

Marie-Therese Herkel
Dr. med. dent.

Analyse des Inflammoms anhand von Serum- und Liquorproben von Multiple Sklerose Patienten

Fach/Einrichtung: Neurologie
Doktormutter: Prof. Dr. med. Uta Meyding-Lamadé

Die Multiple Sklerose ist eine chronisch inflammatorische und autoimmun vermittelte demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Pathophysiologisch relevant und bekannt sind gewisse Zusammenhänge mit einer genetischen Prädisposition und mit Umweltfaktoren. Ferner werden Vieren als Trigger oder modulierende Faktoren diskutiert. Eine Reihe unterschiedlicher Studien konnte nachweisen, dass bestimmte Faktoren (Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren), gemessen an ihrer Konzentration im Liquor, mit einem stabilen oder auch progredienten Krankheitsverlauf korrelieren. Solche Vorbefunde waren der Anlass für diese Studie zu fragen, ob es bestimmte spezifische inflammatorische Muster bei MS im Vergleich zu gesunden Kontrollen gibt und in wie weit es gelingen kann, spezifische Muster zu identifizieren, die mit der Krankheitsaktivität bzw. mit einem stabilen oder progredienten Verlauf assoziiert sind.

Dazu wurden in dieser Studie, mit insgesamt 54 extrazellulär gemessenen Faktoren, ein Teil des „löslichen“ Inflammoms, im Liquor und Serum von 34 (überwiegend) erkrankten Patienten mit schubförmiger MS, mittels Multiplex- Bead- Array analysiert und mit einer Kontrollkohorte verglichen. Hierbei wurde streng darauf geachtet, dass mit Hilfe des Albuminquotienten aus Liquor und Serum der tatsächlich nur intrathekal, d.h. im Gehirn selbst produzierte Anteil eines Faktors errechnet wurde, für weitere abgeleitete Analysen. Ferner wurde ein MRT Datensatz zur Bestimmung der MS- Läsionslast bei Aufnahme und im Verlauf nach 6 Monaten sowie ein klinischer Datensatz zum Erfassen des Schweregrades der MS- spezifischen Behinderung (EDSS) erhoben.

Die wichtigsten Ergebnisse zeigen, dass lediglich 39% des analysierten Inflammoms bei MS differentiell im Vergleich zu Kontrollpatienten reguliert wurde. Als bislang im Kontext der MS noch nicht reguliert gefundene Faktoren konnten das Chemokin CCL3 und der Wachstumsfaktor SCF-1 identifiziert werden. Die Majorität der gefundenen differentiell regulierten Faktoren wurde bereits in frühen Studien identifiziert – allerdings ausnahmslos als Einzelfaktoranalysen (bspw. mittels ELISA im Liquor). In dieser Studie konnten diese Befunde erstmals in einem Multiplexansatz repliziert werden. So dienen die repliziert gefundenen Faktoren auch als interne Standards und somit als Qualitätsmarker für die Güte der Studie. Den Hauptbefund der Arbeit zeigen Subgruppenanalysen zur Identifikation von MS- spezifischen inflammatorischen Mustern, die mit der Krankheitsaktivität gemessen an einem 6- monatigen MR- Läsionsprogress assoziiert sind. Dabei konnte gezeigt werden, dass in Patienten mit MR- morphologisch stabilem Befund signifikant höhere Konzentrationen neuroprotektiv wirksamer Faktoren (FGF-2, CSF2, CSF3, MMIF, IL1RN) nachweisbar waren als in solchen Patienten, die einen Progress (MRT) zeigten. Umgekehrt zeigten Patienten mit einem MR-morphologischen Progress eine signifikant erhöhte Aktivität von INF-alpha und

Interleukin-12.

Eine Korrelation mit rein klinischen Daten zur Krankheitsprogression (EDSS) konnte nicht gezeigt werden. Hierzu war einerseits die untersuchte Gruppengröße sicher zu klein; andererseits der Nachbeobachtungszeitraum mit 6 Monaten eher kurz. Mit Hilfe einer Gene Set Enrichment und Pathway Analyse wurden abgeleitete potentielle Signalwege identifiziert, die von den differentiell reguliert gefundenen Faktoren adressiert werden. Hier zeigte sich, dass die neuroprotektiven Faktoren, die in der progressionsfreien Untergruppe hochreguliert waren, besonders direkt regulatorische Beziehungen zu einem Netzwerk von weiteren neuroprotektiven aber auch antiapoptotisch wirksamen Faktoren haben. Ferner konnte gezeigt werden, dass diese Faktoren in gemeinsame Signaltransduktionswege (u.a. bspw. Jak/Stat5 Weg) einmünden, über welche die Faktoren synergistische und besonders starke neuroprotektive und neurotrophe Wirkung auf Neurone entfalten können. Ferner ist beschrieben, dass dieselben Faktoren dieses Netzwerkes über einen anderen Signaltransduktionsweg (ERK-MAPK und AKT-Weg) Neurogenese vermitteln können. Zu guter Letzt greifen sowohl die identifizierten wie auch die abgeleiteten Faktoren negativ regulierend in proapoptotische Signalwege, allen voran in den NF κ B- Weg, ein.

Diese Daten geben erstmals in ihrer komplexen Analyse, basierend auf Liquor- und Serumpaaren sowie MR- morphologischen Daten, Hinweise, dass bestimmte inflammatorische Muster mit einem stabilen bzw. progressiven Krankheitsverlauf assoziiert sind und als potentielle diagnostische Biomarkerkonstellation zur Vorhersage eines individuellen Krankheitsverlaufs geeignet sein könnten. Diese Studie kann somit als eine Proof- of- Principle Analyse angesehen werden dass es lohnenswert ist, individuelle inflammatorische Muster bei MS Patienten quasi als früher inflammatorischer Fingerabdruck eines zu erwartenden Krankheitsverlaufs weiter zu untersuchen. Dazu müssen in Folgestudien zum einen die Patientenzahl und die zu analysierenden Faktoren erhöht werden. Mittlerweile sind Multiplex- Bead Array die bis zu 100 und mehr Faktoren aus kleinen Probenmengen analysieren können erhältlich. Ferner sollten neben dem löslichen Inflammom auch das inflammatorische Transkriptom in mononukleären Zellen aus dem Liquor von MS Patienten parallel analysiert werden. Mit Hilfe solcher erweiterter Datensätze unter Zuhilfenahme von biomathematischen Methoden könnte es gelingen, bestimmte robuste inflammatorische Muster zu identifizieren, die bereits bei initialer Diagnosestellung bei einer individuellen oder besser „personalisierten“ Therapieentscheidung unterstützend helfen könnten sowie die Prognoseeinschätzung verbessern könnten. Was dieser Ansatz auch in Bezug auf die hier beschriebenen Ereignisse nicht leisten kann, ist zu identifizieren, wo die Quelle der reguliert gefundenen Faktoren ist, also ob ein bestimmter Faktor von mononukleären Entzündungszellen, Gliazellen oder auch Neuronen bei MS gebildet wurde.

Auch kann nicht sicher differenziert werden, ob bspw. antiapoptotisch wirksame Faktoren, wie hier in dieser Studie mit CSF3, FGF-2 und MMIF über Negativregulation von proapoptotischen Faktoren (Bax, NF κ B), ihre Wirkung auf Neurone oder Lymphozyten oder beide Zellen entfalten.