

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie und
Verhaltensimmunbiologie

Erstapplikation von IFN β -1a: Wirkung und Nebenwirkungen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

vorgelegt von
Frank Czolbe
aus Kiel
2008

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. M. Forsting

1. Gutachter: Herr Univ.-Prof. Dr. rer. biol. hum. Dipl.-Psych M. Schedlowski

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. St. Petersenn

Tag der mündlichen Prüfung: 5. August 2009

Veröffentlichungen von Ergebnissen dieser Arbeit:

Marion U. Goebel, Frank Czolbe, Holger Becker, Onno E. Janssen, Manfred Schedlowski, Volker Limmroth (2005): Effects of interferon β -1a on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, leukocyte distribution and mood states in multiple sclerosis patients: results of a 1-year follow-up study. Eur Neurol. 53(4):182-7.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	4
1 Einführung.....	6
2 Grundlagen.....	10
2.1 Multiple Sklerose	10
2.1.1 Epidemiologische Daten.....	10
2.1.2 Pathomechanismus der Multiplen Sklerose.....	10
2.1.3 Ätiologische Faktoren.....	12
2.2 Zytokine.....	13
2.2.1 Interferone.....	14
2.2.2 Gewünschte Wirkungen von IFN β bei MS.....	16
2.3 Die HPA-Achse und das SNS als Immunmodulatoren	17
2.3.1 Die HPA-Achse.....	17
2.3.2 Das sympathische Nervensystem.....	19
2.3.3 Growth Hormone und Prolaktin.....	21
2.4 Effekte auf Leukozytensubpopulationen.....	21
2.5 Zytokin-induziertes Verhalten.....	22
3 Fragestellung.....	26
4 Methoden.....	27
4.1 Patienten.....	27
4.2 Versuchsablauf.....	28
4.3 Hormonanalysen.....	29
4.3.1 Messen der Cortisol-, ACTH-, Prolaktin -und GH-Konzentration.....	29
4.3.2 Bestimmung der Katecholaminkonzentration.....	30
4.4 Blutbildbestimmung und Differentialblutbilder.....	30
4.5 Messung der subjektiven Befindlichkeit -POMS.....	30
4.6 EDSS.....	31
4.7 Analyse der Daten und Statistik.....	31
5 Ergebnisse.....	33
5.1 Ergebnisse der Hormonanalysen.....	33
5.1.1 Cortisol.....	33
5.1.2 ACTH.....	34
5.1.3 Prolaktin und GH.....	35
5.1.4 Noradrenalin und Adrenalin.....	36
5.2 Ergebnisse der Leukozytensubpopulationen.....	37
5.2.1 Leukozyten gesamt.....	37
5.2.2 Absolute Granulozytenanzahl.....	38
5.2.3 Absolute Lymphozytenanzahl.....	39
5.2.4 Absolute Monozytenanzahl.....	40
5.2.5 Relative Granulozytenanzahl.....	41
5.2.6 Relative Lymphozytenanzahl.....	42
5.2.7 Relative Monozytenanzahl.....	43
5.2.8 Körpertemperatur	44
5.3 Ergebnisse der psychologischen Parameter.....	45
5.3.1 Müdigkeit.....	45
5.3.2 Niedergeschlagenheit.....	46
5.3.3 Missmut.....	46

Inhaltsverzeichnis

5.3.4 Tatendrang.....	47
5.3.5 Korrelation zwischen Fatigue und der Leukozytenverteilung.....	47
5.4 EDSS.....	48
6 Diskussion.....	49
6.1 Akute Effekte	49
6.1.1 HPA-Achse.....	49
6.1.2 Katecholamine.....	50
6.1.3 Leukozytensubpopulationen.....	52
6.1.4 Körpertemperatur.....	53
6.1.5 Sickness behavior.....	55
6.1.6 Prolaktin und Growth Hormone.....	56
6.2 Langzeiteffekte	58
6.2.1 HPA-Achse.....	58
6.2.2 Leukozytensubpopulationen.....	61
6.2.3 Sickness behavior.....	61
7 Zusammenfassung.....	65
8 Literatur.....	66
9 Glossar.....	74
10 Danksagung.....	75
11 Lebenslauf.....	76

1 Einführung

Multiple Sklerose ist die häufigste neurologische Erkrankung Nordeuropas. Obwohl Multiple Sklerose detailliert von Charcot schon 1877 beschrieben wurde, sind erst in den letzten Jahrzehnten langfristig greifende Therapieansätze für diese Erkrankung gefunden worden. Vor dem Hintergrund des jetzigen Wissensstands, dass Multiple Sklerose zu den Autoimmunerkrankungen zählt, beruhen diese Therapien auf immunmodulierenden bzw. immunsuppressiven Effekten. Hierzu zählen bzw. zählten die intravenöse Gabe von Glucocorticoiden und Immunglobulinen, das Azathioprin, Zytostatika, das Copolymer Copaxone und mit Natalizumab ein monoklonaler Antikörper (Wolinsky 2003). Weitere Therapien beruhen auf ernährungsphysiologischen bis hin zu eher unkonventionellen und nicht evidenzbasierten Ansätzen, beispielsweise Schweinehirnimplantationen, Colaminphosphat-Gaben oder Entfernung von Amalgamfüllungen (Dodes 2001).

Im Jahre 1972 setzte Hans Strander in Finnland erstmals ein Interferon erfolgreich bei Patienten in terminalen Stadien osteogener Sarkome ein (Strander 1978). Interferone (IFN) zählen zu den so genannten Zytokinen, zuckerhaltige Proteine, die als wichtige Stellglieder des Immunsystems im zentralen Nervensystems fungieren. Seit den 80er Jahren fanden Interferone auch Einzug in die Therapie der MS. In der 1997 erstmals vorgestellten PRISMS-Studie zeigten sich sensationelle Ergebnisse (PRISMS, 1998). Unter Interferongaben ergaben sich Behandlungserfolge hinsichtlich der Schubrate, der Schwere der Schübe, der Anzahl von MS-verdächtigen MRT-Läsionen und der Behinderungsprävention. Im Vergleich zur Placebo-Gruppe erhöhte sich der Anteil der schubfreien Patienten sogar um über 80% (PRISMS, 1998).

Zugleich zeigten sich aber nach Applikation von Zytokinen ausgeprägte Nebenwirkungen, die vor allem unmittelbar nach Gabe des Medikaments auftreten und mehrere Stunden andauern: Diese reichen von Grippe ähnlichen Symptomen mit Fieber, Schüttelfrost, Appetitlosigkeit und Muskelschmerzen (Neilley et al. 1996; Rothuizen et al. 1999; Walther und Hohlfeld 1999; Goebel et al. 2002) bis hin zu sogar toxischen Wirkungen. Hier sei beispielhaft erwähnt die populär gewordene

1 Einführung

Phase I -Studie mit der Substanz TGN 1412, einem monoklonalen Antikörper, deren Gabe im März 2006 bei gesunden Probanden zu einem so genanntem „Zytokinsturm“ und konsekutiv zu intensivpflichtigem Multiorganversagen geführt hatte (Suntharalingam et al. 2006).

Darüber hinaus wurden signifikante Anstiege an akuten und auch langfristig zu beobachtenden neuropsychiatrischen Veränderungen beschrieben: Im Rahmen von an Leukämie-Patienten durchgeführten Studien beobachteten Pavol et al. erstmals 1995 signifikante kognitive Einschränkungen und Persönlichkeitsveränderungen nach einer IFN α -Therapie im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit Leukämie ohne Therapie. Neilley et al. dokumentierten 1996 als häufigste Ursache eines Therapieabbruchs ein durch die Gabe eines IFN-Präparats (in diesem Falle IFN β 1-b) neu erworbenes chronisches Fatigue-Syndrom. Unter dem chronischen Fatigue-Syndrom versteht man ein erst seit kurzem als eigenständig akzeptiertes Krankheitsbild mit multiplen Organmanifestationen, in erster Linie Schlafstörungen, Muskelschmerzen, orthostatischer Dysregulation und Depressionen (siehe auch Capuron et al. 2002). Die Abgrenzung zur einer das Krankheitsbild der MS häufig begleitenden Müdigkeit, die auch als Fatigue im Rahmen von MS bezeichnet wird, fällt dabei allerdings schwer. Meyers fand 1999 nach längerer klinischer Anwendung von Zytokinen bei Krebspatienten auch nach Abschluss der Behandlung noch Hinweise für Veränderungen der Kognition und des Affektes. Diese Ergebnisse könnten seiner Meinung nach sogar für eine irreversible neurotoxische Wirkung, in diesem Falle in frontalen und subkortikalen Arealen sprechen.

Als eine mögliche Erklärung insbesondere für die neurotoxischen Wirkungen kommt eine durch IFN-Gabe verursachte Induktion proinflammatorischer Zytokine, z.B. IL-1, IL-6, TNF α oder IFN γ , in Betracht (Blalock und Smith 1980; Turnbull und Rivier 1999; Kumpfel et al. 2000; Goebel et al. 2002). Diese proinflammatorischen Zytokine wirken an verschiedenen Rezeptoren im zentralen Nervensystem (ZNS), z.B. nehmen sie Einfluss auf die Körpertemperatur, indem sie den hypothalamischen Sollwert verändern und Fieber verursachen (Kluger 1991).

Eine weitere Erklärung für die oben beschriebenen Nebenwirkungen könnten in Auswirkungen auf die Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren-Achse, im folgenden HPA-Achse genannt, und dem sympathischen Nervensystem (SNS) liegen. Interaktionen zwischen dem endokrinen System, dem Immunsystem und dem SNS konnten schon 1936 belegt werden, als Hans Selye im Rahmen von Versuchen an Ratten Strukturveränderungen an lymphatischen Organen als eine physiologische Antwort auf chemische, physikalische, biologische und emotionale Reize nachweisen konnte, für die er erstmals den Begriff „Stress“ prägte.

Eine exogene Zuführung von Zytokinen führte in weiteren tierexperimentellen und humanen in vivo-Studien zu signifikanten Reaktionen der HPA-Achse: Roosth et al. beobachteten 1986 z.B. einen Anstieg von Cortisol nach Gabe des Zytokins IFN α ; Muller et al. 1991 unter dieser Therapie auch einen Anstieg von ACTH im Plasma. Eine direkte Aktivierung des SNS durch Zytokine zeigte sich erst in einer Studie von Cavallotti et al. (2002): Sowohl Noradrenalinegehalt als auch Anzahl an adrenergen Nervenfasern waren in Biopsien von Thymusgewebe, die während und nach einer IFN β -Therapie entnommen wurden, erhöht.

Dass IFN trotz der oben beschriebenen Nebenwirkungen weiterhin feste Bestandteile klinischer Therapien von z.B. Tumoren oder der MS sind, rechtfertigt sich durch die Tatsache, dass sich bei den meisten Patienten nach ca. 3-6 Monaten Therapie eine deutliche Abschwächung der Nebenwirkungen zeigt. Bisher wenig erforscht ist, worauf dieser Gewöhnungseffekt beruht. IFN scheint sich nach einer gewissen Zeit der Gabe positiv auf das neuroendokrine oder das sympathische Nervensystem auszuwirken.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher untersucht, ob sich das Ausbleiben bzw. die Reduktion von Nebenwirkungen auch in einer Antwort der HPA-Achse und des SNS widerspiegeln. Zu diesem Zweck wurden bei MS-Patienten zu Therapiebeginn und nach einem Jahr die Konzentrationen von ausgewählten Hormonen der HPA-Achse und zusätzlich hypophysäres Prolaktin und Growth Hormone (GH) bestimmt. Da sich immunmodulatorische Veränderungen im Verlauf auch an Verschiebungen von Leukozytensubpopulationen zeigen, wurden Differentialblutbilder bestimmt. Als

weiterer Indikator für eine Reaktion des Immunsystems wurde die Körpertemperatur zu unterschiedlichen Zeiten nach Gabe von IFN erfasst. Zusätzlich wurden Veränderungen in den emotionalen Befindlichkeiten dokumentiert.

2 Grundlagen

2.1 *Multiple Sklerose*

2.1.1 Epidemiologische Daten

Mit einer Inzidenz von 4-8/100.000 Einwohnern und einer Prävalenz von 60-120/100.000 Einwohnern ist Multiple Sklerose die häufigste neurologische Erkrankung Nordeuropas (Martin und Hohlfeld 1998).

Die Krankheitsprävalenz zeigt ein Nord-Süd-Gefälle, abhängig vom geographischem Breitengrad, mit hohem Erkrankungsrisiko im nördlichen Europa und der USA oberhalb des 37. Breitengrades. Um den Äquator ist das Risiko am geringsten, um dann jenseits des 40. Breitengrades wieder anzusteigen (Kurtzke 1980). Die Krankheit manifestiert sich zwischen dem 15. und 50. Lebensjahr, im Durchschnitt zwischen dem 29. und 32. Lebensjahr und betrifft häufiger Frauen als Männer im Verhältnis 1,8:1 (Martin und Hohlfeld 1998). Man unterscheidet z.Zt. klinisch drei Verlaufsformen: einen *schubförmigen*, (relapsing-remitting, RR), einen *sekundär chronisch-progredienten* (SCP) und einen *primär chronisch-progredienten* Verlauf (PCP) ohne Remissionen oder Schübe.

2.1.2 Pathomechanismus der Multiplen Sklerose

MS ist eine entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems. In erster Linie vollziehen sich drei wichtige Prozesse unter Beteiligung von Lymphozyten und Makrophagen: 1. eine progressive immunvermittelte Demyelinisierung, verbunden mit 2. einer axonalen Zerstörung und 3. einer generellen Atrophie von Hirngewebe (Charcot 1877; Sailer et al. 2003). Diese Zerstörung wird durch aktivierte T-Zellen, die gegen verschiedene Myelinbestandteile gerichtet sind, bewirkt (Zhang und Raus 1994). Die autoaggressiven Zellen finden sich auch im Blut von Gesunden. Das Blut erkrankter Personen weist allerdings vermehrt Zellen in aktivierter Form auf. Diese (primäre) Aktivierung der T-Zellen erfolgt vermutlich über ein Pathogen; diskutiert werden in dem Zusammenhang z.B. Bestandteile von neurotrophen Viren (weitere Faktoren siehe Punkt 2.1.3).

2 Grundlagen

Nach Proliferation und Klonierung der T-Zelle durchdringt diese die so genannte Blut-Hirn-Schranke (BHS), die der Kontrolle des Eintritts von Substanzen vom Blut ins ZNS dient. Im ZNS bilden die aktivierten T-Zellen Zytokine z.B. Lymphotoxin, IFN γ , oder TNF α . Unter deren Einfluss wandeln sich inaktive Mikrogliazellen in aktive, antigenpräsentierende Zellen um. Mikrogliazellen sind wiederum die Makrophagen des ZNS. Nach dem Umwandlungsprozess nehmen die Mikrogliazellen Bruchstücke des gesunden Myelins auf und präsentieren sie erneut den T-Zellen des ZNS (Processing; sekundäre Aktivierung). Diese bilden mit IL-2 ein weiteres proinflammatorisches Zytokin und es entstehen erneute Klone. Die Zellklone greifen jetzt erstmalig die Myelinscheide an. Die erhöhte Präsenz proinflammatorischer Zytokine bewirkt gleichzeitig eine erhöhte Antigenpräsentation der Mikroglia, vermehrte T-Zellaktivierung und eine Entzündungsreaktion der BHS (Sailer et al. 2003).

Die BHS wird daraufhin permeabler, und B-Zellen, Antikörper, Komplementfaktoren und weitere aktivierte T-Zellen gelangen in das ZNS. Nach neueren Studien spielen Adhäsionsmoleküle, (z.B. ICAM und VCAM) für die pathologische Permeabilität der BHS vermutlich eine wichtige Rolle (Ukkonen et al. 2007). Die von den B-Zellen mithilfe der T-Zellen produzierten Antikörper greifen die Myelinscheide und Oligodendrozyten an. Komplementfaktoren sorgen für das Anlocken von mehr Makrophagen.

Diese ständigen Attacken führen zu einer chronischen Entzündung und sorgen für eine langsam-progrediente Zerstörung sowohl der Myelinscheide als auch des Axons und schließlich zu einer irreversiblen Unterbrechung der Reizweiterleitung eines Neurons. *Prädilektionsstellen* für Läsionen im ZNS sind die Bereiche um die beiden Seitenventrikel, die Sehnerven und das zervikale Rückenmark (McDonald 1986).

2.1.3 Ätiologische Faktoren

Zur Krankheitsentstehung gibt es unterschiedliche Hypothesen. Es sollen hier nur die wichtigsten Erwähnung finden.

Virale Hypothese: In Liquores von MS-Patienten findet man signifikante Antikörper-Titer neurotroper Viren (Retroviren, Corona- und Maserviren (Ter Meulen 1988), sowie des Epstein-Barr-Virus (Ruprecht 2007). Bisher sind aber noch keine spezifischen, zum Beweis geeigneten Daten, wie z.B. Pathogene in Läsionen, für eine virale oder sogar mikrobiologische Genese gefunden worden.

Neuroallergische Hypothese: Durch das tierexperimentelle MS-Modell der EAE, der experimentellen Autoimmun-Encephalomyelitis konnte gezeigt werden, dass verabreichte Antigene (z.B. MOG, das Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein) zu einer Induktion der Erkrankung führen (Betteli 2007). Auch das Vorkommen, bzw. Fehlen von bestimmten Antikörpern, die das myelin basic protein schützen, wird als Ursache für die Krankheitsentstehung diskutiert (Lutton et al. 2004).

Hinweise für eine *genetische Disposition* wurden 1973 gefunden, als Jersild et al. erkannten, dass die Anwesenheit des HLA-DR2-Allels das Risiko erhöht, an MS zu erkranken. Nach weiteren umfangreichen Zwillingsforschungen und großen genetischen Studien (Willer et al. 2003; GAMES 2003) stehen genetische Faktoren weiterhin zur Diskussion; jedoch lassen auch diese Daten zum jetzigen Zeitpunkt noch keine endgültigen Schlüsse zu.

Psychologischer Stress: Seit Charcot wissen wir, dass Krankheitsaktivität von sog. „stressful life events“, belastenden äußeren Lebensereignissen wie der Verlust eines nahen Angehörigen, induziert werden kann. Es wird postuliert, dass Stress über die HPA-Achse zu Verschiebungen des physiologischen Gleichgewichts zwischen den proinflammatorischen Zytokinen, die von Th1-Helferzellen sezerniert werden (z.B. TNF α , IL-6, IL-2, Lymphotoxin) und den antiinflammatorischen Zytokinen, die von Th2-Helferzellen produziert werden (z.B. IL-4 und IL-10), führt und damit schubauslösend wirken könnte (Ramirez und Mason 2000; Heesen et al. 2007). Psychologischer Stress kann dabei nicht nur zu Exazerbationen von Schüben führen

(Goodin et al. 1999; Martinelli 2000). Es gibt vielmehr auch Hinweise dafür, dass Stress an der Entstehung der Krankheit selbst beteiligt ist: Retrospektive Untersuchungen von Buljevac et al. (2003) und von Heesen et al. (2007) zeigten, dass eine hohe Anzahl an stressful life events das Risiko für eine Erstmanifestation signifikant zu erhöhen scheinen. Allerdings legen die Studien nahe, dass es auf bestimmte Qualitäten von Stress ankommt, der auf den Körper einwirkt, bzw. darauf, wie der Einzelne mit dem Stress verursachenden Erlebnis umgeht. Maßgeblich ist darüber hinaus, ob akute oder chronische Stressoren vorliegen. Beispielsweise zeigte sich in einer prospektiv angelegten Studie von Nisipeanu und Korczyn (1993) an 32 MS-Patienten, die im Rahmen des Golfkrieges 1991 über einen längeren Zeitraum der realen Bedrohung eines Raketenbeschuss ausgesetzt waren, eine im Vergleich zu den zwei vorangegangenen Jahren signifikant niedrigere Schubrate noch zwei Monate nach Kriegsende.

2.2 Zytokine

Der französische Neurobiologe Robert Dantzer schätzte schon 2002, dass zu diesem Zeitpunkt bereits über 15.000 Artikel zum Thema Zytokine verfasst worden waren. Zum jetzigen Zeitpunkt sind über 100 Zytokine klassifiziert worden.

Zytokine wirken durch verschiedene Mechanismen über Hemmung oder Stimulation des Wachstums, der Differenzierung, der Sekretion des Überlebens und des Todes einer Zielzelle. Zytokine entfalten ihre Wirkung in den allermeisten Fällen autokrin (auf die produzierende Zelle zurück) oder parakrin (auf benachbarte Zellen). Ganz selten nur wirken sie physiologischerweise endokrin (auf weiter entfernt liegende Zellen) (Turnbull und Rivier 1999).

Zytokine werden im Körper in sehr geringen Mengen und vorwiegend lokal im Gewebe gebildet. Hieraus ergeben sich therapeutisch große Probleme, da Zytokine oft in unphysiologisch hohen Dosen appliziert werden müssen, damit ausreichend hohe Dosen den Wirkort erreichen. Ein und dasselbe Zytokin kann jedoch, exogen zugeführt, völlig unterschiedliche Effekte bei hohen oder bei niedrigen Dosierungen haben. Im klinischen Alltag bereitet die Zytokin-Gabe daher erhebliche Schwierigkeiten, weil die konkrete Wirkungsweise nur schwer vorhersehbar ist.

2 Grundlagen

2.2.1 Interferone

Die ersten Zytokine, die klinische Relevanz erreichten, waren die Interferone. Isaacs und Lindenmann entdeckten 1957 eine Substanz, durch die Zellen des Hühneramniotons nach einer Virusinfektion mit einander „kommunizierten“, bzw. „interferierten“ und daraufhin die Ausbreitung dieser Viren gehemmt wurde. Ausgehend von dieser Entdeckung gaben sie der Substanz den Namen Interferon. Zu den menschlichen Interferonen zählt man ca. 30 verschiedene Proteine und Glykoproteine. Man unterscheidet innerhalb dieser Familie zwei Klassen: Zum Typ I gehören die alpha-, omega-, beta- und tau-Interferone, die am gleichen Rezeptor binden. Zum Typ II zählt man die gamma-Interferone, die an eigene Rezeptoren binden.

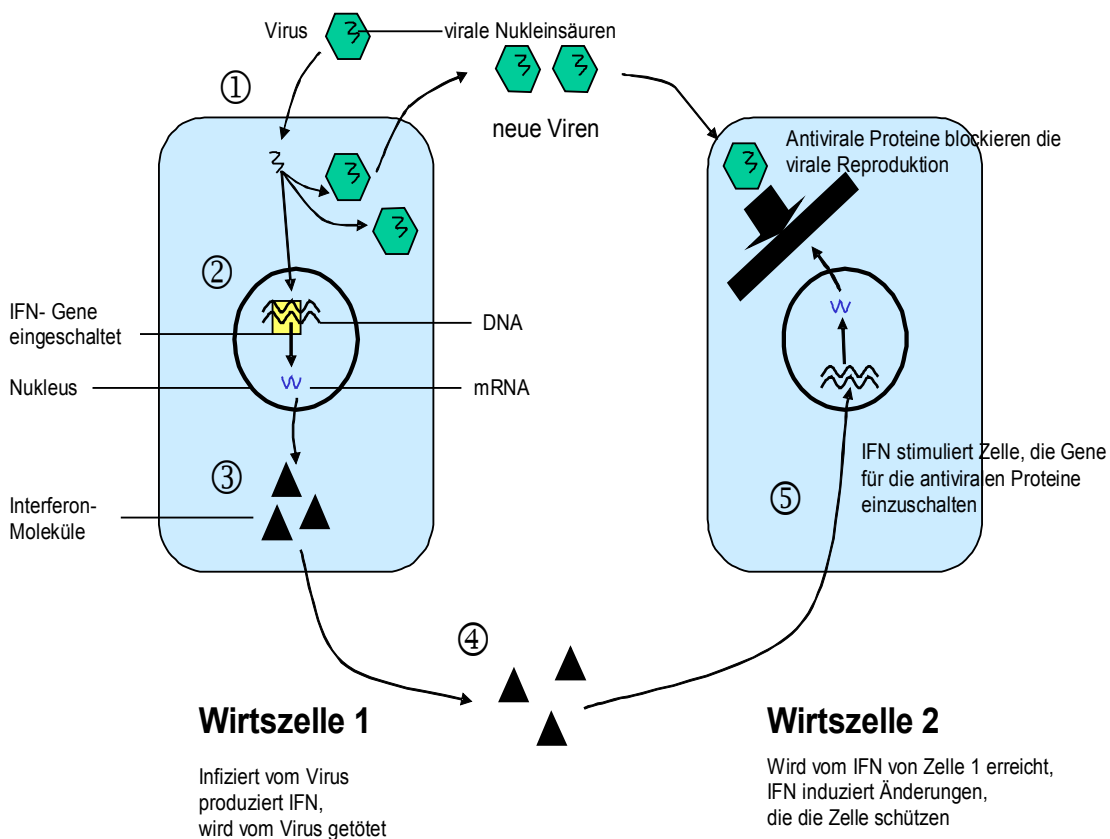


Abbildung 2.1: Wirkungsweise von Interferonen (modifiziert nach Cunnings, 2001).

Zur MS-Behandlung wird das Interferon-beta ($IFN\beta$) verwendet:

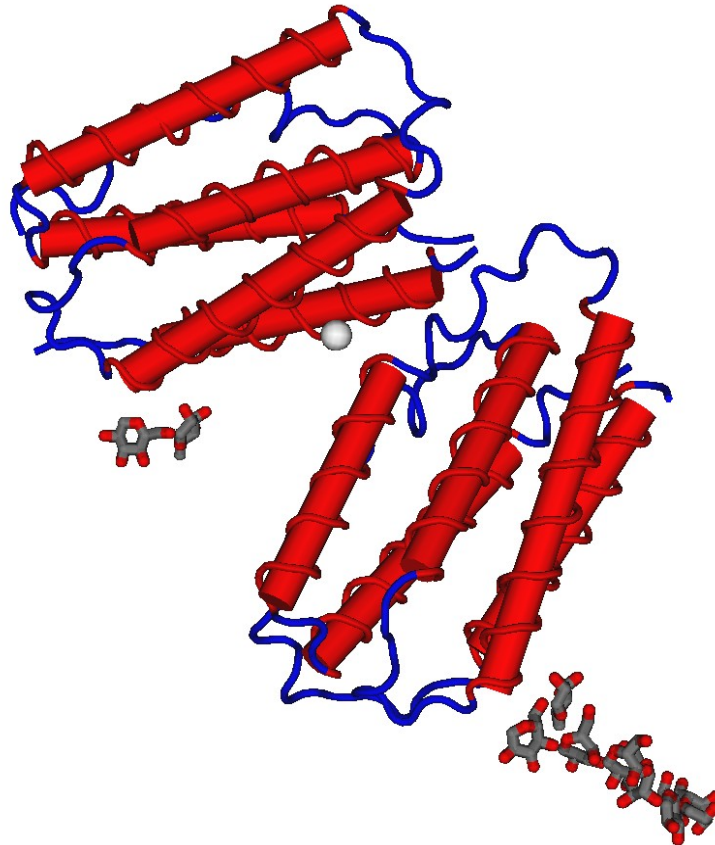


Abbildung 2.2: Humanes $IFN\beta$ (Nevit Dilmen; GNU Free Documentation License).

$IFN\beta$ ist ein Glykoprotein aus 166 Aminosäuren. *Humanes $IFN\beta$* aus menschlichen Zellen spielte nur bis 1993 eine therapeutisch Rolle. Das heutige *rekombinante $IFN\beta$* besitzt den Vorteil, dass es in größerer Menge und Reinheit hergestellt werden kann. Die Wirtszelle ist im Falle von $IFN\beta$ -1b ein Bakterium, meist E. coli, im Falle von $IFN\beta$ -1a die so genannte CHO-(chinese hamster ovary)-Zelle. Da Bakterien nicht über alle Vorteile einer Säugetierzelle verfügen, wird $IFN\beta$ -1b gentechnisch geringfügig verändert, bevor es als Therapeutikum zum Einsatz gelangt. Im Unterschied dazu ist das in der vorliegenden Arbeit verwandte $IFN\beta$ -1a mit dem humanen $IFN\beta$ völlig identisch.

Interferone sind Proteine mit einer extrem kurzen Halbwertszeit, die parenteral appliziert werden müssen. Die Plasma-Halbwertszeit von IFN β beträgt ca. fünf Stunden. Nur etwa 1/6 der Dosis erreicht dabei systemische Werte; acht Stunden nach einer intramuskulären IFN β -1a-Gabe konnte ein maximaler Plasmalevel nachgewiesen werden, pharmakodynamische Effekte waren je Studie noch nach ein bis drei Tagen signifikant (Kahn et al. 1998).

2.2.2 Gewünschte Wirkungen von IFN β bei MS

Nach Verabreichung von IFN β wird das Medikament über spezielle Carrier-Systeme innerhalb der BHS in das ZNS transportiert. Dort wirkt es auf zellulärer Ebene vermutlich über verschiedene Mechanismen:

- Steigerung der T-Zell-Supressor-Aktivität (Ruuls et al. 1996)
- Verringerung der Permeabilität der BHS durch Senkung der Sekretion der "proinflammatorischen" Zytokinen TNF α , Lymphotoxin und IFN γ (Arnason et al. 1997) und Steigerung der Sekretion von "antiinflammatorischen" Zytokinen, z.B. IL-4 (Rudick et al. 1998)
- Reduktion der Wanderungskapazität von T-Zellen durch Reduktion von Chemokinen (Uhm et al. 1999)
- Verhinderung der primären und sekundären T-Zell-Aktivierung (Zang et al. 2000)
- Direkter antiinflammatorischer, stabilisierender Effekt auf auf das aktivierte Endothel der Bluthirnschranke durch die Liganden VCAM-1 und ICAM-1 (Ukkonen et al. 2007).

In großen klinischen Studien, z.B. in der IFNB Multiple Sclerosis Study Group (1993), PRISMS (1998) oder EVIDENCE (Panitch et al. 2002) zeigte sich bei frühzeitigem Therapiebeginn mit einem IFN β -Produkt innerhalb der ersten zwei Jahre eine signifikante Reduktion von: 1. der Rate und Schwere der Schübe, 2. der Behinderungsprogression und 3. aller MRT-Parameter. Andere Studien konnten nach mehreren Monaten Applikation signifikante Verbesserungen von kognitiven Defiziten nachweisen (Flechter et al. 2003). Unter IFN β -Therapie konnte zudem eine Steigerung des Hirnmetabolismus nachgewiesen werden. Es ist zu vermuten, dass

sich daraus auch positive Effekte auf die Fatigue bei MS ergeben, die sich durch einen global erniedrigten Hirnmetabolismus auszeichnet (gemessen mit Hilfe der Positronen-Emissions-Tomographie) (Roelcke et al. 1997).

2.3 Die HPA-Achse und das SNS als Immunmodulatoren

2.3.1 Die HPA-Achse

Es nähren sich Hinweise dafür, dass sowohl die HPA-Achse als auch das SNS Einfluss auf das Immunsystem nehmen und damit in ihren Funktionen über die (klassischen) endokrinologischen Aufgaben hinausgehen. Der Begriff der Immunoendokrinologie umschreibt dieses neue Verständnis gut (Besedovsky und del Rey 1985).

Im Rahmen des (klassischen) endokrinologischen Systems beeinflusst der *Hypothalamus* die Hypophyse über Releasing und Inhibiting-Hormone, erfährt Reize von außen (z.B. körperliche Aktivität, Stress) und ist unter anderem Teil der circadianen Rhythmik und der Temperaturregelung. Weiterhin gibt er über die Neurohypophyse, die anatomisch zur Hypophyse gezählt wird, ADH (antidiuretisches Hormon) und Oxytocin in den Blutkreislauf ab.

Die *Hypophyse* besteht funktional und anatomisch aus zwei Teilen, der Adeno- und der Neurohypophyse. Die Adenohypophyse synthetisiert und sezerniert folgende Hormone: **ACTH** (Adrenocorticotropes Hormon), **GH** (growth hormone), und **Prolaktin** (weiterhin TSH, LH, FSH und MSH, auf die in dieser Arbeit nicht weiter eingegangen wird, ebenso wenig wie auf die Hormone der Neurohypophyse). Viele Studien konnten zeigen, dass die Hypophyse selbst über Zytokin-Rezeptoren verfügt (Turnbull und Rivier 1999).

ACTH stimuliert die Produktion und Sekretion von Glucocorticoiden sowie in geringem Maße von Mineralocorticoiden. ACTH wird vermehrt nach Wirkung von CRH (Corticotropin Releasing Hormone) und ADH ausgeschüttet. Über einen klassischen Feedback-Mechanismus (erhöhte Konzentrationen von Steroiden im Blut wirken hemmend auf Synthese und Sekretion von CRH und ACTH) werden die

2 Grundlagen

Cortisol-Plasma-Level gesteuert. ACTH kann darüber hinaus direkt z.B. von Lymphozyten sezerniert werden (Smith und Blalock 1992).

Das in der *Nebennierenrinde* gebildete **Cortisol** ist das physiologisch bedeutendste Steroidhormon. Es gilt als das klassische Stresshormon und wirkt auf Glucocorticoid- und Mineralocorticoidrezeptoren. Cortisol, als ein wesentlicher Effektor der HPA-Achse, hat wichtige immunmodulatorische Funktionen: Die Erfolge einer intravenösen Puls-Therapie mit Glucocorticoiden im akuten Schub einer MS sind seit langem signifikant und im klinischen Gebrauch auch für andere Erkrankungen seit Jahrzehnten validiert. Die Effekte von endogenen Glucocorticoiden erklären sich einerseits durch direkte antiphlogistische Wirkungen: Durch die COX-2-Induktionshemmung kommt es zu einer reduzierten Prostaglandin-Synthese. Weiterhin regulieren sie die Bildung von Leukotrienen, Adhäsionsmolekülen und NO. Andererseits führen Glucocorticoiden zu einer Verminderung der Produktion und Sezernierung von proinflammatorischen Zytokinen (Munck und Guyre 1986). Diese physiologischen Effekte dienen vermutlich dazu, die „Verteidigungsstrategie“ des Körpers auf den konkreten Störfaktor zu konzentrieren. Dadurch wird eine Hyperaktivität des Immunsystems vermieden, die dem Körper z.B. durch Autoimmunprozesse schaden würde.

Bei Autoimmunerkrankungen wie MS konnten viele Studien (wenn auch nicht einheitliche) Störungen der HPA-Achse dokumentieren: Sei es eine chronische Hyperaktivität (Michelson et al. 1994; Gottschalk et al. 2005), eine Hypoaktivität (Heesen et al. 2007) oder eine verringerte Reaktion auf Stimuli, wie z.B. CRH oder Dexamethason (Wei und Lightman 1997). Insbesondere die (ex vivo-)Arbeiten von Huitinga et al. (2003) dokumentierten eine chronische Hyperaktivität: In post mortem-Untersuchungen von Gehirnen von MS-Patienten gab es in 95 % MS-typische Läsionen im Hypothalamus, von denen 60 % aktiv gewesen zu scheinen; die Aktivität von CRH-Neuronen in diesen Läsionen war signifikant gesteigert.

Die These einer umgekehrten Einflussnahme, dass Zytokine die HPA-Achse beeinflussen, wurde maßgeblich durch die Arbeit von Besedovsky und Kollegen begründet. In standardisierten Tiermodellen für Entzündungen wiesen sie u.a. mit

2 Grundlagen

Hilfe von LPS (Lipopolysaccharid, einem experimentelles Antigen, isoliert aus der Bakterienwand) einen Anstieg des Endproduktes Cortisol durch Aktivierung der HPA-Achse nach (Besedovsky und Del Rey 1985; Del Rey und Besedovsky 2000).

Auch in humanen in vivo-Studien konnte nach exogener Immunstimulierung durch Zytokine sowohl Reaktionen der HPA-Achse als auch Veränderungen von GH und Prolaktin nachgewiesen werden: Ausgeprägte Anstiege von Cortisol (Roosth et al. 1986; Ohno et al. 1998; Goebel et al. 2002; Then Bergh et al. 2007), ACTH (Muller et al. 1991; Kümpfel et al. 2000; Goebel et al. 2002; Then Bergh et al. 2007) und je nach Studie mehr oder weniger ausgeprägte erhöhte Konzentrationen von GH (Ohno et al. 1998; Goebel et al. 2002; Then Bergh et al. 2007) und Prolaktin (Weigent und Blalock 1995; Goebel et al. 2002; Then Bergh et al. 2007) waren nach IFN-Gaben bei Patienten teilweise bis zu 180 min nach Applikation zu beobachten. Parallel dazu zeigten sich Anstiege von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF α , IL-1 IL-6 oder IL-10 (mit Ausnahme von Ohno et al., die keine Korrelation zwischen Anstieg von Hormonen und den Zytokinreaktionen fanden). Eine mögliche Erklärung lieferten verschiedene Autoren (Blalock und Smith 1980; Dafny 1998): So haben z.B. IFN α und ACTH große strukturelle Ähnlichkeiten und können die gleichen endokrine Effekte, in diesem Fall adrenocorticale Sekretion, hervorrufen.

Ein entscheidender Punkt ist: Diese immunologischen Reaktionen wurden ebenfalls beobachtet an gesunden Probanden, bei denen keine autoimmune Grunderkrankung vorlag (Rothuizen et al. 1999; Goebel et al. 2002).

2.3.2 Das sympathische Nervensystem

In den letzten Jahrzehnten haben sich Hinweise darauf verdichtet, dass neben der HPA-Achse auch das sympathische Nervensystem (SNS) eine Rolle als Mediator im Immunsystem spielen könnte (Besedovsky und del Rey 1985; Schedlowski et al. 1993). Dabei fungiert Noradrenalin innerhalb des SNS als Neurotransmitter bzw. Neuromodulator und hat immunsuppressive Funktionen neben der klassischen Funktion als (Stress-)Hormon.

Die Katecholamine **Noradrenalin** und **Adrenalin** sind in der klassischen Definition zuständig für Blutverteilung im Kreislauf, Aufrechterhalten bzw. gegebenenfalls

2 Grundlagen

Steigerung des Gefäßtonus und werden im Nebennierenmark synthetisiert. Die Biosynthese und Sekretion wird durch Cortisol stimuliert -Katecholamine selbst sind wiederum Induktoren der CRH -(und ACTH-) Synthese.

In der Rolle als Neurotransmitter wird Noradrenalin in Synapsen des sympathischen Nervensystems gebildet und gespeichert. Sympathische Nervenfasern wurden nachgewiesen im Parenchym von primären und sekundären lymphatischen Organe. Immunkompetente Zellen exprimieren Noradrenalin-Rezeptoren (Felten et al. 1987). Bei völligem Fehlen von sympathischen Einflüssen durch chemische Sympathektomie zeigte sich sowohl in dem EAE-als auch im AMG-Modell (autoimmune Myasthenia gravis) ein jeweils deutlich schwererer Verlauf im Vergleich zu nicht sympathektomierten Ratten (Chelmicka-Schorr et al. 1988).

Autonome, insbesondere sympathische Dysregulationen lassen sich auch bei MS-Patienten nachweisen (Flachenecker et al. 2001).

Eine wiederum umgekehrte Aktivierung des SNS durch Zytokine wiesen Cavallotti et al. (2002) in einem lymphatischen Organ nach: In Probenbiopsien und Autopsien von Thymusgewebe, das während und nach einer IFN β -Therapie entnommen wurde, waren Noradrenalingehalt und die Anzahl an adrenergen Nervenfasern erhöht.

In vivo zeigten Schedlowski et al. 1993 an gesunden Probanden, die experimentellem Stress durch einen erstmaligen Fallschirmsprung ausgesetzt wurden, dass sich zeitnahe immunologische Veränderungen beweisen ließen, die am ehesten durch eine Reaktion des SNS begründet sein könnten: Der Anteil an NK (Natural Killer)-Zellen und deren zytotoxische Aktivität waren kurz nach dem Sprung deutlich angestiegen, parallel zu einem ausgeprägten Anstieg von Noradrenalin im Plasma während des Sprunges.

Del Rey und Besedovsky (1985; 2000) vertreten die Hypothese, dass der Regelkreis aus 1. Zytokinen, 2. der HPA-Achse und 3. des SNS eine protektive Rolle bei Erkrankungen spielt und eine Unterbrechung dieses Kreises zu einer Disposition oder Exazerbation von Autoimmunerkrankungen führen könnte. Die Rollenverteilung

der Glieder dieses Regelkreises ist komplex und bei weitem noch nicht vollständig verstanden. Vermutlich dient das neuroendokrine System im Sinne einer bidirektionalen Kommunikation auch als sensorische Erweiterung des Immunsystems.

2.3.3 Growth Hormone und Prolaktin

Die Sekretion von **GH** wird durch hypothalamische Hormone, GHRH (GH-Releasing-Hormone, inzwischen subklassifiziert in GHRP, GH-releasing peptides) und GHIRH (GH-Inhibiting-Hormone) reguliert. Stimuli für die Ausschüttung sind unter anderem Hypoglykämie, körperliche Betätigung sowie psychischer Stress. GH ist der Hauptregulator für das Körperwachstum und hat direkte metabolische Wirkungen (Fettmobilisierung, Muskelaufbau). GH wird ebenfalls von Lymphozyten sezerniert (Weigent und Blalock 1995).

Die Sekretion von **Prolaktin** aus dem Hypophysen-Vorderlappen unterliegt vorwiegend einer negativen hypothalamischen Kontrolle, wobei der klassische prolaktininhibierende Faktor wahrscheinlich Dopamin ist. Stimuli der Prolaktinfreisetzung sind u.a. eine mechanische Reizung der Cervix uteri, Hypoglykämie und Stress. Bei Frauen werden ca. 1,5 mal höhere Plasma-Prolaktinspiegel gemessen; die Sekretion unterliegt einem circadianem Rhythmus. Prolaktin hat Funktionen in der Reproduktion und Laktation. Weiterhin beeinflusst es homöostatische Regelkreise (Freeman et al. 2000), hat immunmodulierende, mutmaßlich proinflammatorische Effekte und ist signifikant assoziiert mit der Pathogenese einer weiteren Autoimmunerkrankung, der rheumatoiden Arthritis (Chikanza et al. 1996). Auch Prolaktin kann abseits von der traditionellen Hormondefinition von Lymphozyten sezerniert werden und auf selbige einwirken (Weigent und Blalock 1995).

2.4 Effekte auf Leukozytensubpopulationen

Untergruppen von Leukozyten nehmen unterschiedliche Aufgaben innerhalb des Immunsystems wahr. Leukozyten setzen sich im Normalfall aus folgenden Zellen zusammen (Referenzwerte der Abteilung Labordiagnostik des Universitätsklinikums

Duisburg-Essen, die die Differentialblutbilder dieser Arbeit ermöglichten): 42-75 % der Gesamtleukozyten sind Granulozyten, 25-40 % ist der Anteil an Lymphozyten. Die Monozyten machen 2-6 % aller Leukozyten aus.

Die Aufgabe der **Granulozyten** besteht je nach Typ in der unspezifischen Immunantwort. Sie können, ähnlich den Monozyten, durch Chemokine geleitet das Blut verlassen und mittels Proteasen in Gewebe eindringen; am Infektionsort angelangt werden zunächst neutrophile Granulozyten rekrutiert, noch vor den Monozyten. Die **Lymphozyten** bestehen aus den drei Gruppen B- und T-Zellen und NK-Zellen. Sie nehmen sowohl Aufgaben der humoralen (mittels Antikörpern) als auch der zellulären Immunabwehr (z.B. durch T-Killerzellen) wahr und sind Teile des adaptiven spezifischen Immunsystems. Lymphozyten sind darüber hinaus fähig ACTH, GH und Prolaktin zu sezernieren. Weiterhin sind Nachweise erbracht worden, dass Lymphozyten β -Rezeptoren exprimieren und damit auch durch „sympathisches“ Nordadrenalin beeinflusst werden könnten. Die **Monozyten** sind Bestandteil der angeborenen Immunantwort. Nachdem sie im Knochenmark ausgereift sind, zirkulieren sie für 8-70 h im Blutkreislauf. Ihre Aufgaben sind vielfältig und erstrecken sich von der Antigenpräsentation und der Differenzierung zu Makrophagen über die zellvermittelte Zytotoxizität bis hin zur Ausschüttung von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen.

Bei systemischer Gabe von Zytokinen zeigen sich je nach Studie Stunden nach Applikation folgende Effekte auf die Leukozytensubpopulationen: Schon 1980 zeigten Einhorn et al. dass $\text{IFN}\alpha$ 12 bis 24h nach Injektion einen Anstieg der spontanen Zytotoxizität peripherer Lymphozyten induziert. Bogdahn et al. wiesen 1985 2-6 h nach Erstverabreichung von $\text{IFN}\beta$ an Astrozytom-Patienten eine Lymphopenie, 3-6 h nach Applikation eine Granulozytose und 24h später einen erheblichen Anstieg an NK-Zellen nach. Die Differentialblutbildern der gesunden Probanden einer Vorstudie mit $\text{IFN}\beta$ -1b wiesen ähnliche Verteilungen auf (Goebel et al. 2002).

2.5 Zytokin-induziertes Verhalten

Grippeartige Syndrome sind als Nebenwirkungen dokumentiert, seitdem Zytokine im klinischen Gebrauch sind: Dazu gehören klassischerweise Fieber, Kopfschmerzen,

2 Grundlagen

Schüttelfrost, Appetitlosigkeit, Gelenkschmerzen, chronische Müdigkeit, Muskelschmerzen und -schwäche, bzw. erhöhte Spastizität der Muskulatur, (Bogdahn 1985; Rothuizen 1999; Walther und Hohlfeld 1999; Exton et al. 2002).

In Hinblick auf die psychischen Nebenwirkungen von Zytokinen liegen viele klinische Studien für das IFN α vor: Bei chronischer Behandlung mit dieser Substanz zeigte sich ein signifikant verändertes Verhalten, das sich in einer erhöhten Reizbarkeit, Motivationsverlust oder gar Somnolenz widerspiegelte (Carpiniello et al. 1998). Auch die Häufigkeit von Depressionen, Angststörungen, Anorexie, chronischem Fatigue-Syndrom waren signifikant höher (Capuron et al. 2002).

IFN wirken mutmaßlich auf thermo -und Glucose-sensitive Neuronen im Hypothalamus, speziell im präoptisch-anterioren Bereich und können dadurch Körpertemperatur und Hunger beeinflussen bzw. hervorrufen. Als entdeckt wurde, dass Interferon-Rezeptoren von vielen Zelltypen des ZNS wie beispielsweise Neuronen des Hippocampus, von suprachiasmatischen Kernen, von sensiblen und sympathischen Neuronen des Rückenmarks, von Astrozyten und Oligodendrozyten, sowie von aktivierter Mikroglia exprimiert wurden, fand man dafür ein morphologisches Korrelat (Chang et al. 1990).

1996 zeigten Dafny et al. dass IFN α eine wesentliche Rolle als *Neuromodulator* spielt, der in vitro die Aktivitäten des Hypothalamus, des Thalamus, des Hippocampus, der Amygdala und des somatosensiblen Cortex beeinflusst.

Darüber hinaus konnte Dafny 1998 eine Schlafanregung, sowie eine erhöhte EEG-Synchronisation, die für eine erhöhte kortikale und subkortikale Aktivität spricht, durch die Gabe von IFN α feststellen. Die ersten Studien von Meyers (1991) und Pavol et al. (1995) an Leukämie-Patienten zeigten sogar langfristige Effekte mit kognitiven-und Persönlichkeitsveränderungen nach IFN α -Therapie im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die für eine irreversible neurotoxische Wirkung sprächen. Dieses spräche für eine Langzeitwirkung der Zytokine.

Erwähnung muss finden, dass es insgesamt sehr uneinheitliche Ergebnisse zu den

2 Grundlagen

psychologischen Langzeitwirkungen von Zytokinen gibt: Patten et al. fanden 2005 in einer Metaanalyse von sechs prospektiven und 17 retrospektiven klinischen Studien keine Assoziation zwischen Depressionen und einer Interferon β -Behandlung. Weiterhin gibt es z.B. Studien die keine Anzeichen von gesteigerter Angst oder erhöhter Depression nach dem ersten und zweiten Jahr Therapie mit IFN zeigten, sondern im Gegenteil signifikante Verbesserungen des emotionalen Zustandes nachweisen konnten (Borrás et al. 1999).

Für die akuten Verhaltensveränderungen, die durch Zytokine hervorgerufen werden können prägte der französische Neurobiologe Robert Dantzer den Begriff des *sickness behavior*, eines Verhaltenszustandes, der sich z.B. durch sozialen Rückzug, Desinteresse und Immobilisation auszeichnet. Sickness behavior ist laut Johnson (2002) eine sehr gut organisierte adaptierte Antwort auf eine Infektion. Es wird von Zytokinen induziert, die von aktivierten Leukozyten produziert wurden. Die Zytokine übertragen es von der Peripherie zum Gehirn durch humorale (z.B. durch IL-1 stimulierte zirkumventrikuläre Organe wie die Area postrema) und neuronale Pfade. Vorausgehend ist eine Verletzung oder eine Entzündung des Körpers, diese führt zu einer Immunantwort und zu Ausschüttung von inflammatorischen Zytokinen, wie z.B. IL-1, IL-6 und $\text{TNF}\alpha$, die daraufhin die Aktivität der HPA-Achse erhöhen (Turnbull und Rivier 1999). Dieses ist physiologisch sinnvoll: Moderates Fieber mit Temperaturanstieg um 1-2 Grad Celsius behindert milieubedingt bakterielles Wachstum und führt zur Abnahme von Zink- und Eisenspiegeln, was ebenfalls hemmend auf bakterielles Wachstum wirkt.

Im Tiermodell wird eine Entzündung z.B. durch Gabe eines immunologischen Stressors wie LPS simuliert. Bei den Tieren zeichnet sich das *sickness behavior* entsprechend durch eine Reduktion von Neugierde, Minimierung von Sozialkontakten und Sinken der sexuellen Appetenz bis hin zu Apathie aus. (Ein solches Verhalten, z.B. im Falle einer schweren Virusgrippe kennt man vielleicht aus eigener Erfahrung).

Da Neuronen keine Rezeptoren für virale oder bakterielle Kontamination besitzen, wäre zu mutmaßen, dass die subjektiven Symptome z.B. einer Virusgrippe im

2 Grundlagen

Wesentlichen nicht durch die Viruslast selbst, sondern durch eine körpereigene Zytokinantwort und konsekutive Reaktionen z.B. des Hypothalamus hervorgerufen werden. Diese Verhaltensänderung im Krankheitsfall dient laut Dantzer dazu, vorhandene Ressourcen zu schonen, die Immunität zu stärken und überschießende Entzündungsreaktionen zu verhindern.

3 Fragestellung

Ziel der Arbeit war herauszufinden, ob sich bei Gabe eines IFN-Präparates akut und über einen Zeitraum von einem Jahr Nebenwirkungen und Gewöhnung dieser einstellen und wie sich diese laborchemisch nachweisen lassen. Als Parameter dienten einige ausgewählte Blutspiegel von Hormonen der HPA-Achse, Prolaktin, GH, Verschiebungen der Leukozytensubpopulationen sowie psychische Veränderungen. Dafür wurden MS-Patienten am ersten Tag einer IFN β -1a-Therapie und nach 12 Monaten Therapie Blut an jeweils fünf Zeitpunkten (inklusive einer basalen Messung vor Applikation) eines Studientages entnommen. Bestimmt wurden die Plasmakonzentrationen von Cortisol, ACTH, Prolaktin, GH und von Noradrenalin und Adrenalin. Weiterhin bestimmt wurden ein Differentialblutbild, die Körpertemperatur sowie die aktuelle Befindlichkeit mit Hilfe von Fragebögen. Zur Dokumentation des Therapieerfolges wurde schließlich mit Hilfe des EDSS (Expanded Disability Status Score, Kurtzke 1983) der Grad der körperlichen Behinderung festgehalten.

4 Methoden

4.1 Patienten

Die untersuchte Gruppe bestand aus 13 Patienten, 6 Männern und 7 Frauen im Alter zwischen 18 und 53 Jahren ($M= 35,7$; $SD= 9,4$ Jahre). 18 Jahre war das früheste, 51 Jahre das späteste Manifestationsalter der Krankheit ($M=31,4$; $SD= 9,9$ Jahre). Die Diagnose der Erkrankung war zum Untersuchungszeitraum im Schnitt ca. 6 Jahre bekannt und anhand der zu diesem Zeitpunkt gültigen Poser-Kriterien (Poser et al. 1983) gestellt worden. Bei 9 Patienten lag bei Studienbeginn ein schubförmiger Verlauf (RR), bei 4 der Patienten ein sekundär chronisch-progredienter Verlauf (SCP) der Erkrankung vor. Es haben keine Patienten mit primär-chronischem Erkrankungsverlauf teilgenommen.

Der EDSS der untersuchten Gruppe lag bei Untersuchungsbeginn im Durchschnitt bei 2,6 ($\pm 1,4$ SD) Punkten. Der am wenigsten betroffene Patient erreichte 1,5 Punkte, der Patient mit den größten Einschränkungen 7 Punkte in Bezug auf den EDSS. Am Ende der Studie lag der EDSS der behandelten Patienten im Durchschnitt bei 2,8 ($\pm 1,5$ SD), die Skala reichte auch hier von 1,5 bis 7 Punkten. Alle Patienten wurden aus der MS-Ambulanz der Universitätsklinik Essen-Duisburg rekrutiert. Die Indikation für die immunmodulierende Therapie mit IFN β -1a wurde nach dem Abwägen alternativer Therapieregimes gestellt. Die Patienten wurden über den Ablauf der Studie und ihren wissenschaftlichen Zweck informiert und haben ihr schriftliches Einverständnis unter der Voraussetzung dazu erteilt, dass ihre Daten vertraulich behandelt werden. Zum Zeitpunkt der Untersuchung hatte keiner der Patienten Steroide innerhalb der letzten vier Wochen oder eine immunsuppressive Medikation innerhalb von sechs Monaten vor der Untersuchung erhalten. Während der Behandlung innerhalb des untersuchten Jahres hatte kein Patient eine zusätzliche immunmodulierende Therapie erhalten. *Ausgeschlossen* wurden Patienten mit endokrinen oder zusätzlichen Autoimmunerkrankungen oder Patientinnen, bei denen eine Schwangerschaft nicht ausgeschlossen werden konnte.

4.2 Versuchsaufbau

Die Patienten wurden an den zwei Studientagen vor Beginn von jeweils dem gleichen erfahrenen Untersucher neurologisch untersucht und ein aktueller EDSS bestimmt. Den Patienten wurde das korrekte Ausfüllen der POMS-Fragebögen (siehe Punkt 4.5) erläutert. Die Patienten wurden dann vor Untersuchungsbeginn mit dem Umgang mit einer subkutanen Applikationshilfe vertraut gemacht. Alle Patienten applizierten sich am Studientag immer zwischen 8-9 Uhr morgens das Medikament, um circadianen Schwankungen von Hormonen und Leukozytensubpopulationen gerecht zu werden.

Es gab an beiden Untersuchungstagen jeweils fünf Untersuchungszeitpunkte **t1-t5**:

t1(baseline-Messung):	15 min vor Applikation
t2:	1 Stunde nach Applikation
t3:	2 Stunden nach Applikation
t4:	4 Stunden nach Applikation
t5:	8 Stunden nach Applikation

Ablauf pro Untersuchungszeitpunkt t x :

- **Ausfüllen des Fragebogens POMS**
- **Messung der Körpertemperatur**
- **Blutentnahme**

15 min nach der Baseline-Messung verabreichten sich die Patienten unter Aufsicht das Präparat: Rebif® 44 mg (IFN β -1a, Gabe 3/Woche, Hersteller: Serono-Merck), gelagert bei 4° C, subkutan in eine Bauchfalte mit einer Injektionshilfe. Die Injektionsnadel verweilte jeweils mindestens 10 Sekunden in der Haut. Nach dem Entfernen der Kanüle wurden die Patienten angewiesen, zur besseren Verteilung die Einstichstelle mit Gaze zu massieren. Die Patienten konnten sich daraufhin frei bewegen mit der Auflage, keine feste Nahrung und innerhalb von 8 h keine

Schmerzmedikation einzunehmen.

Abgenommen wurden jeweils 2,7 ml Blut für das Blutbild und Differential-Blutbild und 7 ml Blut für die Hormonbestimmung aus einer Brachiocephalvene mit Hilfe eines Venenverweilkatheters. Die sublinguale **Körpertemperatur** wurde mithilfe eines digitalen Thermometers (Omron, Mannheim) bestimmt.

12 Monate nach der Erstapplikation folgte ein zweiter Studientag, im weiteren Verlauf als „post-Messung“ bezeichnet, mit gleichem Ablauf. Hier wurden noch 10 der Patienten, sieben mit RR-Verlauf der Erkrankung, drei mit SCP-Verlauf inkludiert, da leider bei drei Patienten die Therapie mit IFN nicht über ein Jahr fortgeführt wurde. Die jeweilige Ursache für den Therapieabbruch konnte leider nicht erfasst werden.

4.3 Hormonanalysen

4.3.1 Messen der Cortisol-, ACTH-, Prolaktin -und GH-Konzentration

Nach oben beschriebener Präparation und Sicherung des Plasmas wurde mit Hilfe kommerzieller Immunoassays mit dem Verfahren der Chemilumineszenz die Konzentration von Cortisol, ACTH, Prolaktin GH im Blutplasma gemessen. Dieses Assay, hier beispielhaft an der Bestimmung von Cortisol erklärt, beruht auf der kompetitiven Bindung von Acridinium estermarkiertem Cortisol und dem zu messenden Plasma-Cortisol an spezifische Cortisol-Antikörper. Die Lumineszenzreaktion wird am Acridinium-estermarkierten Cortisol ausgelöst, wobei die in relativen Lichteinheiten gemessene Lichtemission sich reziprok proportional zur Cortisolkonzentration im Plasma verhält. Die Menge an gebundenem, markiertem Antikörper lässt also direkt Schlüsse zu über die Konzentration des Stoffes in der Probe. Die Assays sind standardisiert und werden kommerziell vertrieben. Um die Variabilität innerhalb von Proben eines Patienten zu reduzieren, wurden alle Proben eines Untersuchungstages im gleichen Assay bestimmt. Die Variabilitätskoeffizienten liegen bei 8 % zwischen den Proben und bei 5 % innerhalb der Probe eines Patienten innerhalb der fünf Zeitpunkte der Abnahme.

Test- Kits:

Cortisol: Automat. Chemilumineszenz-System ACS:180 Cortisol + E, Fa. Bayer

Prolaktin: Automat. Chemilumineszenz-System ACS:180 Prolaktin + E, Fa. Bayer

ACTH: Human ACTH kit, (Nichols Institute Diagnostics)

GH: HGH 100t kit, (Nichols Institute Diagnostics).

4.3.2 Bestimmung der Katecholaminkonzentration

EDTA-Blut wurde sofort nach der Blutabnahme auf Eis gesetzt und bei 3000 Umdrehungen/ min. für 15 min. bei 4 ° C zentrifugiert. Nach Abnahme des Plasmas wurde dies zur weiteren Analyse bei – 80 ° C eingefroren. Die Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin aus dem Blutplasma erfolgte in der Abteilung für Pharmakologie (Prof. Dr. Michel) mittels einer modifizierten Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC). Diese etablierte Flüssigkeits-extraktionsmethode dient der selektiven und quantitativen Isolierung der Hormone, wobei die Intensität des chromatographischen Signals proportional zur Konzentration des Hormons in der Probe ist und auf Bildung eines Borat-Diol-Komplexes beruht. Die Ausnutzung definierter Redoxpotentiale, die einen messbaren Elektronenfluss erzeugen, wird als chromatographisches Signal verstärkt.

4.4 Blutbildbestimmung und Differentialblutbilder

Nach der Entnahme von 2,7 ml EDTA-Blut wurden die absoluten Leukozytenzahlen und die Leukozytensubpopulationen in der Abteilung für Hämatologie des Universitätsklinikums Essen-Duisburg mittels eines STKS-Counters (Beckman Coulter Electronics, Krefeld) bestimmt.

4.5 Messung der subjektiven Befindlichkeit -POMS

Das POMS (Profile of Mood States) ist eine Selbstbeurteilungsskala zur Messung vorübergehender, wechselnder Stimmungszustände, die sich u.a. zur quantitativen Erfassung von Stimmungsveränderungen über die Zeit für Messwiederholungen und Verlaufsbeschreibungen eignet (Biehl et al. 1981). Das POMS kann als Paper-Pencil-Test innerhalb von 5-10 min. bearbeitet werden. Es besteht aus einer

4 Methoden

Adjektivliste von 35 Items, anhand derer ein Proband seine momentane Stimmungslage in sieben Beurteilungsskalen von „überhaupt nicht“ bis „sehr stark“ beurteilen soll. Die Patienten wurden aufgefordert, diese Beurteilungen sofort und aus dem Gefühl heraus abzugeben, ohne langes Nachdenken.

Niedergeschlagenheit (depressive mood)	Depressive Stimmungen verschiedener Färbungen, wie Minderwertigkeit, Hilflosigkeit, Verzweiflung und Entmutigung
Müdigkeit (fatigue)	Müdigkeit, Trägheit und Lustlosigkeit
Tatendrang (vigor)	Tatkraft, Aktivität, Fröhlichkeit und Lebhaftigkeit
Missmut (hostility)	Schlechte Laune, Gereiztheit und Zorn

Tabelle 4.1: Stimmungsdimensionen wurden mit Hilfe des POMS erfasst.

4.6 EDSS

Der EDSS (Expanded Disability Status Score) ist eine klinische Skala zur Verlaufsbeobachtung von MS und bezieht sich in verschiedenen Items auf Störungen in funktionellen Systemen, z.B. des Sensoriums, oder des Hirnstamms. Die Skala reicht von 0,0 Punkten (Grad 0 in allen funktionellen Systemen) bis hin zu 10,0 Punkten (Tod infolge MS) und gibt Auskunft über den Grad der Behinderung, hervorgerufen allein durch MS.

4.7 Analyse der Daten und Statistik

Alle Berechnungen erfolgten mit Hilfe des Programms „Statistical Package for Social Sciences“ (SPSS, Version 11.0). Die graphische Realisierung erfolgte mittels des Programms „Prism Graphpad Software 3.0“. Die Analyse der Daten erfolgte durch eine zweifaktorielle (Untersuchungszeitpunkt x Zeit) – Varianzanalyse (ANOVA) mit mehreren Messwiederholungen. Wenn nicht anders beschrieben, repräsentieren die p-Werte die Ergebnisse der ANOVA die Beziehungen zwischen einem Untersuchungszeitpunkt und der Zeitpunkte. Die Post-hoc-Analysen zwischen der

4 Methoden

Erstmessung und der post-Messung wurden mittels des Student-t-Test ausgewertet. Unterschiede der EDSS wurden durch einen Wilcoxon-Test für Paardifferenzen berechnet. Die Korrelation zwischen den Werten für das POMS-Item „Müdigkeit“ und der Leukozyten-Verteilung wurden ermittelt mithilfe des Produktmoment-Korrelationskoeffizient, 'r', nach Pearson. Die Analyse des EDSS in Bezug auf die Ergebnisse des POMS-Tests erfolgte mittels des Spearmanschen Rangkorrelationskoeffizienten r_s .

5 Ergebnisse

5.1 Ergebnisse der Hormonanalysen

5.1.1 Cortisol

Die Auswirkungen von IFN auf Cortisol-Plasma-Konzentrationen: Innerhalb der ersten zwei Stunden nach der ersten Applikation sinkt der Cortisol -Spiegel erheblich ab ($F = 3.07$, $p = 0.028$). Vier Stunden nach Injektion steigt er dagegen wieder deutlich an. Am ersten Studientag zu den Zeitpunkten 2h und 8h nach Applikation waren die Cortisolkonzentrationen signifikant niedriger im Vergleich zur post-Messung nach zwölf Monaten, wo keine signifikanten Veränderungen auftraten (p 's < 0.05).

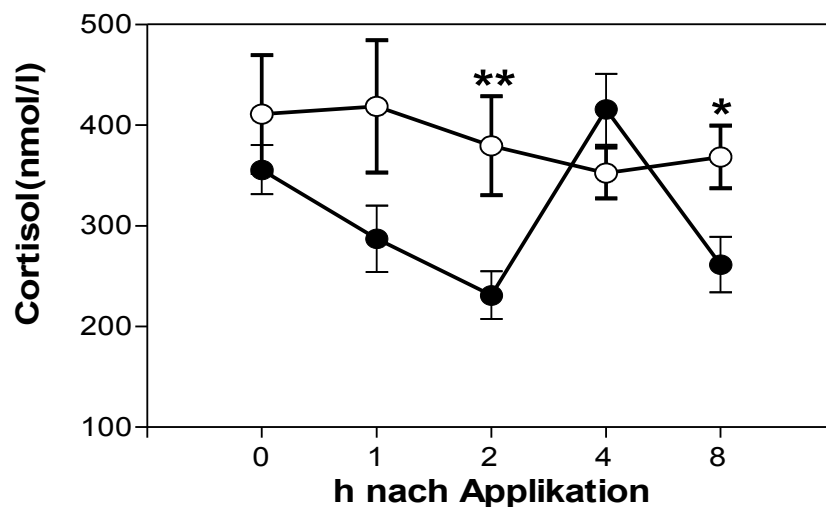


Abbildung 5.1: Mittelwerte der Cortisol-Plasmaspiegel (\pm Standardfehler) der initialen (\bullet) ($n=13$) und der post-Messung (\circ) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ in Post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.1.2 ACTH

Ein ähnliches Bild zeigt sich für **ACTH**, gleichwohl mit geringerer Signifikanz ($F = 1.65$, $p = 0,057$). Im Unterschied zu den Cortisolkonzentrationen zeigte sich aber hier nicht nur ein tendenzieller sondern ein signifikanter Anstieg von ACTH im Plasma für den Zeitpunkt 1h der post-Messung im Vergleich zum ersten Studientag ($t = -2.32$, $p = 0.045$).

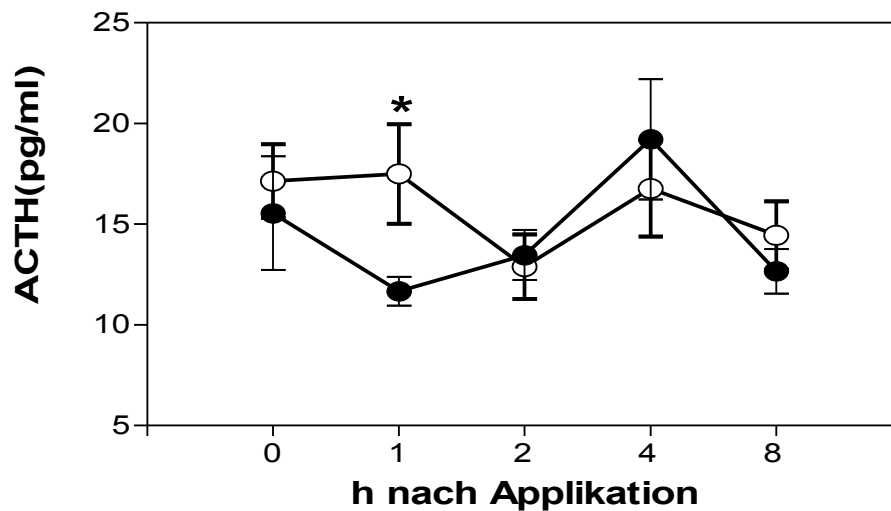


Abbildung 5.2: Mittelwerte der ACTH-Plasmaspiegel (\pm Standardfehler) der initialen (\bullet) ($n = 13$) und der post-Messung (\circ) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (* $p < 0,05$ in Post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.1.3 Prolaktin und GH

Es ergaben sich sowohl innerhalb eines Studientages als zwischen den Gruppen erste und post-Messung keine Signifikanz für Prolaktin und GH. Initial zeigt sich zu mindestens ein (nicht signifikanter) Trend von GH in einem Absinken nach der Erstgabe, der in der post-Messung fehlte.

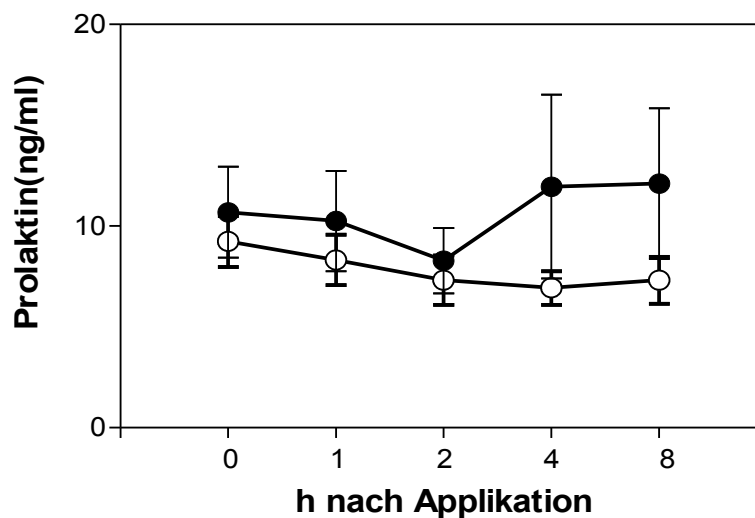


Abbildung 5.3: Mittelwerte der Prolaktin-Plasmaspiegel (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n=13$) und der post-Messung (○) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a.

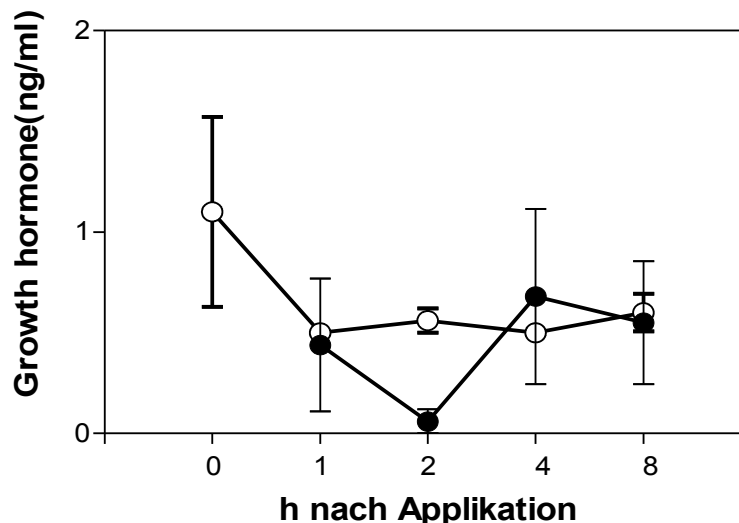


Abbildung 5.4: Mittelwerte der Growth Hormone-Plasmaspiegel (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n=13$) und der post-Messung (○) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4, 8h nach Applikation von IFN β -1a.

5.1.4 Noradrenalin und Adrenalin

Für **Noradrenalin** und **Adrenalin** zeigt sich aufgrund von uneinheitlichen Ergebnissen eine extreme Varianz und damit ergab sich ebenfalls keine Signifikanz. Hier ist statistisch allenfalls ein Trend für Noradrenalin zu vermuten, dass die Spiegel während des post-Messungstages bis zu 4h stetig ansteigen.

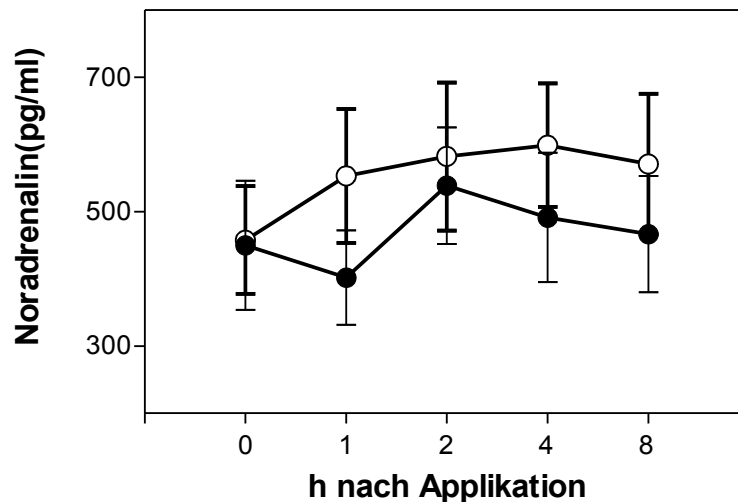


Abbildung 5.5: Mittelwerte der Noradrenalin-Plasmaspiegel (\pm Standardfehler) der initialen (\bullet) ($n=13$) und der post-Messung (\circ) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4, 8h nach Applikation von IFN β -1a.

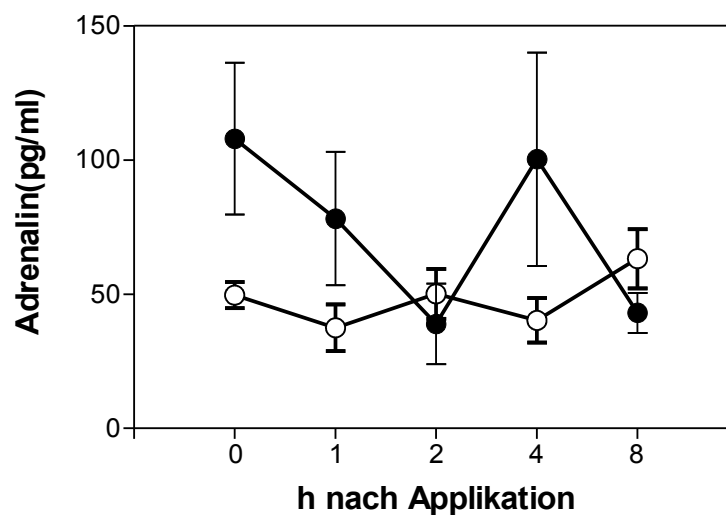


Abbildung 5.6: Mittelwerte der Adrenalin-Plasmaspiegel (\pm Standardfehler) der initialen (\bullet) ($n=13$) und der post-Messung (\circ) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a.

5.2 Ergebnisse der Leukozytensubpopulationen

5.2.1 Leukozyten gesamt

IFN β -1a induziert signifikant die Höhe der absoluten Leukozytenzahlen ($F = 4.08$, $p = .007$) acht Stunden nach der Gabe des ersten Studientag, während sich nach einem Jahr keine Veränderungen ergeben. Im Vergleich der beiden Messtage sind die absoluten Leukozyten ($t = 3.56$, $p = .005$) am ersten Studientag über acht Stunden erhöht. Nach einem Jahr zeigten sich weiterhin deutlich reduzierte basale Leukozytengesamtzahlen. Der bei der ersten Messung noch vorhandene Anstieg zum Zeitpunkt 8h war nicht mehr nachweisbar.

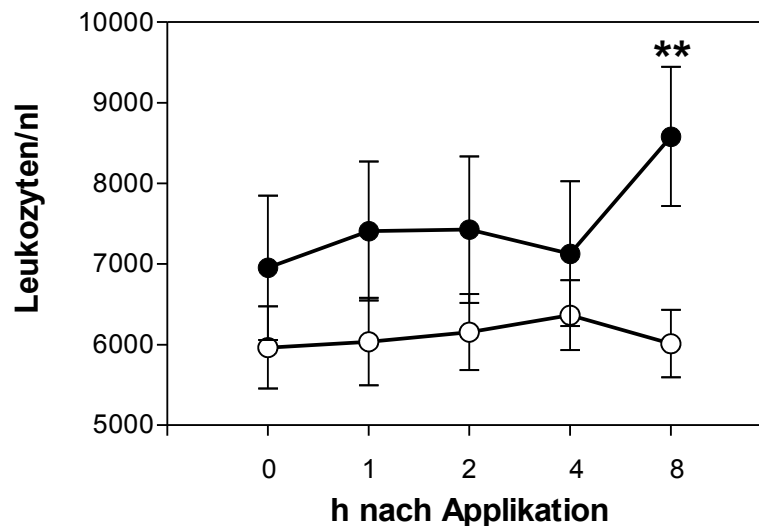


Abbildung 5.7: Mittelwerte der absoluten Leukozytenanzahl (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n = 13$) und der post-Messung (○) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (** $p < 0,01$ in Post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.2.2 Absolute Granulozytenanzahl

Für die absolute Granulozytenanzahl ergibt sogar sich eine deutlich signifikante Steigerung 8h nach Gabe ($F = 3.53$, $p = .019$). Weiterhin zeigt sich ein erniedrigter basaler Spiegel und wenig Beeinflussung nach einem Jahr. Vergleicht man die initiale mit der post-Messung sind die Granulozyten am gesamten Studientag nach der Applikation erhöht ($t = 4.63$, $p = .002$).

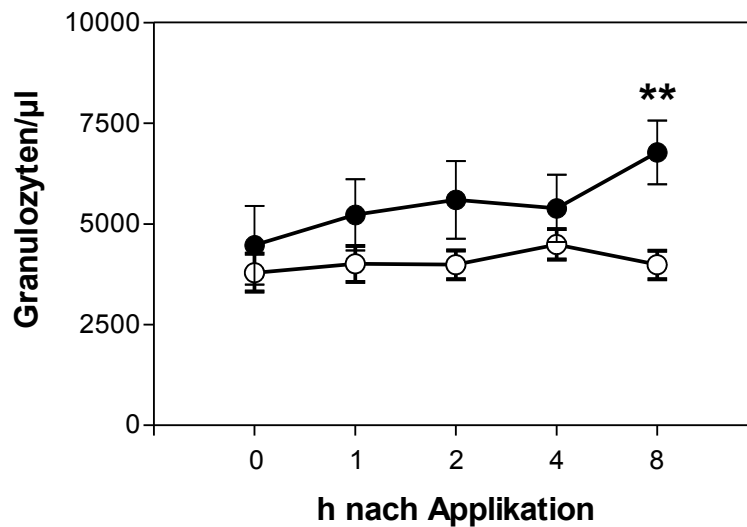


Abbildung 5.8: Mittelwerte der absoluten Granulozytenanzahl (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n = 13$) und der post-Messung (○) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von $IFN\beta -1a$ (** $p < 0,01$ in Post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.2.3 Absolute Lymphozytenanzahl

Die absolute Menge an Lymphozyten entwickelt sich am ersten Tag nach acht Stunden um ca. 40 % nach unten ($F = 2.95$, $p = .03$). Dieses ändert sich aber für die zweite Messung, bei der es kaum Veränderungen gab. Eine Signifikanz zwischen beiden Messungen zeigt sich deutlich in der post hoc – Analyse ($t = -2.59$, $p = .03$) für den Zeitpunkt 8h. Ein Trend ist zu mindestens erkennbar, die Lymphozyten reagieren ähnlich wie vor einem Jahr mit einem Rückgang 2h nach Applikation.

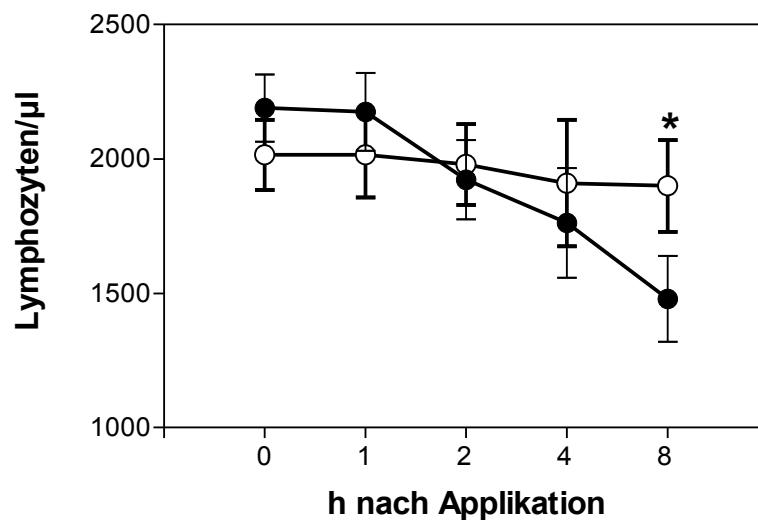


Abbildung 5.9: Mittelwerte der absoluten Lymphozytenanzahl (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n = 13$) und der post-Messung (○) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (* $p < 0,05$ in Post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.2.4 Absolute Monozytenanzahl

Die Anzahl der absoluten Monozyten ist nach einem Jahr signifikant erhöht, ihre Anzahl sinkt nach der Gabe und erholt sich danach wieder: Baseline **, 2h * , 4h **
Die Monozyten zeigen an beiden Tagen deutliche Schwankungen, mit einem Tiefpunkt zwei Stunden nach der Applikation und erreichten nicht mehr die Ausgangslage ($F = 6.75$, $p = .001$) Die Anzahl der Monozyten zeigen zu fast allen Messzeitpunkten der post-Messung eine signifikant erhöhte Anzahl ($F = 27.72$, $p = 0.001$ für einen Session-Effekt), für alle $p < 0,05$.

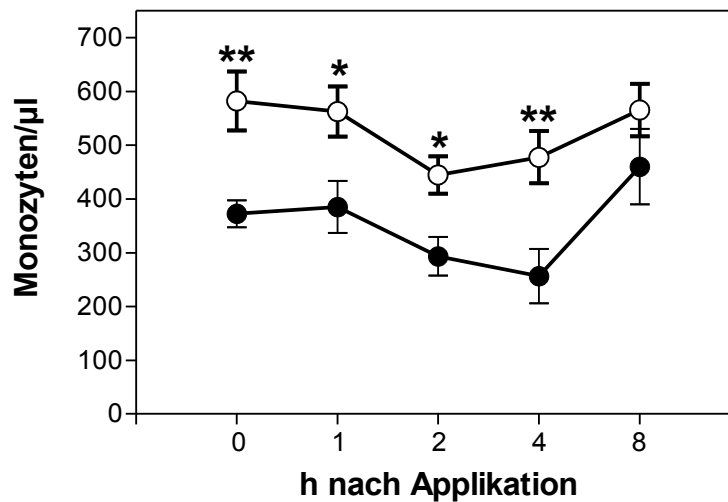


Abbildung 5.10: Mittelwerte der absoluten Monozytenanzahl (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n = 13$) und der post-Messung (○) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ in post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.2.5 Relative Granulozytenanzahl

In der Aufteilung der Gesamtleukozyten zeigt sich für die Granulozyten nach 2h ($t = 2.53$, $p = .039$) und nach 8h ($t = 6.23$, $p < .001$) eine deutliche Steigerung.

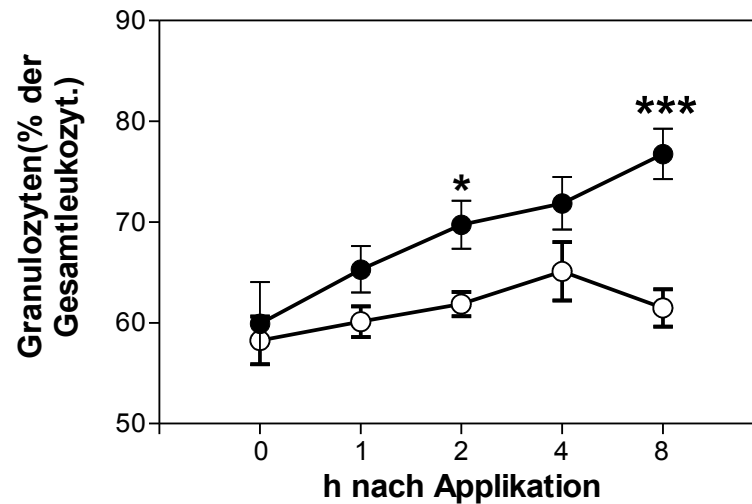


Abbildung 5.11: Mittelwerte des Anteils der Granulozyten an den Gesamtleukozyten (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n = 13$) und der post-Messung (○) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (***) $p < 0,001$; * $p < 0,05$ in post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.2.6 Relative Lymphozytenanzahl

Die Lymphozyten zeigen innerhalb der Leukozytensubpopulationen eine Lymphopenie mit einer Reduktion von bis zu 17,6 % in der Gesamtzahl der Leukozyten, 8h nach der Erstapplikation. Nach einem Jahr war dieser Effekt nicht mehr nachweisbar ($t = -5.17$, $p = .001$).

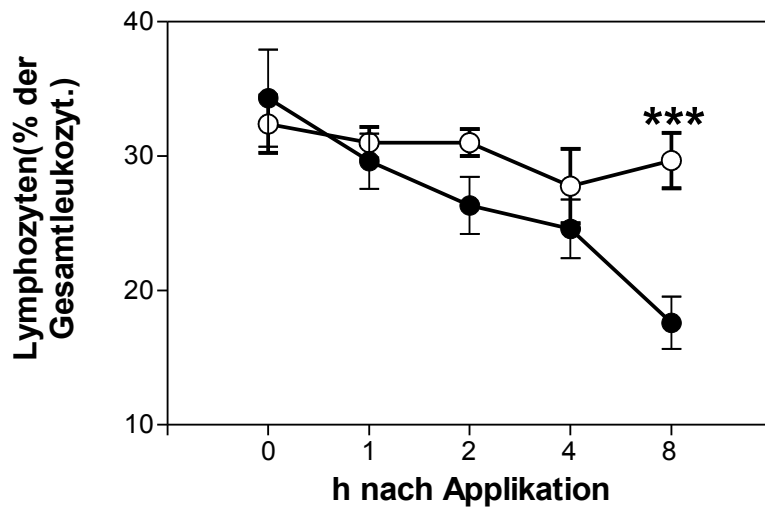


Abbildung 5.12: Mittelwerte des Anteils der Lymphozyten an den Gesamtleukozyten (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n = 13$) und der post-Messung (○) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (***) $p < 0,001$ in post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.2.7 Relative Monozytenanzahl

Die Aufteilung der Monozyten in Relation zur Gesamtheit zeigt ähnliche Ergebnisse wie die absoluten Bestände der Monozyten: Zu allen Zeitpunkten sind die Werte in der initialen Messung deutlich niedriger (p 's < .05) im Vergleich zur post-Messung.

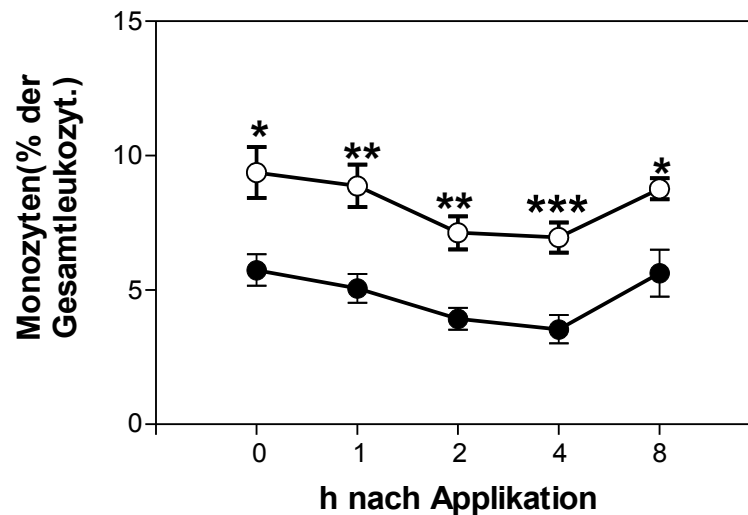


Abbildung 5.13: Mittelwerte des Anteils der Monozyten an den Gesamtleukozyten (\pm Standardfehler) der initialen (\bullet) ($n=13$) und der post-Messung (\circ) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a (** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ in post hoc-Analysen zwischen beiden Gruppen).

5.2.8 Körpertemperatur

An beiden Studientagen war die Körpertemperatur über alle Zeitpunkte signifikant erhöht ($F= 10,41$, $p < 0,01$: innerhalb eines Tages).

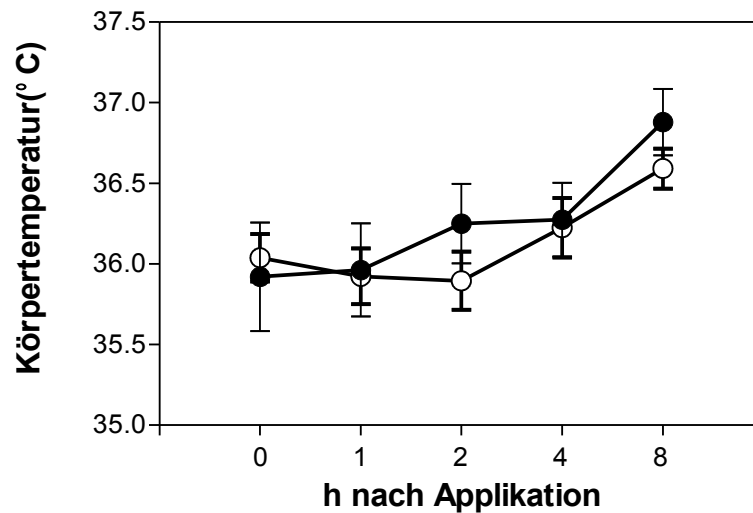


Abbildung 5.14: Mittelwerte der sublingualen Körpertemperatur (\pm Standardfehler) der initialen (\bullet) ($n= 13$) und der post-Messung (\circ) ($n= 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a.

5.3 Ergebnisse der psychologischen Parameter

Während die Patienten an beiden Studientagen mittels des POMS Müdigkeit dokumentierten ($F = 20.70$, $p < 0.001$ innerhalb eines Tages), ergaben sich für die anderen Subskalen, Niedergeschlagenheit, Missmut und Tatendrang innerhalb der 5 Zeitpunkte keine Veränderungen. Darüber hinaus konnten wir zwischen der ersten Messung und post-Messung keine signifikanten Unterschiede in irgendeiner der POMS Subskalen und damit keine Änderung der emotionalen Befindlichkeiten feststellen (p 's > 0.05).

5.3.1 Müdigkeit

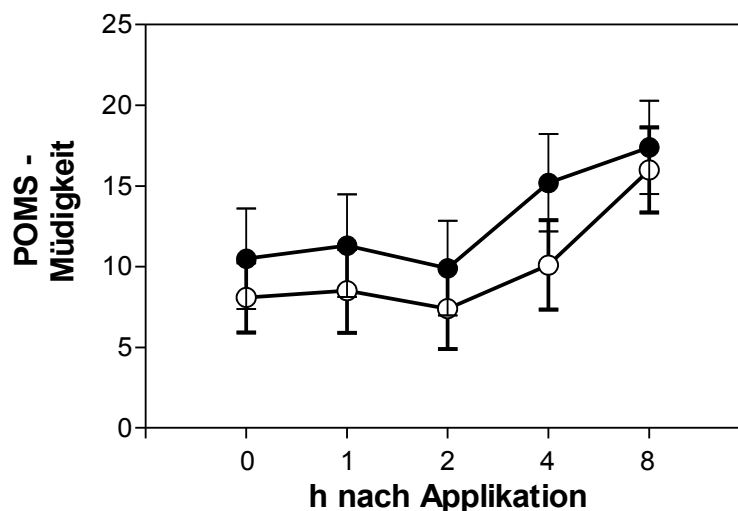


Abbildung 5.15: Mittelwerte der subjektiven Werte für die Subskala „Müdigkeit“ (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n = 13$) und der post-Messung (○) ($n = 10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a.

5.3.2 Niedergeschlagenheit

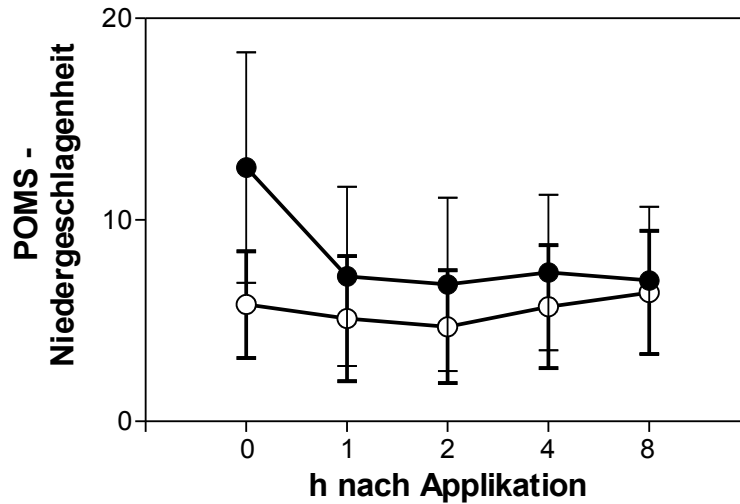


Abbildung 5.16: Mittelwerte der subjektiven Werte für die Subskala „Niedergeschlagenheit“ (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n=13$) und der post-Messung (○) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a.

5.3.3 Missmut

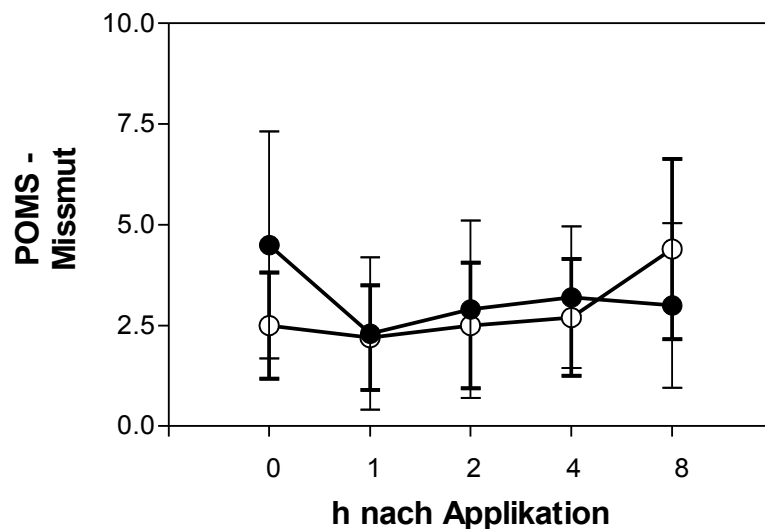


Abbildung 5.17: Mittelwerte der subjektiven Werte für die Subskala „Missmut“ (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n=13$) und der post-Messung (○) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a.

5.3.4 Tatendrang

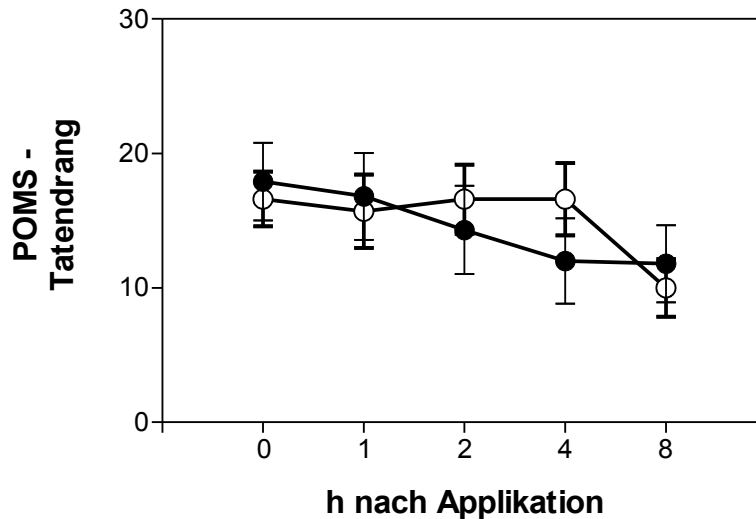


Abbildung 5.18: Mittelwerte der subjektiven Werte für die Subskala „Tatendrang“ (\pm Standardfehler) der initialen (●) ($n=13$) und der post-Messung (○) ($n=10$) zur Baseline (0) und den Messzeitpunkten 1, 2, 4 und 8h nach Applikation von IFN β -1a.

5.3.5 Korrelation zwischen Fatigue und der Leukozytenverteilung

Weitere Analysen zeigten, dass zwar am ersten Tag aber nicht in der post-Messung die Punkte für Fatigue signifikant korrelierten mit der absoluten Zahl an Leukozyten 4h nach der Applikation. Fatigue war ebenso positiv korreliert mit dem relativen Anteil der Granulozyten an der Gesamtheit der Leukozyten ($r= .751$, $p = .006$) aber negativ korreliert mit dem relativen Anteil der Lymphozyten ($r= -.571$, $p = .042$) und der Monozyten ($r= -.631$, $p = .021$) an der Leukozytengesamtzahl.

5.4 EDSS

Im Vergleich der beiden Testzeitpunkte zeigte sich im EDSS leider eine signifikante Steigerung ($Z: -2,12; p = 0.034$). Zusätzliche Korrelationsanalysen zeigten aber deutlich, dass zum Beginn der Therapie der EDSS signifikant mit den POMS Subskalen Müdigkeit ($r = 0.658, p = 0.014$), Niedergeschlagenheit ($r = 0.653, p = 0.016$) und bzw. höchst signifikant mit Missmut ($r = 0.781, p < 0.001$) korrelierte, allerdings nicht mit Tatendrang ($r = -.168, p = 0.58$). Diese Ergebnisse waren allerdings in der post-Messung nicht mehr signifikant ($p's > 0.05$).

6 Diskussion

Das Ziel der Arbeit war herauszufinden, ob IFN β -1a neuroendokrine Reaktionen von MS-Patienten beeinflusst und langfristig moduliert. Verglichen wurden die akuten Effekte einer Interferon-Gabe mit denen nach einem Jahr Therapie. Als Ausgangspunkt unserer Untersuchungen fanden wir bei den Patienten vor der ersten Injektion eine verminderte Grundaktivität der HPA-Achse vor. Unmittelbar nach der Injektion zeigten sich akute Effekte im Sinne einer Antwort der HPA-Achse, und Reaktionen von Leukozyten. Nach einem Jahr Therapie konnten wir eine Anpassung der HPA-Achse und der Leukozyten im Sinne einer verminderten Grundaktivität und Sensibilität feststellen. Die Veränderungen in der Körpertemperatur und das subjektive Erleben der Interferon-Wirkungen entsprachen den Reaktionen die nach der ersten Gabe von IFN β -1a auftraten.

6.1 Akute Effekte

6.1.1 HPA-Achse

Mit dieser Arbeit konnte belegt werden, dass IFN β -1a die HPA-Achse von MS-Patienten stimuliert: Vier Stunden nach der erstmaligen Injektion wurde ein markanter Anstieg der **Cortisol**-Ausschüttung induziert. Dieses Ergebnis wurde durch Studien mit ähnlichem Aufbau bestätigt: Kümpfel et al. (2000), Then Bergh et al. (2007) und Kümpfel et al. (2007) zeigten die gleichen Reaktionen der HPA-Achsen von MS-Patienten für Cortisol nach einer Gabe von IFN β -1a auf. Auch an Hepatitis C erkrankten Patienten, die mit IFN β behandelt wurden (Ohno et al. 1998) sowie an Tumorpatienten, die mit IFN α behandelt wurden (Roosth et al. 1986), konnte gezeigt werden, dass die ersten Gaben eines IFN zu akut erhöhten Cortisolkonzentrationen führen.

Für **ACTH** zeigte sich ein ähnlicher Verlauf wie für Cortisol, jedoch in einem geringem Ausmaß. Neben der Erhöhung zum Zeitpunkt 4h nach Injektion zeigt sich in der post-Messung allerdings schon nach einer Stunde ein erster isolierter Anstieg der ACTH-Plasmakonzentration ohne einen Cortisol-Anstieg. Diese akuten IFN-induzierten ACTH-Anstiege konnten auch Kümpfel und Kollegen in zwei Studien

nachweisen (Kümpfel et al 2000; Kümpfel et al 2007). Auch Then Bergh et al (2007) bestätigen in einer aktuellen Studie diese Ergebnisse, sie fanden ACTH-Anstiege die sogar noch deutlicher ausfielen als die Reaktionen des Cortisols ihrer Patienten. Darüber hinaus zeigten Studien mit völlig gesunden Probanden, dass sich diese IFN-Wirkungen, auch unabhängig von MS oder anderen Erkrankungen induzieren lassen: Auch gesunde Probanden reagieren auf IFN β durch Anstiege von ACTH und Cortisol (Goebel et al. 2002).

Wenn man die aktuelle Studienlage betrachtet, muss man sagen, dass die IFN β -induzierten Anstiege von Cortisol in dieser und in den erwähnten Arbeiten jeweils an die ACTH-Reaktion gekoppelt war.

Der erste Schritt der Aktivierung der HPA-Achse führt über andere Zytokine: Die Gabe von IFN β -1a führt zur Erhöhung der Spiegel von IL-1, IL-6 und TNF- α (Martinez-Cáceres et al. 1998; Kümpfel et al. 2000; Goebel et al. 2005). Die Kombination dieser Zytokine stimuliert die hypophysäre Ausschüttung von ACTH. Isoliertes ACTH führt ebenfalls zur Ausschüttung von IL-1, IL-6 und TNF α , so dass hier noch eine verstärkte Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen erwartet werden könnte. Die Kombination aus ACTH und wiederum IL-1, IL-6 und TNF α für sorgen für eine Freisetzung von Cortisol. Cortisol hemmt die Induktion der vorgenannten Zytokine und die Sekretion von ACTH, die ihrerseits wiederum die HPA-Achse aktivieren würden.

6.1.2 Katecholamine

IFN β induzierte in dieser Arbeit keine akuten signifikanten Veränderungen der Plasmakonzentrationen der Katecholamine **Adrenalin** und **Noradrenalin**.

In den wenigen Studien, die mit gesunden Probanden durchgeführt wurden, ergaben sich in Bezug der Beeinflussung von Katecholamin durch IFN β unterschiedliche Ergebnisse: Goebel et al. (2002) konnten ebenfalls keine erhöhte Sekretion der Katecholamine durch IFN β dokumentieren. Allerdings zeigten die gleichen Autoren in einer späteren Studie, dass nach Gabe von IFN β akut zumindest die Noradrenalkonzentrationen im Plasma ansteigen können (Goebel et al. 2005). Einen indirekten möglichen Hinweis auf Aktivierung des sympathischen

Nervensystems ergab sich durch Anstiege in der Herzfrequenz der gesunden Probanden. Messbare Veränderungen durch (nichtinvasive) Messungen des Blutdrucks zeigten sich in keiner dieser Arbeiten (Goebel et al. 2002; 2005).

Es scheint trotz der uneinheitlichen Ergebnisse aufgrund der geringen Anzahl der Studien, dass sich die Antwort der HPA-Achse auf IFN mehr auf die zentralen Strukturen, also Hypothalamus und Hypophyse, als auf die peripher gelegene Nebennierenrinde konzentriert. Die signifikante Cortisol-Antwort der NNR erfolgt daher in erster Linie ACTH-vermittelt. Da es aber durch IFN (uneinheitlich) auch zu neuroendokrinen Veränderungen im Sinne von Katecholamin-Anstiegen in Verbindung mit regelmäßiger Steigerung der Herzfrequenz kam, wäre z.B. über eine Beeinflussung des N. vagus (Blatteis et al 2007) durch IFN zu spekulieren. Diese Veränderungen der Katecholaminkonzentrationen wurden bei gesunden Probanden festgestellt, daher besteht die Möglichkeit einer verminderten neuroendokrinen Antwort aufgrund von Störungen des SNS, die speziell MS-Patienten betreffen.

Pathologische **basale** Katecholamin-Spiegel und damit eine erhöhte sympathische Grundaktivität bei den untersuchten MS-Patienten konnten wir aber weder vor noch nach einjähriger immunmodulierender Behandlung feststellen.

Die sympathische Aktivität hängt aber vermutlich direkt mit der Krankheitsaktivität zusammen: Flachenecker et al. dokumentierten 2003 bei Patienten mit aktiver MS im Vergleich zu Gesunden und Patienten mit stabiler MS signifikant erhöhte Noradrenalin- und Adrenalin-konzentrationen. Ob zum Untersuchungszeitpunkt bei allen 13 bzw. 10 Patienten der vorliegenden Arbeit eine stabile oder eine instabile MS vorlag, wäre nur mit Hilfe von aktuellen MRT zu dokumentieren gewesen; die jeweilige Krankheitsaktivität war jedoch kein Parameter dieser Arbeit.

In seiner Funktion als Neurotransmitter des SNS wird Noradrenalin allerdings erwiesenermaßen durch IFN β beeinflusst. Wie in der Einführung erwähnt, fanden sich im Thymusgewebe von Patienten, die mit IFN β therapiert wurden, ein erhöhter Noradrenaliningehalt und vermehrte Anzahl an adrenergen Nervenfasern (Cavallotti et al. 2002). In anderen Studien fanden sich intrazelluläre Effekte: Nach einer

Langzeittherapie mit IFN β konnte gezeigt werden, dass sich verminderte Noradrenalin-Konzentrationen in peripheren Lymphozyten fanden (Rajda et al. 2006).

Zusammengefasst sind die akuten endokrinen Effekte von IFN β folgende: Das den MS-Patienten peripher injizierte IFN gelangt vermutlich über Carrier-Systeme in das ZNS. Es führt entweder direkt über IFN-Rezeptoren oder über eine Zytokinkaskade (Dafny et al. 1996) dazu, dass die Hypophyse nach vier Stunden vermehrt über einen kurzen Zeitraum ACTH sezerniert. Periphere Wirkungen, z.B. auf das Nebennierenmark sind dabei uneinheitlich bis regelmäßig (Herzfrequenzsteigerung) zu finden. Zeitnahe der ACTH-Ausschüttung erfolgt die Cortisol-Antwort der Nebennierenrinde. Acht Stunden später sind die Effekte nicht mehr präsent.

6.1.3 Leukozytensubpopulationen

Als einen weiteren akuten Effekt von IFN β -1a konnten wir einen ausgeprägten Anstieg der peripheren **Leukozyten**, insbesondere der Granulozyten, beobachten. Auch innerhalb der Leukozytensubpopulationen zeigten sich Veränderungen: Die Anzahl der Monozyten sank nach zwei Stunden drastisch, eine Lymphopenie konnte acht Stunden nach der Injektion nachgewiesen werden.

Diese Ergebnisse zeigen deutliche Parallelen zu vorangegangenen Tierstudien und Studien an gesunden Probanden: Die Erstgabe von IFN β (wie auch IFN α) führt zu einer Granulozytose und Lymphopenie insbesondere von NK-Zellen sowie ein Absinken der Monozyten (Van Damme et al. 1986; Goebel et al. 2002; Goebel et al. 2005). Neilley et al. (1996) konnten diese IFN-induzierten Veränderungen schon bei MS-Patienten demonstrieren.

Diese beobachteten Veränderungen der Leukozyten verliefen in der vorliegenden Arbeit parallel zu den Anstiegen der Cortisolplasmakonzentrationen. Mishler und Emerson konnten 1977 beweisen, dass genau diese beschriebenen Veränderungen auf die Zusammensetzung der Leukozyten als indirekte Wirkung auch durch systemische Glucocorticoide in hoher Dosierung induzierbar sind.

Weiterhin sind diese Veränderungen, z.B. der Anstieg der (neutrophilen)

Granulozyten in Kombination mit einer Reduktion der zirkulierenden Monozyten- und der Lymphozyten bekannt als Teil der so genannten akuten Phase-Reaktion einer Immunantwort gegen pathogene Organismen. Eine isolierte Gabe von IL-1 und IL-6 führt ebenfalls zur Stimulation der Akuten Phase-Reaktion (Maeda et al. 2005). Gut dokumentiert ist, dass IFN β zu einer vermehrten Ausschüttung von IL-1 und IL-6 führt (Ohno et al. 1998; Goebel et al. 2002; Goebel et al. 2005). Möglicherweise führt die akute Gabe von IFN β zu einer der Akuten Phase-Reaktion ähnlichen Antwort mit zeitnahen Veränderungen der Leukozyten. Diese Antwort scheint durch proinflammatorische Zytokine vermittelt zu werden.

Noch wenig untersucht ist, wie IFN auf Leukozyten wirken kann. Möglicherweise exprimieren Leukozyten IFN-Rezeptoren. Denkbar wäre auch eine Zytokin-vermittelte Stimulierung des G-CSF, des Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktors. Das erklärt allerdings wiederum nicht die Wirkung auf die Lymphozyten und Monozyten. Hier findet möglicherweise durch IFN β eine Hemmung der Mobilisierung dieser Zellen aus dem Knochenmark statt.

Eine erste Gabe von IFN β führt also einerseits über die schnelle Anflutung von freiem Cortisol und andererseits durch eine Induktion proinflammatorischer Zytokine zu einer Reaktion des lymphatischen Systems mit physiologischer Latenz (Induktion der Hämatopoese), die nach 24 Stunden nicht mehr nachweisbar ist.

6.1.4 Körpertemperatur

Unabhängig von den subjektiven Kriterien des sickness behaviors beeinflussen Zytokine den Hypothalamus und können (objektive) Körpertemperaturveränderungen hervorrufen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können diese Beeinflussung bestätigen: Sowohl akut als auch nach einem Jahr Therapie stiegen die Körpertemperaturen unserer Patienten kontinuierlich zwei Stunden nach der Injektion, (am ersten Studientag noch parallel zur Entwicklung von Cortisol und ACTH) an. Diese Reaktionen waren sowohl den Vorstudien an gesunden Probanden gemein (Goebel et al. 2002 und 2005), als auch bei MS-Patienten nachzuweisen (Kümpfel et al. 2007).

Die sublinguale Körpertemperatur reichte dabei im Durchschnitt nicht über 38° C, war also gemäß klinischer Maßstäbe nur subfebril. Trotzdem liegt es nahe, als Erklärungsansatz die Hypothese der so genannten *Pyrogene* heranzuziehen. Laut Definition ist ein exogenes Pyrogen eine Substanz, die in einen vielzelligen Organismus eindringt und eine Fieberreaktion induziert. Zu den exogenen Pyrogenen zählen z.B. LPS. Meist ist dabei nicht das exogene Pyrogen das Fieber auslösende Element, sondern die Induktion von endogenen Pyrogenen. Da TNF α , IL-6 und nicht zuletzt CRH als potente endogenen Pyrogene gelten (Martínez-Cáceres et al. 1998; Montalban et al. 2000), erklärt sich die Erhöhung der Körpertemperatur durch die gut dokumentierte Induktion genau dieser Zytokine (bzw. von CRH) durch IFN β -1a durch vorangegangene Studien (Rothuizen et al. 1999; Kümpfel et al. 2000; Goebel et al. 2005; Kümpel et al. 2007).

Pyrogene besitzen natürliche Gegenspieler, die Kyrogene. Das physiologisch wichtigste Kyrogen (neben ADH) ist Cortisol. Als Ergebnis dieser Arbeit konnte nach der ersten Gabe von IFN β ein Abfallen von Cortisol in den ersten zwei Stunden beobachtet werden, parallel zu einem steileren Anstieg der Körpertemperatur für diesen Zeitraum. Cortisol fällt dann nach acht Stunden nach einem steilen Anstieg wieder ab, wieder diametral zur Körpertemperatur. Martínez-Cásarez und Kollegen (1998) zeigten, dass wenn Patienten eine niedrige orale Dosis eines Glucocorticoids, in diesem Falle Prednison, zusammen mit IFN β -1a erhielten, die Entwicklung von Fieber reduziert wurde.

Zwar fallen die Reaktionen der Körpertemperatur in der post-Messung kleiner aus (niedrigeres Maximum und ohne steilen Anstieg), aber auch nach einem Jahr Therapie führt IFN β signifikant zu einer Erhöhung der Körpertemperatur. Die jeweilige Erhöhung der Körpertemperatur verläuft ohne eine messbare Reaktion der HPA-Achse oder der Leukozytensubpopulationen. Then Bergh et al. (2007) konnten diesen fehlenden Zusammenhang schon nach drei Monaten Therapie bestätigen.

Diese Ergebnisse könnten für eine isolierte Wirkung von Zytokinen, bzw. Pyrogenen auf die thermosensiblen Neuronen in den präoptischen Regionen des Hypothalamus sprechen. Möglich wäre auch eine Beeinflussung von anderen Zentren im ZNS,

vermittelt z.B. über Rezeptoren an periventriculären Organen oder mit Hilfe des N. vagus (Blatteis 2007).

6.1.5 Sickness behavior

Akute Effekte auf die Stimmung der MS-Patienten innerhalb eines Studientages durch die Injektion von IFN β -1a konnten wir nicht nachweisen: Die POMS-Items Niedergeschlagenheit, Missmut, und Tatendrang zeigten sich unverändert. Gleiches konnten Exton und Mitarbeiter (2002) an gesunden Probanden nachweisen: Weder emotionale noch neuropsychologische Auffälligkeiten ließen sich bis 24h nach der Interferon-Gabe nachweisen.

Interessanterweise wählten aber die gesunden Probanden der Studie von Exton und Mitarbeitern (2002) im Schnitt höhere Werte im POMS (im Sinne von depressiven Affekten) als MS-Patienten der vorliegenden Arbeit nach der ersten IFN-Gabe. Möglicherweise liegt bei Patienten mit MS eine andere Form der Wahrnehmung ihres Befindens vor. Vielleicht sogar eine verminderte oder gestörte Sensitivität für immunologische Signale. Bei neuropsychologischen Störungen von MS-Patienten fällt es aber aufgrund der Schwere der Erkrankung (mit entsprechenden Einschränkungen der Lebensqualität) schwer, psychoreaktive von hirnrorganischen Störungen zu unterscheiden.

Mit einfließen könnten aber auch die verschiedenen Erwartungshaltungen der beiden Gruppen, Probanden vs. einer möglichen positiven Krankheitsbeeinflussung durch ein neues Medikament für Patienten mit MS.

Dass sich keine akuten Veränderungen der 3 Subskalen zeigte könnte einerseits an der Sensitivität des POMS liegen oder auch am zeitlichen Raster: Capuron und Mitarbeiter (2002) konnten erst nach dreimonatiger Gabe von IFN alpha bei Patienten signifikante Einbrüche der emotionalen Befindlichkeiten dokumentieren, die dann nach 9 Monaten nicht mehr nachzuweisen waren. Zu beiden Zeitpunkten zeigten sich nur schwache Reaktionen der HPA-Achse.

Anders als für die affektiven Elemente des POMS konnte eine Korrelation zwischen der Subskala **Müdigkeit**, im folgenden synonym Fatigue genannt, und IFN β -1a gefunden werden: Vier Stunden nach der Injektion gaben die untersuchten MS-Patienten signifikant hohe Werte in Bezug auf Fatigue an. Dieser Effekt ließ sich bei den gesunden Probanden der Vorstudie (Exton et al. 2002) ebenfalls finden. Die Probanden gaben neben den erwähnten Effekten auf den Affekt zudem eine gesteigerte Müdigkeit im Vergleich zur Placebo-Gruppe zu Protokoll, ebenfalls zu den Zeitpunkten 4 und 8 h nach Injektion. Wie eingangs aufgeführt sind von Fatigue ca. zwei Drittel der MS-Patienten betroffen (Neilley et al. 1996). Unterschiede in der Fatigue zwischen gesunden Probanden der Vorstudie (Exton et al. 2002) und den IFN-naiven Patienten dieser Arbeit konnten wir zu mindestens an den Studientagen dennoch nicht nachweisen.

Eine akute Gabe von IFN β führt sowohl bei Gesunden als auch bei MS-Patienten zu einem sickness behavior im Sinne einer ausgeprägten Fatigue, allerdings zeigen sich nur bei gesunden Probanden und nicht bei MS-Patienten emotionale Veränderungen.

6.1.6 Prolaktin und Growth Hormone

Die Ergebnisse für Prolaktin und GH erwiesen sich als nicht signifikant. IFN β induzierte weder akut noch nach einem Jahr Therapie signifikante Veränderungen in den Konzentrationen dieser Hormone. Es zeigten sich keine Unterschiede in den basalen Plasmaspiegeln von Prolaktin und GH von MS-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden der Vorstudie (Goebel et al. 2002)

In Bezug auf **Prolaktin** konnten wir allerdings, ähnlich den Verhältnissen bei gesunden Probanden (Goebel et al. 2002), zu mindestens einen (nicht signifikanten) Anstieg vier Stunden nach IFN-Injektion beobachten. Dieser Trend war in der post-Messung nicht mehr nachweisbar.

In anderen Studien mit ähnlichem Aufbau zeigten sich hingegen ausgeprägte akute Veränderungen dieser Hormone wenige Stunden nach einer Injektion von IFN. Z..B. dokumentierten Then Berg und Kollegen (2007) für GH und Prolaktin deutliche

Anstiege bei der Erstgabe von IFN bei MS-Patienten.

Ohno et al. (1998) konnten an Hepatitis C-Patienten zeigen, dass zu mindestens für GH ein durch $\text{INF}\beta$ -induzierter Anstieg nachzuweisen war. In Hinblick auf Prolaktin zeigte sich die wie in der vorliegenden Arbeit nicht vorhandene Korrelation.

In Hinblick auf die Studienlage zu basalen Spiegel von Prolaktin bei MS-Patienten zeigen sich ebenfalls durchwegs heterogene Ergebnisse: Sowohl normale (Reder und Lowy 1993, Wei und Lightman 1997) als auch erhöhte Plasmaspiegel von Prolaktin bei der MS sind dokumentiert (Grinsted et al. 1989).

Die Prolaktin-Konzentrationen hängen aber vermutlich auch von der Aktivität der Erkrankung ab. Für MS konnte dieser Zusammenhang allerdings bisher nicht gezeigt werden. Dafür für andere Autoimmunkrankheiten, wie z.B. der Hashimoto-Thyreoditis oder der rheumatoiden Arthritis. Ein signifikant erhöhter basaler Prolaktinspiegel ist bei diesen Erkrankungen Ausdruck einer erhöhten Krankheitsaktivität (Chikanza 1996).

Dass wir an den Studientagen keine physiologische circadiane Rhythmik für Prolaktin und GH nachweisen konnten, ist möglicherweise der Tatsache an zuschulden, dass es bei Autoimmunkrankheiten häufig Unterschiede in den Tag -und Nachtverläufen gibt und in dieser Dissertation keine nächtlichen Werte erfasst wurden. In einer Arbeit von Zoli et al. zur rheumatoiden Arthritis zeigten sich ebenfalls unauffällige Tagesprofile von Prolaktin und GH. Zoli et al. konnten aber dann in nächtlichen Bestimmungen deutlich pathologische Verläufe dieser Hormone dokumentieren (Zoli et al. 2002). Beachtung finden muss ebenfalls, dass Prolaktin bei weiblichen Patienten je nach hormonellem Status (Mens bzw. Klimakterium) hohen Schwankungen unterliegt. Wir fanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den zwei Patientinnen, die sich bereits im Klimakterium befanden, den anderen weiblichen und den männlichen MS-Patienten.

6.2 Langzeiteffekte

6.2.1 HPA-Achse

Im Rahmen unserer Studie konnte erstmals nachgewiesen werden, dass eine chronische Gabe von IFN β -1a die Reaktionen der HPA-Achse auf Interferon moduliert.

Dokumentieren konnten wir dies durch die ausbleibenden Anstiege der Konzentrationen von Cortisol und ACTH verglichen mit den Spiegeln, die nach Erstapplikation von IFN β -1a bei den gleichen Patienten auftraten.

Diese Beobachtungen decken sich auch mit denen der wenigen anderen Studien zu Langzeiteffekten von therapeutischen Interferonen auf die HPA-Achse, die allerdings kürzere Intervalle zwischen initialer und post-Messungen aufweisen. Kümpfel et al (2007) konnten nach sechs Monaten, Then Bergh et al. (2007) schon nach drei Monaten IFN-Therapie die Adaption der HPA-Achse nachweisen; dieses durch fehlende Cortisol -und ACTH-Anstiege. Ebenso zeigten sich jetzt physiologische Reaktionen im Dexamethason /CRH-Test.

Der *kombinierte Dexamethason/CRH-Test* ist ein standardisierter Test zum Detektieren von subtileren Störungen innerhalb der HPA-Achse. Dazu wird Dexamethason appliziert und später der negative feedback mittels der gemessenen Cortisolkonzentration bestimmt. Die exogene Gabe von CRH (auch benutzt werden AVP oder ACTH) führt physiologisch im Gegenzug dazu, dass die Spiegel von (hypophysärem) ACTH und (adrenalem) Cortisol ansteigen und im Plasma bestimmt werden können.

Zu vermuten ist, dass sich die beobachtete Adaption der HPA-Achse durch IFN β unter Reduktion von proinflammatorischen Zytokinen abspielt: Byskosh und Mitarbeiter (1996) zeigten, dass Veränderungen auf Zytokin-Niveau, gemessen an der Induktion von verschiedenen Zytokinen durch die Nachweis von deren mRNA, schon nach 24 h wieder Ausgangsniveau erreichte. Einzig TNF α -mRNA war nach einer Woche noch erhöht und erreichte nach drei Monaten Therapie die

Konzentrationen wie vor der Gabe von IFN β (Byskosh et al. 1996).

Langzeitstudien an nicht an MS erkrankten Personen sind sicherlich nicht vertretbar, daher stellt sich die Frage erst gar nicht, ob sich die HPA-Achse von Gesunden ebenfalls adaptiert hätten.

Interessanterweise waren aber die **basalen** Cortisolkonzentrationen schon vor der Gabe von IFN im Vergleich zu den Konzentrationen von gesunden Probanden der Vorstudie (Goebel et al. 2002) bei den MS-Patienten zu Beginn der Studie niedriger.

Im Einklang zu diesen Ergebnissen fanden sowohl Wei und Lightman (1997) als auch Heesen et al. (2007) bei MS-Patienten im Unterschied zu gesunden Versuchspersonen eine *Hypoaktivität* der HPA-Achse vor, dieses zeigte sich nicht nur durch niedrige basale Cortisolkonzentrationen. Sie fanden Hilfe des kombinierten Dexamethason/CRH-Tests auch eine reduzierte Sensibilität der HPA-Achse vor.

Allerdings konnten Wei et al. in einer früheren Studie zeigen, dass MS-Patienten, die vermehrt aktive MRT-Läsionen aufwiesen, eine deutlich höhere ACTH-Antwort auf CRH aber eine signifikant niedrigere Antwort von Cortisol auf synthetisches ACTH aufzeigen. Dieses spräche wiederum eher für eine *Hyperaktivität* und für eine Hyperreaktivität der HPA-Achse -allerdings bei verstärkter Krankheitsaktivität (Wei et al. 1989).

Auch Then Bergh und Kollegen fanden mittels zweier Studien (Then Bergh et al. 1999 und 2007) mit Hilfe des Dexamethason/CRH-Tests Hinweise für eine Hyperaktivität der HPA-Achse bei MS-Patienten finden. Michelson et al. (1994) dokumentierten mit deutlich erhöhten basalen Cortisolkonzentrationen von MS-Patienten im Vergleich zu Gesunden auch nicht stimulierte Hyperaktivität der HPA-Achse.

Gold et al. fanden über einem Untersuchungszeitraum von drei Jahren einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Fortschreiten der MS und einer dokumentierten chronischen Hyperaktivität der HPA-Achse (Gold et al. 2005).

6 Diskussion

Den sowohl von Then Bergh et al. (1999) als auch von Gold et al (2005) dokumentierte Zusammenhang zwischen einer HPA-Achsen-Störung und Verschlechterung der Erkrankung (dokumentiert durch EDSS-Zunahme) konnten die Ergebnisse dieser Arbeit nicht bestätigen: Nach einem Jahr Therapie fand sich kein sicherer Zusammenhang zwischen einer chronischen Hyperaktivität der HPA und einer Verschlechterung des EDSS.

Zur modulierenden Rolle von IFN muss aber auch erwähnt werden, dass die HPA-Achse auch durch die wiederholte Gabe andere Stoffe moduliert werden kann. In einer Studie, wurde Endotoxin, ein Teil der äußeren bakteriellen Zellmembran, verabreicht, um die HPA-Achse zu aktivieren. Es wurde, gezeigt, dass sich eine Toleranz der HPA-Achsen-Reaktion entwickelt, sobald wiederholt eine geringe Dosis injiziert wird (Beishuizen und Thijs 2003).

Zusammenfassend ist aufgrund der heterogenen Studienlage zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht geklärt wie sich die festgestellten Störungen der HPA-Achse auf die MS auswirken, bzw. was im Rahmen der Erkrankung MS innerhalb der HPA-Achse vor sich geht. Es scheint, als ob die in vielen Studien festgestellte vermehrte Ausschüttung von Cortisol als ein negativer feedback-Mechanismus funktionieren könnte, der der Kontrolle der Immunantwort dient und den Körper vor den unter Umständen schädigenden Wirkungen einer Immunaktivierung schützt (zur Übersicht siehe auch Turnbull und Rivier 1999). Diese protektive Effekte von Cortisol scheinen sich auf der Zytokin-Ebene abzuspielen, z.B. über die Hemmung der Induktion von Transkriptionsfaktoren, die für die Aktivität von proinflammatorischen Zytokinen zuständig sind (Rhen und Cidlowski 2005).

Durch chronische Gaben immunmodulierender Substanzen wie Interferon-beta vollzieht sich vermutlich eine Verschiebung des Gleichgewichtes von den proinflammatorischen hin zu den antiinflammatorischen Zytokinen, daraufhin erfolgt eine nur noch gedämpfte, aber mutmaßlich ausreichende Antwort der HPA-Achse.

6.2.2 Leukozytensubpopulationen

Parallel zu der von uns festgestellten abgeschwächten Reaktionen der HPA-Achse konnten wir im Rahmen unserer Arbeit zudem belegen, dass die akuten ausgeprägten Veränderungen innerhalb der Leukozytensubpopulationen, die bei der anfänglichen IFN β -1a-Therapie in der Regel nachweisbar sind, durch die kontinuierliche IFN β -1a-Therapie signifikant reduziert wurden. Auch diese Ergebnisse zeigten sich schon in den großen klinischen Studien zur Wirksamkeit der Substanz (z.B. Panitch et al. 2002).

Die Modulation des hämatopoetischen Systems mit entsprechend ausbleibenden Veränderungen der Leukozyten würden sich über die jetzt stabilisierte HPA-Achse und fehlende Cortisol-Ausschüttung erklären lassen. Denkbar jedenfalls für die ausbleibende Lymphopenie wäre ein anderer Effekt von IFN β : Durch eine Einschränkung der Wanderungskapazität von Lymphozyten könnte die peripher messbare Größe der Lymphozyten erhöht sein (Uhm et al. 1999).

Der genaue Mechanismus der Adaption der Leukozyten während einer IFN β -1a-Therapie bleibt gleichwohl unklar.

6.2.3 Sickness behavior

Den negativen Auswirkungen einer Interferonbehandlung auf den Affekt wurde in den 90er Jahren große Bedeutung beigemessen. Neben dem Auftreten von Fatigue sei auch die Induktion von Depressionen (z.B. Neilley et al. 1996) die Hauptursache von Therapieabbrüchen. Durch Metaanalysen der großen klinischen Studien konnte inzwischen widerlegt werden, dass β -Interferone zu Störungen des Affektes, insbesondere zu depressiven Symptome führen oder diese verstärken (Patten et al. 2005). Borrás et al. konnten schon 1999 zeigen, dass ein durch IFN β -1a induziertes sickness behavior (inkl. hohen Cortisol -und ACTH-Spiegeln) keine Korrelation mit langfristigen Affekten wie Müdigkeit und Niedergeschlagenheit aufwies, hier lag sogar ein Untersuchungszeitraum von zwei Jahren vor.

Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmen damit überein. Durch IFN β -1a kam es auch

nach einer Gabe über ein Zeitraum von einem Jahr nicht zur Verschlechterung des Affektes. In der Messung vor Erstgabe zeigte sich vielmehr eine gegenseitige Beeinflussung der Subskalen für Niedergeschlagenheit und Missmut und dem EDSS, die in der post-Messung nicht mehr nachweisbar war. Diese Ergebnisse könnten darauf hinweisen, dass es nach einem Jahr Behandlung sogar zu einer Verbesserung des Affektes gekommen sein könnte.

Im Gegensatz dazu fanden wir nach einem Jahr Gabe nahezu unveränderte Hinweise für die Induktion von Fatigue durch IFN β vier und acht Stunden nach der Applikation, obwohl es zu einer Modulation der HPA-Achse gekommen ist. Dieses Ergebnis impliziert die Frage, ob eine IFN-induzierte Fatigue eng an eine Dysfunktion der HPA-Achse gekoppelt ist.

In einer Übersichtsarbeit zur Fatigue als isolierte Erkrankung unabhängig von der MS konnte Cleare eine ausgeprägte Heterogenität der HPA-Achsen-Funktion bei Patienten mit isolierter Fatigue aufzeigen (Cleare 2003). Zusammenfassend konnten seiner Meinung letztendlich nur wenige Studien signifikante Auffälligkeiten der HPA-Achse aufzeigen. Neuere Studien bestätigen bzw. erhärten diese Ergebnisse: Z.B. zeigten Di Giorgio et al. 2005 bei Patienten mit isolierter Fatigue kaum messbare Veränderungen der HPA-Achse im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Über die gesamte circadiane Periode von 24 Stunden ergaben sich nur geringfügig erniedrigte ACTH-Spiegel ohne Veränderungen von Cortisol. In Bezug auf die Fatigue in Begleitung der MS konnten Heesen et al. 2006 zeigen, dass die Fatigue nicht mit Dysfunktionen der HPA-Achsen gekoppelt zu sein scheint.

Dem gegenüber stehen (wenige) Arbeiten, wie die von Gottschalk et al. 2005, die eine HPA-Achsen-Hyperaktivität mittels pathologischen Dexamethason/CRH-Tests bei MS-Patienten mit Fatigue (im Gegensatz zu den Patienten ohne Fatigue) nachweisen konnten. In der genannten Studie von Heesen und Kollegen (Heesen et al. 2006) konnte sogar gezeigt werden, dass die Konzentrationen von proinflammatorischen Zytokinen (in diesem Fall TNF α und IFN γ) signifikant höher waren und die quantitative Tagesmüdigkeit sogar direkt mit hohen TNF α -Spiegeln korrelierte.

Das bestätigt unsere Ergebnisse dass die modulierenden Effekte einer IFN- β -Langzeittherapie zwar die HPA-Achse positiv beeinflussen, aber nicht die Fatigue als Nebenwirkung einer mutmaßlichen akuten Dysregulation des Zytokin-Netzwerkes über zentral wirkende Rezeptoren, meistens ohne Reaktionen der HPA-Achse.

Betrachtet man abschließend das Studiendesign der Arbeit in Bezug auf Fatigue, fällt eine fehlende Placebo-Gruppe (z.B. einfach-blindes Studiendesign) ins Gewicht, schließlich handelte es sich um jeweils sehr lange Studientage für die Patienten.

Ob die dokumentierte Fatigue letztendlich durch eine Zytokin-Wirkung im ZNS, durch die Erkrankung der MS selbst, oder durch ein evtl. zusätzlich begleitendes chronisches Fatigue Syndrom begründet ist, ist schwierig zu differenzieren. Möglicherweise könnten spezielle Fatigue-Skalen wie z.B. die Fatigue Severity Scale (Krupp et al. 1989) hier eine Identifizierung erleichtern.

Neutralisierende Antikörper

Einen neuen Aspekt der Induktion bzw. Modulierung von sickness behavior ergibt sich aus Studien zur klinischen Wirksamkeit der Interferone: Im Verlauf der Therapie entwickeln sich „sich-selbst-neutralisierende“ Antikörpern, genannt NAB (Neutralizing Antibodies), gegen IFN β . Je nach Typ des Interferons, Dauer und Frequenz der Anwendung werden NAB bei ca. einem Drittel der Patienten induziert (PRISMS 1998; Panitch et al. 2002). Als Ursache wurde anfänglich die fehlende Glykolisierung von IFN β -1b angesehen. NAB werden in geringerem Umfang aber auch durch IFN β -1a induziert. Die klinische Rolle von NAB ist höchst umstritten, und die Datenlage noch nicht abschließend geklärt, in früheren Studien (Panitch et al. 2002; Goodin 2002) fanden sich keine Auswirkungen auf die Wirksamkeit in Bezug auf die Erkrankung. Perini et al. (2004) fanden allerdings signifikante Hinweise auf eine Korrelation zwischen hohen Titern von NAB und einer Reduktion der klinischen Effizienz der Substanz nach einem Beobachtungszeitraum von vier Jahren. Diese Studienergebnisse hatten zur Folge, dass die pharmazeutische Industrie an anderen Formulierungen von IFN gearbeitet hat. Mit Erfolg: Die neue Formulierung von IFN β -1a induziert weniger NAB. Gleichzeitig treten deutlich weniger lokale Reaktionen an

den Injektionsorten auf (McKeage und Wagstaff 2007). Interessanterweise ging diese verminderte Induktion von NAB aber mit einer signifikanten Steigerung des Auftretens von sickness behavior einher (McKeage und Wagstaff 2007). Weiterhin erreichen NAB, die durch die ersten Formulierungen induziert werden, die höchsten Plasmalevel nach 12-18 Monaten Therapie und fallen dann auf ein niedrigeres Niveau zurück (Panitch et al. 2002; Goodin 2002).

Festzuhalten ist allerdings dass zytokinassoziertes sickness behavior bei fast allen MS-Patienten nach wenigen Monaten nicht mehr nachzuweisen ist. Das sickness behavior zeigt damit einen entgegengesetzten zeitlichen Verlauf zur Entwicklung von NAB. Hohe Spiegel von NAB im Verlauf der Behandlung scheinen also negativ mit dem Auftreten von sickness behavior assoziiert sein.

Die verminderte Bildung von Komplexen aus den NAB und IFN scheint wiederum negative Auswirkungen auf den „Zytokinhaushalt“ zu haben, die zu verstärktem sickness behavior führt. Warum dies so ist, bleibt unklar und könnte Inhalt zukünftiger Studien werden.

7 Zusammenfassung

Das Ziel war es, zu analysieren, ob sich bei Multiple Sklerose- Patienten durch eine Gabe von Interferon (IFN) akut und über einen Zeitraum von einem Jahr Nebenwirkungen und Gewöhnung einstellen, insbesondere wie IFN auf die Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren-Achse (HPA-Achse), die Leukozyten und die sympathische Achse wirkt und ob sich subjektive Veränderungen des Affektes einstellen bzw. reduziert werden könnten. Diese Arbeit zeigt, dass eine Langzeitbehandlung mit IFN β -1a sowohl die sekretorische HPA-Achse-Aktivität als auch Verschiebungen innerhalb der Leukozytensubpopulationen im peripheren Blut im Vergleich zu einer akuten IFN β -1a-Applikation reduziert. Die Körpertemperatur und die Müdigkeit der Patienten steigen sowohl akut als auch nach einer Langzeittherapie. Eine 12-monatige Behandlung mit IFN β -1a verändert nicht den Affekt.

Weitere Studien sind nötig, um dem Einfluss der immunologischen und endokrinologischen Antwort auf IFN β -1a einschätzen zu können und um herauszufinden, ob diese Veränderungen den Erfolg von Langzeittherapien beeinflussen können. Zusammenfassend könnte man die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und anderer Studien zu MS und Interferonen so interpretieren, dass IFN β langfristig zu einer Stabilisierung der HPA-Achse führt, mit weiterhin vorhandenen kurzfristigen pathologischen Schwankungen z.B. in Schüben der Erkrankung. Die genaue Rolle der HPA-Achse bei Autoimmunerkrankungen bleibt weiterhin nicht völlig geklärt und impliziert einen deutlich komplexeren Zusammenhang zwischen den einzelnen Gliedern des Immunsystems, dem endokrinologischen System und der Psyche.

8 Literatur

1. Arnason, B.G., Toscas, A., Dayal, A., Qu, Z., Noronha, A. (1997): Role of interferons in demyelinating diseases. *J. Neural. Transm. Suppl.* 49, 117-123.
2. Beishuizen, A., Thijs, L.G. (2003): Endotoxin and the hypothalamo-pituitary(HPA) axis. *J. Endotoxin Res.* 9, 3-24.
3. Besedovsky, H.O., del Rey, A.E. (1985): Immune-neuroendocrine interactions. *J. Immunol.* 135, 817-822.
4. Betteli, E. (2007): Building different mouse models for human MS. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 1103, 8-11.
5. Biehl, B. Dangel, S., Reiser, A. (1981): Profile of mood states. Ein Verfahren zur Messung von Stimmungszuständen. *In: Internationale Skalen für Psychiatrie.* Weinheim: Beltz-Verlag.
6. Blatteis, C.M. (2007): The onset of fever: new insights into its mechanism. *Prog. Brain Res.* 162, 3-14.
7. Blalock, J.E., Smith, E.M. (1980): Human leukocyte interferon: structural and biological relatedness to adrenocorticotrophic hormone and endorphins. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 77, 5972-5974.
8. Bogdahn, U., Fleischer, B., Hilfenhaus J., Röthig, H.J., Krauseneck, P., Mertens H.G., Przuntek, H. (1985): Interferon-beta in patients with low grade astrocytomas: a phase-I study. *J. Neurooncol.* 3, 125-30.
9. Borrás, C., Río, J., Porcel, J., Barrios, M., Tintoré, M., Montalban, X. (1999): Emotional state of patients with relapsing-remitting MS treated with interferon beta-1b. *Neurology* 52, 1636-1639.
10. Buljevac, D., Hop, W.C.J., Reedeker, W., Janssens, A.W., van der Meché, F.G.A., van Doorn, P.A., Hintzen, R.Q. (2003): Self reported stressful life events and exacerbations in multiple sclerosis: prospective study. *BMJ* 327, 646.
11. Byskosh, P.V., Reder, A.T. (1996): Interferon beta-1b effects on cytokine mRNA in peripheral mononuclear cells in multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 5, 262-269.
12. Capuron, L., Gumnick, J.F., Musselman, D.L., Lawson, D.H., Reemsnyder, A., Nemeroff, C.B., Miller, A.H. (2002): Neurobehavioral effects of interferon-alpha in cancer patients: phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology* 26, 643-652.
13. Carpiniello, B., Orru, M.G., Baita, A., Pariante, C.M., Farci, G. (1998): Mania induced by withdrawal of treatment with interferon alfa. *Arch. Gen. Psychiatry* 55, 88-89.

14. Cavallotti, D., Artico, M., Iannetti, G., Cavallotti, C. (2002): Occurrence of adrenergic nerve fibers in human thymus during immune response. *Neurochem. Int.* 40, 211-221.
15. Chang, J.Y., Martin, D.P., Johnson, E.M. (1990): Interferon suppresses sympathetic neuronal cell death caused by nerve growth factor deprivation. *J. Neurochem.* 55, 436-445.
16. Charcot, J.M. (1877): Lectures on the disease of the nervous system delivered at La Salpêtrière. (translated by G. Sigerson.) London: New Sydenham Society: S.194-195.
17. Chelmicka-Schorr, E., Checinski, M., Arnason, B.G.W. (1988): Chemical sympathectomy enhances the severity of experimental allergic encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 17, 347-350.
18. Chikanza, I.C. (1996): Neuroendocrine immunology of RA. *Baillieres Cli. Rheumatol.* 10, 273-93.
19. Cleare, A.J. (2003): The Neuroendocrinology of Chronic Fatigue Syndrome. *Endocrine Reviews* 24, 236-252.
20. Dafny, N., Prieto-Gomez, B., Dong, W.Q., Reyes-Vazquez, C. (1996): Interferon modulates neuronal activity recorded from the hypothalamus, thalamus, hippocampus, amygdala and the somatosensory cortex. *Brain Res.* 734, 269-274.
21. Dafny, N. (1998): Is Interferon-alpha a neuromodulator? *Brain Research Reviews* 26, 1-15.
22. Dantzer, R. (2001): Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand. *Brain, Behavior and Immunity* 15, 7-24.
23. Del Rey, A., Besedovsky, H.O. (2000): The cytokine-HPA axis circuit contributes to prevent or moderate autoimmune processes. *Z. Rheumatol.* 59, 31-35.
24. Di Giorgio, A., Hudson, M., Jerjes, W., Cleare, A.J. (2005): 24-Hour Pituitary and Adrenal Hormone Profiles in Chronic Fatigue Syndrome. *Psychosom. Med.* 67, 433-440.
25. Dodes, J.E. (2001): The amalgam controversy. An evidence-based analysis. *J. Am. Dent. Assoc.* 132: 348-356.
26. Einhorn, S., Blomgren, H., Strander, H. (1980): Interferon and spontaneous cytotoxicity in man. V: Enhancement of spontaneous cytotoxicity in patients receiving human leukocyte interferon. In *J. Cancer* 26, 419-428.
27. Exton, M.S., Baase, J., Pithan, V., Goebel, M.U., Limmroth, V., Schedlowski, M. (2002): Neuropsychological performance and mood states following acute interferon-beta-1b administration in healthy males. *Neuropsychobiology* 45, 199-204.

28. Felten, D.L., Felten, S., Y., Bellinger, D.L., Carlson, S.L., Ackermann, K.D., Madden, K.S., Olschowski, J.A., Livnat, S. (1987): Noradrenergic sympathetic neural interactions with the immune system: structure and function. *Immunol. Rev.* 100, 225-260.
29. Flachenecker, P., Reiners, K., Krauser, M., Wolf, A., Toyka, K.V. (2001): Autonomic dysfunction in multiple sclerosis is related to disease activity and progression of disability. *Mult. Scler.* 7, 327-334.
30. Flechter, S., Vardi, J., Rabey, J.M. (2003): Cognitive function in interferon beta1b treated multiple sclerosis patients. *Mult. Scler.* 9, 35.
31. Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A., Nagy, G. (2000): Prolactin: structure, function and regulation of secretion. *Phys. Rev.* 80, 1524-1631.
32. GAMES(Genetic Association of Multiple Sclerosis in EuropeanS.) (2003): A meta-analysis of whole genome linkage screens in multiple sclerosis. *Neuroimmunol.* 143, 39-46.
33. Goebel, M.U., Baase, J., Pithan, V., Exton, M., Saller, B., Schedlowski, M., Limmroth, V. (2002): Acute interferon beta-1b administration alters hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, plasma cytokines and leukocytes distribution in healthy subjects. *Psychoneuroendocrinology* 27, 881-892.
34. Goebel, M.U., Hübell, D., Kou, W., Janssen, O.E., Katsarava, Z., Limmroth, V., Schedlowski, M. (2005): Behavioral conditioning with interferon beta-1a in humans. *Physiol. Behav.* 85(5), 807-814.
35. Gold, S.M., Raji, A., Huitinga, I., Wiedemann, K., Schulz, K.H., Heesen, C. (2005): Hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity predicts disease progression in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 165, 186-191.
36. Goodin, D.S., Ebers, G.C., Johnson, K.P., Rodriguez, M., Sibley, W.A., Wolinsky, J.S. (1999): The relationship of MS to physical trauma and psychological stress: report of the therapeutics and technology assessment subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 52, 1737-1745.
37. Gottschalk, M., Kümpfel, T., Flachenecker, P., Uhr, M., Trenkwalder, C., Holsboer, F., Weber, F. (2005): Fatigue and regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in Multiple Sclerosis. *Arch. Neurol.* 62, 277-280
38. Heesen, C., Mohr, D.C., Huitinga, I., Bergh, F.T., Gaab, J., Otte, C., Gold, S.M. (2007): Stress regulation in multiple sclerosis: current issues and concepts. *Mult-Scler.* 13, 143-148.
39. Heesen, C., Nawrath, L., Reich, C., Bauer, N., Schulz, K.-H., Gold, S.M. (2006): Fatigue in multiple sclerosis: an example of cytokine mediated sickness behavior? *J. Neurol. Neuros. Psych.* 77, 34-39.

40. Huitinga, I., Erkut, Z.A., van Beurden, D., Swaab, D.F. (2003): The hypothalamo-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 992, 118-128.
41. Isaacs, A., Lindenmann, B. (1957): Virus interference: The interferon. *Proc. Roy. Soc. Lond. Biol.* 147, 258.
42. Jersild, C., Fog, T., Hansen, G.S., Thomsen, M., Svejgaard, A., Dupont, B. (1973): Histocompatibility determinants in multiple sclerosis, with special reference to clinical course. *Lancet* 2, 1221-1225.
43. Johnson, R.W. (2002): The concept of sickness behavior: a brief chronological account of four key discoveries. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87, 443-450.
44. Kluger, M., (1991): Fever: Role of pyrogens and cryogens. *Physiol. Rev.* 71, 93-127.
45. Kümpfel, T., Then Bergh, F., Pollmacher, T., Holsboer, F., Trenkwalder, C. (2000): Acute effects of interferon beta-1a on plasma cytokine levels in patients with MS. *Neurology* 55, 1231-1233.
46. Kümpfel, T., Schwan, M., Pollmächer, T., Yassouridis, A., Uhr, M., Trenkwalder, C., Weber, F. (2007): Time of interferon-beta 1a injection and duration of treatment affect clinical side effects and acute changes of plasma hormone and cytokine levels in multiple sclerosis patients. *Mult. Scler.* 13, 1138-1145.
47. Kurtzke, J.F. (1980): Geographic distribution of multiple sclerosis: An update with special reference to Europe and Mediterranean region. *Acta. Neurol. Scand.* 62, 65-80.
48. Kurtzke, J.F. (1983): Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33, 1444-1452.
49. Krupp, L.B., La Rocca, N.G., Muir-Nash, J., Steinberg, A.D. (1989): The fatigue severity scale: application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematoses. *Arch. Neurol.* 46, 1121-1123.
50. Lutton, J.D., Winston, R., Rodman, T.C. (2004): Multiple Sclerosis: etiological mechanisms and future directions. *Exp. Biol. Med.* 229, 12-20.
51. Maeda, K., Baba, Y., Nagyi, Y., Miyazaki, K., Malykhin, A., Nakamura, K., Kincade, P.W., Sakaguchi, N., Coggeshall, K.M. (2005): IL-6 blocks a discrete early step in lymphopoiesis. *Blood* 106, 879-885.
52. Martinelli, V. (2000): Trauma, stress and multiple sclerosis. *Neurol. Sci.* 21, 849-852.
53. Martinez-Cáceres, E.M., Rio, J., Barrau, M., Duran, I., Borrás, C., Tintoré, M., Montalban, X. (1998): Amelioration of Flulike Symptoms at the Onset of Interferon beta-1b Therapy in Multiple Sclerosis by Low-Dose Oral Steroids Is Related to a Decrease in Interleukin-6 Induction. *Ann. Neuro.* 44, 682-685.

54. Martin, R., Hohlfeld, R. (1998): Multiple Sklerose. In: Brandt, T., Dichgans, J., Diener, H.C. (Hrsg.): Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen. 3. Auflage; S. 508-535. Stuttgart: Kohlhammer.
55. McDonald, W.I. (1986): The pathophysiology of multiple sclerosis. In: McDonald, W.I., Silberberg, D.H. (Eds.). Multiple Sclerosis. Bulterworths, London.
56. McKeage, K., Wagstaff, A.J. (2007): Subcutaneous interferon-beta-1a: new formulation. *CNS Drugs* 21, 871-876.
57. Meyers, C.A. (1999): Mood and cognitive disorders in cancer patients receiving cytokine therapy. *Adv. Exp. Med. Biol.* 461, 75-81.
58. Meyers, C.A., Scheibel, R.S., Forman, A.D. (1991): Persistent neurotoxicity of systematically administered interferon-alpha. *Neurology* 41, 672-676.
59. Michelson, D., Stone, L., Galliven, E., Magiakou, M.A., Chrousos, G.P., Sternberg, E.M., Gold, P.W. (1994): Multiple sclerosis is associated with alterations in hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79, 848-853.
60. Mishler, J.M., Emerson, P.M. (1997): Development of Neutrophilia by serially increasing doses of dexamethasone. *Br. J. Haematol.* 36(2), 249-57.
61. Muller, H., Mammes, E., Hiemke, C., Hess, G. (1991): Interferon alpha-2-induced stimulation of ACTH and cortisol secretion in man. *Neuroendocrinology* 54, 499-503.
62. Munck, A., Guyre, P.M. (1986): Glucocorticoid physiology, pharmacology and stress. *Adv. Exp. Med. Biol.* 196, 81-96.
63. Neilley, L.K., Goodin, D.S., Goodkin, D.E., Hauser, S.L. (1996): Side effect profile of interferon beta-1b in MS: results of an open label trial. *Neurology* 46, 552-554.
64. Nisipeanu, P., Korczyn, A.D. (1993): Psychological stress as risk factors for exacerbations in multiple sclerosis. *Neurology* 43, 1311-1312.
65. Ohno, Y., Fujimoto, M., Nishimura, A., Aoki, N. (1998): Change of peripheral levels of pituitary hormones and cytokines after injection of interferon(IFN)- β in patients with chronic hepatitis C. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 3681-3687.
66. Panitch, H., Goodin, D.S., Francis, G., Chang, P., Coyle, P.K., O'Connor, P., Monaghan, E., Li, D., Weinshenker, B. EVIDENCE study group and the university of British Columbia (Evidence of Interferon Dose-response: European North American Comparative Efficacy) (2002): Randomized, comparative study of interferon b-1a treatment regimens in MS. The EVIDENCE trial. *Neurology* 59, 1496-1506.
67. Pavol, M.A., Meyers, C.A., Rexer, J.L., Valentine, A.D., Mattis, P.J., Talpaz, M. (1995): Pattern of neurobehavioral deficits associated with interferon alfa therapy for leukaemia. *Neurology* 45, 947-950.

68. Patten, S.B., Francis, G., Metz, L.M., Lopez-Bresnahan, M., Chang, P., Curtin, F. (2005): The relationship between depression and interferon beta-1a therapy in patients with multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 2, 175-181.
69. Perini, P., Calabrese, M., Biasi, G., Gallo, P. (2004): The clinical impact of interferon beta antibodies in relapsing-remitting MS. *J. Neurol.* 251, 305-309.
70. Poser, C.M., Paty, D.W., Scheinberg, L., McDonald, W.I., Davis, F.A., Ebers, G.C., Johnson, K.P., Sibley, W.A., Silberberg, D.H., Tourtelotte, W.W. (1983): New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann. Neurol.* 13, 227-31.
71. PRISMS (Prevention of relapses and Disability by Interferon-beta 1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group(1998): Randomized double –blind placebo-controlled study of interferon-beta 1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *The Lancet* 352, 1498-1504.
72. Ramirez, F., Mason, D. (2000): Induction of resistance to active experimental allergic encephalomyelitis by myelin basic protein-specific Th2-cell lines generated in the presence of glucocorticoids and IL-4. *Eur. J. Immunol.* 30, 747-758.
73. Roelcke, U., Kappos, L., Lechner-Scott, J., Brunnschweiler, H., Huber, S., Ammann, W., Plohmann, A., Dellas, S., Maguire, R.P., Missimer, J., Radu, E.W., Steck, A., Leenders, K.L. (1997): Reduced glucose metabolism in the frontal cortex and basal ganglia of multiple sclerosis patients with fatigue: a 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography study. *Neurology* 48, 1566-1571.
74. Roosth, J., Pollard, R.B., Brown, S.L., Meyer, W.J. (1986): Cortisol stimulation by recombinant interferon alpha 2. *J. Neuroendocrinology* 12, 311-316.
75. Rothuizen, L.E., Buclin, T., Spertini, F., Trinchard, I. (1999): Influence of interferon beta 1a dose frequency on PBMC cytokine secretion and biological effect markers. *J. Neuroimmunol.* 99, 131-141.
76. Rudick, R.A., Ransohoff, R.M., Lee, J.C., Peppler, R., Yu, M., Mathisen, P.M., Tuohy, V.K. (1998): In vivo effects of interferon beta-1a on immunosuppressive cytokines in multiple sclerosis. *Neurology* 50, 1294-1300.
77. Ruprecht, K. (2007): Multiple sclerosis and Epstein-Barr-virus: New developments and perspectives. *Nervenarzt* 8, 24-29.
78. Ruuls, S.R., de Labie, M.C., Weber, K.S., Botman, C.A., Groenestein, R.J., Dijkstra, C.D., Olsson, T., van der Meide, P.H. (1996): The length of treatment determines whether IFN-beta prevents or aggravates experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. *J. Immunol.* 157, 5721-5731.

79. Sailer, M., Fischl, B., Salat, D., Tempelmann, C., Busa, E., Bodammer, N., Heinze, H.J., Dale, A. (2003): Focal thinning of the cerebral cortex in multiple sclerosis. *Brain* 126, 1719-1721.
80. Schedlowski, M., Jacobs, R., Alker, J., Pröhl, F., Stratmann, G., Richter, S., Hädicke, A., Wagner, T.O., Schmidt, R.E., Tewes, U. (1993): Psychological, neuroendocrine and cellular immune reactions under psychological stress. *Neuropsychobiology* 28, 87-90.
81. Selye, H. (1936): A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature* 138, 32.
82. Smith, E.M., Blalock, J.E. (1992): Human lymphocyte production of corticotropin and endorphin-like substances: association with leukocyte interferon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 7530-7534.
83. Strander, H., Adamson, U., Aparisi, T., Brostrom, L.A., Cantell, K., Einhorn, S., Hall, K., Ingimarsson, S., Nilsson, U., Soderberg, G. (1978): Adjuvant interferon treatment of human osteosarcoma. *Recent Results Cancer Res.* 68, 40-44.
84. Suntharalingam G., Perry, M.R., Ward, S., Brett, S.J., Castello-Cortes, A., Brunner, M.D., Panoskaltsis, N. (2006): Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N. Engl. J. Med.* 355, 1018-1028.
85. The IFN beta Multiple Sclerosis Study Group (1993): Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology* 43, 655-661.
86. Then Bergh, F., Kümpfel, T., Yassouridis, A., Lechner, C., Holsboer, F., Trenkwalder, C. (2007): Acute and chronic neuroendocrine effects of interferon- β 1a in multiple sclerosis. *Clinical Endocrinology* 66, 295-303.
87. Then Bergh, F., Kümpfel, T., Trenkwalder, C., Rupprecht, R., Holsboer, F. (1999): Dysregulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis is related to the clinical course of MS. *Neurology* 53, 772-777.
88. Ter Meulen, V. (1988): Autoimmune reactions against myelin basic protein induced by corona and measles viruses. *Ann. N.Y. Sci.* 540, 202-209.
89. Turnbull, A.V., Rivier, C.L. (1999): Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.* 99, 1-71.
90. Uhm, J.H., Dooley, N.P., Stuve, O., Francis, G.S., Duquette, P., Antel, J.P., Yong, V.W. (1999): Migratory behaviour of lymphocytes isolated from multiple sclerosis patients: effects of interferon beta-1b therapy. *Ann. Neurol.* 46, 319-324.
91. Ukkonen, M., Wu, K., Reipert, B., Dastidar, P., Elovaara, I. (2007): Cell surface adhesion molecules and cytokine profiles in primary progressive multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 13, 701-707.

92. Van Damme, J., Opdenakker, G., de Ley, M., Heremans, H., Billiau, A. (1986): Pyrogenic and haematological effects of the interferon-inducing 22K factor(Interleukin 1 beta) from human leukocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 66, 303-311.
93. Walther, E.U., Hohlfeld, R. (1999): Multiple sclerosis: side effects of interferon beta therapy and their management. *Neurology* 53, 1622-1627.
94. Weigent D.A., Blalock J.E. (1995): Association between the neuroendocrine and immune systems. *Leukoc. Biol.* 57, 137-150.
95. Wei, T., Lightman, S.L. (1997): The neuroendocrine axis in patients with multiple sclerosis. *Brain* 120, 1067-1076.
96. Willer, C.J., Dyment, D.A., Risch, N.J., Sadovnick, A.D., Ebers, G.C. (2003): Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 12877-12882.
97. Wolinsky, J.S: (2003): Rational therapy for relapsing multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2, 271-272.
98. Zang, Y.C., Yang, D., Hong, J., Tejada-Simon, M.V., Rivera, V.M., Zhang, J.Z. (2000): Immunoregulation and blocking antibodies induced by interferon beta treatment in MS. *Neurology* 55, 397-404.
99. Zhang, J., Raus, J. (1994): Myelin basic protein-reactive T cells in multiple sclerosis: pathologic relevance and therapeutic targeting. *Cytotechnology* 16, 181-187.
100. Zoli, A., Ferlisi, E.M., Lizzio, M., Altomonte, L., Mirone, L., Barini, A., Scuderi, F., Bartolozzi, F., Magaro, M. (2002): Prolactin/cortisol ratio in rheumatoid arthritis. *Ann. Y. Acad. Sci.* 966, 508-512.

9 Glossar

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADH	Antidiuretisches Hormon
AMG	Autoimmune Myasthenia gravis
ANOVA	Analysis of variance
BHS	Blut-Hirn-Schranke
COX	Cyclooxygenase
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
EAE	Experimentelle autoimmune Encephalomyelitis
EDSS	Expanded Disability Status Scale
GH	Growth Hormone
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
HPA-Achse	Hypothalamic-pituitary-adrenal(Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren)-Achse
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
IFN	Interferon
LPS	Lipopolysaccharid
Lymphopenie	Mangel an Lymphozyten
M	Mittelwert
MOG	Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein
mRNA	messenger-Ribonucleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
GHRH	Gonadotropin releasing hormone
NAB	Neutralizing antibodies (neutralisierende Antikörper)
NK-Zellen	Natural Killer-Zellen
NO	Stickoxid
PCP	Primär-chronisch progredient
POMS	“Profile of Mood States”
RR	Relapsing–remitting (schubförmig)
SCP	Sekundär-chronisch progredient
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SNS	Sympathisches Nervensystem
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TNF	Tumornekrosefaktor (synonym: TNF α)
ZNS	Zentralnervensystem

10 Danksagung

Zum Abschluss dieser Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. Dipl. Psych. Manfred Schedlowski für die Überlassung dieses interessanten Themas, für die hervorragende und herzliche Unterstützung und vor allem für seine Geduld bei der Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Dr. med. Privatdozent Volker Limmroth danke ich für die umfangreiche Unterstützung bei der Durchführung des klinischen Teils und für viele hilfreiche Gespräche zur MS-Therapie. Alle in der Arbeit untersuchten Patientinnen und Patienten wurden von ihm betreut und aufgrund seiner klinisch-neurologischen Befunde zur Teilnahme an der Studie ausgewählt.

Maßgeblich für das Gelingen der Arbeit war die kompetente und kontinuierliche Begleitung durch Frau Dr. rer. medic. Marion Goebel. Ihr gilt mein besonders herzlicher Dank.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei Herrn Holger Becker, der mit mir zusammen den experimentellen Teil der Arbeit durchgeführt hat, für seine kollegiale und fruchtbare Zusammenarbeit.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Mann und den Mitarbeitern der Abteilung für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik für die Durchführung der Differentialblutbilder sowie bei Herrn Prof. Dr. Michel und den Mitarbeitern des Instituts für Pharmakologie für die Bestimmungen der Katecholaminkonzentrationen.

Mein Dank gilt weiterhin den Patientinnen und Patienten, die die langen Studientage inklusive der Blutentnahmen und Befragungen so tapfer über sich ergehen haben lassen.

Mein letzter Dank gilt meiner unermüdlichen Lektorin, Frau Dr. iur. Nele Behr für ihre Motivation und liebevolle Unterstützung.

11 Lebenslauf

Geburtsdatum: 04.01.1974

Geburtsort: Kiel

Ausbildungen

- *Schulische:*

1980-1984: Gerhard-Hauptmann-Grundschule in Kiel

1984-1994: Humboldt-Gymnasium in Kiel

- *Universitäre:*

10/1996-09/1998 Studium der Humanmedizin an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

August 1998 „Ärztliche Vorprüfung“ (Physikum)

10/1998-05/2003 Klinischer Teil des Studium der Humanmedizin an der Universität Duisburg-Essen

August 1999 Erstes Staatsexamen

April 2002 Zweites Staatsexamen

Mai 2003 Drittes Staatsexamen

- *Berufliche:*

04/2002-04/2003 Praktisches Jahr mit Ausbildung im St. Josef-Krankenhaus, Oberhausen und Tygerberg Hospital, Kapstadt, Südafrika

11 Lebenslauf

08/2003-08/2005	Arzt im Praktikum und Assistenzarzt in der neurologischen Klinik, St. Barbara Hospital, Gladbeck
09/2005-05/2006	Assistenzarzt im Epilepsiezentrum Hamburg des Evangelischen Krankenhauses Alsterdorf
06/2006-04/2008	Assistenzarzt in der neurologischen Klinik der Asklepios Klinik Nord, Hamburg
seit 05/2008	Assistenzarzt in der psychiatrischen Klinik des Regio-Klinikums Elmshorn