigen, dass Oligodendrozytenvorläuferzellen, welche bei Mäusen in das ZNS transplantiert wurden, bevorzugt entlang Blutgefäßen, Kollagenfasern, und meningealen Zellen von Astrozyten-armen Regionen zu demyelinisierten Läsionen wandern (Baron-Van Evercooren et al. 1996). Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern Hinweise, welche

die Daten der oben genannten Studien unterstützen können, da auch hier in inaktiven Plaques ohne Remyelinisierung die größte Anzahl an Astrozyten nachgewiesen wurde, wohingegen inaktive remyelinisierende Plaques geringere, wenn gleich statistisch nicht signifikante, Astrozytenzahlen aufwiesen.

Ferner konnten in dieser Arbeit GFAP-positive Astrozytenfasern am häufigsten in älteren Läsionen mit fortgeschrittener Remyelinisierung festgestellt werden. Dieses Ergebnis bestätigt Beobachtungen anderer Studien, die in so genannten Shadowplaques eine ausgeprägte astrozytäre Fasergliose nachweisen konnten (Brück et al. 1994).

4.2.1.2 Fördernde Einflüsse der Astrozyten auf die Remyelinisierung

Neben remyelinisierungshemmenden Effekten, welche Astrozyten ausüben können, wird dieser Zellart jedoch auch eine protektive und die Remyelinisierung fördernde Rolle in der Pathogenese der Multiplen Sklerose zugeschrieben.

In der Untersuchung reaktiver Astrozyten und ihrer Fasern konnte in dieser Arbeit eine große Anzahl an Astrozyten und deren Fasern in inaktiven Läsionen mit früher Remyelinisierung (IA ERM) nachgewiesen werden. So fanden sich in IA-ERM-Läsionen signifikant mehr Astrozytenfasern als in Läsionen mit früher Entmarkungsaktivität. Auch die Anzahl an reaktiven Astrozyten war in IA-ERM- Läsionen erhöht. Dies legt die Vermutung nahe, dass eine erfolgreiche Remyelinisierung trotz einer hohen Astrozytendichte gewährleistet sein kann bzw. durch diese sogar begünstigt werden könnte.

In einer Studie, welche das Proliferationsvermögen von Gliazellen in MS-Läsionen untersuchte, wurde der größte Anteil proliferierender Oligodendrozyten in spät- bzw. inaktiven Läsionen ohne Remyelinisierung beobachtet (Schönrock et al. 1998). In-vitro-Versuche haben gezeigt, dass Astrozyten Chemokine, wie CXCL1, exprimieren, die das Einwandern von Oligodendrozytenvorläuferzellen in die demyelinisierte Läsion fördern (Omari et al. 2005, Williams et al. 2007). Sind Oligodendrozytenvorläuferzellen in den demyelinisierten Plaques angelangt, vermehren sie sich, um ausreichend Myelin zu produzieren. Gomez-Pinilla et al. konnten in-vivo nachweisen, dass Astrozyten große Mengen an „fibroblast-growth-factor 2“ (FGF-2) produzieren, welcher die Migration und die Proliferation von Oligodendrozytenvorläuferzellen fördert (Gomez-Pinilla et al. 1995). Astrozyten sezernieren darüber hinaus auch Matrix-Metalloproteinasen (MMP), welche die Zusammensetzung des Extrazellulärtraums regeln (Gardner und Ghorpade 2003). Für MMP-9 konnte gezeigt werden, dass es die Aussprossung von Oligodendrozytenausläufern fördert (Uhm et al. 1998). So ist bei Mäusen, die kein MMP-9 produzieren, eine Remyelinisierung

nach Entmarkung behindert (Larsen et al. 2003). Darüberhinaus schütten Astrozyten auch Wachstumsfaktoren, wie „insulin-like-growth-factor-1“ (IGF-1) aus, welcher die Proliferation und Differenzierung der Oligodendrozyten fördert und die Herstellung des Myelins reguliert (Webster 1997, McMorris et al. 1993). Des weiteren besitzt IGF-1 auch neuroprotektive Eigenschaften (Chesik et al. 2007).

4.2.1.3 Astrozytäre Zelleinschlüsse bei Multipler Sklerose und ihre Bedeutung bei der Remyelinisierung

Verschiedene vorausgegangene Arbeiten haben sich mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen in reaktiven Astrozyten beschäftigt. So wurde dieses Phänomen einerseits als Phagozytose von Oligodendrozyten, Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen durch Astrozyten und andererseits als Emperipolese, wobei Zellen aktiv in andere Zellen eindringen ohne diese zu zerstören, interpretiert (Ghatak 1992, Prineas et al. 1990).

Astrozytäre Zelleinschlüsse – Emperipolese von Oligodendrozyten?

1987 konnten Prineas et al. mittels Zellmarker in einer aktiv entmarkten MS-Läsion lichtmikroskopisch Oligodendrozyten innerhalb von Astrozyten nachweisen (Prineas et al. 1987).

Schon zuvor gab es Hinweise, dass es sich bei den beobachteten Zelleinschlüssen innerhalb der Astrozyten um Oligodendrozyten handeln könnte (Prineas et al. 1984). Auch Wu und Raine konnten 1992 Oligodendrozyten innerhalb von Astrozyten in MS-Läsionen und auch in der die Läsionen angrenzenden NAWM, wenngleich in geringerer Anzahl als in frischen makrophagenreichen Läsionen, nachweisen (Wu und Raine 1992). Auch in dieser Arbeit konnten sowohl in den MS-Läsionen, als auch in der NAWM zelluläre Einschlüsse beobachtet werden, wobei die MS-Läsionen eine signifikant höhere Dichte an Astrozyten mit Zelleinschlüssen erkennen ließen als die NAWM. Die höchste Anzahl an Astrozyten mit Zelleinschlüssen fand sich in inaktiven älteren komplett entmarkten Läsionen ohne Remyelinisierung. Es konnten jedoch auch in spätaktiven und inaktiven Plaques mit früher Remyelinisierung hohe Dichten an astrozytären Zelleinschlüssen nachgewiesen werden. In akuten frühaktiven Läsionen waren hingegen durchschnittlich weniger Zelleinschlüsse vorhanden. Geringste Zahlen astrozytärer Zelleinschlüsse konnten in inaktiven Läsionen mit fortgeschrittener Remyelinisierung nachgewiesen werden. Auch Morcos et al. beschrieben in einer Arbeit, in der MS-Läsionen unterschiedlichen Alters und Remyelinisierungsgrades verglichen wurden, große hypertrophierte GFAP-positive Astrozyten, welche teilweise

Zelleinschlüsse aufwiesen. Diese identifizierten sie als Oligodendrozyten und Mikroglia/Makrophagen (Morcos et al. 2003).

Nach Ghatak könnte es sich bei den Einschlüssen um eine Emperipolese von Oligodendrozyten in Astrozyten handeln (Ghatak 1992). Dies bedeutet, dass Oligodendrozyten aktiv in das Zytoplasma der Astrozyten eindringen, ohne diese jedoch zu zerstören. So konnte er in seiner Studie keine Anzeichen von Degeneration oder Schäden, wie sie typisch für die Phagozytose wären, seitens der intraastrozytären Oligodendrozyten nachweisen. Er vermutete, dass hierdurch die Oligodendrozyten von der aktiven Entzündung abgekapselt und „geschützt“ werden (Ghatak 1992). Diese Annahme könnte durch die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit gestützt werden, da signifikant weniger Zelleinschlüsse in inaktiven Läsionen mit fortgeschrittener Remyelinisierung (IA LRM) nachgewiesen wurden. Morcos et al. fanden in Läsionen mit fortgeschrittener Remyelinisierung sogar überhaupt keine Anzeichen für eine Einverleibung anderer Zellen durch Astrozyten (Morcos et al. 2003). Da in IA LRM-Läsionen die Remyelinisierung durch Oligodendrozyten schon fortgeschritten ist und sich ein geringes entzündliches Milieu mit wenigen Makrophagen und Lymphozyten beobachten lässt (Brück et al. 1994, Brück et al. 1995), könnte man, ähnlich der Hypothese von Ghatak, annehmen, dass Oligodendrozyten nicht mehr durch Astrozyten vor schädlichen Einflüssen proinflammatorischer, toxischer Moleküle „geschützt“ werden müssen (Ghatak 1992). So könnte man, wie bereits Ghatak und Wu und Raine schon 1992 spekulierten, mutmaßen, dass reaktiv veränderte Astrozyten in Läsionen mit hoher Entzündungsaktivität Oligodendrozyten aufnehmen, um sie später, wenn die entzündlichen Reaktionen abgeklungen sind, wieder freizugeben um sie für eine Remyelinisierung zur Verfügung zu stellen (Ghatak 1992, Wu und Raine 1992). Dadurch könnte erklärt werden, dass in dieser Arbeit in remyelinisierenden Plaques weniger astrozytäre Zelleinschlüsse nachweisbar sind. Bereits 1981 beschrieb Raine et al., dass Oligodendrozyten in MS-Läsionen in der Lage sind zu überleben und zu proliferieren (Raine et al. 1981). Auch Schönrock et al. konnten proliferierende Oligodendrozyten im Zytoplasma von Astrozyten nachweisen (Schönrock et al. 1998).

Astrozytäre Zelleinschlüsse – Phagozytose?

Da Astrozyten laut einigen Studien auch in der Lage sind zu phagozytieren (Al-Ali und Al Hussain 1996, Magnus et al 2002), könnten die astrozytären Zelleinschlüsse im Gegensatz zur Emperipolese auch als Phagozytose verstanden werden.

Prineas et al. konnten pyknotisch veränderte und fragmentierte Oligodendrozyten innerhalb von Astrozyten nachweisen und nahmen daher an, dass es sich bei dem Phänomen der intrazytoplasmatischen Einschlüsse um die Phagozytose von neuen unreifen Oligodendrozyten handelt, welche dazu führt, dass die Remyelinisierung inhibiert werden könnte (Prineas et al. 1987, Prineas et al. 1990). Diese Hypothese könnte einen weiteren Erklärungsversuch für die hohe Anzahl an astrozytären Einschlüssen in inaktiv demyelinisierten Plaques dieser Arbeit geben, da durch eine Phagozytose von Oligodendrozyten dieselbigen nicht mehr für eine Remyelinisierung zur Verfügung stehen würden. Allerdings wurde ebenfalls eine hohe Dichten an reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen in frühremyelinisierten Läsionen gefunden, was darauf hindeutet, dass Remyelinisierung auch zusammen mit astrozytären Zelleinschlüssen stattfinden kann. Weiterhin zeigten Magnus et al., dass Astrozyten zwar in der Lage sind zu phagozytieren, allerdings bei weitem nicht die Aufnahmefähigkeit der Mikroglia erreichen (Magnus et al. 2002)

Darüber hinaus konnten verschiedene Arbeiten auch die Phagozytose von Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen durch Astrozyten in MS-Läsionen nachweisen, wobei dies ein eher seltenes Phänomen darstellte (Wu und Raine 1992, Prineas et al. 1990). Dieser Fähigkeit zur Aufnahme von Entzündungszellen und der daraus resultierenden konsekutiven Verringerung der Entzündungsreaktion könnte ein nützlicher Effekt zugesprochen werden.

Es existieren unterschiedliche Hypothesen zur Bedeutung astrozytärer Zelleinschlüsse. Einerseits wird der Emperipoese von Oligodendrozyten in Astrozyten ein schützender Effekt auf die myelinbildenden Zellen und somit eine positive Wirkung auf die Remyelinisierung zugeschrieben. Andererseits könnte die astrozytäre Phagozytose von Oligodendrozyten eine schädliche Wirkung auf die Markscheidenbildung ausüben und somit zur Demyelinisierung beitragen.

Abschließend kann festgestellt werden, dass eine Vielzahl an Studien Astrozyten und deren Produkten sowohl positive Wirkungen als auch nachteilige Effekte auf die Remyelinisierung zuschreiben. Auch in dieser Arbeit zeigt sich ein heterogenes Muster. Es wäre wünschenswert, den positiven Einfluss der reaktiven Astroglie am Genesungsprozeß und an der Gewebsheilung in Multiple-Sklerose-Läsionen zu nutzen, um eine förderliche Einflussnahme auf den Krankheitsverlauf der Patienten erzielen zu können. Weitere Studien sind hierbei nötig, um zu klären, welche Einflüsse im Milieu der Läsionen eine astrozytäre

remyelisierungsfördernde Wirkung bedingen, um diese für eine mögliche Therapieoption nutzen zu können.

4.2.2 Auswirkungen astrozytärer Veränderungen auf die Entzündungsreaktion

4.2.2.1 Inhibierende Einflüsse der Astrozyten auf die Entzündungsreaktion

Vorarbeiten konnten zeigen, dass sich reaktiv veränderte Astrozyten und die Faserглиose auch auf die Entzündungsreaktion auswirken können. So sind Astrozyten in der Lage Zytokine, wie den „transforming-growth-factor- β “ (TGF- β), zu produzieren, die sich hemmend auf die Entzündungsvorgänge ausüben (da Cunha et al. 1992, Mehl et al. 1994). Durch TGF- β kann die Produktion von MHC-II-Molekülen gesenkt werden, was zu einer Deaktivierung antigenpräsentierender Zellen führt und somit zur Limitierung der Entzündungsvorgänge beitragen könnte (Hailer et al. 1998). Es wird kontrovers diskutiert, ob Astrozyten in MS-Läsionen in der Lage sind MHC-II-Moleküle zu exprimieren. Studien von Bö et al., konnten keine MHC-II-Produktion von Astrozyten nachweisen, Astrozyten wären somit nicht in der Lage Antigene zu präsentieren (Bö et al. 1994). Dem könnte ein positiver Effekt auf die Gewebserhaltung zugeschrieben werden, da Astrozyten folglich nicht an der autoreaktiven Immunreaktion teilnehmen würden. Andere Studien konnten jedoch Hinweise für eine Beteiligung der Astrozyten an der MHC-II-Produktion liefern, worauf im folgenden Kapitel 4.2.2.2 (Fördernde Einflüsse auf die Entzündungsreaktion) näher eingegangen wird.

Astrozyten sind weiterhin in der Lage die Interleukin-12 (IL-12) Produktion der Mikroglia, welche zu einer T-Zell-Aktivierung führt, zu unterdrücken (Aloisi et al. 1997). Tierexperimentell konnte im EAE-Versuch bei Mäusen gezeigt werden, dass sich IL-12 entscheidend auf die Entwicklung einer akuten Entmarkung auswirkt. Mäuse, bei denen das IL-12-Gen ausgeschaltet wurde, entwickelten hingegen keine EAE (Leonard et al. 1995, Segal et al. 1998). Weitere antiinflammatorische Zytokine, welche von Astrozyten ausgeschüttet werden können sind IL-9, IL-10 und IL-11 (Bsibsi et al. 2006). Bsibsi et al. beschreiben zudem, dass Astrozyten in der Lage sind, neuroprotektive Faktoren, wie Neurotrophin-4 (NT-4), „brain-derived-neurotrophic-factor“ (BDNF) und „ciliary-neurotrophic-factor“ (CNTF) zu sezernieren (Bsibsi et al. 2006). So fördert CNTF beispielsweise das Überleben neuronaler Zellen und die Differenzierung von Oligodendrozytenvorläuferzellen (Richardson PM 1994).

Verschiedene Studien bescheinigen Astrozyten einen hemmenden Effekt auf T-Lymphozyten. Gold et al. kultivierten in Zellkulturversuchen T-Lymphozyten zusammen mit Astrozyten, woraufhin sich bei T-Zellen Zeichen des apoptotischen Zelltodes einstellten (Gold et al.

1996). Meinl et al. zeigten, dass Astrozyten in der Lage sind, CD4+ T-Lymphozyten in ihrer Proliferation zu hemmen und die IFN- γ -Produktion der T-Zellen zu inhibieren (Meinl et al. 1994). Durch die durch Astrozyten ausgelöste Hemmung der T-Lymphozyten könnte die Gewebszerstörung limitiert werden.

In der vorliegenden Arbeit können, unabhängig vom Grad der Remyelinisierung, sowohl in aktiv entmarkten Läsionen als auch in inaktiven MS-Plaques ähnlich hohe Zahlen reaktiv veränderter Astrozyten beobachtet werden. Aufgrund dieser Datenlage kann nicht eindeutig geklärt werden inwieweit Astrozyten in MS-Läsionen zu einem anti-inflammatorischen Milieu beitragen. Da in inaktiven MS-Läsionen weniger Entzündungszellen, wie Makrophagen und Lymphozyten, nachgewiesen werden können als in Läsionen mit aktiver Entmarkung, wo sich zahlreiche dieser Entzündungszellen finden (Brück et al. 1995, Lucchinetti et al. 2005), könnte angenommen werden, dass Astrozyten durch die Ausschüttung oben erwähnter Botenstoffe zur Abschwächung der entzündlichen Reaktion führen. Da in spätaktiven Läsionen mit noch hohen Dichten an Entzündungszellen in dieser Arbeit die höchste Dichte an reaktiv veränderten Astrozyten beobachtet wurde, spräche dieses Ergebnis eher für einen pro-inflammatorischen Einfluss von Astrozyten in der Pathogenese der MS-Läsionen. Hierzu folgen im nachstehenden Kapitel 4.2.2.2. eingehendere Erläuterungen.

4.2.2.2 Fördernde Einflüsse der Astrozyten auf die Entzündungsreaktion

Neben den oben beschriebenen anti-inflammatorischen gibt es ebenfalls Hinweise für pro-inflammatorische Eigenschaften von Astrozyten. So konnten in dieser Arbeit auch in aktiven Läsionen mit frühen und späten Entmarkungsstadium hohe Dichten an reaktiv veränderten Astrozyten und ihren Fasern nachgewiesen werden. In diesen Läsionstypen lassen sich typischerweise viele Entzündungszellen, wie Lymphozyten und Makrophagen nachweisen (Ozawa et al. 1994). In-vitro-Experimente zeigten, dass Astrozyten unter Stimulation von IFN- γ und TNF- α , welche im ZNS von MS-Patienten erhöht sind, MHC-I- und MHC-II-Moleküle exprimieren und somit zur Antigenpräsentation, wie etwa Myelinepitope, befähigt sein könnten (Wong et al. 1984, Weber et al. 1994). Weitere in-vitro-Studien lassen vermuten, dass Astrozyten somit sowohl CD4+ als auch CD8+ T-Lymphozyten direkt aktivieren können (Cornet et al. 2000). Zeinstra et al. wiesen MHC-II-positive Astrozyten selbst in chronisch-aktiven MS-Läsionen nach (Zeinstra et al. 2000). Die Beobachtungen der Antigenpräsentation und T-Zellaktivierung der Astrozyten könnten zur Unterhaltung der Multiplen Sklerose und möglicherweise auch zu ihrer Entstehung beitragen. Weiterhin bieten Astrozyten eine

geeignete Umgebung für eine T-Zell-Aktivierung. Sie können Zytokine, wie Interleukin-6 (IL-6) exprimieren, die die Rekrutierung und Aktivierung von T-Lymphozyten anregen. Diese wiederum aktivieren Makrophagen, denen eine große Rolle für den Gewebeschaden der MS-Plaques zugeschrieben werden (Minagar et al. 2002, Xiao und Link 1999). IL-6 erleichtert darüberhinaus auch weiteren Immunzellen das Eindringen in das Läsionsgebiet und induziert die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen wie Interleukin-1 (IL-1) und TNF- α (Dong und Benveniste 2001, Di Santo et al. 1996). Das Eindringen von Makrophagen, Mikroglia und Lymphozyten in die MS-Läsionen wird auch durch Moleküle wie „stromal-derived cell factor-1 α “ (SDF-1 α = CXCL12) und „monocyte-chemoattractant-protein-1“ (MCP-1) gefördert, welche von Astrozyten produziert werden können (Van der Voorn et al. 1999, Tanuma et al. 2006). Calderon et al. konnten eine vermehrte Expression von CXCL12 bei Astrozyten in aktiven MS-Läsionen nachweisen und Krumbholz et al. demonstrierten den Nachweis des Chemokins im Liquor von MS-Patienten mit schubförmig-remittierenden Verlauf (Calderon et al. 2006, Krumbholz et al. 2006). Darüber hinaus könnte das von Astrozyten produzierte CXCL12 auch direkt zur Gewebszerstörung führen, da in in-vitro-Versuchen gezeigt wurde, dass dieses Chemokin die Produktion von TNF- α und IL-1 in Astrozyten fördert. Diese Moleküle wirken, wie oben beschrieben, pro-inflammatorisch und können zum Gewebeschaden beitragen (Han et al. 2001). Andererseits konnte für das Chemokin CXCL12 in-vitro gezeigt werden, dass es auch für das Überleben und die Migration von neuronalen und oligodendroglialen Vorläuferzellen von Bedeutung ist (Dziembowska et al. 2005).

Unter Betrachtung der erwähnten Studien und der Ergebnisse dieser Arbeit, bei der etwa ähnlich hohe Astrozytendichten in EA-, LA- und IA-Läsionen dargestellt werden konnten, wäre anzunehmen, dass Astrozyten sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Aufgaben übernehmen. Aufgrund dieser Resultate wäre zu diskutieren, ob reaktiv veränderte Astrozyten gerade am Beginn der Läsionsbildung durch die hohe Dichte an Entzündungszellen und konsekutiver hoher Konzentration an proinflammatorischen Zyto- und Chemokinen eher entzündungsfördernd wirken und somit zur Gewebedestruktion beitragen. Mit zunehmender Dauer der Entzündungsreaktion und Läsionsentwicklung könnten sie jedoch ihr Profil ändern und eher anti-inflammatorische Eigenschaften übernehmen.

4.2.2.3 Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Multiple-Sklerose-Läsionen – die Folge einer massiven Entzündungsreaktion?

Creutzfeldt-Peters-Zellen stellen atypische reaktiv veränderte Astrozyten dar, die atypischen astrozytären Kernteilungsfiguren ähnlich sehen. Diese Zellformationen entsprechen stark hypertrophierten Astrozyten, die zahlreiche Kernfragmente erkennen lassen und nicht mit astroglialen Tumorzellen verwechselt werden dürfen. Sie lassen sich in MS-Läsionen nachweisen, sind jedoch auch in anderen entzündlichen ZNS-Prozessen zu finden und somit für die MS zwar typisch, jedoch nicht spezifisch (Zagzag et al. 1993). In dieser Arbeit lassen sich CFPZ signifikant häufiger in früh- bzw. spätaktiven MS-Läsionen als in inaktiven Plaques nachweisen. Diese Ergebnisse decken sich mit anderen Studien, die CFPZ ebenfalls vermehrt in demyelinisierenden Plaques mit Zeichen der aktiven entzündlichen Entmarkung darstellten (Lucchinetti et al. 2005, Zagzag et al. 1993). Es wäre somit anzunehmen, dass CFPZ Ausdruck einer akuten Entzündungsaktivität sein könnten. Schon 1923 beobachtete Creutzfeldt in MS-Läsionen diese so genannten „Monsterzellen“ und vertrat die Ansicht, dass diese Zellen eine besondere Schwere des Krankheitsverlaufs beschreiben (Creutzfeldt 1923). Auch in dieser Arbeit zeigen sich in Läsionen der Subtypen I und II, in welchen sich ein ausgeprägtes lymphozyten- und makrophagenreiches Entzündungsinfiltrat nachweisen lässt, mit 28,6% bzw. 22,7% prozentual häufiger CFPZ als in Subtyp III (15,4%). Dies könnte hinweisend sein für einen möglichen Einfluss von Entzündungszellen und den von ihnen gebildeten Zytokinen, hinsichtlich des Auftretens von CFPZ. Da CFPZ mitotischen Astrozyten morphologisch sehr ähneln (Zagzag et al. 1993), liegt die Vermutung nahe, dass CFPZ auch ein Ausdruck für eine vermehrte und besonders intensive Astroglieose darstellen könnten. Diese Annahme kann durch die Ergebnisse dieser Arbeit allerdings nicht bestätigt werden, da sich keine nennenswerten Unterschiede bezüglich reaktiver Astrozyten und Astrozyten mit Zelleinschlüssen sowohl mit als auch ohne CFPZ in den untersuchten Läsionen nachweisen ließen. Die Faserglieose hingegen lässt statistisch signifikante Unterschiede erkennen. Hier zeigten Läsionen in denen CFPZ identifiziert werden konnten signifikant mehr Astrozytenfortsätze, als Läsionen ohne CFPZ. Bereits vor mehr als 85 Jahren beschrieb auch der Erstbeschreiber dieser Zellart, dass sich diese besonderen Zellen häufig in Arealen befanden, in denen auch eine hohe Dichte an „faserbildenden großen Gliaelementen“ nachgewiesen werden konnte (Creutzfeldt 1923). Die Bedeutung dieser Tatsache konnte bisher nicht geklärt werden.

4.3 Astrozytäre Veränderungen in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) von frühaktiven Multiple-Sklerose-Läsionen

Auch in der nicht entmarkten, die MS-Plaques unmittelbar begrenzenden, normal-erscheinende weißen Substanz (NAWM) können sich bereits pathologische Veränderungen nachweisen lassen (Allen und McKeown 1979). Obwohl astrozytäre Veränderungen, wie hypertrophierte Zellkörper, Fasergliose und Zelleinschlüsse in dieser Arbeit signifikant häufiger innerhalb der MS-Läsionen selbst zu beobachten waren, ließen sich diese Merkmale auch, allerdings in geringerem Ausmaß, in der benachbarten weißen Substanz nachweisen. Auch andere Studien konnten pathologische Veränderungen in der NAWM darstellen. So zeigen Fu et al. einen axonalen Verlust in der NAWM (Fu et al. 1998). Auch Makrophagen, aktivierte Mikrogliazellen, Lymphozyten und eine astrozytäre Gliose konnten in der NAWM beobachtet werden (Allen und McKeown 1979, Allen et al. 2001, Junker et al. 2007). Die in dieser Arbeit durchgeführte Evaluation zwischen den immunpathologischen Subtypen und dem Ausmaß astrozytärer Veränderungen der korrespondierenden NAWM ließen eine signifikante Häufung reaktiv veränderter Astrozyten in der NAWM des Subtyp II erkennen. Auch ließ sich in der NAWM des Subtypes II die höchste Faserdichte und Anzahl an Astrozyten mit Zelleinschlüssen, wenn auch ohne statistische Signifikanz im Vergleich zur NAWM anderer Subtypen, erkennen. Subtyp II zeichnet sich neben einem dichten T-Zell- und makrophagenreichen Entzündungsinfiltrat zusätzlich durch charakteristische Ablagerungen von Immunglobulinen und aktiviertem Komplement aus. Diesem letztgenannten pathologischen Phänomen könnte eine vermehrte Astrozyten-Aktivierung zugeschrieben werden, die über das eigentliche Läsionsareal hinausreicht (Lucchinetti et al. 2000).

CFPZ in der NAWM konnten in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Dies unterstützt die Annahme, dass das Auftreten von CFPZ in enger Beziehung zum umgebenden entzündlichen Milieu zu stehen scheint, wie es bereits Creutzfeldt 1923 vermutete (Creutzfeldt 1923).

4.4 Astrozytäre Veränderungen in Korrelation zu demografischen und klinischen Patientendaten

Die Indikation zur biotischen Diagnosesicherung der MS wird nur in seltenen Ausnahmefällen zum Ausschluss anderer ZNS-Erkrankungen gestellt. Es ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht endgültig geklärt, ob es sich bei der biopsierten Kohorte

von MS-Patienten um eine Sammlung atypischer Sonderformen handelt, oder ob diese Patientengruppe mit der großen Fraktion nicht-biopsierter MS-Patienten mit typischer Krankheitsentwicklung vergleichbar ist. Pittock et al. konnten 2005 erstmals in einer Analyse von 91 ZNS-Biopsien von MS-Patienten klinische und demographische Daten erheben und diese mit der Olmsted-County-Kohorte nicht biopsierter MS-Patienten vergleichen (Pittock et al. 2005).

Das Geschlechterverhältnis des untersuchten Patientenkollektivs in dieser Arbeit betrug 2:1, Frauen gegenüber Männer. Dieses Ergebnis entspricht neben den Ergebnissen von Pittock et al. auch den Ergebnissen anderer Untersuchungen nicht biopsierter MS-Patienten in denen Frauen doppelt so häufig wie Männer betroffen waren (Compston und Coles 2002, Fox et al. 2006).

Auch bei der Untersuchung der einzelnen Subtypen hinsichtlich des Geschlechts lassen sich in dieser Arbeit bei weiblichen Patienten häufiger Läsionen mit akuter Entmarkung erkennen als bei männlichen Patienten. Auch in der Untersuchung von Pittock et al. wurden in einer Analyse immunpathologischer Subtypen häufiger erkrankte Frauen als Männer beobachtet (Pittock et al. 2005). Dies deckt sich mit den oben beschriebenen Ergebnissen, dass bei der MS häufiger Frauen als Männer betroffen sind. Zwischen den einzelnen Subtypen gibt es allerdings keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Geschlechts. Dies lässt darauf schließen, dass die Geschlechterzugehörigkeit keinen Einfluss auf die Pathogenese der verschiedenen immunpathologischen Subtypen zu haben scheint.

Bezüglich der astrozytären Veränderungen finden sich zwischen den Geschlechtern und den Subtypen keine signifikanten Unterschiede. MS-Biopsien von Männern und Frauen enthalten ähnliche Dichten an reaktiven Astrozyten, astrozytären Fortsätzen und Astrozyten mit Zelleinschlüsse – auch CFPZ treten bei männlichen und weiblichen Patienten gleich häufig auf. Somit könnte angenommen werden, dass dem Geschlecht bei den astrozytären Veränderungen kaum eine tragende Rolle zukommt.

Das durchschnittliche Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Biopsie, mit deren Hilfe eine Multiple Sklerose diagnostiziert wurde, beträgt durchschnittlich 38,4 Jahren und entspricht den Angaben der Literatur, nach der die MS durchschnittlich zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr diagnostiziert wird (Compston und Coles 2002). Darüber hinaus ergeben sich in der Literatur Hinweise, dass Männer durchschnittlich etwas später an MS erkranken als Frauen (Baum und Rothschild 1981). In der hier vorliegenden Arbeit konnte diese Beobachtungen nicht bestätigt werden. Hier waren Männer bei Biopsie, und somit bei Diagnosestellung der MS-Erkrankung, im Durchschnitt 2 Jahre jünger als Frauen, wobei zu

berücksichtigen ist, dass Biopsiezeitpunkt und Krankheitsbeginn nicht übereinstimmen müssen.

Hinsichtlich der Subtypen beträgt das mittlere Alter bei Biopsie in dieser Arbeit 37,9 Jahre und entspricht somit weitgehend den Ergebnissen von Pittock et al., welche ein durchschnittliches Alter von 36,6 Jahren bei hirnbioptierten MS-Patienten mit unterschiedlichen immunpathologischen Subtypen errechneten (Pittock et al. 2005). Diese Angaben weisen darauf hin, dass sich kein signifikanter Altersunterschied zu nicht biopsierten MS-Patienten ergibt, da das durchschnittliche Erkrankungsalter hier ebenfalls im frühen bis mittleren Erwachsenenalter liegt (Compston und Coles 2002). Somit bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zu den demographischen Daten der Subtypen die Beobachtungen, welche durch Pittock et al. an einer anderen biopsierten MS-Patientenkohorte erstmals beschrieben wurden. Zwischen den einzelnen Subtypen konnte kein signifikanter Altersunterschied festgestellt werden, womit anzunehmen wäre, dass die Pathogenese der einzelnen Subtypen unabhängig vom jeweiligen Alter der Patienten zu sein scheint.

Die astroglialen Veränderungen zeigen, bis auf die Fasergliose, in unterschiedlichen Altersgruppen keine signifikanten Unterschiede. In der Altersgruppe der 31 bis 50jährigen Patienten konnten in dieser Arbeit allerdings signifikant höhere Dichten an astrozytären Fasern als bei jüngeren Patienten festgestellt werden. Welche Bedeutung dieser Tatsache zugrunde liegt und inwieweit dies das klinische Erscheinungsbild beeinflussen könnte, müssen weiterführender Studien klären.

Daten zum Krankheitsverlauf der hier untersuchten Patientenkohorte standen für 56 Fälle mit fühaktiver Entmarkung zur Verfügung. Dabei zeigen 26 Fälle (46,4%) der Patienten einen primär schubhaft-remittierenden Verlauf. Nur 2 Patienten (3,6%) hatten zum Biopsiezeitpunkt einen sekundär chronisch-progredienten Verlauf. Bei der Mehrheit der biopsierten Patienten mit 28 Fällen (50%) handelte es sich um die Erstmanifestation der Erkrankung (CIS). In der Literatur ist bei etwa 85 % der Patienten ein schubhaft-remittierender Krankheitsverlauf (RR-MS) beschrieben (Fox et al. 2006). Zwar liegt die Häufigkeit der Patienten mit RR-MS in dieser Arbeit unter dem in der Literatur beschriebenen Durchschnitt, jedoch sollte betont werden, dass die Hälfte aller hier untersuchten Patienten zum Biopsiezeitpunkt einen monophasischen Verlauf aufwies, bei dem der Krankheitsverlauf noch abzuwarten ist. Noseworthy et al. beschreibt, dass ein Großteil von Patienten mit schubförmig-remittierendem Krankheitsverlauf weiblichen Geschlechts ist (Noseworthy et al. 2000). Auch in der vorliegenden Arbeit lassen Frauen mit 84,6 % signifikant häufiger einen RR-Verlauf erkennen als Männer (15,4%). Auch hinsichtlich der klinischen Verlaufsform unterscheiden

sich die verschiedenen Subtypen statistisch nicht voneinander. Auch Pittock et al. konnten keine Korrelation der Subtypen zu klinischen Verlaufsformen nachweisen (Pittock et al. 2005). Dies könnte darauf hinweisen, dass die histopathologischen Subtypen einen geringen Einfluss auf die klinischen Verlaufsformen haben.

Spezifische astrozytäre Veränderungen konnten in der statistischen Analyse keinem typischen Krankheitsverlauf zugeordnet werden. Für detaillierte Aussagen zu möglichen Wechselbeziehungen zwischen astrozytären Veränderungen und klinischen Verlaufsformen bedarf es indes weiterführender klinischer Daten eines größeren Patientenkollektivs mit längerer Verlaufsbeobachtung.

Es kann somit abschließend festgestellt werden, dass die hier untersuchten demographischen und klinischen Ergebnisse hirnbiospiertter MS-Patienten den Daten der Literatur sowohl biospiertter, als auch nicht biospiertter MS-Patientenkohorten entsprechen. Bezüglich der Subtypen konnten keine signifikanten Korrelationen hinsichtlich demographischer und klinischer Patientendaten erhoben werden. Infolgedessen könnte man aufgrund der vorliegenden Ergebnisse annehmen, dass Geschlecht, Alter und Verlaufsform der MS auf die Pathogenese der immunpathologischen Subtypen wenig Einfluss nehmen. Eine Überprüfung dieser Ergebnisse sollte Gegenstand weiterführender Studien mit größeren Fallzahlen und längerer Verlaufsbeobachtung sein.

5. Zusammenfassung

Die MS ist eine heterogene chronisch-entzündliche demyelinisierende Erkrankung des ZNS, deren Ursache bisher nicht geklärt ist. Kürzlich wurden vier histopathologische Subtypen der Multiplen Sklerose beschrieben, welchen vermutlich unterschiedliche pathogenetische Mechanismen zugrunde liegen.

Astrozytäre Gliazellveränderungen sind ein wesentliches Merkmal reaktiver pathologischer ZNS-Prozesse. Insbesondere in demyelinisierenden Erkrankungen wird eine prominente reaktive Astroglieose beschrieben. Neben einer unspezifischen Glianarbenbildung wird dieser Zellart jedoch eine Vielzahl von Funktionen und Fähigkeiten zugeschrieben. Dennoch ist die Rolle der Astrozyten in der entzündlichen ZNS-Entmarkung noch weitgehend ungeklärt.

Ziel dieser Arbeit ist es, anhand einer morphometrisch-quantitativen Analyse von 124 MS-Biopsien und 10 PML-Fällen die astroglialen Veränderungen in entmarkten Läsionen zu untersuchen. Hierbei wurde die Dichte astrozytärer Zellen und deren Fasern sowie der Nachweis von astrozytären Sonderformen, wie Astrozyten mit intrazytoplasmatischen Zelleinschlüssen und Creutzfeld-Peters-Zellen sowohl innerhalb der Läsionen, als auch in der umgebenden weißen Substanz erfasst. Durch den Nachweis einer pathogenetischen Heterogenität der MS könnten sich möglicherweise subtypen-spezifische prognostische Krankheitsmerkmale und Therapieoptionen herleiten.

Die höchste Dichte reaktiver Astrozyten konnte in inaktiv demyelinisierten Läsionen und in Plaques mit später Entmarkungsaktivität nachgewiesen werden, wobei frühremyelinisierende Fälle ebenfalls eine hohe Astrozytendichte aufwiesen. Auch Astrozyten mit Zelleinschlüssen wurden häufiger in inaktiven demyelinisierten Plaques identifiziert. In Läsionen mit fortgeschrittener Remyelinisierung waren weniger Astrozyten mit Zelleinschlüssen nachweisbar. In Läsionen mit früher Entmarkungsaktivität wiesen die beiden autoimmun-medierten Subtypen I und II signifikant mehr Astrozyten auf, als Subtyp III, dem eine distale Oligodendroglieopathie zugeschrieben wird. Läsionen der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML), einer Entmarkungserkrankung auf dem Boden einer virusbedingten Oligodendrozytenschädigung, zeigten ein ähnliches Muster der Astrozytenveränderungen wie in Subtyp III, welches sich statistisch signifikant von Subtyp I und II unterschied. Creutzfeld-Peters-Zellen wurden signifikant häufiger in aktiv-entmarkten Läsionen als in inaktiven Plaques, unabhängig vom Remyelinisierungsgrad identifiziert. Auch in der normal erscheinenden weißen Substanz, welche die entmarkten Läsionen begrenzt, ließen sich reaktive Astrozytenveränderungen, jedoch in geringerem Ausmaß als in den

Läsionen selbst nachweisen. Die höchste Dichte reaktiver Astrozyten wurde hierbei in der weißen Substanz des Subtyp II beobachtet.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen auf eine multifunktionale Rolle von Astrozyten in der Pathogenese der Multiplen Sklerose hin. Die Hypothese der immunpathologischen Heterogenität frühaktiver MS-Läsionen konnte unter dem Aspekt reaktiver astrozytärer Veränderungen gestärkt werden. Beide autoimmun-medierten Subtypen I und II ließen eine höhere Dichte reaktiver Astrozyten erkennen und spielen möglicherweise in der Pathogenese der MS eine wichtige Rolle. Davon grenzten sich sowohl Subtyp-III- als auch PML-Läsionen ab. Während der PML bekanntermaßen eine virusinduzierte Oligodendrozytendestruktion mit sekundärer Entmarkung zu Grunde liegt, wird auch für den Subtyp III der MS eine Oligodendrogliopathie, möglicherweise auf dem Boden einer Virusinfektion, diskutiert. Daher könnte ihre Funktion in der Pathogenese der Entmarkung ähnlich definiert sein. Darüberhinaus ließen die Daten dieser Arbeit erkennen, dass einer reaktiven Astroglieose auch in älteren inaktiven Plaques wesentliche Funktionen, wie z.B. einer Remyelinisierungsunterstützung zugeschrieben werden könnte.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit ein Zusammenhang zwischen distinkten astroglialen Reaktionen und einer histomorphologischen Heterogenität in MS-Läsionen gezeigt werden. Weiterführende immunpathologische Studien sowie detaillierte Auswertungen klinischer Daten biopsierter MS-Patienten könnten neue aufschlussreiche Ergebnisse zur pathogenetischen Heterogenität der MS liefern.

6. Anhang

6.1 Tabellen

| | EA | LA | IA DM | IA ERM | IA LRM | gesamt |
|-----------------|----|----|-------|--------|--------|--------|
| Fallzahl | 56 | 15 | 15 | 29 | 9 | 124 |

| | IPS I | IPS II | IPS III |
|-----------------|-------|--------|---------|
| Fallzahl | 21 | 22 | 13 |

Tabelle 1: Anzahl und Verteilung der ausgewerteten Läsionen auf die verschiedenen Läsionsaktivitäten und immunpathologischen Subtypen (IPS)

EA = frühaktive Läsionen, LA = spätaktive Läsionen, IA DM = inaktiv demyelinisierte Läsionen, IA ERM = inaktiv frühremyelinisierende Läsionen, IA LRM = inaktiv spätremyelinierte Läsionen (Shadow Plaques)

| | EA | LA | IA DM | IA ERM | IA LRM | gesamt |
|-----------------|----|----|-------|--------|--------|--------|
| Fallzahl | 29 | 2 | 7 | 11 | 0 | 49 |

| | IPS I | IPS II | IPS III |
|-----------------|-------|--------|---------|
| Fallzahl | 10 | 10 | 9 |

Tabelle 2: Anzahl und Verteilung der ausgewerteten normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) auf die verschiedenen Läsionsaktivitäten und immunpathologischen Subtypen (IPS)

EA = frühaktive Läsionen, LA = spätaktive Läsionen, IA DM = inaktiv demyelinisierte Läsionen, IA ERM = inaktiv frühremyelinisierende Läsionen, IA LRM = inaktiv spätremyelinierte Läsionen (Shadow Plaques)

| | PML-Biopsie | PML-Autopsie | gesamt |
|-----------------|-------------|--------------|--------|
| Fallzahl | 3 | 8 | 11 |

Tabelle 3: Anzahl und Verteilung der ausgewerteten PML-Läsionen (PML = progressive multifokale Leukenzephalopathie)

| | männlich | weiblich | unbekannt | gesamt |
|-----------------|----------|----------|-----------|--------|
| Fallzahl | 42 | 80 | 2 | 124 |

Tabelle 4: Verteilung der MS-Läsionen hinsichtlich des Geschlechts der Patienten

| | PML-Biopsie | PML-Autopsie | gesamt |
|-----------------|-------------|--------------|--------|
| weiblich | 2 | 5 | 7 |
| männlich | 1 | 3 | 4 |

Tabelle 5: Verteilung der Patienten mit progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML) hinsichtlich ihres Geschlechts

| | weiblich | männlich | gesamt |
|--------------|----------|----------|--------|
| Alter | 38,99 | 37,27 | 38,41 |

Tabelle 6: Durchschnittliches Alter in Jahren zum Zeitpunkt der Biopsie der MS-Patienten (2 Patienten ohne Angaben)

| | IPS I | IPS II | IPS III |
|--------------|-------|--------|---------|
| Alter | 33,57 | 38,91 | 41,15 |

Tabelle 7: Durchschnittliches Alter in Jahren zum Zeitpunkt der Biopsie hinsichtlich der immunpathologischen Subtypen (IPS)

| | Altersgruppe 1 | Altersgruppe 2 | Altersgruppe 3 | < 16 Jahre | gesamt |
|---------------|----------------|----------------|----------------|------------|--------|
| Anzahl | 35 | 63 | 20 | 4 | 122 |

Tabelle 8: Einteilung der MS-Läsionen in Altersgruppen der zugehörigen Patienten zum Zeitpunkt der Biopsie

Altersgruppe 1 = 16-30 Jahre, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = >50 Jahre
(2 Läsionen von Patienten ohne klinische Angaben)

| | PML-Biopsie | PML-Autopsie |
|--------------|-------------|--------------|
| Alter | 69 | 56,75 |

Tabelle 9: Durchschnittliches Alter in Jahren bei Patienten mit progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML) zum Zeitpunkt der Hirnbiopsie oder zum Autopsiezeitpunkt (Todeszeitpunkt)

| | supratentoriell | infratentoriell | spinal | unbekannt | gesamt |
|-----------------|-----------------|-----------------|--------|-----------|--------|
| Fallzahl | 92 | 2 | 2 | 28 | 124 |

Tabelle 10: Biopsielokalisationen der untersuchten MS-Läsionen

| | EA | IPS I | IPS II | IPS III |
|---------------|----|-------|--------|---------|
| CIS | 28 | 11 | 8 | 9 |
| RR | 26 | 10 | 12 | 4 |
| SP | 2 | 0 | 2 | 0 |
| PP | 0 | 0 | 0 | 0 |
| gesamt | 56 | 21 | 22 | 13 |

Tabelle 11: Übersicht über die Verteilung des Krankheitsverlaufs zum Zeitpunkt der Biopsie bezogen auf die frühaktiven Läsionen (EA) und die zugehörigen immunpathologischen Subtypen (IP)

CIS = „clinically isolated syndrome“, RR = schubförmig-remittierend, SP = sekundär chronisch-progredient, PP = primär progredient

| | CIS | RR | SP | PP | gesamt |
|-----------------|-----|----|----|----|--------|
| weiblich | 11 | 22 | 2 | 0 | 35 |
| männlich | 17 | 4 | 0 | 0 | 21 |
| gesamt | 28 | 26 | 2 | 0 | 56 |

Tabelle 12: Krankheitsverlauf zum Zeitpunkt der Biopsie bezüglich des Geschlechts der Patientenbiopsien der frühaktiven MS-Läsionen

CIS = „clinically isolated syndrome“, RR = schubförmig-remittierend, SP = sekundär chronisch-progredient, PP = primär progredient

| Fallnummer | Geschlecht | Alter zur Bx | Altersgruppe | Bx-Lokalisation | Verlauf zu Bx |
|------------|------------|--------------|--------------|-------------------|---------------|
| 2 I | m | 38 | 2 | parietal | RR |
| 26 (3) | w | 11 | - | fronto-temporal | CIS |
| 45 | m | 30 | 1 | okzipital | CIS |
| 53 | w | 27 | 1 | zentral | CIS |
| 55 | w | 44 | 2 | temporal | RR |
| 62 | m | 33 | 2 | parieto-okzipital | CIS |
| 69 | m | 37 | 2 | parieto-okzipital | CIS |
| 84 | w | 30 | 1 | frontal | RR |
| 86 | m | 10 | - | fronto-parietal | CIS |
| 93 | m | 41 | 2 | parietal | CIS |
| 98 | w | 45 | 2 | frontal | RR |
| 107 | w | 43 | 2 | parietal | RR |
| 110 | m | 34 | 2 | frontal | CIS |
| 121 | m | 47 | 2 | zerebellär | CIS |
| 137 | m | 46 | 2 | parietal | CIS |
| 141 | w | 19 | 1 | okzipital | RR |
| 161 | w | 47 | 2 | temporal | RR |
| 168 | w | 26 | 1 | parietal | CIS |
| 172 | w | 22 | 1 | fronto-parietal | RR |
| 177 | w | 30 | 1 | okzipital | RR |
| 179 | w | 45 | 2 | frontal | RR |

Tabelle 13: Übersicht über die Patientendaten des Subtyp I frühaktiver Läsionen

Bx = Biopsie, Altersgruppe 1 = 16-30 Jahren, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = > 50 Jahre, „-“, = Patienten <16 Jahren (keine Altersgruppe zuordenbar), w = weiblich, m = männlich, CIS = „clinically isolated syndrome“, RR = schubförmig-remittierend, SP = sekundär chronisch-progredient

| Fallnummer | Geschlecht | Alter zur Bx | Altersgruppe | Bx-Lokalisation | Verlauf zu Bx |
|------------|------------|--------------|--------------|-------------------|---------------|
| 3 | w | 37 | 2 | okzipital | RR |
| 14 a | w | 35 | 2 | frontal | CIS |
| 14 I | w | 36 | 2 | fronto-parietal | CIS |
| 15 aI | m | 34 | 2 | temporo-okzipital | CIS |
| 15 I | m | 34 | 2 | parieto-okzipital | CIS |
| 28 | w | 43 | 2 | frontal | SP |
| 39 | w | 48 | 2 | frontal | RR |
| 50 | w | 22 | 1 | parietal | RR |
| 51 | w | 27 | 1 | okzipital | RR |
| 66 | m | 24 | 1 | frontal | RR |
| 78 | w | 32 | 2 | parietal | RR |
| 79 | w | 32 | 2 | temporal | RR |
| 85 | w | 50 | 2 | frontal | RR |
| 88 | m | 38 | 2 | frontal | RR |
| 94 | w | 30 | 1 | parietal | SP |
| 108 | w | 54 | 3 | spinal | RR |
| 114 | w | 62 | 3 | zerebellär | RR |
| 134 | m | 39 | 2 | zentral | RR |
| 136 | w | 47 | 2 | frontal | CIS |
| 139 | m | 58 | 3 | temporal | CIS |
| 167 | m | 49 | 2 | parietal | CIS |
| 171 | w | 24 | 1 | parieto-okzipital | CIS |

Tabelle 14: Übersicht über die Patienten des Subtyp II frühaktiver Läsionen

Bx = Biopsie, Altersgruppe 1 = 16-30 Jahre, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = > 50 Jahre, w = weiblich, m = männlich, CIS = „clinically isolated syndrome“, RR = schubförmig-remittierend, SP = sekundär chronisch-progressiv

| Fallnummer | Geschlecht | Alter zur Bx | Altersgruppe | Bx-Lokalisation | Verlauf zu Bx |
|------------|------------|--------------|--------------|-------------------|---------------|
| 10 | w | 41 | 2 | okzipital | RR |
| 19 | w | 31 | 2 | parieto-okzipital | CIS |
| 21 | w | 62 | 3 | parietal | CIS |
| 29 | w | 59 | 3 | spinal | RR |
| 37 | w | 64 | 3 | frontal | CIS |
| 104 | m | 51 | 3 | temporal | CIS |
| 105 | m | 37 | 2 | Basalganglien | CIS |
| 109 3 | m | 26 | 1 | frontal | CIS |
| 109 I | m | 26 | 1 | frontal | CIS |
| 138 | m | 40 | 2 | okzipital | CIS |
| 159 | w | 17 | 1 | frontal | RR |
| 169 | w | 53 | 3 | zentral | RR |
| 176 | w | 28 | 1 | fronto-parietal | CIS |

Tabelle 15: Übersicht über die Patienten des Subtyp III frühaktiver Läsionen

Bx = Biopsie, Altersgruppe 1 = 16-30 Jahre, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = > 50 Jahre, w = weiblich, m = männlich, CIS = „clinically isolated syndrome“, RR = schubförmig-remittierend, SP = sekundär chronisch-progressiv

| Fallnummer | Geschlecht | Alter zur Bx | Altersgruppe | Bx-Lokalisation |
|------------|------------|--------------|--------------|-----------------|
| 2 VII (a) | m | 38 | 2 | parietal |
| 43 | m | 28 | 1 | k.A. |
| 64 | w | 40 | 2 | parietal |
| 115 | w | 52 | 3 | okzipital |
| 118 | w | 26 | 1 | k.A. |
| 125 | m | 38 | 2 | k.A. |
| 128 | w | 54 | 3 | k.A. |

| | | | | |
|------------|---|----|---|-----------|
| 145 | w | 52 | 3 | okzipital |
| 150 | w | 50 | 2 | k.A. |
| 152 | w | 37 | 2 | k.A. |
| 155 | w | 44 | 2 | k.A. |
| 158 | w | 22 | 1 | k.A. |
| 174 | w | 19 | 1 | k.A. |
| 175 | w | 65 | 3 | k.A. |
| 181 | m | 39 | 2 | k.A. |

Tabelle 16: Übersicht über die Patienten mit spätaktiven Läsionen

Bx = Biopsie, Altersgruppe 1 = 16-30 Jahren, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = > 50 Jahre, w = weiblich, m = männlich, k.A. = keine Angaben,

| Fallnummer | Geschlecht | Alter zur Bx | Altersgruppe | Bx-Lokalisation |
|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|------------------------|
| 1a | w | 28 | 1 | frontal |
| 5 (1) | m | 26 | 1 | frontal |
| 7 | m | 38 | 2 | parieto-okzipital |
| 16 II | w | 40 | 2 | fronto-parietal |
| 24 | w | 60 | 3 | frontal |
| 26 (1) | w | 11 | - | fronto-parietal |
| 36 | m | 59 | 3 | frontal |
| 50a I | w | 23 | 1 | fronto-parietal |
| 54 | w | 51 | 3 | temporo-parietal |
| 60 | m | 13 | - | frontal |
| 73 | k.A. | k.A. | k.A. | k.A. |
| 76 | k.A. | k.A. | k.A. | k.A. |
| 96 | m | 22 | 1 | frontal |
| 112 | w | 44 | 2 | k.A. |

| | | | | |
|-----|---|----|---|---------|
| 113 | m | 46 | 2 | frontal |
|-----|---|----|---|---------|

Tabelle 17: Übersicht über die Patienten mit inaktiv demyelinisierten Läsionen

Bx = Biopsie, Altersgruppe 1 = 16-30 Jahren, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = > 50 Jahre, „-“, = Patienten <16 Jahren (keine Altersgruppe zuordenbar), w = weiblich, m = männlich, k.A. = keine Angaben,

| Fallnummer | Geschlecht | Alter zur Bx | Altersgruppe | Bx-Lokalisation |
|------------|------------|--------------|--------------|-------------------|
| 4 | m | 32 | 2 | parietal |
| 5 (2) | m | 26 | 1 | frontal |
| 8 | w | 39 | 2 | k.A. |
| 12 | w | 22 | 1 | parieto-okzipital |
| 13 IV | m | 33 | 2 | parietal |
| 16 II (a) | w | 40 | 2 | fronto-parietal |
| 18 | w | 54 | 3 | Basalganglien |
| 20 | m | 25 | 1 | parieto-okzipital |
| 22 | w | 37 | 2 | k.A. |
| 25 | w | 33 | 2 | parieto-okzipital |
| 31 | w | 21 | 1 | fronto-parietal |
| 34 | w | 33 | 2 | okzipital |
| 38 | w | 37 | 2 | k.A. |
| 41 | w | 41 | 2 | frontal |
| 48 | w | 41 | 2 | parieto-okzipital |
| 52 | w | 58 | 3 | okzipital |
| 57 II | w | 21 | 1 | parieto-okzipital |
| 58 | w | 21 | 1 | frontal |
| 68 | w | 44 | 2 | k.A. |
| 90 | w | 50 | 2 | k.A. |
| 99 | w | 28 | 1 | frontal |

| | | | | |
|------------|---|----|---|----------|
| 100 | w | 43 | 2 | parietal |
| 103 | w | 38 | 2 | k.A. |
| 119 | m | 28 | 1 | k.A. |
| 129 | w | 50 | 2 | k.A. |
| 130 | w | 32 | 2 | k.A. |
| 131 | m | 41 | 2 | temporal |
| 143 | m | 63 | 3 | temporal |
| 160 | w | 49 | 2 | k.A. |

Tabelle 18: Übersicht über die Patienten mit inaktiv frühremyelinisierenden Läsionen
 Bx = Biopsie, Altersgruppe 1 = 16-30 Jahren, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = > 50 Jahre, w = weiblich, m = männlich, k.A. = keine Angaben

| Fallnummer | Geschlecht | Alter zur Bx | Altersgruppe | Bx-Lokalisation |
|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|------------------------|
| 13 IV (a) | m | 33 | 2 | parietal |
| 31 (a) | w | 21 | 1 | fronto-parietal |
| 32 | m | 25 | 1 | zentral |
| 33 | w | 48 | 2 | frontal |
| 57 I | w | 21 | 1 | parieto-okzipital |
| 89 | w | 33 | 2 | k.A. |
| 91 | m | 52 | 3 | k.A. |
| 92 | m | 59 | 3 | k.A. |
| 126 | w | 40 | 2 | k.A. |

Tabelle 19: Übersicht über die Patienten mit inaktiv spätremyelinsierten Läsionen
 Bx = Biopsie, Altersgruppe 1 = 16-30 Jahren, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = > 50 Jahre, w = weiblich, m = männlich, k.A. = keine Angaben

| Fallnummer | Gewebe | Geschlecht | Alter bei Bx oder Autopsie | Bx- bzw. Autopsie Loakalisa- tion | Klinische Vorgeschichte |
|--------------------|----------|------------|----------------------------------|--|--|
| B 709/08 K | Biopsie | m | 80 | zerebelläres Marklager | CLL |
| B 649/08 K | Biopsie | w | 65 | Marklager | B-Zell-Lymphom |
| B 257/07 K | Biopsie | w | 62 | frontal | NHL |
| A 148/08 | Autopsie | w | 85 | parietal | Zufallsbefund bei globaler Herzinsuffizienz |
| A 183/01 | Autopsie | w | 79 | parietal | Sarkoidose |
| A 197/00 | Autopsie | w | 59 | frontal | Nierentrans- plantation mit Niereninsuffizienz |
| A 271/91 | Autopsie | w | 40 | parietal | HIV-Infektion |
| A 422/90 | Autopsie | m | 55 | parietal | Silikose und Langzeitkortison- behandlung |
| A 189/89 | Autopsie | m | 36 | fronto- parietal | Hepatitis |
| A 128/08 K | Autopsie | m | 66 | temporo- parietal | CLL, Magen- und Prostatakarzinom |
| A 05/1139 K | Autopsie | w | 34 | Marklager | HIV-Infektion |

Tabelle 20: Übersicht über die Patienten mit progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML)

Bx = Biopsie, w = weiblich, m = männlich, CLL = chronisch lymphatische Leukämie, NHL = Non-Hodgkin-Lymphom, HIV = humanes-Immundefizienz-Virus

| | IPS I | IPS II | IPS III | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 187,1 (± 44,68) | 208,6 (± 59,76) | 124,2 (± 29,03) | < 0,0001 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 286,6 (± 76,83) | 264,1 (± 62,99) | 233,6 (± 55,73) | 0,1153 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 27,12 (± 11,9) | 30,11 (± 16,68) | 14,28 (± 9,248) | 0,0049 |
| Creutzfeldt-Peters-Zellen (in %) | 28,6 | 22,7 | 15,4 | 0,6743 |

Tabelle 21: Übersicht über die Ergebnisse der Läsionen der verschiedenen immunpathologischen Subtypen (IPS).

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | IPS I | IPS II | IPS III | PML | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 187,1 (± 44,68) | 208,6 (± 59,76) | 124,2 (± 29,03) | 138,6 (± 23,6) | <0,0001 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 286,6 (± 76,83) | 264,1 (± 62,99) | 233,6 (± 55,73) | 230 (± 44,5) | 0,0569 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 27,12 (± 11,9) | 30,11 (± 16,68) | 14,28 (± 9,248) | 10,76 (± 6,867) | <0,0001 |
| Creutzfeldt-Peters-Zellen (in %) | 28,6 | 22,7 | 15,4 | 9 | 0,5809 |

Tabelle 22: Übersicht über die Ergebnisse der Läsionen der verschiedenen immunpathologischen Subtypen (IPS) und Läsionen der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML)

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | EA | LA | IA DM | IA ERM | IA LRM | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 180,9 (± 57,92) | 201,9 (± 39,5) | 203,7 (± 24,41) | 190,6 (± 40,58) | 111,3 (± 23,26) | <0,0001 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 266,7 (± 69,09) | 301,3 (± 82,19) | 310,7 (± 102,8) | 330,3 (± 83,3) | 341,1 (± 133,6) | 0,0083 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 25,31 (± 14,69) | 31,36 (± 10,58) | 35,73 (± 12,58) | 30,12 (± 13,66) | 8,178 (± 2,706) | <0,0001 |
| Creutzfeldt-Peters-Zellen (in %) | 23,21 | 26,6 | 0 | 10,34 | 0 | 0,0707 |

Tabelle 23: Übersicht über die Ergebnisse der Läsionen verschiedener Entmarkungsaktivitäten und Remyelinisierungsstadien (EA = frühaktive Läsionen, LA = spätaktive Läsionen, IA DM = inaktiv demyelinisierte Läsionen, IA ERM = inaktiv frühremyelinisierende Läsionen, IA LRM = inaktiv spätremyelinisierte Läsionen (Shadow Plaques))

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | EA | LA | IA | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 180,9 (± 57,92) | 201,9 (± 39,5) | 180,9 (± 46,6) | 0,335 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 266,7 (± 69,09) | 301,3 (± 82,19) | 326,6 (± 97,19) | 0,0015 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 25,31 (± 14,69) | 31,36 (± 10,58) | 27,98 (± 15,23) | 0,315 |
| Creutzfeldt-Peters-Zellen (in %) | 23,21 | 26,6 | 5,7 | 0,0223 |

Tabelle 24: Übersicht über die Ergebnisse der Läsionen der verschiedenen Entmarkungsaktivität (EA = frühaktive Läsionen, LA = spätaktive Läsionen, IA = inaktive Läsionen, d.h. IA DM, IA ERM und IA LRM zusammengefasst)

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | Läsion | NAWM | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|-------------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 183,4 (± 51,41) | 98,85 (± 21,49) | <0,0001 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 301,2 (± 89,05) | 236,5 (± 86,48) | <0,0001 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 27,19 (± 14,53) | 6,076 (± 5,829) | <0,0001 |
| Creutzfeldt-Peters-Zellen (in %) | 16,13 | 0 | 0,0012 |

Tabelle 25: Übersicht über die Ergebnisse der Läsionen und der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM): Läsion = alle untersuchten MS-Läsionen zusammengefasst (n=124), NAWM = alle untersuchten normal erscheinenden weißen Substanzen zusammengefasst (n=48)

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | Läsionen mit CFPZ | Läsionen ohne CFPZ | p-Wert |
|---|--------------------------|---------------------------|---------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 174,9 (± 28) | 185 (± 54,78) | 0,4221 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 260 (± 71,96) | 304,2 (± 89,23) | 0,0392 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 31,68 (± 11,96) | 26,18 (± 14,74) | 0,1191 |

Tabelle 26: Übersicht über die Ergebnisse bei dem Vergleich zwischen MS-Läsionen mit Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) und MS-Läsionen, in denen keine CFPZ nachweisbar sind. Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | IPS I | IPS II | IPS III | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 77,28 (± 22,12) | 103,4 (± 23,55) | 79,11 (± 24,29) | 0,0343 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 222 (± 63,21) | 244 (± 103) | 182 (± 61,4) | 0,2456 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 4,8 (± 4,9) | 5,8 (± 3,9) | 2,7 (± 2,4) | 0,2321 |
| Creutzfeldt-Peters-Zellen (in %) | 0 | 0 | 0 | n.a. |

Tabelle 27: Übersicht über die Ergebnisse der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) der Biopsien der verschiedenen immunpathologischen Subtypen (IPS)

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

n.a. = nicht auswertbar

| | weiblich | männlich | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|---------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 186,6 (± 51,21) | 176,1 (± 52,74) | 0,2861 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 298,4 (± 86,55) | 293,2 (± 91,69) | 0,761 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 28,44 (± 15,32) | 23,81 (± 12,14) | 0,0921 |
| Creutzfeldt-Peters-Zellen (in %) | 16,25 | 16,67 | 1 |

Tabelle 28: Übersicht über die Ergebnisse der MS-Läsionen bezüglich des Geschlechts der Patienten

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | Altersgruppe 1 | Altersgruppe 2 | Altersgruppe 3 | p-Wert |
|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 187,2 (± 55,35) | 177,7 (± 42,73) | 184 (± 64,39) | 0,6700 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 270,3 (± 80,25) | 313,5 (± 94,67) | 285,8 (± 67,93) | 0,0590 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 25,56 (± 12,88) | 26,72 (± 13,48) | 29,12 (± 20,69) | 0,7018 |
| Creutzfeldt-Peters- Zellen in % | 20 | 15,87 | 10 | 0,6227 |

Tabelle 29: Übersicht über die Ergebnisse der MS-Läsionen bezüglich des Alters der Patienten (Altersgruppe 1 = 16-30 Jahre, Altersgruppe 2 = 31-50 Jahre, Altersgruppe 3 = >50 Jahre)

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| | CIS | RR | p-Wert |
|---|--------------------|--------------------|---------------|
| reaktiv veränderte Astrozyten (MW in mm² ±SA) | 168,4 (± 59,11) | 195,4 (± 53,18) | 0,0829 |
| astrozytäre Fasergliose (MW in % ±SA) | 255,5 (± 64,51) | 274,3 (± 70,21) | 0,2269 |
| Astrozyten mit Zelleinschlüssen (MW in mm² ±SA) | 22,35 (± 13,22) | 28,63 (± 15,29) | 0,1160 |
| Creutzfeldt-Peters- Zellen (in %) | 28,6 | 15,4 | 0,3316 |

Tabelle 30: Übersicht über die Ergebnisse der MS-Läsionen bezüglich der klinischen Verlaufsform der Patienten (CIS = „clinical isolated syndrome“, RR = schubförmig-remittierender Verlauf)

Für die ermittelten Daten sind der Mittelwert (in mm² bzw. %) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben (MW±SA) bzw. CFPZ in %

Statistische Signifikanz gilt ab einem p-Wert von p< 0,05 (fettgedruckt)

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Fasergliose | Creutzfeldt- Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|---|
| 2 I | 150,4 | 33,6 | 150 | negativ |
| 26 (3) | 195,2 | 28,8 | 290 | positiv |
| 45 | 172,8 | 17,6 | 390 | negativ |
| 53 | 179,2 | 62,4 | 200 | positiv |
| 55 | 204,8 | 25,6 | 390 | negativ |
| 62 | 152 | 48 | 220 | positiv |
| 69 | 195,2 | 20,8 | 240 | negativ |
| 84 | 144 | 22,4 | 180 | positiv |
| 86 | 336 | 41,6 | 260 | negativ |
| 93 | 153,6 | 19,2 | 250 | negativ |
| 98 | 131,2 | 32 | 220 | positiv |
| 107 | 184 | 22,4 | 300 | positiv |
| 110 | 153,6 | 30,4 | 280 | negativ |
| 121 | 161,6 | 11,2 | 330 | negativ |
| 137 | 193,6 | 28,8 | 390 | negativ |
| 141 | 256 | 30,4 | 410 | negativ |
| 161 | 177,6 | 20,8 | 310 | negativ |
| 168 | 198,4 | 20,8 | 220 | negativ |
| 172 | 216 | 16 | 300 | negativ |
| 177 | 168 | 17,6 | 290 | negativ |
| 179 | 206,4 | 19,2 | 400 | negativ |

Tabelle 31: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) des immunpathologischen Subtyp I frühaktiver Läsionen

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Fasergliose | Creutzfeldt- Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|---|
| 3 | 203,2 | 28,8 | 220 | negativ |
| 14 a | 145,6 | 14,4 | 350 | negativ |
| 14 I | 124,8 | 28,8 | 260 | negativ |
| 15 a I | 179,2 | 27,2 | 310 | negativ |
| 15 I | 145,6 | 12,8 | 170 | positiv |
| 28 | 155,2 | 35,2 | 220 | positiv |
| 39 | 188,8 | 9,6 | 210 | negativ |
| 50 | 235,2 | 32 | 340 | negativ |
| 51 | 180,8 | 28,8 | 180 | positiv |
| 66 | 276,8 | 33,6 | 260 | negativ |
| 78 | 206,4 | 32 | 210 | negativ |
| 79 | 200 | 35,2 | 330 | negativ |
| 85 | 257,6 | 38,4 | 320 | negativ |
| 88 | 193,6 | 32 | 360 | negativ |
| 94 | 195,2 | 19,2 | 300 | negativ |
| 108 | 176 | 14,4 | 170 | negativ |
| 114 | 332,8 | 86,4 | 310 | negativ |
| 134 | 281,6 | 59,2 | 270 | negativ |
| 136 | 163,2 | 12,8 | 250 | negativ |
| 139 | 203,2 | 25,6 | 330 | positiv |
| 167 | 185,6 | 25,6 | 270 | positiv |
| 171 | 358,4 | 30,4 | 170 | negativ |

Tabelle 32: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) des immunpathologischen Subtyp II frühaktiver Läsionen

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------|--|
| 10 | 134,4 | 9,6 | 270 | negativ |
| 19 | 192 | 22,4 | 270 | positiv |
| 21 | 108,8 | 1,6 | 230 | negativ |
| 29 | 107,2 | 25,6 | n.e. | negativ |
| 37 | 121,6 | 6,4 | 210 | negativ |
| 104 | 148,8 | 14,4 | 280 | negativ |
| 105 | 116,8 | 8 | 250 | negativ |
| 109 3 | 86,4 | 8 | n.e. | negativ |
| 109 I | 139,2 | 33,6 | 170 | positiv |
| 138 | 94,4 | 4,8 | 190 | negativ |
| 159 | 121,6 | 16 | 280 | negativ |
| 169 | 150,4 | 20,8 | 300 | negativ |
| 176 | 92,8 | 14,4 | 120 | negativ |

Tabelle 33: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) des immunpathologischen Subtyp III frühaktiver Läsionen; n.e. = nicht erhebbar

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------|--|
| 2 VII (a) | 128 | 22,4 | 240 | negativ |
| 43 | 171,2 | 19,2 | 370 | negativ |
| 64 | 216 | 20,8 | 220 | negativ |
| 115 | 240 | 44,8 | 290 | negativ |
| 118 | 236,8 | 35,2 | 320 | negativ |
| 125 | 179,2 | 9,6 | 100 | negativ |

| | | | | |
|------------|-------|------|-----|---------|
| 128 | 148,8 | 30,4 | 330 | positiv |
| 145 | 232 | 43,2 | 270 | negativ |
| 150 | 176 | 28,8 | 400 | positiv |
| 152 | 276,8 | 35,2 | 440 | negativ |
| 155 | 235,2 | 46,4 | 360 | positiv |
| 158 | 206,4 | 36,8 | 270 | negativ |
| 174 | 192 | 30,4 | 280 | negativ |
| 175 | 176 | 25,6 | 350 | negativ |
| 181 | 214,4 | 41,6 | 280 | positiv |

Tabelle 34: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in spätaktiven Läsionen

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|-------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------|---|
| 1a | 208 | 22,4 | 350 | negativ |
| 5 (1) | 224 | 22,4 | 220 | negativ |
| 7 | 201,6 | 30,4 | 230 | negativ |
| 16 II | 163,2 | 59,2 | 570 | negativ |
| 24 | 164,8 | 46,4 | 270 | negativ |
| 26 (1) | 163,2 | 19,2 | 230 | negativ |
| 36 | 224 | 11,2 | 300 | negativ |
| 50a I | 236,8 | 44,8 | 240 | negativ |
| 54 | 232 | 38,4 | 180 | negativ |
| 60 | 219,2 | 36,8 | 440 | negativ |
| 73 | 193,6 | 36,8 | 400 | negativ |
| 76 | 219,2 | 44,8 | 240 | negativ |
| 96 | 206,4 | 44,8 | 290 | negativ |

| | | | | |
|------------|-------|------|-----|---------|
| 112 | 190,4 | 36,8 | 370 | negativ |
| 113 | 209,6 | 41,6 | 330 | negativ |

Tabelle 35: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in inaktiv demyelinisierten Läsionen

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Fasergliose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|-------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------|---|
| 4 | 145,6 | 24 | 260 | negativ |
| 5 (2) | 195,2 | 17,6 | 180 | positiv |
| 8 | 222,4 | 25,6 | 280 | negativ |
| 12 | 168 | 12,8 | 310 | negativ |
| 13 IV | 137,6 | 28,8 | 390 | negativ |
| 16 II (a) | 193,6 | 60,8 | 370 | negativ |
| 18 | 161,6 | 33,6 | 350 | negativ |
| 20 | 161,6 | 19,2 | 360 | negativ |
| 22 | 241,6 | 25,6 | 380 | negativ |
| 25 | 176 | 25,6 | 520 | negativ |
| 31 | 208 | 22,4 | 200 | negativ |
| 34 | 145,6 | 38,4 | 250 | negativ |
| 38 | 168 | 28,8 | 320 | negativ |
| 41 | 155,2 | 11,2 | 380 | negativ |
| 48 | 190,4 | 40 | 440 | negativ |
| 52 | 275,2 | 64 | 250 | negativ |
| 57 II | 238,4 | 35,2 | 330 | negativ |
| 58 | 190,4 | 54,4 | 370 | positiv |
| 68 | 179,2 | 20,8 | 370 | negativ |
| 90 | 284,8 | 43,2 | 500 | negativ |

| | | | | |
|------------|-------|------|-----|---------|
| 99 | 158,4 | 28,8 | 260 | positiv |
| 100 | 152 | 17,6 | 210 | negativ |
| 103 | 134,4 | 9,6 | 340 | negativ |
| 119 | 171,2 | 25,6 | 310 | negativ |
| 129 | 222,4 | 35,2 | 430 | negativ |
| 130 | 211,2 | 40 | 320 | negativ |
| 131 | 185,6 | 17,6 | 370 | negativ |
| 143 | 262,4 | 27,2 | 230 | negativ |
| 160 | 192 | 40 | 300 | negativ |

Tabelle 36: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in inaktiv frühremyelinisierenden Läsionen

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|-------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------|---|
| 13 IV (a) | 102,4 | 9,6 | 570 | negativ |
| 31 (a) | 75,2 | 6,4 | 120 | negativ |
| 32 | 129,6 | 6,4 | 400 | negativ |
| 33 | 89,6 | 3,2 | 320 | negativ |
| 57 I | 145,6 | 9,6 | 200 | negativ |
| 89 | 116,8 | 8 | 300 | negativ |
| 91 | 124,8 | 9,6 | 320 | negativ |
| 92 | 89,6 | 12,8 | 460 | negativ |
| 126 | 128 | 8 | 380 | negativ |

Tabelle 37: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in inaktiv spätremyelinierten Läsionen

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faser gliose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|-------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------|--|
| B 709/08 K | 128 | 25,6 | 280 | negativ |
| B 649/08 K | 83,2 | 1,6 | 180 | negativ |
| B 257/07 K | 160 | 4,8 | 230 | negativ |
| A 148/08 | 116,8 | 14,4 | 300 | negativ |
| A 183/01 | 156,8 | 6,4 | 200 | negativ |
| A 197/00 | 163,2 | 6,4 | 270 | negativ |
| A 271/91 | 155,2 | 12,8 | 150 | negativ |
| A 422/90 | 132,8 | 16 | 240 | positiv |
| A 189/89 | 152 | 11,2 | 210 | negativ |
| A 128/08 K | 134,4 | 4,8 | 250 | negativ |
| A 05/1139 K | 142,4 | 14,4 | 220 | negativ |

Tabelle 38: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Läsionen progressiver multifokaler Leukenzephalopathie (PML)

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faser gliose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------|--|
| 2 I | 91,2 | 9,6 | 210 | negativ |
| 84 | 113,6 | 16 | 220 | negativ |
| 98 | 104 | 0 | 310 | negativ |
| 161 | 83,2 | 1,6 | 320 | negativ |
| 184 | 67,2 | 1,6 | 220 | negativ |
| 186 | 80 | 6,4 | 140 | negativ |
| 204 | 40 | 4,8 | 280 | negativ |
| 225 | 56 | 1,6 | 170 | negativ |

| | | | | |
|-----|------|-----|-----|---------|
| 255 | 64 | 4,8 | 150 | negativ |
| 278 | 73,6 | 1,6 | 200 | negativ |

Tabelle 39: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) des immunpathologischen Subtyps I

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------|--|
| 3 | 112 | 1,6 | 210 | negativ |
| 14 I | 67,2 | 12,8 | 130 | negativ |
| 15 I | 70,4 | 8 | 180 | negativ |
| 39 | 108,8 | 6,4 | 110 | negativ |
| 50 | 115,2 | 3,2 | 130 | negativ |
| 78 | 134,4 | 6,4 | 290 | negativ |
| 79 | 136 | 6,4 | 370 | negativ |
| 85 | 105,6 | 9,6 | 330 | negativ |
| 88 | 97,6 | 0 | 360 | negativ |
| 139 | 86,4 | 3,2 | 330 | negativ |

Tabelle 40: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) des immunpathologischen Subtypes II

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------|--|
| 19 | 112 | 8 | 240 | negativ |
| 21 | 73,6 | 1,6 | 220 | negativ |
| 37 | 70,4 | 1,6 | 180 | negativ |
| 109 I | 88 | 0 | 80 | negativ |

| | | | | |
|------------|-------|-----|-----|---------|
| 194 | 32 | 1,6 | 120 | negativ |
| 206 | 78,4 | 4,8 | 260 | negativ |
| 247 | 107,2 | 1,6 | 130 | negativ |
| 250 | 89,6 | 3,2 | 180 | negativ |
| 279 | 60,8 | 1,6 | 230 | negativ |

Tabelle 41: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) des immunpathologischen Subtypes III

| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|-------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------|---|
| 43 | 116,8 | 14,4 | 320 | negativ |
| 128 | 94,4 | 4,8 | 190 | negativ |

Tabelle 42: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) spätaktiver Läsionen

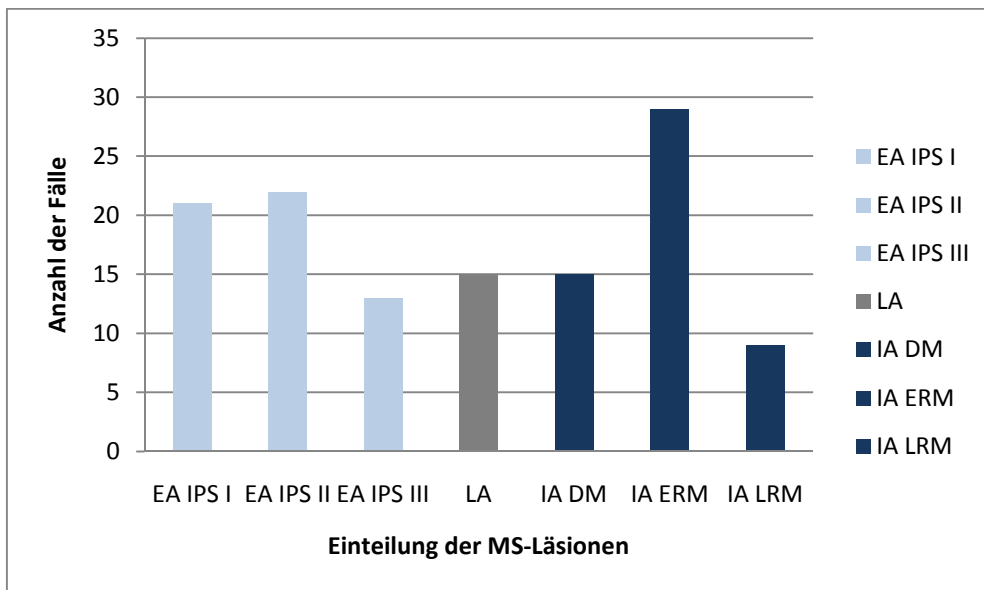
| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Faserглиose | Creutzfeldt-Peters-Zellen positiv/ negativ |
|-------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------|---|
| 5 (1) | 124,8 | 6,4 | 170 | negativ |
| 16 II | 108,8 | 3,2 | 200 | negativ |
| 24 | 57,6 | 0 | 240 | negativ |
| 36 | 72 | 3,2 | 150 | negativ |
| 54 | 137,6 | 28,8 | 180 | negativ |
| 60 | 104 | 1,6 | 80 | negativ |
| 112 | 107,2 | 4,8 | 290 | negativ |

Tabelle 43: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) inaktiv demyelinisierten Läsionen

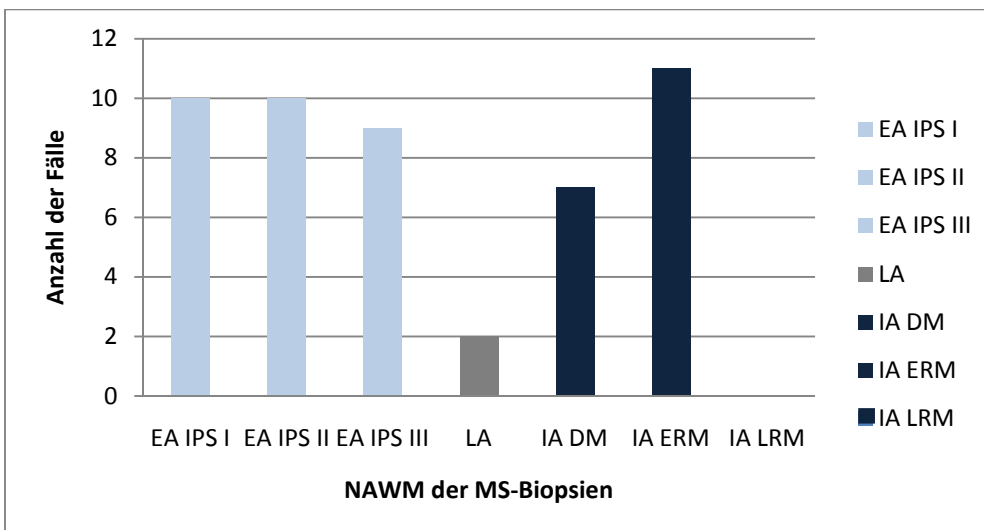
| Fallnummer | reaktiv veränderte Astrozyten | Astrozyten mit Zelleinschlüssen | astrozytäre Fasergliose | Creutzfeldt- Peters-Zellen positiv/ negativ |
|------------|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|---|
| 4 | 76,8 | 2,4 | 210 | negativ |
| 5 (2) | 75,2 | 4,8 | 140 | negativ |
| 25 | 128 | 3,2 | 230 | negativ |
| 34 | 105,6 | 3,2 | 230 | negativ |
| 68 | 107,2 | 3,2 | 290 | negativ |
| 90 | 113,6 | 6,4 | 370 | negativ |
| 99 | 92,8 | 17,6 | 360 | negativ |
| 103 | 52,8 | 3,2 | 310 | negativ |
| 119 | 81,6 | 4,8 | 300 | negativ |
| 129 | 92,8 | 9,6 | 110 | negativ |
| 131 | 108,8 | 4,8 | 340 | negativ |

Tabelle 44: Ermittelte Werte (Zellen/mm² bzw. Faserdichte in %) und das Auftreten von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) inaktiv frühremyelinisierenden Läsionen

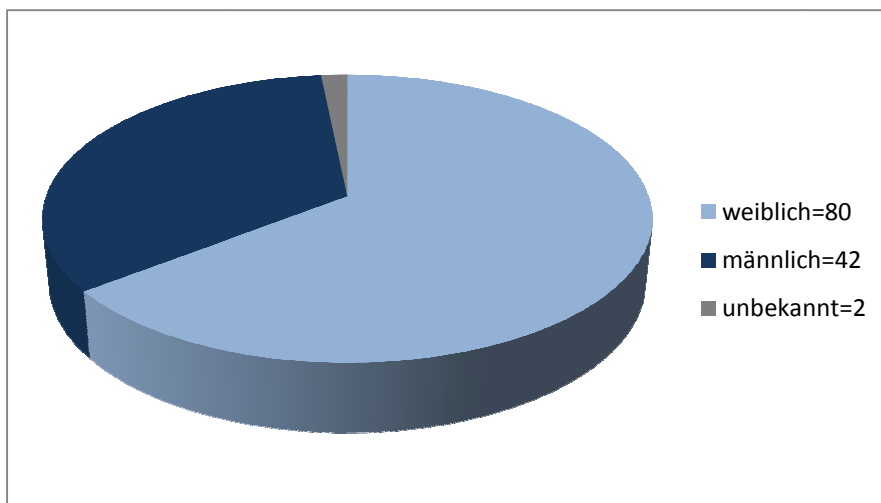
6.2 Graphische Darstellungen



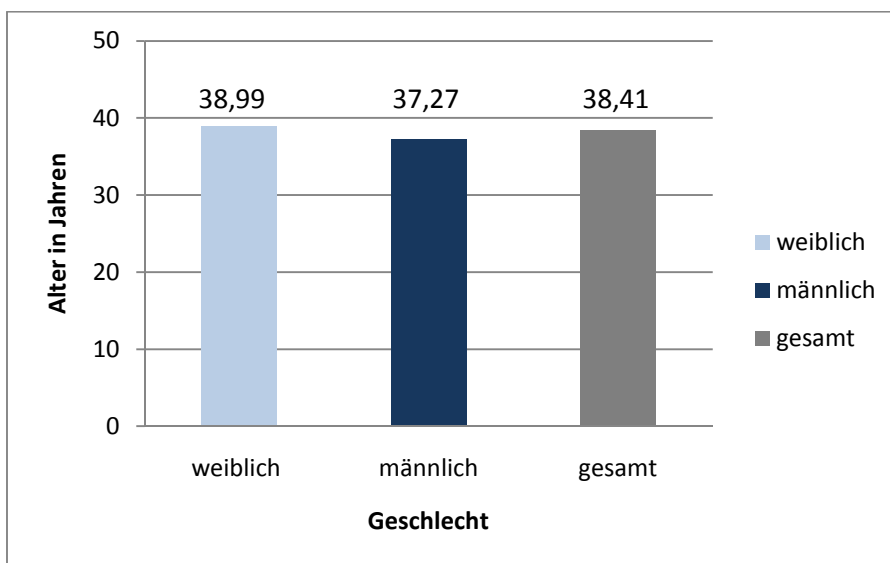
Graph 1: Graphische Darstellung der Verteilung der untersuchten Multiple-Sklerose-Läsionen: EA-Läsionen: n=56, IPS (immunpathologischer Subtyp) I: n=21, IPS II: n=22, IPS III: n=13, LA-Läsionen: n=15, IA-Läsionen: n=53, IA DM-Läsionen: n=15, IA ERM-Läsionen: n=29, IA LRM-Läsionen: n=9



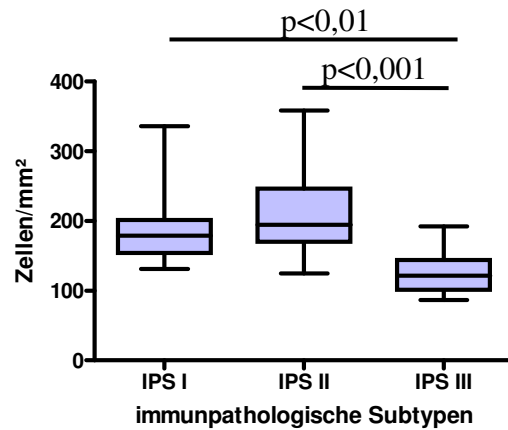
Graph 2: Graphische Darstellung der Verteilung der untersuchten NAWM der Multiple-Sklerose-Läsionen: EA-Läsionen: n=29, IPS (immunpathologischer Subtyp) I: n=10, IPS II: n=10, IPS III: n=9, LA-Läsionen: n=2, IA-Läsionen: n=18, IA DM-Läsionen: n=7, IA ERM-Läsionen: n=11, IA LRM-Läsionen: n=0



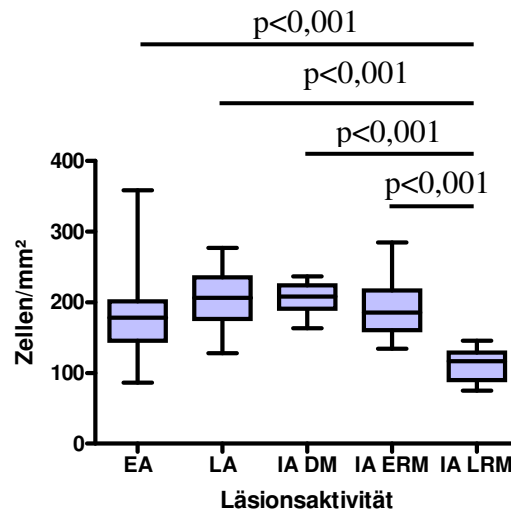
Graph 3: Graphische Darstellung der Geschlechterverteilung der Läsionen biopsierter Patienten mit Multipler Sklerose: Gesamtzahl der Läsionen=124



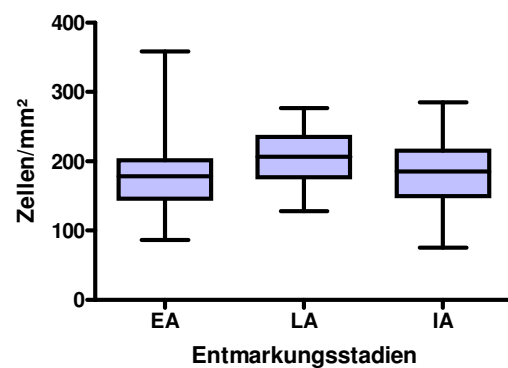
Graph 4: Graphische Darstellung für das durchschnittliche Alter der Patienten mit Multipler Sklerose zum Zeitpunkt der Biopsie.



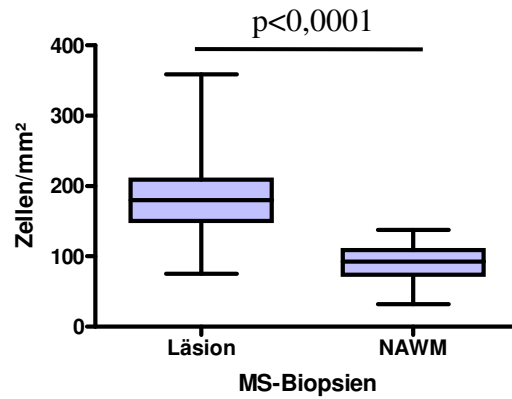
Graph 5: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/mm²) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



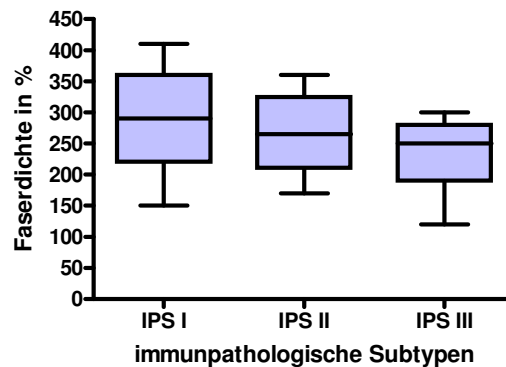
Graph 6: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/mm²) in Bezug auf die Läsionsaktivitäten der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



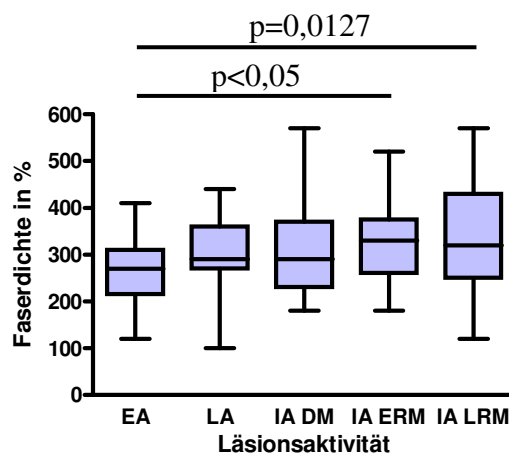
Graph 7: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/mm²) in Bezug auf die Entmarkungsstadien der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



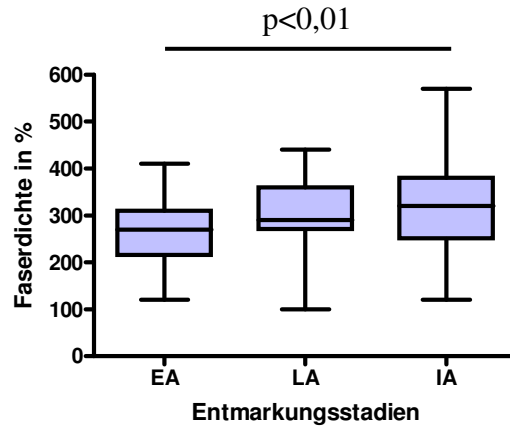
Graph 8: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/mm²) in MS-Läsionen und der angrenzenden normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM). Signifikante p-Werte sind dargestellt



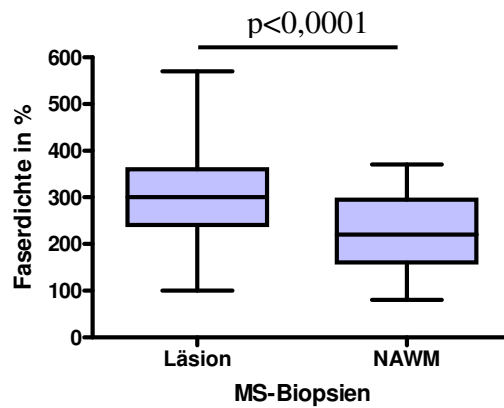
Graph 9: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



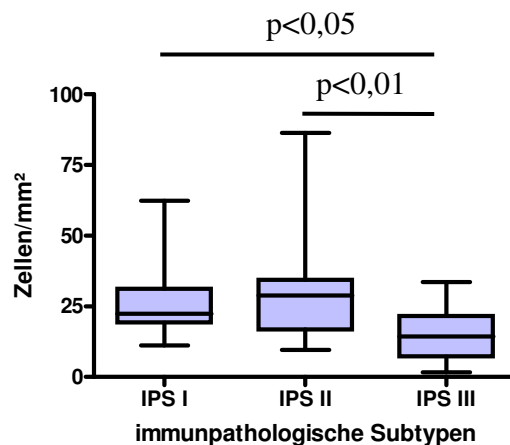
Graph 10: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf die Läsionsaktivitäten der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



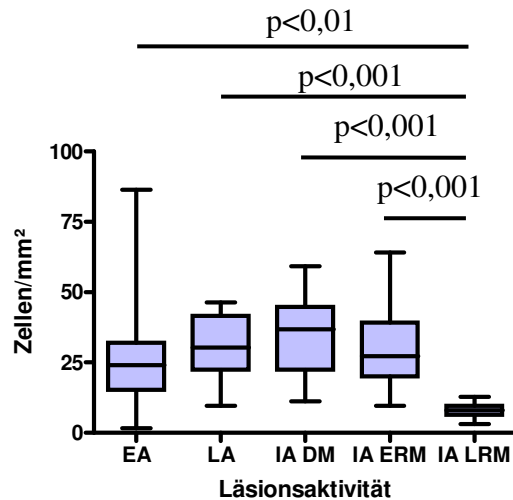
Graph 11: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf die Entmarkungsstadien der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



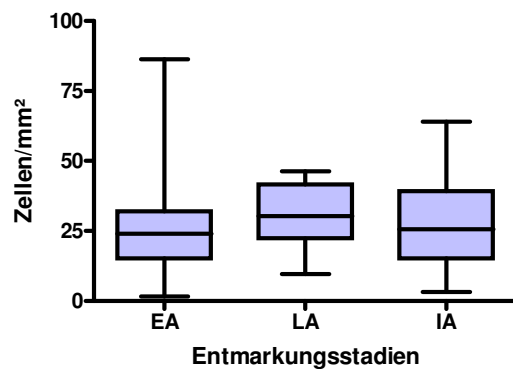
Graph 12: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in MS-Läsionen und der angrenzenden normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM). Signifikante p-Werte sind dargestellt



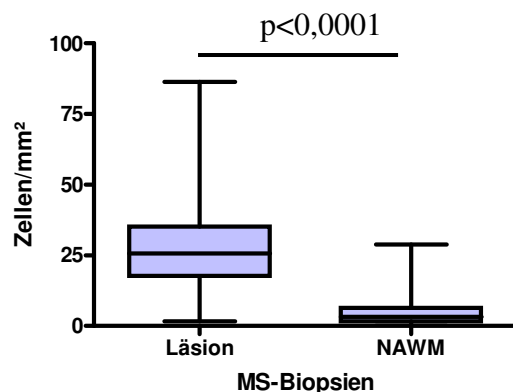
Graph 13: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/mm²) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



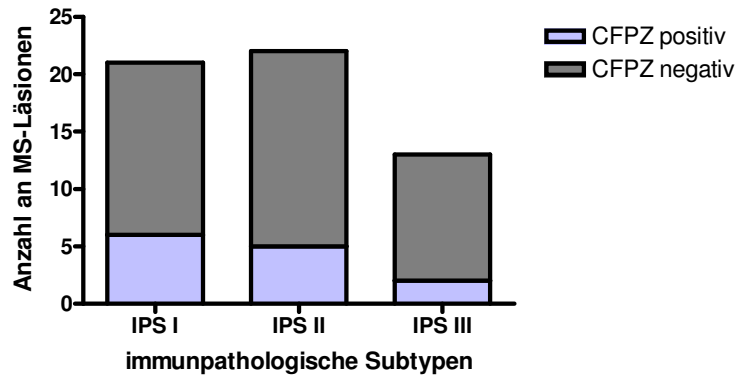
Graph 14: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in Bezug auf die Läsionsaktivitäten der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



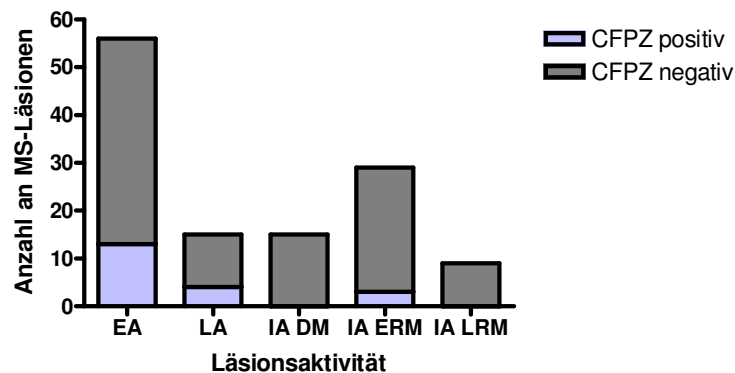
Graph 15: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in Bezug auf die Läsionsaktivitäten der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



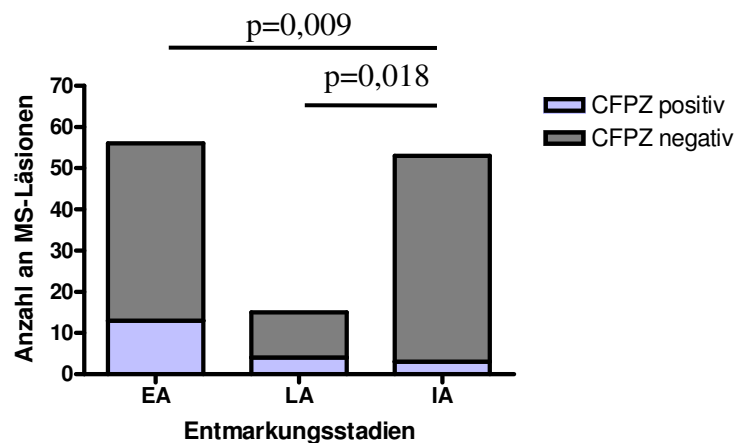
Graph 16: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in MS-Läsionen und der angrenzenden normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM). Signifikante p-Werte sind dargestellt



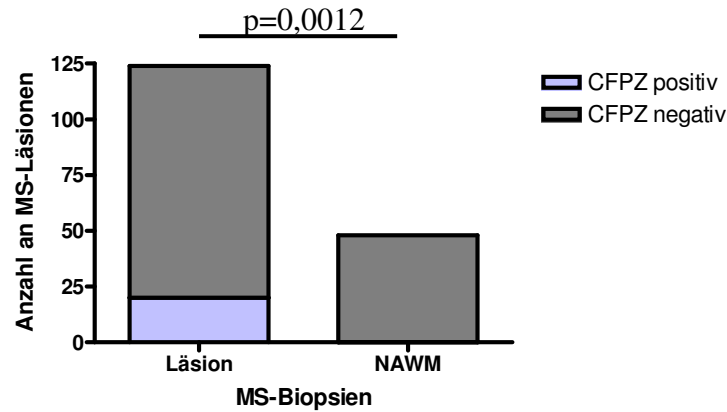
Graph 17: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



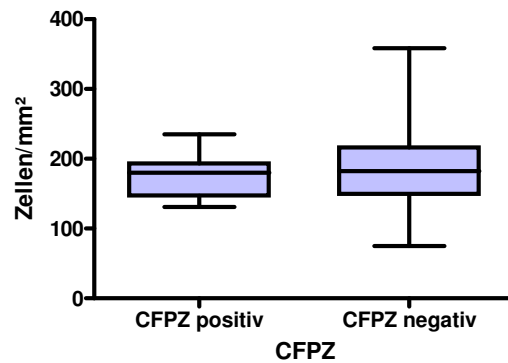
Graph 18: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Bezug auf die Läsionsaktivitäten der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



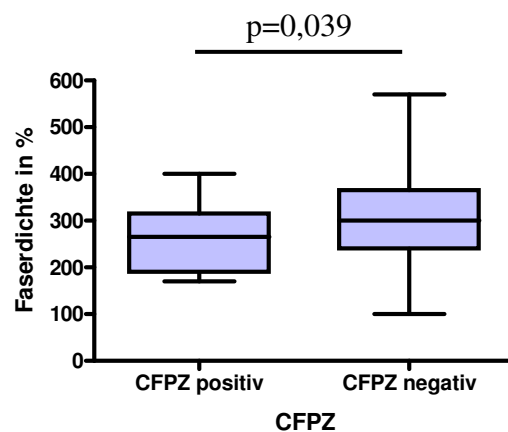
Graph 19: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Bezug auf die Entmarkungsstadien der einzelnen MS-Läsionen. Signifikante p-Werte sind dargestellt



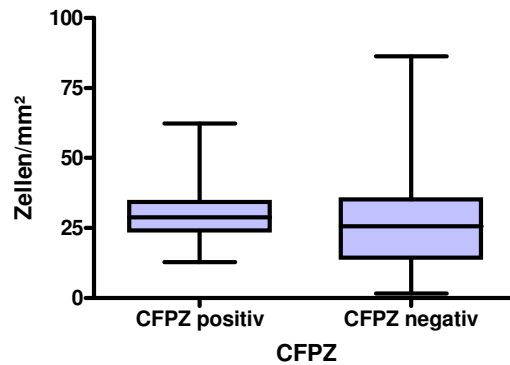
Graph 20: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in MS-Läsionen und der angrenzenden normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM). Signifikante p-Werte sind dargestellt



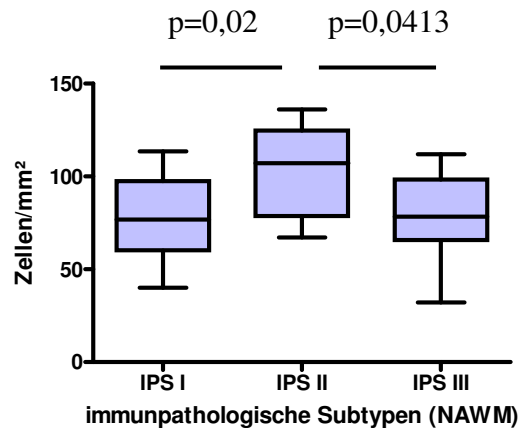
Graph 21: Graphische Darstellung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/ mm²) in Bezug auf das Vorhandensein von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ). Signifikante p-Werte sind dargestellt



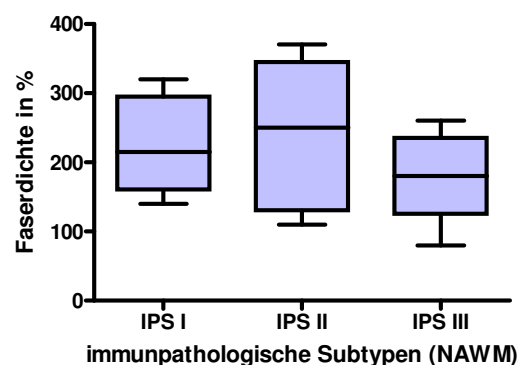
Graph 22: Graphische Darstellung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf das Vorhandensein von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ). Signifikante p-Werte sind dargestellt



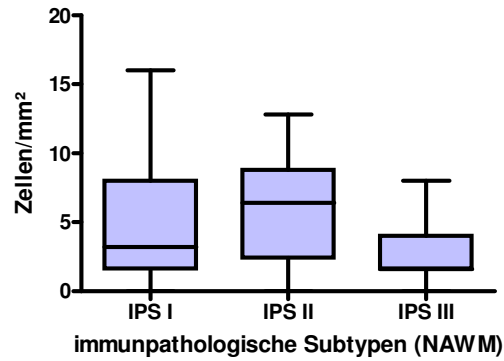
Graph 23: Graphische Darstellung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in Bezug auf das Vorhandensein von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ). Signifikante p-Werte sind dargestellt



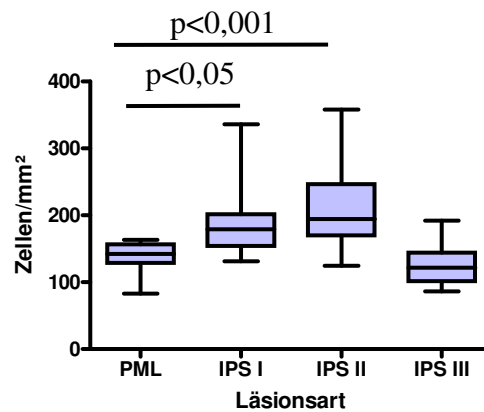
Graph 24: Graphische Darstellung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/ mm²) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS). Signifikante p-Werte sind dargestellt



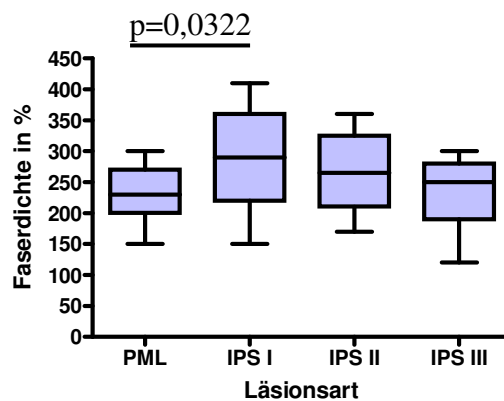
Graph 25: Graphische Darstellung der Astrozytenfaserdichte (in %) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS). Signifikante p-Werte sind dargestellt



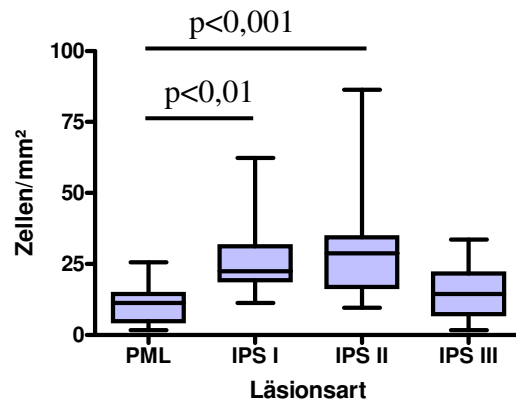
Graph 26: Graphische Darstellung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS). Signifikante p-Werte sind dargestellt



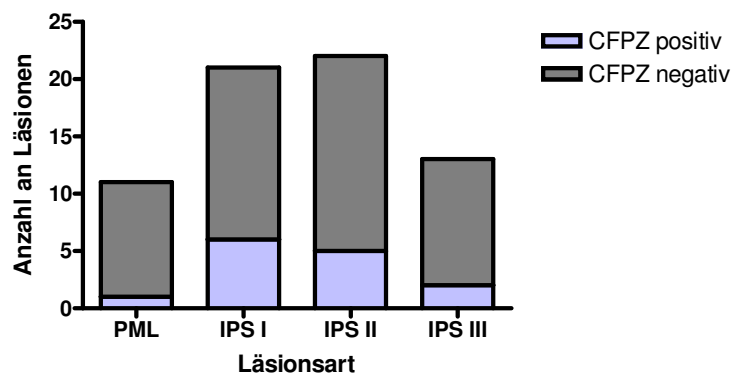
Graph 27: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/ mm²) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen im Vergleich mit Läsionen der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML). Signifikante p-Werte sind dargestellt



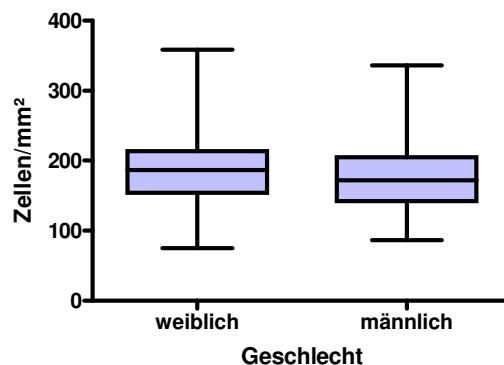
Graph 28: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf die immunpathologische Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen im Vergleich mit Läsionen der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML). Signifikante p-Werte sind dargestellt



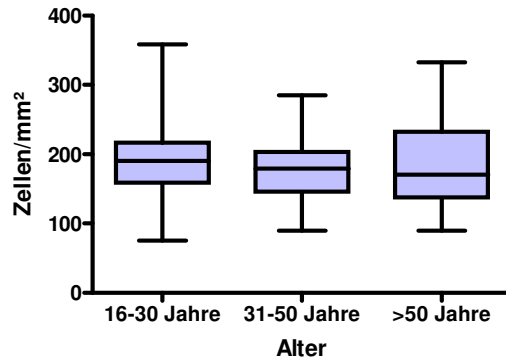
Graph 29: Graphische Darstellung der Verteilung reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen im Vergleich mit Läsionen der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML). Signifikante p-Werte sind dargestellt



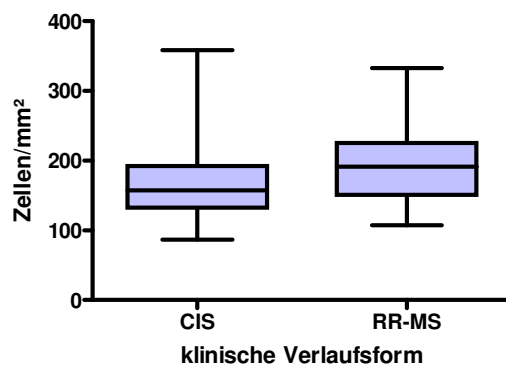
Graph 30: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Bezug auf die immunpathologischen Subtypen (IPS) frühaktiver MS-Läsionen im Vergleich mit Läsionen der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML). Signifikante p-Werte sind dargestellt



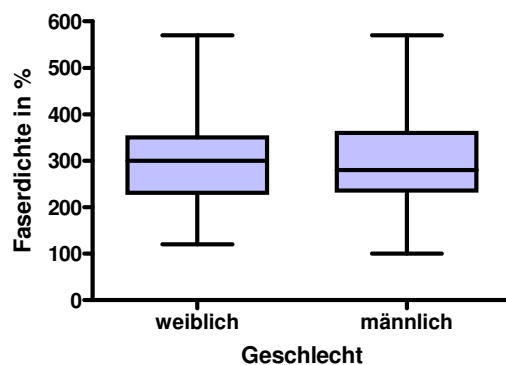
Graph 31: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten in Bezug auf das Geschlecht der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



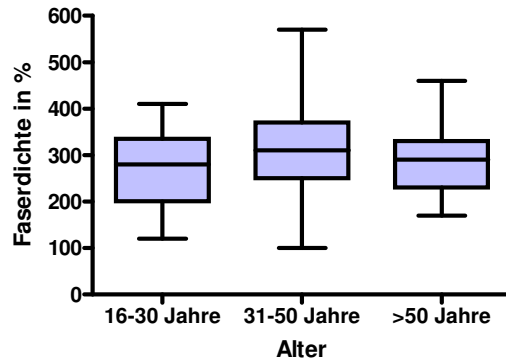
Graph 32: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/mm²) in Bezug auf das Alter zum Zeitpunkt der Biopsie der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



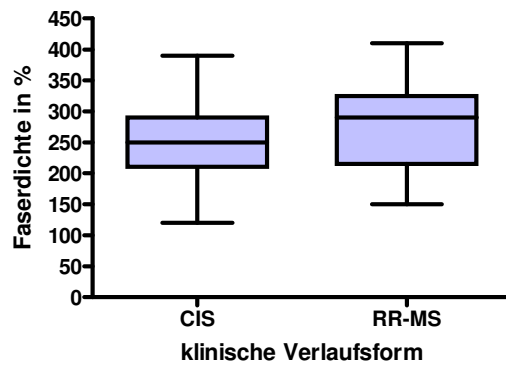
Graph 33: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten (Zellen/mm²) in Bezug auf die klinische Verlaufsform der Patienten: CIS = „clinically isolated syndrome“, RR-MS = schubförmig remittierender Verlauf. Signifikante p-Werte sind dargestellt



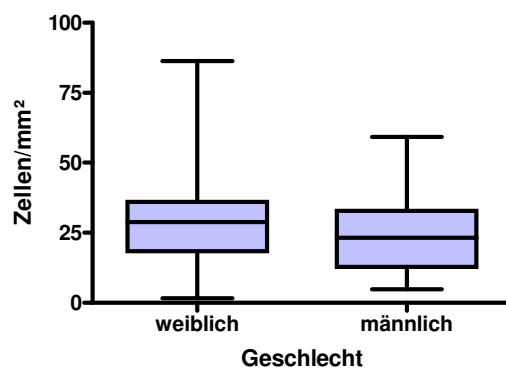
Graph 34: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf das Geschlecht der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



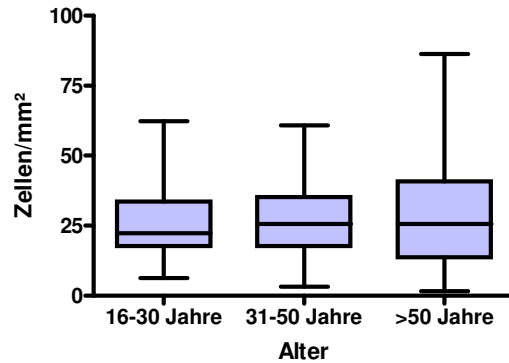
Graph 35: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf das Alter zum Zeitpunkt der Biopsie der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



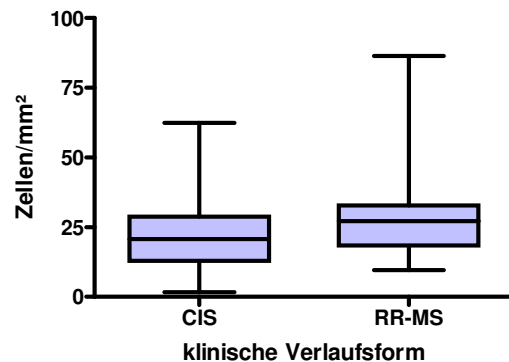
Graph 36: Graphische Darstellung der Verteilung der Astrozytenfaserdichte (in %) in Bezug auf die klinische Verlaufsform der Patienten: CIS = „clinically isolated syndrome“, RR-MS = schubförmig remittierender Verlauf. Signifikante p-Werte sind dargestellt



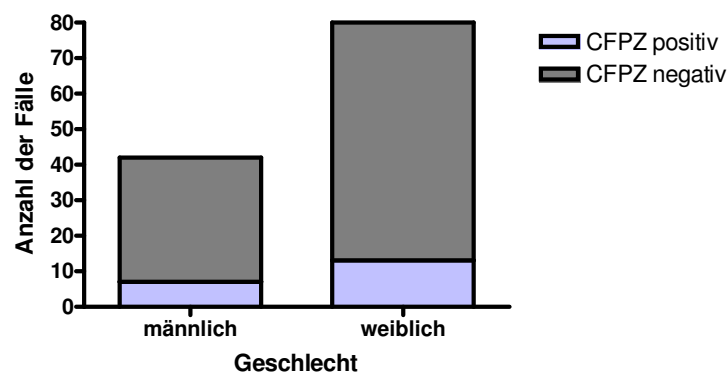
Graph 37: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in Bezug auf das Geschlecht der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



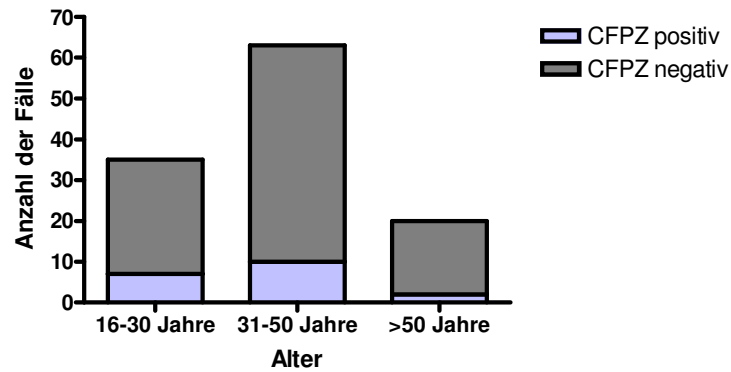
Graph 38: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in Bezug auf das Alter zum Zeitpunkt der Biopsie der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



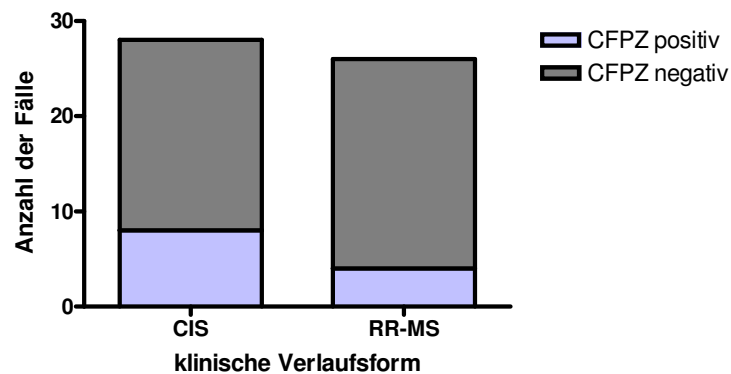
Graph 39: Graphische Darstellung der Verteilung der reaktiv veränderten Astrozyten mit Zelleinschlüssen (Zellen/ mm²) in Bezug auf die klinische Verlaufsform der Patienten: CIS = „clinically isolated syndrome“, RR-MS = schubförmig remittierender Verlauf. Signifikante p-Werte sind dargestellt



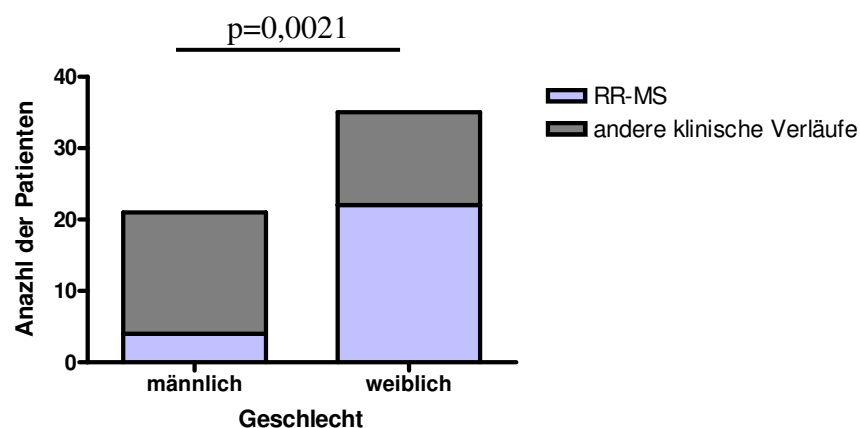
Graph 40: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Bezug auf das Geschlecht der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



Graph 41: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Bezug auf das Alter zum Biopsiezeitpunkt der Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt



Graph 42: Graphische Darstellung des Vorkommens von Creutzfeldt-Peters-Zellen (CFPZ) in Bezug auf die klinische Verlaufsform der Patienten: CIS = „clinically isolated syndrome“, RR-MS = schubförmig remittierender Verlauf. Signifikante p-Werte sind dargestellt



Graph 43: Graphische Darstellung der Verteilung des schubförmig-remittierenden Krankheitsverlaufs (RR-MS) in Bezug auf das Geschlecht der MS-Patienten. Signifikante p-Werte sind dargestellt

6.3 Abbildungen

6.3.1 Neuropathologische Befunde bei Multipler Sklerose

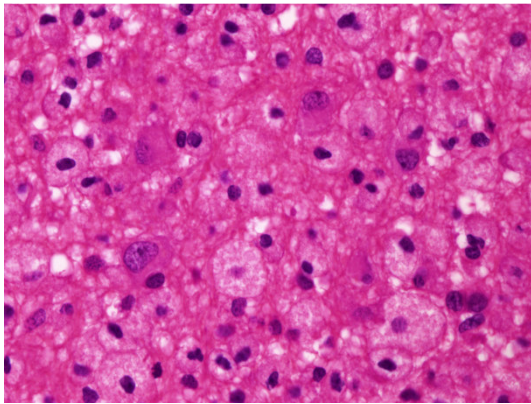


Abb. 1

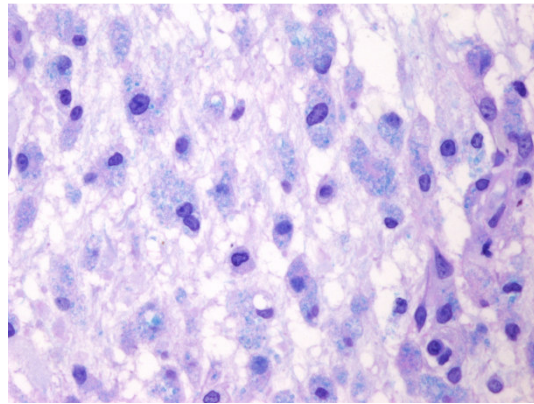


Abb. 2

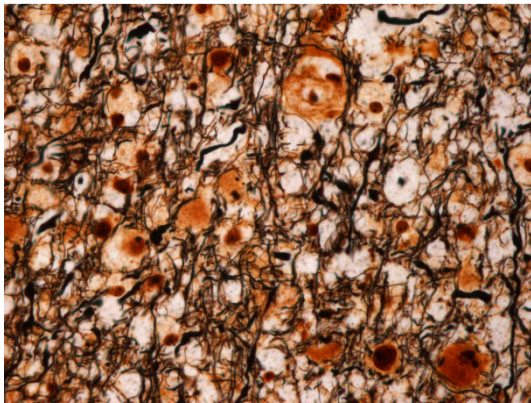


Abb. 3

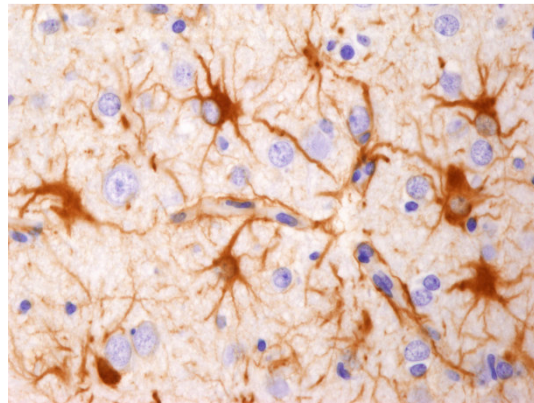


Abb. 4

Abb. 1: Entzündliches Infiltrat mit zahlreichen Makrophagen und Lymphozyten in einer EA-Läsion des Subtyp II (Fall 167): HE, 400fache Vergrößerung

Abb. 2: Demyelinisierung in einer EA-Läsion des Subtyp II (Fall 167): LFB-PAS, 400fache Vergrößerung

Abb. 3: Axonaler Verlust in einer EA-Läsion des Subtyp II (Fall 167): Silberimprägnierung nach Bielschowsky, 400fache Vergrößerung

Abb. 4: Astrozytäre Gliose in einer EA-Läsion des Subtyp II (Fall 167): GFAP, 400fache Vergrößerung

6.3.2 Reaktive astrozytäre Veränderungen

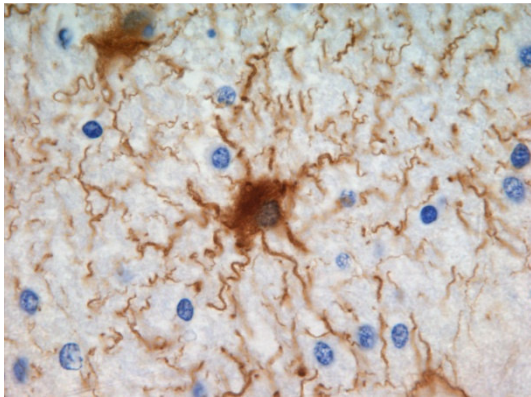


Abb. 5

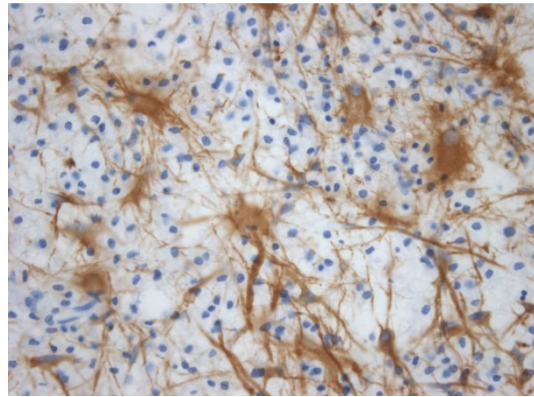


Abb. 6

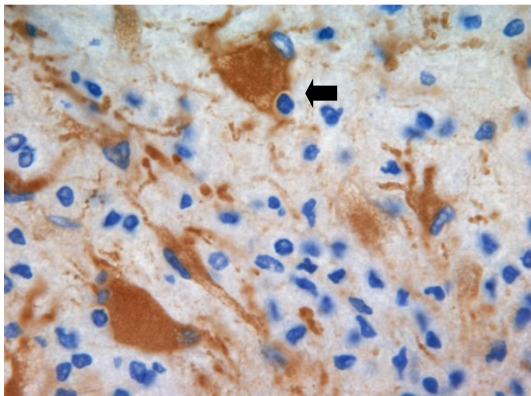


Abb. 7

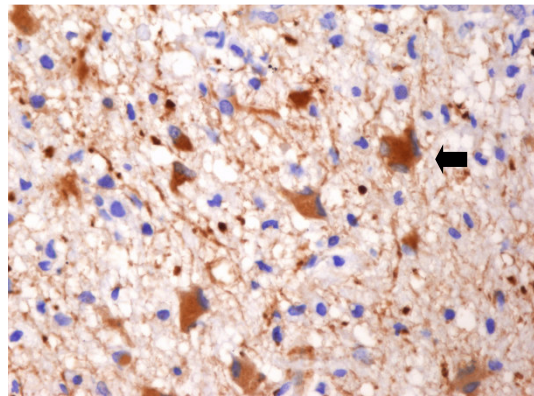


Abb. 8

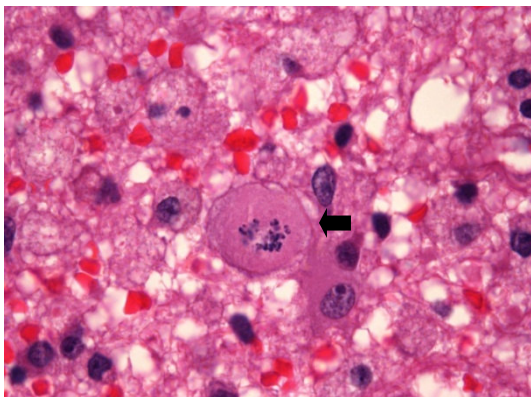


Abb. 9

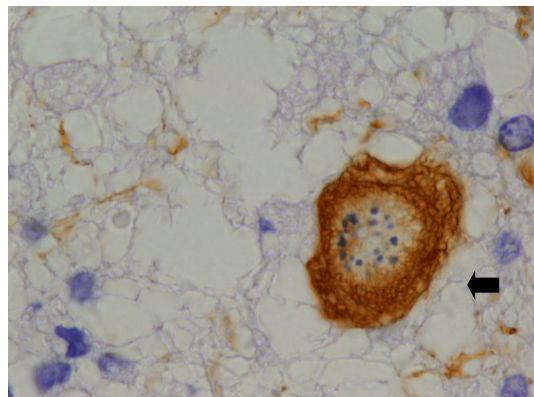


Abb. 10

Abb. 5 und 6: Hypertrophie reaktiv veränderte Astrozyten mit multidirektionalen faserigen Zytoplasmaausläufern in einer IA ERM-Läsion (Fall 131 - Abb. 5) und in einer LA-Läsion (Fall 155 - Abb. 6): GFAP, 1000fache und 400fache Vergrößerung

Abb. 7 und 8: Inkorporierte Kerneinschlüsse in Astrozyten (◄) in einer IA DM-Läsion (Fall 26 - Abb. 7) und in einer LA-Läsion (Fall 158 - Abb. 8): GFAP, 1000fache Vergrößerung und 400fache Vergrößerung

Abb. 9 und 10: Creutzfeldt-Peterszellen (◄) in einer EA-Läsionen des Subtyp II (Fall 167 - Abb. 9 und Fall 51- Abb. 10): HE und GFAP, 1000fache Vergrößerung

6.3.3 Heterogenität der astroglialen Veränderungen

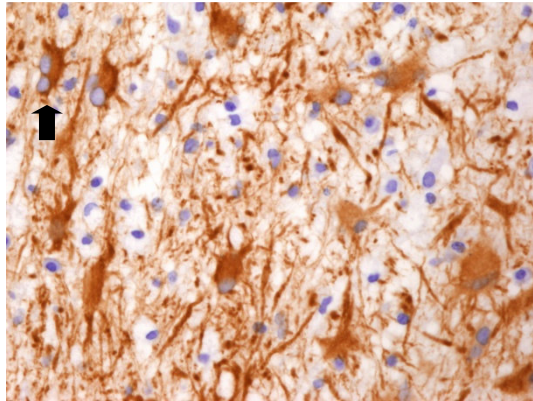


Abb. 11

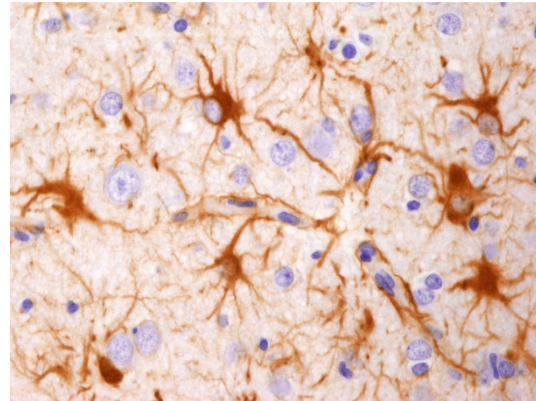


Abb. 12

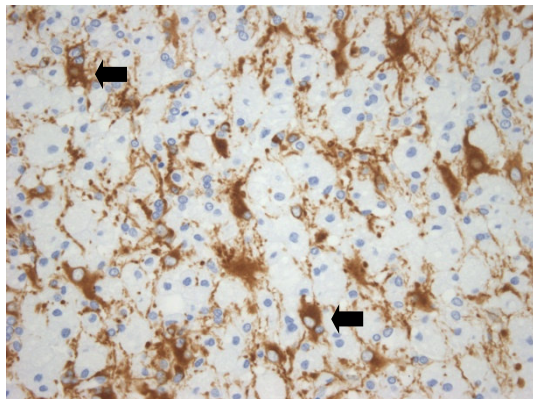


Abb. 13

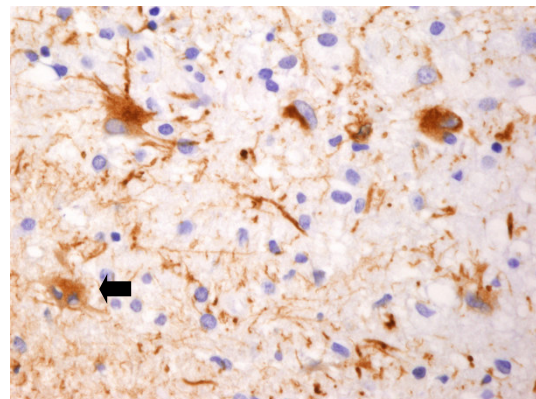


Abb. 14

Abb. 11: Zahlreiche reaktiv veränderte hypertrophe Astrozyten, astrozytäre Fasergliose sowie reaktive Astrozyten mit Zelleinschlüssen (◄) in einer EA-Läsion des Subtyp I (Fall 141): GFAP, 400fache Vergrößerung

Abb. 12 und 13: Ebenfalls zahlreiche reaktiv veränderte hypertrophe Astrozyten, astrozytäre Fasergliose und Astrozyten mit Zelleinschlüssen (◄) in EA-Läsionen des Subtyp II (Bild 12: Fall 167, Bild 13: Fall 134): GFAP, 400fache Vergrößerung

Abb. 14: Geringere Dichte an reaktiv veränderten hypertrophen Astrozyten sowie an astrozytärer Fasergliose sowie Nachweis von intrazytoplasmatischen Einschlüssen (◄) in einer EA-Läsion des Subtyp III (Fall 176): GFAP, 400fache Vergrößerung

6.3.4 Läsionsaktivitäten

Frühaktive Läsionsaktivität

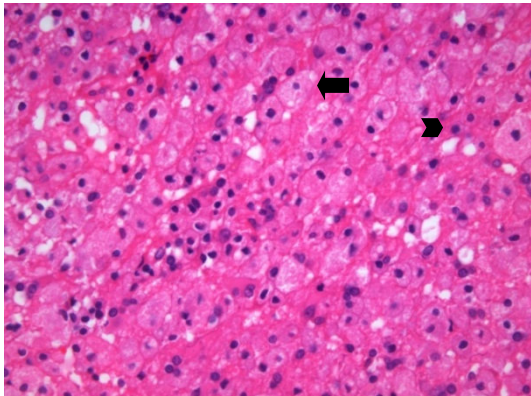


Abb. 15

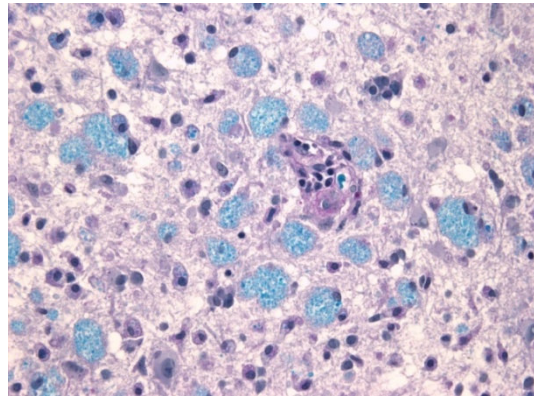


Abb. 16

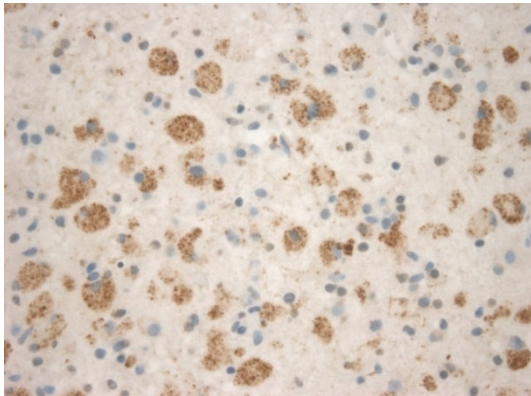


Abb. 17

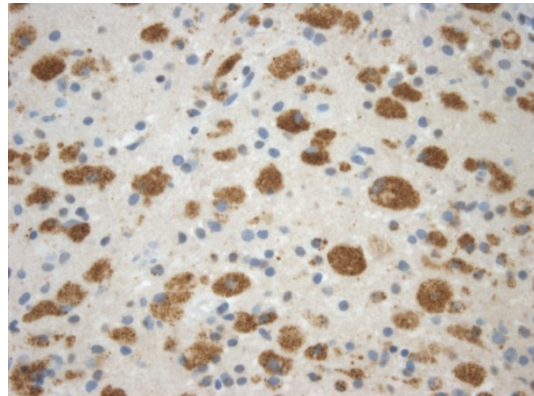


Abb. 18

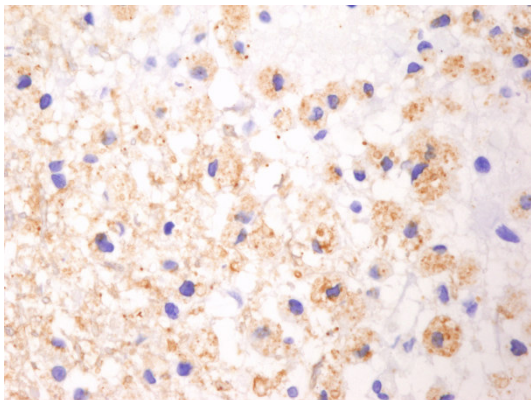


Abb. 19

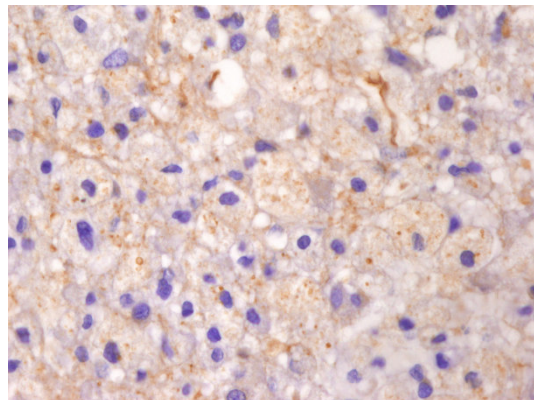


Abb. 20

Abb. 15: Entzündliches Infiltrat mit zahlreichen schaumzelligen Makrophagen (◄) und schütteren Lymphozyten (◄) in einer EA-Läsion des Subtyp II (Fall 134): HE, 400fache Vergrößerung

Abb. 16: Mit blau gefärbtem Myelin beladene schaumzellige Makrophagen in einer EA-Läsionen des Subtyp II (Fall 79): LFB-PAS, 400fache Vergrößerung

Abb. 17 und 18: Mit MBP (Abb. 17) und PLP (Abb. 18) beladene Makrophagen einer EA-Läsion des Subtyp II (Fall 79): 400fache Vergrößerung

Abb. 19 und 20: Mit MOG (Abb. 19) und MAG (Abb. 20) beladene Makrophagen einer EA-Läsion des Subtyp II (Fall 167): 400fache Vergrößerung

Inaktive Läsionsaktivität

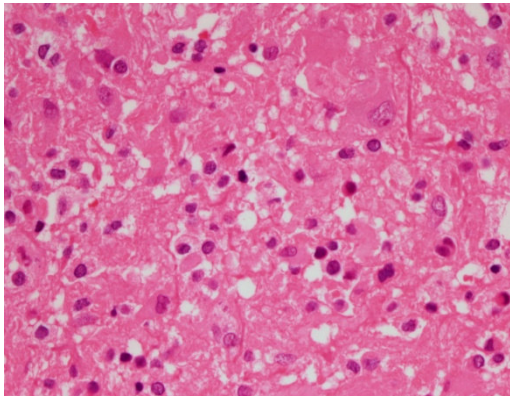


Abb. 21

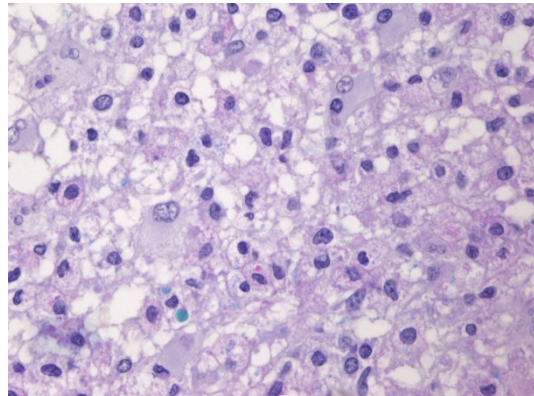


Abb. 22

Abb. 21: Geringere Infiltration von Entzündungszellen im Vergleich zu EA-Läsionen in einer inaktiven demyelinisierten Läsion (Fall 112): HE, 400fache Vergrößerung

Abb. 22: Komplette demyelinisierte inaktive Läsion, Makrophagen enthalten keine Myelinabbauprodukte (Fall 16): LFB-PAS, 400fache Vergrößerung

6.3.5 Remyelinisierung

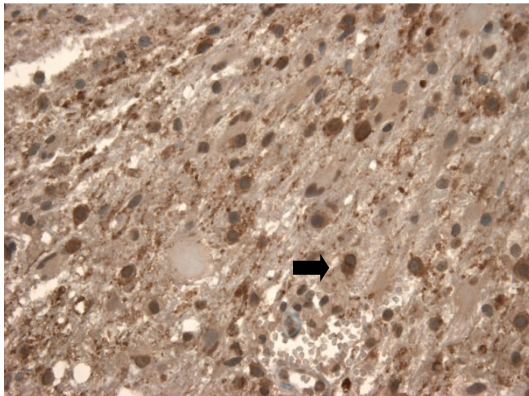


Abb. 23

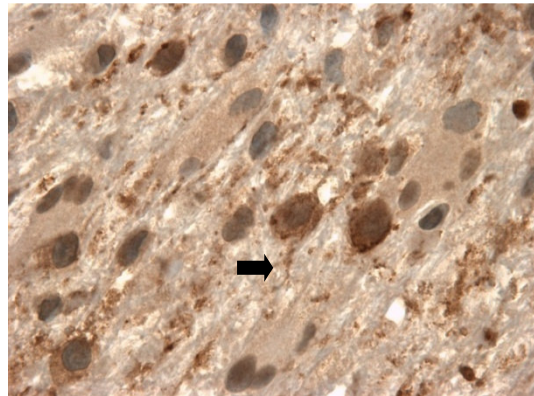


Abb. 24

Abb. 23: Oligodendrozyten (➡) in einer IA ERM-Läsion (Fall 48): CNP, 400fache Vergrößerung

Abb. 24: Oligodendrozyten zeigen feine Ausläufer (➡) in einer IA ERM-Läsion (Fall 48): CNP, 1000fache Vergrößerung

6.3.6 Progressive multifokale Leukenzephalopathie

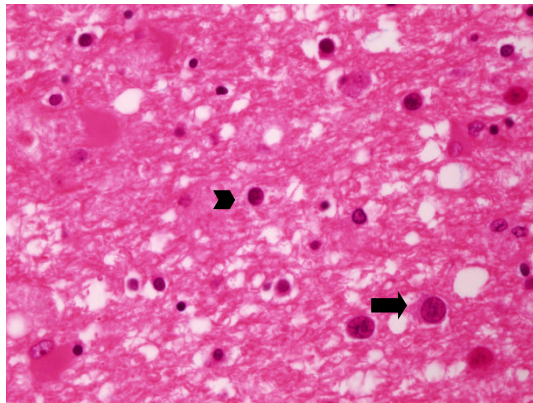


Abb. 25

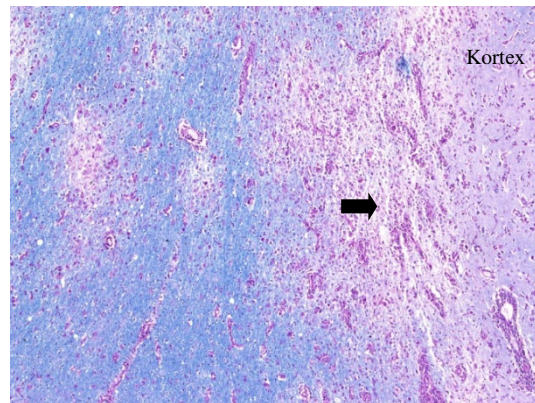


Abb. 26

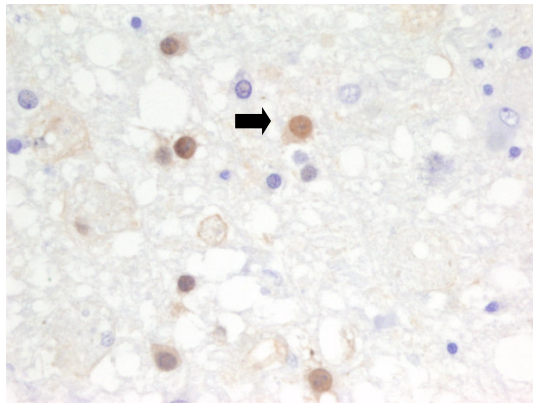


Abb. 27

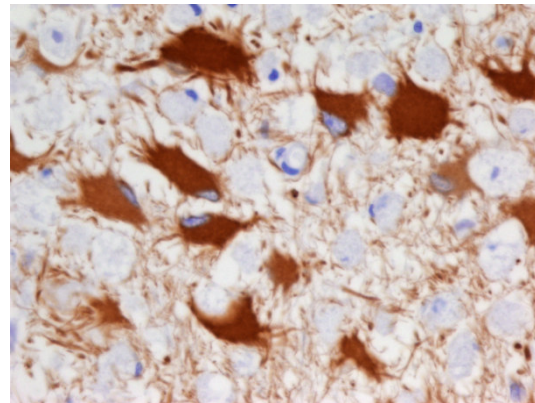


Abb. 28

Abb. 25: Geringfügiges lymphozytäres Infiltrat (➤) und typische milchglasartige Veränderungen in Oligodendrozyten (➡) einer PML-Läsion (Fall A 128-08): HE, 400fache Vergrößerung

Abb. 26: Typische subkortikale Entmarkung der PML (➡) (Fall 05-1139): LFB-PAS, 400 fache Vergrößerung

Abb. 27: Mit JC-Virus befallene Oligodendrozyten in einer PML-Läsion (➡) (Fall A 128-08): PAb 2003, 400fache Vergrößerung

Abb. 28: Reaktiv veränderte hypertrophe Astrozyten in einer PML-Läsion (422-90): GFAP, 400fache Vergrößerung

7. Literaturverzeichnis

Abbott NJ (2002): Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J Anat* 200(6), 629-38

Aboul-Enein F, Rauschka H, Kornek B, Stadelmann C, Stefferl A, Bruck W, Lucchinetti C, Schmidbauer M, Jellinger K, Lassmann H (2003): Preferential loss of myelin-associated glycoprotein reflects hypoxia-like white matter damage in stroke and inflammatory brain diseases. *J Neuropathol Exp Neurol* 62(1), 25-33

Aharoni R, Teitelbaum D, Leitner O, Meshorer A, Sela M, Arnon R (2000): Specific Th2 cells accumulate in the central nervous system of mice protected against experimental autoimmune encephalomyelitis by copolymer 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(21), 11472-7

Aksamit AJ, (1995): Progressive multifocal leukoencephalopathy: a review of the pathology and pathogenesis. *Microsc Res Tech* 32(4), 302-11

Aksamit AJ (2008): Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Curr Treat Options Neurol* 10(3), 178-85

Aksamit AJ, Gendelman HE, Orenstein JM and Pezeshkpour GH (1990): AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy (PML): comparison to non-AIDS PML with in situ hybridization and immunohistochemistry. *Neurology* 40(7), 1073-8

Al-Ali SY, Al-Hussain SM (1996): An ultrastructural study of the phagocytic activity of astrocytes in adult rat brain. *J Anat* 188(Pt 2), 257-62

Allen IV, McKeown SR (1979): A histological, histochemical and biochemical study of the macroscopically normal white matter in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 41(1), 81-91.

Allen IV, McQuaid S, Mirakhor M, Nevin G (2001): Pathological abnormalities in the normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurol Sci* 22(2), 141-4

Aloisi F, Penna G, Cerase J, Menendez Iglesias B, Adorini L (1997): IL-12 production by central nervous system microglia is inhibited by astrocytes. *J Immunol* 159(4), 1604-12

Al-Omaishi J, Bashir R, Gendelman HE (1999): The cellular immunology of multiple sclerosis. *J Leukoc Biol* 65(4), 444-52

Amato MP, Ponziani G, Bartolozzi ML, Siracusa G (1999): A prospective study on the natural history of multiple sclerosis: clues to the conduct and interpretation of clinical trials. *J Neurol Sci* 168(2), 96-106

Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, Goebels N, Hohlfeld R, Friese M, Schroder R, Deckert M, Schmidt S, Ravid R, Rajewsky K (2000): Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 192(3), 393-404

Bakhit C, Armanini M, Bennett GL, Wong WL, Hansen SE, Taylor R (1991): Increase in glia-derived nerve growth factor following destruction of hippocampal neurons. *Brain Res* 560(1-2), 76-83

Barkhof F, Brück W, De Groot CJ, Bergers E, Hulshof S, Geurts J, Polman CH, van der Valk P (2003): Remyelinated lesions in multiple sclerosis: magnetic resonance image appearance. *Arch Neurol* 60(8), 1073-81

Barnett MH, Prineas JW (2004): Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol* 55(4), 458-68

Baron-Van Evercooren A, Avellana-Adalid V, Ben Younes-Chennoufi A, Gansmuller A, Nait-Oumesmar B, Vignais L (1996): Cell-cell interactions during the migration of myelin-forming cells transplanted in the demyelinated spinal cord. *Glia* 16(2), 147-64

Bass NH, Hess HH, Pope A, Thalheimer C (1971): Quantitative cytoarchitectonic distribution of neurons, glia, and DNA in rat cerebral cortex. *J Comp Neurol* 143(4), 481-90

Baum HM, Rothschild BB (1981): The incidence and prevalence of reported multiple sclerosis. *Ann Neurol* 10(5), 420-8

Becher B, Prat A, Antel JP (2000): Brain-immune connection: immuno-regulatory properties of CNS-resident cells. *Glia* 29(4), 293-304

Belmadani A, Tran PB, Ren D, Miller RJ (2006): Chemokines regulate the migration of neural progenitors to sites of neuroinflammation. *J Neurosci* 26(12), 3182-91

Bignami A, Dahl D (1977): Specificity of the glial fibrillary acidic protein for astroglia. *J Histochem Cytochem* 25(6), 466-9

Bitsch A, Brück W (2002): Differentiation of multiple sclerosis subtypes: implications for treatment. *CNS Drugs* 16(6), 405-18

Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Brück W (2000a): Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 123(Pt 6), 1174-83

Bitsch A, Kuhlmann T, Da Costa C, Bunkowski S, Polak T and Brück W (2000b): Tumour necrosis factor alpha mRNA expression in early multiple sclerosis lesions: correlation with demyelinating activity and oligodendrocyte pathology. *Glia* 29(4), 366-75

Bö L, Mork S, Kong PA, Nyland H, Pardo CA, Trapp BD (1994): Detection of MHC class II-antigens on macrophages and microglia, but not on astrocytes and endothelia in active multiple sclerosis lesions. *J Neuroimmunol* 51(2), 135-46

Bronnum-Hansen H, Koch-Henriksen N, Hyllested K (1994): Survival of patients with multiple sclerosis in Denmark: a nationwide, long-term epidemiologic survey. *Neurology* 44(10), 1901-7

Brown AM, Ransom BR (2007): Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia* 55(12), 1263-71

Brück W, Schmied M, Suchanek G, Brück Y, Breitschopf H, Poser S, Piddlesden S, Lassmann H (1994): Oligodendrocytes in the early course of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 35(1), 65-73

Brück W, Porada P, Poser S, Rieckmann P, Hanefeld F, Kretzschmar HA, Lassmann H (1995): Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 38(5), 788-96

Brück W (2005 a): Inflammatory demyelination is not central to the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neurol* 252(Suppl 5), v10-5

Brück W (2005 b): The pathology of multiple sclerosis is the result of focal inflammatory demyelination with axonal damage. *J Neurol* 252(Suppl 5), v3-9

Bsibsi M, Persoon-Deen C, Verwer RW, Meeuwse S, Ravid R, Van Noort JM (2006): Toll-like receptor 3 on adult human astrocytes triggers production of neuroprotective mediators. *Glia* 53(7), 688-95

Calabrese LH, Molloy ES, Huang D, Ransohoff RM (2007): Progressive multifocal leukoencephalopathy in rheumatic diseases: evolving clinical and pathologic patterns of disease. *Arthritis Rheum* 56(7), 2116-28

Calderon TM, Eugenin EA, Lopez L, Kumar SS, Hesselgesser J, Raine CS, Berman JW (2006): A role for CXCL12 (SDF-1alpha) in the pathogenesis of multiple sclerosis: regulation of CXCL12 expression in astrocytes by soluble myelin basic protein. *J Neuroimmunol* 177(1-2), 27-39

Carson MJ, Behringer RR, Brinster RL, McMorris FA (1993): Insulin-like growth factor I increases brain growth and central nervous system myelination in transgenic mice. *Neuron* 10(4), 729-40

Cepok S, Zhou D, Srivastava R, Nessler S, Stei S, Büssow K, Sommer N, Hemmer B (2005): Identification of Epstein-Barr virus proteins as putative targets of the immune response in multiple sclerosis. *J Clin Invest* 115(5), 1352-60

Challoner PB, Smith KT, Parker JD, MacLeod DL, Coulter SN, Rose TM, Schultz ER, Bennett JL, Garber RL, Chang M (1995): Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(16), 7440-4

Charcot JM (1868): Histologie de la sclerose en plaque. *Gaz Hopital (Paris)* 41, 554-566

Chavarria A, Alcocer-Varela J (2004): Is damage in central nervous system due to inflammation? *Autoimmun Rev* 3(4), 251-60

Chesik D, Wilczak N, De Keyser J (2007): The insulin-like growth factor system in multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol* 79, 203-26

Chiu FC, Norton WT, Fields KL (1981): The cytoskeleton of primary astrocytes in culture contains actin, glial fibrillary acidic protein, and the fibroblast-type filament protein, vimentin. *J Neurochem* 37(1), 147-55

Compston A, Coles A (2002): Multiple sclerosis. *Lancet* 359(9313), 1221-31

Cordell JL, Falini B, Erber WN, Ghosh AK, Abdulaziz Z, MacDonald S, Pulford KA, Stein H, Mason DY (1984): Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). *J Histochem Cytochem* 32(2), 219-29

Cornet A, Bettelli E, Oukka M, Cambouris C, Avellana-Adalid V, Kosmatopoulos K, Liblau RS (2000): Role of astrocytes in antigen presentation and naive T-cell activation. *J Neuroimmunol* 106(1-2), 69-77

Cosgrove M, Fitzgibbons PL, Sherrod A, Chandrasoma PT, Martin SE (1989): Intermediate filament expression in astrocytic neoplasms. *Am J Surg Pathol* 13(2), 141-5

Crawford MP, Yan SX, Ortega SB, Mehta RS, Hewitt RE, Price DA, Stastny P, Douek DC, Koup RA, Rucke MK, Karandikar NJ (2004): High prevalence of autoreactive, neuroantigen-specific CD8+ T cells in multiple sclerosis revealed by novel flow cytometric assay. *Blood* 103(11), 4222-31

Creutzfeldt HG (1923): Zur Frage der sogenannten akuten multiplen Sklerose (Encephalomyelitis disseminate non purulenta scleroticans (sub)acuta). Zugleich Mitteilung einer besonderen Entstehungsart von Riesenzellen. Arch Psych 68, 485-517

Cuadros MA, Navascués J (1998): The origin and differentiation of microglial cells during development. Prog Neurobiol 56(2), 173-89

da Cunha A, Vitkovic L (1992): Transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) expression and regulation in rat cortical astrocytes. J Neuroimmunol 36(2-3), 157-69

De Groot CJ, Ruuls SR, Theeuwes JW, Dijkstra CD, Van der Valk P (1997): Immunocytochemical characterization of the expression of inducible and constitutive isoforms of nitric oxide synthase in demyelinating multiple sclerosis lesions. J Neuropathol Exp Neurol 56(1), 10-20

De Keyser J, Zeinstra E, Frohman E (2003): Are astrocytes central players in the pathophysiology of multiple sclerosis? Arch Neurol 60(1), 132-6

Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E (2001): Multiple sclerosis. Chlamydia hypothesis in debate. Nervenarzt 72(10), 820-3

Diemel LT, Copelman CA, Cuzner ML (1998): Macrophages in CNS remyelination: friend or foe? Neurochem Res 23(3), 341-7

Di Santo E, Alonzi T, Fattori E, Poli V, Ciliberto G, Sironi M, Gnocchi P, Ricciardi-Castagnoli P, Ghezzi P (1996): Overexpression of interleukin-6 in the central nervous system of transgenic mice increases central but not systemic proinflammatory cytokine production. Brain Res 740(1-2), 239-44

Dong Y, Benveniste EN (2001): Immune function of astrocytes. Glia 36(2), 180-90

Dreyfus CF, Dai X, Lercher LD, Racey BR, Friedman WJ, Black IB (1999): Expression of neurotrophins in the adult spinal cord in vivo. J Neurosci Res 56(1), 1-7

Dziembowska M, Tham TN, Lau P, Vitry S, Lazarini F, Dubois-Dalcq M (2005): A role for CXCR4 signaling in survival and migration of neural and oligodendrocyte precursors. *Glia* 50(3), 258-69

Eddleston M, Mucke L (1993): Molecular profile of reactive astrocytes--implications for their role in neurologic disease. *Neuroscience* 54(1), 15-36

Ellison GW, Myers LW, Mickey MR, Frane MV, Tourtellotte WW, Spina CA, Fahey JL (1984): Therapeutic trials in multiple sclerosis: azathioprine. *Ann N Y Acad Sci* 436, 361-5

Eng LF, Vanderhaeghen JJ, Bignami A, Gerstl B (1971): An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Res* 28(2), 351-4

Eng PM, Turnbull BR, Cook SF, Davidson JE, Kurth T, Seeger JD (2006): Characteristics and antecedents of progressive multifocal leukoencephalopathy in an insured population. *Neurology* 67(5), 884-6

Fawcett JW, Asher RA (1999): The glial scar and central nervous system repair. *Brain Res Bull* 49(6), 377-91

Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH (1997): Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 120(Pt 3), 393-9

Fok-Seang J, Mathews GA, french-Constant C, Trotter J, Fawcett JW (1995): Migration of oligodendrocyte precursors on astrocytes and meningeal cells. *Dev Biol* 171(1), 1-15

Fox RJ, Bethoux F, Goldman MD, Cohen JA (2006): Multiple sclerosis: advances in understanding, diagnosing, and treating the underlying disease. *Cleve Clin J Med* 73(1), 91-102

Franklin RJ, Gilson JM, Blakemore WF (1997): Local recruitment of remyelinating cells in the repair of demyelination in the central nervous system. *J Neurosci Res* 50(2), 337-44

Frohman EM, Racke MK, Raine CS (2006): Multiple sclerosis - the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med* 354(9), 942-55

Fu L, Matthews PM, De Stefano N, Worsley KJ, Narayanan S, Francis GS, Antel JP, Wolfson C, Arnold DL (1998): Imaging axonal damage of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Brain* 121(Pt 1), 103-13

Gallo V, Armstrong RC (2008): Myelin repair strategies: a cellular view. *Curr Opin Neurol* 21(3), 278-83

Gardner J, Ghorpade A (2003): Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1: the TIMPed balance of matrix metalloproteinases in the central nervous system. *J Neurosci Res* 74(6), 801-6

Gardner-Medwin AR (1983): Analysis of potassium dynamics in mammalian brain tissue. *J Physiol* 335, 393-426

Ghatak NR (1992): Occurrence of oligodendrocytes within astrocytes in demyelinating lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 51(1), 40-6

Ghatak NR, Leshner RT, Price AC, Felton WL, 3rd (1989): Remyelination in the human central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 48(5), 507-18

Giulian D, Lachman LB (1985): Interleukin-1 stimulation of astroglial proliferation after brain injury. *Science* 228(4698), 497-9

Gold R, Rieckmann P (2007): Recent advances in the pathogenesis and immunotherapy of multiple sclerosis. *Nervenarzt* 78(Suppl 1), 15-24; quiz 25

Gold R, Schmied M, Tontsch U, Hartung HP, Wekerle H, Toyka KV, Lassmann H (1996): Antigen presentation by astrocytes primes rat T lymphocytes for apoptotic cell death. A model for T-cell apoptosis in vivo. *Brain* 119(Pt 2), 651-9

Gomez-Pinilla F, Vu L, Cotman CW (1995): Regulation of astrocyte proliferation by FGF-2 and heparan sulfate in vivo. *J Neurosci* 15(3 Pt 1), 2021-9

Goodin DS, Frohman EM, Garmany GP, Jr., Halper J, Likosky WH, Lublin FD, Silberberg DH, Stuart WH, van den Noort S (2002): Disease modifying therapies in multiple sclerosis: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology and the MS Council for Clinical Practice Guidelines. *Neurology* 58(2), 169-78

Grierson JP, Petroski RE, Ling DS, Geller HM (1990): Astrocyte topography and tenascin cytotactin expression: correlation with the ability to support neuritic outgrowth. *Brain Res Dev Brain Res* 55(1), 11-9

Groves AK, Entwistle A, Jat PS, Noble M (1993): The characterization of astrocyte cell lines that display properties of glial scar tissue. *Dev Biol* 159(1), 87-104

Gutowski NJ, Newcombe J, Cuzner ML (1999): Tenascin-R and C in multiple sclerosis lesions: relevance to extracellular matrix remodelling. *Neuropathol Appl Neurobiol* 25(3), 207-14

Hailer NP, Heppner FL, Haas D, Nitsch R (1998): Astrocytic factors deactivate antigen presenting cells that invade the central nervous system. *Brain Pathol* 8(3), 459-74

Han Y, He T, Huang DR, Pardo CA, Ransohoff RM (2001): TNF-alpha mediates SDF-1 alpha-induced NF-kappa B activation and cytotoxic effects in primary astrocytes. *J Clin Invest* 108(3), 425-35

Hartung HP, Gonsette R, Konig N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP, Krapf H, Zwingers T (2002): Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet* 360(9350), 2018-25

He F, Sun YE (2007): Glial cells more than support cells? *Int J Biochem Cell Biol* 39(4), 661-5

Hein T, Hopfenmüller W (2000): Projection of the number of multiple sclerosis patients in Germany. *Nervenarzt* 71(4), 288-94

Hemmer B, Cepok S, Nessler S, Sommer N (2001): New approaches in research of therapy of multiple sclerosis. *Med Klin (Munich)* 96(Suppl 1), 23-8

Henderson RD, Smith MG, Mowat P, Read SJ (2002): Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 58(12), 1825

Henze T (2004): Symptomatic therapy of multiple sclerosis. *Nervenarzt* 75(Suppl 1), 2-39

Hertz L, McFarlin DE, Waksman BH (1990): Astrocytes: auxiliary cells for immune responses in the central nervous system? *Immunol Today* 11(8), 265-8

Hohlfeld R (1997): Biotechnological agents for the immunotherapy of multiple sclerosis. Principles, problems and perspectives. *Brain* 120(Pt 5), 865-916

Holley JE, Gveric D, Newcombe J, Cuzner ML, Gutowski NJ (2003): Astrocyte characterization in the multiple sclerosis glial scar. *Neuropathol Appl Neurobiol* 29(5), 434-44

Hsu SM, Raine L (1981): Protein A, avidin, and biotin in immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 29(11), 1349-53

Humble JG, Jayne WH, Pulvertaft RJ (1956): Biological interaction between lymphocytes and other cells. *Br J Haematol* 2(3), 283-94

Itoyama Y, Webster HD, Sternberger NH, Richardson EP, Jr., Walker DL, Quarles RH, Padgett BL (1982): Distribution of papovavirus, myelin-associated glycoprotein, and myelin basic protein in progressive multifocal leukoencephalopathy lesions. *Ann Neurol* 11(4), 396-407

Jessen KR, Thorpe R, Mirsky R (1984): Molecular identity, distribution and heterogeneity of glial fibrillary acidic protein: an immunoblotting and immunohistochemical study of Schwann cells, satellite cells, enteric glia and astrocytes. *J Neurocytol* 13(2), 187-200

Junker A, Ivanidze J, Malotka J, Eiglmeier I, Lassmann H, Wekerle H, Meinl E, Hohlfeld R, Dornmair K (2007): Multiple sclerosis: T-cell receptor expression in distinct brain regions. *Brain* 130(Pt 11), 2789-99

Kang J, Jiang L, Goldman SA, Nedergaard M (1998): Astrocyte-mediated potentiation of inhibitory synaptic transmission. *Nat Neurosci* 1(8), 683-92

Karpus WJ, Ransohoff RM (1998): Chemokine regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: temporal and spatial expression patterns govern disease pathogenesis. *J Immunol* 161(6), 2667-71

Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE, Kolbeck R, Hoppe E, Oropeza-Wekerle RL, Bartke I, Stadelmann C, Lassmann H, Wekerle H, Hohlfeld R (1999): 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(5), 865-70

Kesselring J (1990): The pathogenesis of multiple sclerosis. *Schweiz Med Wochenschr* 120(30), 1083-90

Kettenmann H, Orkand RK, Schachner M (1983): Coupling among identified cells in mammalian nervous system cultures. *J Neurosci* 3(3), 506-16

Kleinschmidt-DeMasters BK, Tyler KL (2005): Progressive multifocal leukoencephalopathy complicating treatment with natalizumab and interferon beta-1a for multiple sclerosis. *N Engl J Med* 353(4), 369-74

Kneitz C, Wiendl H (2008): Progressive multifocal leukoencephalopathy and rheumatic disease. *Z Rheumatol* 67(4), 290-4

Krumbholz M, Theil D, Cepok S, Hemmer B, Kivisäkk P, Ransohoff RM, Hofbauer M, Farina C, Derfuss T, Hartle C, Newcombe J, Hohlfeld R, Meinl E (2006): Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain* 129(Pt 1), 200-11

Kurtzke JF, Hyllested K (1979): Multiple sclerosis in the Faroe Islands: I. Clinical and epidemiological features. *Ann Neurol* 5(1), 6-21

Langer-Gould A, Atlas SW, Green AJ, Bollen AW, Pelletier D (2005): Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient treated with natalizumab. *N Engl J Med* 353(4), 375-81

Larsen PH, Wells JE, Stallcup WB, Opdenakker G, Yong VW (2003): Matrix metalloproteinase-9 facilitates remyelination in part by processing the inhibitory NG2 proteoglycan. *J Neurosci* 23(35), 11127-35

Lassmann H, Reindl M, Rauschka H, Berger J, Aboul-Enein F, Berger T, Zurbriggen A, Lutterotti A, Bruck W, Weber JR, Ullrich R, Schmidbauer M, Jellinger K, Vandeveld M (2003): A new paraclinical CSF marker for hypoxia-like tissue damage in multiple sclerosis lesions. *Brain* 126(Pt 6), 1347-57

Lee SC, Moore GR, Golenwsky G, Raine CS (1990): Multiple sclerosis: a role for astroglia in active demyelination suggested by class II MHC expression and ultrastructural study. *J Neuropathol Exp Neurol* 49(2), 122-36

Leonard JP, Waldburger KE, Goldman SJ (1995): Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis by antibodies against interleukin 12. *J Exp Med* 181(1), 381-6

Liedtke W, Edelmann W, Bieri PL, Chiu FC, Cowan NJ, Kucherlapati R, Raine CS (1996): GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination. *Neuron* 17(4), 607-15

Linker RA, Stadelmann C, Diem R, Bahr M, Brück W, Gold R (2005): Recent advances in pathogenesis and therapy of multiple sclerosis. *Fortschr Neurol Psychiatr* 73(12), 715-27

Liu J, Marino MW, Wong G, Grail D, Dunn A, Bettadapura J, Slavin AJ, Old L, Bernard CC (1998): TNF is a potent anti-inflammatory cytokine in autoimmune-mediated demyelination. *Nat Med* 4(1), 78-83

Liuzzi FJ, Lasek RJ (1987): Astrocytes block axonal regeneration in mammals by activating the physiological stop pathway. *Science* 237(4815), 642-5

Lublin FD, Reingold SC (1996): 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), 907-11

Lucchinetti C, Brück W, Rodriguez M, Lassmann H (1996): Distinct patterns of multiple sclerosis pathology indicates heterogeneity on pathogenesis. *Brain Pathol* 6(3), 259-74

Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H (1999): A quantitative analysis of oligodendrocytes in multiple sclerosis lesions. A study of 113 cases. *Brain* 122(Pt 12), 2279-95

Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H (2000): Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 47(6), 707-17

Lucchinetti C, Parisi J, Brück W (2005): The pathology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 23(1), 77-105, vi

Lumsden CE: The neuropathology of multiple sclerosis; in: *Handbook of Clinical Neurology. (Vol. 9). Multiple Sclerosis and other Demyelinating Diseases*; hrsg. v. Vinken PJ, Bruyn GW; North-Holland, Amsterdam 1970, 217-309

Magnus T, Chan A, Linker RA, Toyka KV, Gold R (2002): Astrocytes are less efficient in the removal of apoptotic lymphocytes than microglia cells: implications for the role of glial cells in the inflamed central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 61(9), 760-6

McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den Noort S, Weinshenker BY, Wolinsky JS (2001): Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 50(1), 121-7

McMorris FA, Mozell RL, Carson MJ, Shinar Y, Meyer RD, Marchetti N (1993): Regulation of oligodendrocyte development and central nervous system myelination by insulin-like growth factors. *Ann N Y Acad Sci* 692, 321-34

Meeks JP, Mennerick S (2007): Astrocyte membrane responses and potassium accumulation during neuronal activity. *Hippocampus* 17(11), 1100-8

Meinl E, Aloisi F, Ertl B, Weber F, de Waal Malefyt R, Wekerle H, Hohlfeld R (1994): Multiple sclerosis. Immunomodulatory effects of human astrocytes on T cells. *Brain* 117(Pt 6), 1323-32

Messing A, Goldman JE, Johnson AB, Brenner M (2001): Alexander disease: new insights from genetics. *J Neuropathol Exp Neurol* 60(6), 563-73

Minagar A, Shapshak P, Fujimura R, Ownby R, Heyes M, Eisdorfer C (2002): The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 202(1-2), 13-23

Morcos Y, Lee SM, Levin MC (2003): A role for hypertrophic astrocytes and astrocyte precursors in a case of rapidly progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 9(4), 332-41

Morrison RS, Sharma A, de Vellis J, Bradshaw RA (1986): Basic fibroblast growth factor supports the survival of cerebral cortical neurons in primary culture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(19), 7537-41

Mozell RL, McMorris FA (1991): Insulin-like growth factor I stimulates oligodendrocyte development and myelination in rat brain aggregate cultures. *J Neurosci Res* 30(2), 382-90

(MSTKG) Multiple Sklerose-Therapie-Konsensus Gruppe (2001): Escalating immunomodulatory therapy of multiple sclerosis. 1st supplement: December 2000. *Nervenarzt* 72(2), 150-7

Müller E: Pathologische Anatomie und Pathogenese; in: Die multiple Sklerose des Gehirns und Rückenmarks; Fisher G; Jena 1904, 300-44

Müller W, Dahmen HG (1978): Lymphocytes within glial cells ("emperipolesis") in a case of a granular cell tumor. *Acta Neuropathol* 44(2), 163-5

Munoz-Marmol AM, Mola G, Fernandez-Vasalo A, Vela E, Mate JL, Ariza A (2004): JC virus early protein detection by immunohistochemistry in progressive multifocal leukoencephalopathy: a comparative study with in situ hybridization and polymerase chain reaction. *J Neuropathol Exp Neurol* 63(11), 1124-30

Nair A, Frederick TJ, Miller SD (2008): Astrocytes in multiple sclerosis: A product of their environment. *Cell Mol Life Sci* 65(17), 2702-20

Nawashiro H, Messing A, Azzam N, Brenner M (1998): Mice lacking GFAP are hypersensitive to traumatic cerebrospinal injury. *Neuroreport* 9(8), 1691-6

Nedergaard M, Ransom B, Goldman SA (2003): New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain. *Trends Neurosci* 26(10), 523-30

Neubauer K, Knittel T, Aurisch S, Fellmer P, Ramadori G (1996): Glial fibrillary acidic protein--a cell type specific marker for Ito cells in vivo and in vitro. *J Hepatol* 24(6), 719-30

Neumann H, Medana IM, Bauer J, Lassmann H (2002): Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases. *Trends Neurosci* 25(6), 313-9

Nguyen KB, Pender MP (1998): Phagocytosis of apoptotic lymphocytes by oligodendrocytes in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Acta Neuropathol* 95(1), 40-6

Noll S, Schaub-Kuhnen S: Praxis der Immunhistochemie. Urban und Fischer Verlag, München 2000

Norenberg MD (1994): Astrocyte responses to CNS injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 53(3), 213-20

Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG (2000): Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 343(13), 938-52

Ogata K, Kosaka T (2002): Structural and quantitative analysis of astrocytes in the mouse hippocampus. *Neuroscience* 113(1), 221-33

Omari KM, John GR, Sealson SC, Raine CS (2005): CXC chemokine receptors on human oligodendrocytes: implications for multiple sclerosis. *Brain* 128(Pt 5), 1003-15

Ozawa K, Suchanek G, Breitschopf H, Brück W, Budka H, Jellinger K, Lassmann H (1994): Patterns of oligodendroglia pathology in multiple sclerosis. *Brain* 117(Pt 6), 1311-22

Padgett BL, Walker DL (1973): Prevalence of antibodies in human sera against JC virus, an isolate from a case of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Infect Dis* 127(4), 467-70

Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH (1971): Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet* 1(7712), 1257-60

Pette M, Hartung HP, Toyka KV (1994): Cyclophosphamide in therapy of chronic progressive multiple sclerosis. Critical analysis of current studies. *Nervenarzt* 65(4), 271-4

Pittock SJ, McClelland RL, Achenbach SJ, König F, Bitsch A, Brück W, Lassmann H, Parisi JE, Scheithauer BW, Rodriguez M, Weinshenker BG, Lucchinetti CF (2005): Clinical course, pathological correlations, and outcome of biopsy proved inflammatory demyelinating disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76(12), 1693-7.

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

Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW (1983): New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 13(3), 227-31

Pozzilli C, Marinelli F, Romano S, Bagnato F (2004): Corticosteroids treatment. *J Neurol Sci* 223(1), 47-51

Prineas JW, Kwon EE, Sternberger NH, Lennon VA (1984): The distribution of myelin-associated glycoprotein and myelin basic protein in actively demyelinating multiple sclerosis lesions. *J Neuroimmunol* 6(4), 251-64

Prineas JW, Kwon EE, Goldenberg PZ, Cho ES, Sharer LR (1987): Multiple sclerosis: Destruction of proliferating oligodendrocytes and new myelin in developing lesions (abstr). *J Neuropathol Exp Neurol* 46, 366

Prineas JW, Kwon EE, Goldenberg PZ, Cho ES, Sharer LR (1990): Interaction of astrocytes and newly formed oligodendrocytes in resolving multiple sclerosis lesions. *Lab Invest* 63(5), 624-36

Prins C, Frisque RJ (2001): JC virus T' proteins encoded by alternatively spliced early mRNAs enhance T antigen-mediated viral DNA replication in human cells. *J Neurovirol* 7(3), 250-64

Raine CS, Scheinberg L, Waltz JM (1981): Multiple sclerosis. Oligodendrocyte survival and proliferation in an active established lesion. *Lab Invest* 45(6), 534-46

Rash JE, Yasumura T, Dudek FE, Nagy JI (2001): Cell-specific expression of connexins and evidence of restricted gap junctional coupling between glial cells and between neurons. *J Neurosci* 21(6), 1983-2000

Reier PJ: Gliosis following CNS injury: the anatomy of astrocytic scars and their influences on axonal elongation; in: *Astrocytes. Cell Biology and Pathology of Astrocytes; (Vol. 3)*; hrsg. v. Federoff S, Vernadakis A; Academic Press, New York 1986, 263-324

Reier PJ, Houle JD (1988): The glial scar: its bearing on axonal elongation and transplantation approaches to CNS repair. *Adv Neurol* 47, 87-138

Reier PJ, Stensaas LJ, Guth L: The astrocytic scar as an impediment to regeneration in the central nervous system; in: *Spinal Cord Reconstruction*; hrsg. v. Kao CC, Bunge RP, Reier RJ, Raven Press, New York 1983, 163-195

Reindl M, Linington C, Brehm U, Egg R, Dilitz E, Deisenhammer F, Poewe W, Berger T (1999): Antibodies against the myelin oligodendrocyte glycoprotein and the myelin basic protein in multiple sclerosis and other neurological diseases: a comparative study. *Brain* 122(Pt 11), 2047-56

Rengarajan J, Szabo SJ, Glimcher LH (2000): Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. *Immunol Today* 21(10), 479-83

Richardson EP, Jr., Webster HD (1983): Progressive multifocal leukoencephalopathy: its pathological features. *Prog Clin Biol Res* 105, 191-203

Richardson PM (1994): Ciliary neurotrophic factor: a review. *Pharmacol Ther* 63(2), 187-98

Rieckmann P (2006): Escalating immunomodulatory therapy of multiple sclerosis. Update (September 2006). *Nervenarzt* 77(12), 1506-18

Rodriguez M (1985): Virus-induced demyelination in mice: "dying back" of oligodendrocytes. *Mayo Clin Proc* 60(7), 433-8

Rosenberg PA (1991): Accumulation of extracellular glutamate and neuronal death in astrocyte-poor cortical cultures exposed to glutamine. *Glia* 4(1), 91-100

Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH (1988): Multiple sclerosis: updated risks for relatives. *Am J Med Genet* 29(3), 533-41

Scholz W: D. Gliazellen; in: Handbuch der speziellen und pathologischen Anatomie und Histologie, Dreizehnter Band, Nervensystem, erster Teil Bandteil A, Erkrankungen des zentralen Nervensystems I; hrsg. v. Scholz W unter Mitarbeit namhafter Autoren; Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957, 170-190

Schönrock LM, Kuhlmann T, Adler S, Bitsch A, Brück W (1998): Identification of glial cell proliferation in early multiple sclerosis lesions. *Neuropathol Appl Neurobiol* 24(4), 320-30

Schumacher GA (1950): Multiple sclerosis. *J Am Med Assoc* 143(13), 1146-1154

Segal BM, Dwyer BK, Shevach EM (1998): An interleukin (IL)-10/IL-12 immunoregulatory circuit controls susceptibility to autoimmune disease. *J Exp Med* 187(4), 537-46

Selmaj KW, Raine CS (1988): Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann Neurol* 23(4), 339-46

Selmaj K, Raine CS, Cannella B, Brosnan CF (1991): Identification of lymphotoxin and tumor necrosis factor in multiple sclerosis lesions. *J Clin Invest* 87(3), 949-54

Shintaku M, Yutani C (2004): Oligodendrocytes within astrocytes ("emperipolesis") in the white matter in Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neuropathol* 108(3), 201-6

Soldan SS, Leist TP, Juhng KN, McFarland HF, Jacobson S (2000): Increased lymphoproliferative response to human herpesvirus type 6A variant in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 47(3), 306-13

Soos JM, Morrow J, Ashley TA, Sente BE, Bikoff EK, Zamvil SS (1998): Astrocytes express elements of the class II endocytic pathway and process central nervous system autoantigen for presentation to encephalitogenic T cells. *J Immunol* 161(11), 5959-66

Steward O, Torre ER, Tomasulo R, Lothman E (1992): Seizures and the regulation of astroglial gene expression. *Epilepsy Res Suppl* 7, 197-209

Storch MK, Piddlesden S, Haltia M, Iivanainen M, Morgan P, Lassmann H (1998): Multiple sclerosis: in situ evidence for antibody- and complement-mediated demyelination. *Ann Neurol* 43(4), 465-71

Szymas J (1986): Glial fibrillary acidic protein. A valuable tool for neuropathologic diagnosis. An introduction. *Zentralbl Allg Pathol* 131(1), 3-19

Tanuma N, Sakuma H, Sasaki A, Matsumoto Y (2006): Chemokine expression by astrocytes plays a role in microglia/macrophage activation and subsequent neurodegeneration in secondary progressive multiple sclerosis. *Acta Neuropathol* 112(2), 195-204

Tejada-Simon MV, Zang YC, Hong J, Rivera VM, Zhang JZ (2003): Cross-reactivity with myelin basic protein and human herpesvirus-6 in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 53(2), 189-97

Timme W (1950): Multiple Sclerosis – historical retrospect. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 28, 3-11

Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mork S, Bö L (1998): Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 338(5), 278-85

Uhm JH, Dooley NP, Oh LY, Yong VW (1998): Oligodendrocytes utilize a matrix metalloproteinase, MMP-9, to extend processes along an astrocyte extracellular matrix. *Glia* 22(1), 53-63

Ullian EM, Sapperstein SK, Christopherson KS, Barres BA (2001): Control of synapse number by glia. *Science* 291(5504), 657-61

Uyeda CT, Eng LF, Bignami A (1972): Immunological study of the glial fibrillary acidic protein. *Brain Res* 37(1), 81-9

Van Der Voorn P, Tekstra J, Beelen RH, Tensen CP, Van Der Valk P, De Groot CJ (1999): Expression of MCP-1 by reactive astrocytes in demyelinating multiple sclerosis lesions. *Am J Pathol* 154(1), 45-51

Vercellino M, Plano F, Votta B, Mutani R, Giordana MT, Cavalla P (2005): Grey matter pathology in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 64(12), 1101-7

Weber F, Meinl E, Aloisi F, Nevinny-Stickel C, Albert E, Wekerle H, Hohlfeld R (1994): Human astrocytes are only partially competent antigen presenting cells. Possible implications for lesion development in multiple sclerosis. *Brain* 117(Pt 1), 59-69

Webster HD (1997): Growth factors and myelin regeneration in multiple sclerosis. *Mult Scler* 3(2), 113-20

Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC (1989): The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain* 112(Pt 1), 133-46

Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM, Noseworthy JH, Lucchinetti CF, Dodick DW, Pineda AA, Stevens LN, Rodriguez M (1999): A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann Neurol* 46(6), 878-86

Weinstein DE, Shelanski ML, Liem RK (1991): Suppression by antisense mRNA demonstrates a requirement for the glial fibrillary acidic protein in the formation of stable astrocytic processes in response to neurons. *J Cell Biol* 112(6), 1205-13

Wekerle H, Kojima K, Lannes-Vieira J, Lassmann H, Linington C (1994): Animal models. *Ann Neurol* 36(Suppl), S47-53

Williams A, Piaton G, Lubetzki C (2007): Astrocytes - friends or foes in multiple sclerosis? *Glia* 55(13), 1300-12

Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, Weinshenker BG (1999): The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 53(5), 1107-14

Wong GH, Bartlett PF, Clark-Lewis I, Battye F, Schrader JW (1984): Inducible expression of H-2 and Ia antigens on brain cells. *Nature* 310(5979), 688-91

Wu E, Raine CS (1992): Multiple sclerosis. Interactions between oligodendrocytes and hypertrophic astrocytes and their occurrence in other, nondemyelinating conditions. *Lab Invest* 67(1), 88-99

Xiao BG, Link H (1999): Antigen-specific T cells in autoimmune diseases with a focus on multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis. *Cell Mol Life Sci* 56(1-2), 5-21

Yamada H, Fredette B, Shitara K, Hagihara K, Miura R, Ranscht B, Stallcup WB, Yamaguchi Y (1997): The brain chondroitin sulfate proteoglycan brevican associates with astrocytes ensheathing cerebellar glomeruli and inhibits neurite outgrowth from granule neurons. *J Neurosci* 17(20), 7784-95

Yamaoka J, Kabashima K, Kawanishi M, Toda K, Miyachi Y (2002): Cytotoxicity of IFN-gamma and TNF-alpha for vascular endothelial cell is mediated by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 291(4), 780-6

Zagzag D, Miller DC, Kleinman GM, Abati A, Donnenfeld H, Budzilovich GN (1993): Demyelinating disease versus tumor in surgical neuropathology. Clues to a correct pathological diagnosis. *Am J Surg Pathol* 17(6), 537-45

Zeinstra E, Wilczak N, Streefland C, De Keyser J (2000): Astrocytes in chronic active multiple sclerosis plaques express MHC class II molecules. *Neuroreport* 11(1), 89-91

Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Wolfgang Brück für die Überlassung des Themas dieser Dissertation und das entgegengebrachte Vertrauen sowie die fachliche Betreuung.

Ich bedanke mich bei Frau Dr. Fatima König und Frau Dr. Imke Metz für die fachliche und organisatorische Unterstützung und für den vertrauensvollen Umgang.

Ich bedanke mich bei Frau Cynthia Bunker und Frau Christine Crozier für die Geduld und Hilfe bei vielen organisatorischen Sachfragen.

Lebenslauf

Am 14. November 1982 wurde ich als erstes Kind von Renate Löscher, geb. Otto, und Frank Ulrich Rüdiger Löscher in Karl-Marx-Stadt/ Chemnitz geboren. Mein jüngerer Bruder heißt Andreas Löscher.

Von 1989 bis 2001 besuchte ich die Goethe-Grundschule und das Goethe-Gymnasium in Auerbach im Vogtland, wo ich 2001 mein Abitur erlangte. Im Oktober des selbigen Jahres immatrikulierte ich mich für das Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität Göttingen. Meine Dissertation begann ich im Herbst 2004 am Institut für Neuropathologie der Universität Göttingen.

Mein Medizinstudium absolvierte durchgehend an der Georg-August-Universität Göttingen, mit Studienaufenthalten in London und Wien. Vor Beginn des Praktischen Jahres im Februar 2007 verbrachte ich fünf Monate in Argentinien und Bolivien.

Im Mai 2008 schloss ich das Studium der Humanmedizin mit dem 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung erfolgreich ab und begann im Februar 2009 meine Arbeit als Assistenzärztin in der Abteilung für Neurologie des Humboldt-Klinikums in Berlin unter Leitung von Frau Prof. Dr. Bettina Schmitz.