

Aus der Klinik
für Neurologie
(Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Faßbender)

Calprotectin und kurzkettige Fettsäuren im Stuhl
bei Patienten mit Multipler Sklerose
und Kontrollpersonen

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
(Dr. med.)
der medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von:
Mosab Abuazab
aus Meisenheim

Homburg 2020

Tag der Promotion: 07.01.2021

Dekan: Prof. Dr. M. D. Menger

Berichterstatter: PD Dr. M. Unger

Prof. Dr. F. Lammert

Diese Arbeit ist meinem Vater, meiner Mutter, meiner Ehefrau sowie meinen Kindern gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----|
| Zusammenfassung | IV |
| Abstract | VII |
| Abkürzungsverzeichnis | IX |
| Abbildungsverzeichnis | X |
| Tabellenverzeichnis | XI |
| 1. Einleitung | 1 |
| 1.1. Multiple Sklerose | 2 |
| 1.1.1. Epidemiologie | 2 |
| 1.1.2. Ätiologie und Pathogenese | 3 |
| 1.1.3. Symptomatik | 6 |
| 1.1.4. Diagnostik | 8 |
| 1.1.5. Therapie | 11 |
| 1.1.6. Medikation | 13 |
| 1.1.7. Verlauf und Prognose | 16 |
| 1.2. Entzündungsparameter Calprotectin | 18 |
| 1.3. Kurzkettige Fettsäuren | 19 |
| 1.3.1. Acetat | 20 |
| 1.3.2. Propionat | 21 |
| 1.3.3. Butyrat | 23 |
| 1.3.4. Valerat | 24 |
| 1.3.5. Iso-Butyrat und Iso-Valerat | 24 |
| 1.4. Fragestellungen | 24 |
| 2. Methodik | 26 |
| 2.1. Ethikantrag | 26 |
| 2.2. Studienkollektiv | 26 |
| 2.2.1. Einschlusskriterien | 26 |

| | | |
|--------|--|----|
| 2.2.2. | Ausschlusskriterien | 27 |
| 2.3. | Studiendesign..... | 27 |
| 2.3.1. | Ablauf..... | 27 |
| 2.3.2. | Anamnese, körperliche Untersuchung, Fragebögen | 28 |
| 2.4. | Statistische Auswertung | 30 |
| 2.4.1. | t-Test..... | 30 |
| 2.4.2. | Mann-Whitney-U-Test | 31 |
| 2.4.3. | Kruskal Wallis-Test..... | 31 |
| 2.4.4. | Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) | 31 |
| 2.4.5. | Exakter Test nach Fisher | 32 |
| 2.4.6. | Shapiro-Wilk-Test..... | 32 |
| 2.4.7. | Boxplot Diagramm..... | 32 |
| 3. | Ergebnisse | 34 |
| 3.1. | Studienpopulation..... | 34 |
| 3.1.1. | Geschlecht | 35 |
| 3.1.2. | Alter..... | 35 |
| 3.1.3. | CRP | 35 |
| 3.1.4. | Appendektomie | 36 |
| 3.1.5. | Immuntherapien | 36 |
| 3.2. | Fragebögen / Skalen | 37 |
| 3.2.1. | Beck-Depression-Inventar..... | 37 |
| 3.2.2. | Mini-Mental-Status-Test | 37 |
| 3.2.3. | Fatigue Impact Scale | 38 |
| 3.2.4. | Obstipation-Score..... | 38 |
| 3.2.5. | Expanded Disability Status Scale (EDSS) | 39 |
| 3.3. | Fäkale Calprotectin-Konzentration..... | 39 |
| 3.4. | Kurzketttige Fettsäuren-Konzentration im Stuhl..... | 41 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 3.5. | Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der kurzzeitigen Fettsäuren (SCFA) | 45 |
| 3.6. | Sonstige Daten..... | 51 |
| 3.6.1. | Zusammenhang zwischen Therapiegruppe (ohne Therapie, Basistherapie, Eskalationstherapie) und Calprotectin-Konzentration im Stuhl..... | 51 |
| 3.6.2. | Zusammenhang zwischen Therapiegruppe und Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl..... | 51 |
| 4. | Diskussion | 52 |
| 4.1. | Zusammenfassung der Hauptergebnisse | 53 |
| 4.2. | Ergebnisdiskussion | 54 |
| 4.2.1. | Entzündungsparameter Calprotectin | 54 |
| 4.2.2. | Kurzkettige Fettsäuren | 54 |
| 4.3. | Limitationen..... | 61 |
| 4.4. | Fazit und Ausblick..... | 63 |
| 5. | Literaturverzeichnis..... | 66 |
| 6. | Anhang | 81 |
| 6.1 | Probandenerklärung..... | 82 |
| 6.2 | Anamnesebogen..... | 87 |
| 6.3 | Mini-Mental-Status-Test (MMST)..... | 91 |
| 6.4 | Beck Depressions Inventar (BDI)..... | 93 |
| 6.5 | Fatigue Impact Scale (FIS)..... | 95 |
| 6.6 | Obstipation Score | 96 |
| 6.7 | Expanded Disability Status Scale (EDSS)..... | 97 |
| 6.8 | Lebenslauf | 100 |
| | Danksagung..... | 101 |

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung des Zentralen Nervensystems (ZNS). Bei der MS kommt es in erster Linie zu einer autoimmun-vermittelten Zerstörung der Myelinscheide der Axone im ZNS. (Goldenberg, 2012; Tullman, 2013). In den vergangenen Jahren sind eine Reihe von Arbeiten erschienen, welche entzündlichen Prozessen im Gastrointestinaltrakt eine Rolle bei der MS zuschreiben (Haase 2018; Opazo 2018). Es wurde u.a. festgestellt, dass sich das intestinale Mikrobiom von MS Patienten vom intestinalen Mikrobiom altersgleicher gesunder Personen unterscheidet (Chen 2016; Jangi 2016; Miyake 2015). Kurzkettige Fettsäuren (short chain fatty acids, SCFA), die von Darmbakterien produziert werden, könnten eine mögliche Verbindung zwischen verändertem intestinalem Mikrobiom, Entzündungsprozessen im Gastrointestinaltrakt und der Neuroinflammation bei MS sein (Mizuno 2017). SCFA wirken anti-inflammatorisch und könnten so die Neuroinflammation, welche bei der MS stattfindet, beeinflussen.

Fragestellung: Die vorliegende Studie untersuchte bei Patienten mit einer schubförmigen MS und einer Gruppe von altersgleichen Kontrollpersonen sowohl den intestinalen Entzündungsmarker Calprotectin als auch die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl. Calprotectin kann im Stuhl stabil nachgewiesen werden und korreliert mit der Entzündungsaktivität im Darm, wobei selbst subklinische entzündliche Prozesse erfasst werden. Ziel dieser Arbeit war es, zu analysieren, ob es einen Unterschied zwischen MS-Patienten und den Kontrollpersonen in Bezug auf die Konzentration von Calprotectin und kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl gibt, um so die mögliche Rolle intestinaler Entzündungsprozesse bei der MS besser zu verstehen.

Patienten und Methodik: Es wurden 41 Patienten mit einer schubförmigen MS sowie 35 Kontrollpersonen in die Studie eingeschlossen. Neben der Erhebung demographischer und klinischer Parameter (anhand von standardisierten Skalen) wurden die Probanden um eine Stuhlprobe gebeten. Aus dieser Stuhlprobe wurde sowohl der Entzündungsparameter Calprotectin als auch die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren bestimmt. In der statistischen Analyse wurden die genannten fäkalen Marker zwischen beiden Gruppen verglichen. Es erfolgte außerdem eine Analyse, welchen Einfluss andere Faktoren (Alter, Geschlecht, Medikation, etc.) auf die fäkalen Marker haben.

Ergebnisse: Es zeigte sich eine nicht-signifikante Reduktion der Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl bei Patienten mit schubförmiger MS im Vergleich zu den Kontrollpersonen. Der intestinale Entzündungsmarker Calprotectin zeigte weder statistisch noch deskriptiv einen Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Bei der Betrachtung des Gesamtkollektivs zeigten Frauen signifikant niedrigere Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren im Vergleich zu Männern.

Diskussion und Schlussfolgerungen: Der sensitive intestinale Entzündungsparameter Calprotectin zeigte keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Es ergab sich somit kein unterstützender Befund für einen aktiven intestinalen Entzündungsprozess bei unserem Kollektiv von Patienten mit schubförmiger MS spricht. Einschränkend ist zu beachten, dass der Großteil der von uns untersuchten Patienten bereits unter einer Immuntherapie war, die ebenfalls einen Einfluss auf entzündliche Prozesse und damit auf die Calprotectin Konzentration gehabt haben könnte. Untersuchungen an bislang unbehandelten MS Patienten sind notwendig, um die Rolle einer intestinalen Entzündungsaktivität bei MS weiter aufzuklären. Die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren zeigte einen Trend zu niedrigeren Konzentrationen bei MS Patienten, wobei auch hier die unterschiedlichen MS-Thera-

pie Regime einen Einflussfaktor darstellen. Interessanterweise zeigten Frauen signifikant niedrigere Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren im Vergleich zu Männern. Da Frauen deutlich häufiger an MS erkranken als Männer, stellt diese Beobachtung einen interessanten Ansatzpunkt für zukünftige Studien dar.

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system (CNS). In MS, autoimmune-mediated destruction of the myelin sheath of axons in the CNS is the primary cause. (Goldenberg, 2012; Tullman, 2013). In recent years, a number of papers have been published which attribute a role in MS to inflammatory processes in the gastrointestinal tract (Haase 2018; Opazo 2018). Among other things, it was found that the intestinal microbiome of MS patients differs from that of healthy people of the same age (Chen 2016; Jangi 2016; Miyake 2015). Short chain fatty acids (SCFA) produced by intestinal bacteria may be a possible link between altered intestinal microbiomes, inflammatory processes in the gastrointestinal tract and neuroinflammation in MS (Mizuno 2017). SCFA have anti-inflammatory activity and could thus influence the neuroinflammation that occurs in MS.

Objective: The present study investigated the intestinal inflammation marker calprotectin as well as the concentration of short-chain fatty acids in stool in patients with relapsing-remitting MS and a group of age-matched controls. Calprotectin can be detected stably in stool and correlates with the inflammatory activity in the intestine, even subclinical inflammatory processes are detected. The aim of this work was to analyse whether there is a difference between MS patients and control subjects with regard to the concentration of calprotectin and short-chain fatty acids in faeces in order to better understand the possible role of intestinal inflammatory processes in MS.

Patients and Methods: 41 patients with relapsing-remitting MS and 35 control subjects were included in the study. In addition to the collection of demographic and clinical parameters (using standardized scales), the subjects were asked for a stool sample. From this stool sample, both the inflammation parameter calpro-

tectin and the concentration of short-chain fatty acids were determined. In statistical analysis, the mentioned faecal markers were compared between both groups. In addition, an analysis was performed to determine the influence of other factors (age, sex, medication, etc.) on the fecal markers.

Results: A non-significant reduction of the concentration of short-chain fatty acids in the stool of patients with relapsing-remitting MS compared to the control subjects was found. The intestinal inflammation marker calprotectin showed no difference between the two groups, neither statistically nor descriptively. When looking at the total collective, women showed significantly lower concentrations of short-chain fatty acids compared to men.

Discussion and conclusions: The sensitive intestinal inflammation parameter calprotectin showed no difference between the two groups. Thus, there was no supportive finding for an active intestinal inflammatory process in our collective of patients with relapsing MS. It should be noted that the majority of the patients examined by us were under immunotherapy, which may also have had an influence on inflammatory processes and thus on the calprotectin concentration. Investigations in previously untreated MS patients are necessary to further clarify the role of intestinal inflammatory activity in MS. The concentration of short-chain fatty acids showed a trend towards lower concentrations in MS patients, whereby the different MS therapy regimes also represent an influencing factor. Interestingly, women showed significantly lower concentrations of short-chain fatty acids compared to men. Since women are significantly more likely to develop MS than men, this observation is an interesting starting point for future studies.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------|---|
| BDI | Beck-Depressions-Inventar |
| BDNF | Brain-derived neurotrophic factor |
| BHS | Blut-Hirn-Schranke |
| BSCFA | Branched Short-Chain Fatty Acid |
| CRP | C-reactive protein |
| EDSS | Expanded Disability Status Scale |
| ESR | Erythrocyte sedimentation rate |
| FIS | Fatigue Impact Scale |
| Hb | Hemoglobin |
| JC-Virus | John Cunningham-Virus |
| LPS | Lipopo-Lysaccharide |
| MMST | Mini-Mental-Status-Test |
| MRI / MRT | Magnetresonanztomographie |
| MS | Multiple Sklerose |
| NCOA7-AS | Nuclear Receptor Coactivator 7 |
| NGF | Nerve growth factor |
| Nrf2 | Nuclear-related factor 2 |
| RRMS | Relapsing Remitting Multiple Sclerosis |
| pH | potentia hydrogenii („Stärke des Wasserstoffs“) |
| PRMS | Progressive Relapsing Multiple Sclerosis |
| PPMS | Primary Progressive Multiple Sclerosis |
| SCFA | Short-Chain Fatty Acid |
| SPMS | Secondary Progressive Multiple Sclerosis |
| o. A. | ohne Angabe |
| ZNS | Zentralnervensystem/ zentrales Nervensystem |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1.1-1: Veränderung der Nervenzellen | 5 |
| Abbildung 1.1-2: Erstsymptomatik | 7 |
| Abbildung 1.1-3: Stufentherapieschema nach der KKNMS Leitlinie von August 2014 | 12 |
| Abbildung 3.1-3: CRP-Vergleich der beiden Gruppen | 36 |
| Abbildung 3.3-1: Fäkale Calprotectin-Konzentrationen bei MS-Patienten und Kontrollpersonen | 40 |
| Abbildung 3.3-2: Fäkale Calprotectin-Konzentration bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie | 40 |
| Abbildung 3.4-1: SCFA Konzentrationen im Stuhl von MS-Patienten und Kontrollpersonen | 43 |
| Abbildung 3.4-2 SCFA Konzentrationen im Stuhl von MS-Patienten und Kontrollpersonen ohne Therapie, mit Basis- und Eskalationstherapie | 44 |
| Abbildung 3.5-1 SCFA Konzentrationen im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts | 48 |
| Abbildung 3.5-2 SCFA Konzentrationen im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts | 49 |
| Abbildung 3.5-3 SCFA Konzentrationen im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts | 50 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 3.1-1: Demographische Daten der MS-Patienten und Kontrollpersonen | 34 |
| Tabelle 3.1-3: Medikation | 33 |
| Tabelle 3.2-1: BDI | 37 |
| Tabelle 3.2-2: Mini-mental-Status-Test | 38 |
| Tabelle 3.2-3: Fatigue Impact Scale | 38 |
| Tabelle 3.2-4: Obstipation-Score | 39 |
| Tabelle 3.2-5: EDSS | 39 |
| Tabelle 3.3-1: Fäkale Calprotectin-Konzentration | 40 |
| Tabelle 3.4-1: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentration im Stuhl bei MS-Patienten und Kontrollpersonen | 42 |
| Tabelle 3.5-1: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentrationen im Stuhl bei MS Patienten bezüglich des Geschlechtes | 46 |
| Tabelle 3.5-2: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentrationen im Stuhl bei Kontrollpersonen bezüglich des Geschlechtes | 46 |
| Tabelle 3.5-3: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentrationen im Stuhl bei Probanden bezüglich des Geschlechtes | 46 |

1. Einleitung

Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Autoimmun-vermittelt kommt es zu einer Zerstörung der Myelinscheiden der Axone im ZNS in unterschiedlichem Ausmaß (Goldenberg, 2012; Tullman, 2013).

Etwa 2,5 Millionen Menschen weltweit sind an Multipler Sklerose, einer chronischen neuroinflammatorischen Erkrankung des Gehirns und des Rückenmarks, erkrankt. MS ist eine häufige Ursache für erworbene schwere körperliche Behinderungen bei jungen Erwachsenen, insbesondere bei Frauen (Dendrou, Fugger & Friese, 2015).

Die Erkrankung stellt eine große sozioökonomische und persönliche Belastung dar: Das Alter des Ausbruchs liegt typischerweise zwischen 20 und 40 Jahren (bei Männern etwas später als bei Frauen) - eine Zeit, welche für die Arbeits- und Familienplanung entscheidend ist, kann aber über die gesamte Lebensspanne hinweg auftreten. 25 Jahre nach der Diagnose benötigen etwa 50% der Patienten einen Rollstuhl. Ungefähr 10% der Fälle beginnen bereits vor dem 18. Lebensjahr, sehr selten tritt die Erkrankung bereits im Alter von 1-2 Jahren auf (Tullman, 2013; Dendrou, Fugger & Friese, 2015; Hauser et al., 2015). Einen abrupten Ausbruch der Krankheit erleben ungefähr 85% der Patienten; die ersten Symptome können schwerwiegend sein, manchmal aber auch nur leicht ausgeprägt und unspezifisch erscheinen, so dass ein Patient möglicherweise monate- oder jahrelang keine ärztliche Hilfe aufsucht. Der klinische Verlauf kann durch akute Episoden einer Verschlimmerung (Exazerbationen oder Schübe), einem allmählichen Fortschreiten der Behinderung oder einer Kombination aus beidem gekennzeichnet sein (Tullman, 2013; Hauser et al., 2015).

1.1. Multiple Sklerose

1.1.1. Epidemiologie

Eine geografische Häufung wurde wiederholt für die Auftretenswahrscheinlichkeit der MS beobachtet, wobei die Prävalenzraten mit abnehmender Breite abnehmen und in der Nähe des Äquators am geringsten sind. Die höchste bekannte Prävalenz für MS (250 pro 100.000 Personen) tritt auf den Orkney-Inseln auf, die nördlich von Schottland liegen, ähnlich hohe Raten sind in Nordeuropa, dem Norden der Vereinigten Staaten und Kanada zu finden. Im Gegensatz dazu ist die Prävalenz in Japan (6 pro 100.000), in anderen Teilen Asiens, im äquatorialen Afrika und im Nahen Osten gering. Die Prävalenz von MS scheint im letzten Jahrhundert ebenfalls stetig zugenommen zu haben; darüber hinaus ist dieser Anstieg offenbar vor allem bei Frauen aufgetreten (Hauser et al., 2015).

Die Gesamtzahl der Menschen, die weltweit mit MS leben, wird auf 2-2,5 Millionen geschätzt. Die Krankheit ist weltweit ungleichmäßig verteilt: Ihre Prävalenz schwankt zwischen weniger als fünf Fällen pro 100.000 Menschen in tropischen Gebieten oder Asien und bis über 100-200 Fällen pro 100.000 Menschen in gemäßigten Zonen, insbesondere in Gebieten mit einer großen Bevölkerung nord-europäischen Ursprungs, einschließlich der Vereinigten Staaten, Kanadas, Neuseelands und Teilen Australiens (Rosati, S. 2001; Milo & Kahana, 2010). Es ist eine allgemein akzeptierte Beobachtung, dass die MS-Häufigkeit in einem unvollständigen Verteilungsmodell mit der geographischen Breite progressiv zunimmt (Kurtzke, 2005). Dennoch gibt es Gebiete mit hoher MS-Häufigkeit wie Sardinien in der warmen, südlichen Mittelmeerregion (Granieri et al., 200), während bei den Inuit, die im kalten, weit nördlichen Kanada leben, die MS-Häufigkeit gering ist (Milo & Kahana, 2010). Dies steht im Gegensatz zu dem, was in einem einfachen geographischen Modell der MS-Verteilung aufgrund der Umgebungstemperatur und der geographischen Breite vorausgesagt werden würde. Neuere Schätzungen der absoluten Zahl der MS-Patienten in Deutschland schwanken zwischen

100.000 und 200.000 Personen. In einer Studie, welche auf Registerdaten aus dem Stadtbezirk Erfurt basiert, wurde zwischen 1998 und 2002 eine durchschnittliche jährliche Inzidenz von acht pro 100.000 Personen festgestellt (Höer et al., 2014).

Die ungleichmäßige geographische Verteilung der MS und die ethnischen Unterschiede in der MS-Häufigkeit haben das Interesse der medizinischen Forscher seit fast einem Jahrhundert geweckt. Die Gründe für die Unregelmäßigkeit sind schwer zu fassen. Die große Bandbreite der Inzidenz und Prävalenz kann den Einfluss sowohl von Umweltfaktoren als auch von genetischen Faktoren implizieren (Milo & Kahana, 2010).

1.1.2. Ätiologie und Pathogenese

Die MS-Pathogenese ist komplex und multifaktoriell. Zum einen gibt es eine genetische Komponente, zum anderen ist es wahrscheinlich, dass Interaktionen mit infektiösen, ernährungsbedingten, klimatischen und/oder anderen Umwelteinflüssen die Vulnerabilität für MS erheblich beeinflussen. Durch die Interaktion dieser Faktoren kommt es als gemeinsame Endstrecke zum Verlust der Immunhomöostase und Verlust der Selbsttoleranz und zur Entwicklung abnormaler Entzündungsreaktionen gegen strukturelle Komponenten des ZNS. Myelinverlust, Gliose und verschiedene Grade der axonalen Pathologie führen schließlich zu einer progressiven neurologischen Dysfunktion, wie sensorischer Verluste, Schwäche, Sehverlust, Schwindel, Koordinationsstörungen, Schließmuskelstörungen und veränderter Kognition (Tullman, 2013). Es sind doppelt so viele Frauen betroffen, wie Männer und Personen nordeuropäischer Abstammung scheinen das höchste Risiko für MS zu haben. Die Diagnose der Krankheit wird auf der Grundlage klinischer Befunde und unterstützenden Befunden aus ergänzenden Tests wie der Magnetresonanztomographie (MRT) des Gehirns und des Rückenmarks und der Untersuchung des Liquors gestellt (Goldenberg, 2012). MS tritt typischerweise bei Erwachsenen im Alter von 20 bis 45 Jahren auf, gelegentlich auch in der Kindheit oder im späten mittleren Alter.

Die Erkrankung ist heterogen ausgeprägt und kann sensorische und visuelle Störungen, motorische Beeinträchtigungen, Müdigkeit, Schmerzen und kognitive Defizite umfassen. Die Variation der klinischen Manifestationen korreliert mit der räumlichen und zeitlichen Verbreitung der ZNS-Läsionen (Dendrou, Fugger & Friese, 2015). Diese Läsionen sind ein Kennzeichen der Multiplen Sklerose und werden durch die Infiltration von Immunzellen über die Blut-Hirn-Schranke (BHS) verursacht, die zu Entzündung, Demyelinisierung, Gliose und neuroaxonale Degeneration führt und in der Folge zu einer Störung der neuronalen Signalübertragung. T-Zellen erscheinen früh in der Läsionsbildung, und die Krankheit wird als Autoimmunerkrankung angesehen, die vor allem durch autoreaktive Lymphozyten ausgelöst wird (Dendrou, Fugger & Friese, 2015).

Die daraus abgeleitete Entkopplung von akuten Schüben und progredientem Behinderungsfortschritt hat erhebliche Auswirkungen auf unser Verständnis der Krankheitsverläufe und auf das therapeutische Vorgehen. Obwohl das Fortschreiten der Krankheit nicht bei allen Formen der MS wesentlich durch die verfügbaren immunmodulatorischen Therapien beeinflusst wird, welche auf die Aktivierung der peripheren Immunzellen und den Eintritt in das ZNS abzielen, ist eine immunologische Beteiligung an diesem Prozess impliziert (Dendrou, Fugger & Friese, 2015): Es gibt eine zusätzliche entzündliche Komponente, die sich im ZNS befindet, die nur geringfügig durch die periphere Immunkontrolle beeinflusst wird und die zum allmählichen neuroaxonalen Verlust und Absterben der myelinproduzierenden Oligodendrozyten beiträgt. Dieser ZNS-residente entzündliche Arm der Krankheit ist weniger gut definiert, aber wahrscheinlich ist er mit einer kontinuierlichen Aktivierung der angeborenen Immunzellen verbunden (Dendrou, Fugger & Friese, 2015). Es wurde festgestellt, dass diese Zellen in demyelinisierten Bereichen vorherrschen, aber sie sind auch diffus in der normal erscheinenden weißen Substanz vorhanden, ihre Anzahl korreliert mit der Gewebeschädigung.

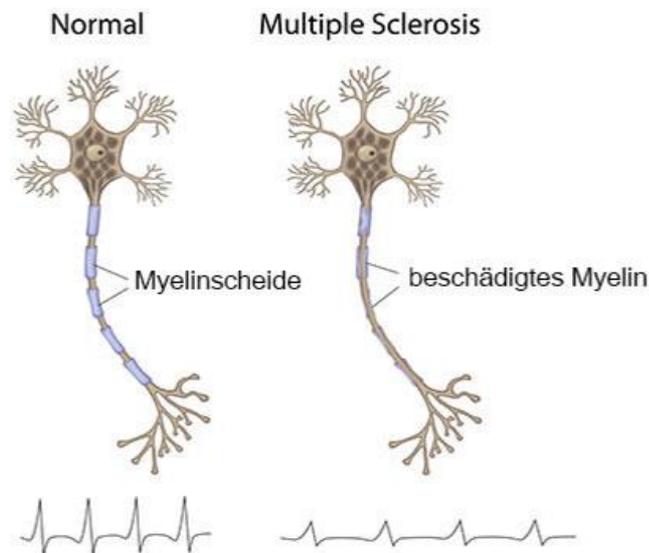


Abbildung 1.1-1: Veränderung der Nervenzellen (Manfred-Sauer-Stiftung, 2020)

Abbildung 1.1-1: Veränderung der Nervenzellen (Manfred-Sauer-Stiftung, 2020).

Myelin ist ein mehrschichtiges isolierendes Protein, das mit anderen Komponenten als lipidreiche Membran, die Axone umgibt und isoliert und die Impulsleitung beschleunigt, indem Aktionspotentiale zwischen nackten Regionen der Axone (Knoten von Ranvier) über myelinisierte Segmente springen (s. Abb. 1.1-1). Myelinscheiden tragen ebenfalls zur Struktur und Stabilität der Axone bei. Die myelinbildenden Zellen im ZNS sind die Oligodendrozyten. Die Myelinbildung ist ein spiralförmiger Prozess um das Axon herum, bei dem mehrere Membran-Doppelschichten entstehen, welche durch Wechselwirkungen mit geladenen Proteinen dicht aneinander liegen. Ein einzelner Oligodendrozyt umhüllt viele Axone, im Gegensatz zu jeder Schwannzelle (im peripheren Nervensystem), die typischerweise nur ein einzelnes Axon myelinisiert. Eine Myelinverletzung führt zu einer reduzierten Unterstützung der Axone sowie zu einer Umverteilung von Ionenkanälen, einer Destabilisierung der axonalen Membranpotentiale, einer verminderten Erregbarkeit und einem Leitungsblock. Die Axone können sich zunächst anpassen und die Leitung wiederherstellen, was Remissionen erklärt, aber schließlich kommt es zu einer distalen und retrograden Degeneration. Daher bleibt die

frühe Förderung der Remyelinisierung und der Erhalt von Oligodendrozyten ein wichtiges therapeutisches Ziel (Hauser et al., 2015).

1.1.3. Symptomatik

Die Symptome von MS resultieren aus der Unterbrechung der myelinisierten Bahnen im ZNS. Die Anfangssymptome sind häufig eines oder mehrere der folgenden: Schwäche oder verminderte Geschicklichkeit in einem oder mehreren Gliedmaßen, eine Sinnesstörung, monokularer Sehverlust (Sehnervenentzündung), Doppelbilder (Diplopie), Ganginstabilität und Ataxie (s. Abb. 1.1-2). Im weiteren Verlauf der Erkrankung treten bei den meisten Patienten Blasenfunktionsstörungen, Ermüdung und Wärmeempfindlichkeit auf. Zu den zusätzlichen Symptomen gehören das Lhermitte-Zeichen (ein Elektroschock-ähnliches Gefühl an der Wirbelsäule und in den Gliedmaßen, das durch die Beugung des Kopfes hervorgerufen wird), Gesichtslähmung oder -schmerzen, Schwindel, kurze tonische Krämpfe und andere paroxysmale Symptome (die vermutlich Entladungen entlang demyelinisierter Axone darstellen). Kognitive Defizite sind besonders in fortgeschrittenen Fällen häufig und umfassen Gedächtnisverlust, Aufmerksamkeitsstörungen, Schwierigkeiten bei der Problemlösung, verlangsamte Informationsverarbeitung und Schwierigkeiten beim Wechsel zwischen kognitiven Aufgaben (Hauser et al., 2015).

Erstsymptomatik bei MS

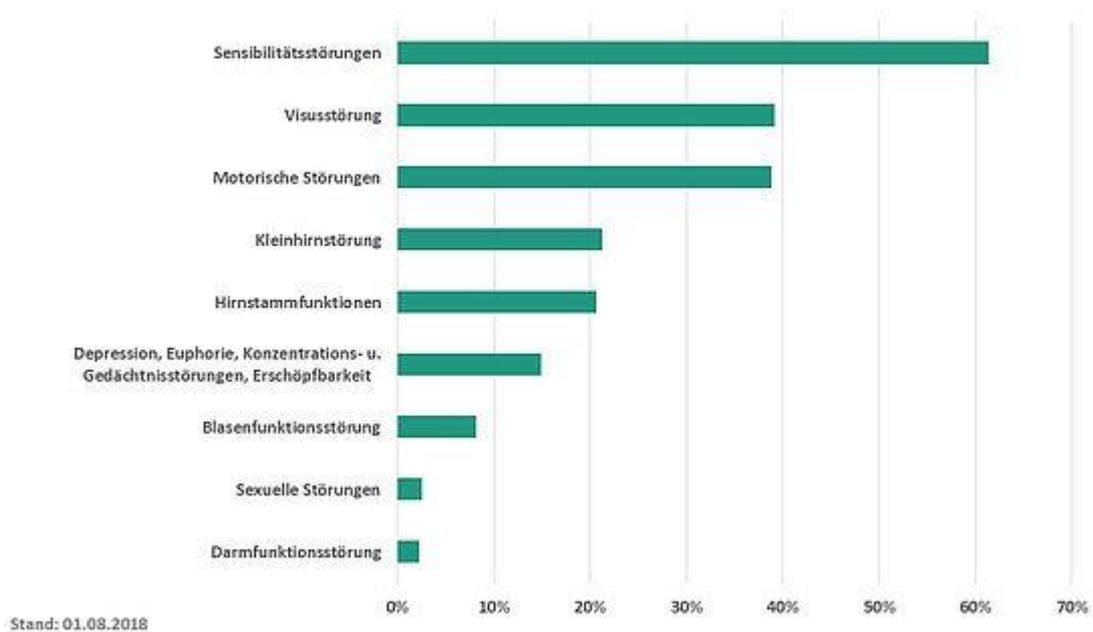


Abbildung 1.1-2: Erstsymptomatik (DMSG, 2020).

Abbildung 1.1-2: Erstsymptomatik (DMSG, 2020).

Vier klinische Muster des Verlaufs der MS sind im internationalen Konsens anerkannt. Patienten mit schubförmig-remittierender MS (= *Relapsing Remitting Multiple Sclerosis* = RRMS) erleben Schübe mit oder ohne vollständige Genesung und sind zwischen diesen Episoden klinisch stabil. Ungefähr die Hälfte der Patienten mit RRMS geht innerhalb von 15 Jahren nach dem Ausbruch der Krankheit in eine sekundär progrediente MS (= *Secondary Progressive Multiple Sclerosis* = SPMS) über. Die sekundär progrediente Phase ist durch ein allmähliches Fortschreiten der Behinderung mit oder ohne überlagerte Schübe gekennzeichnet. Im Gegensatz dazu erleben Patienten mit primär-progressiver MS (= *Primary Progressive Multiple Sclerosis* = PPMS) ein allmähliches Fortschreiten der Behinderung vom Beginn an ohne überlagerte Schübe. Ungefähr 15% der Patienten mit MS erleben dieses klinische Muster. Ein sehr kleiner Anteil der Patienten, etwa 1-2%, erlebt ein allmähliches Fortschreiten der Behinderung ab dem Beginn

der Krankheit erst später, begleitet von einem oder mehreren Schüben. Dieses klinische Muster wird als progressive schubförmige MS (= *Progressive Relapsing Multiple Sclerosis* = PRMS) bezeichnet (Hauser et al., 2015). Es ist wichtig zu erwähnen, dass diese Form als eigenständige Entität umstritten ist.

1.1.4. Diagnostik

Die Diagnosekriterien für MS wurden im Laufe der Zeit immer wieder überarbeitet (Polman et al., 2011; Tullman, 2013). Neue MS-Diagnosekriterien, die oft als McDonald-Kriterien bezeichnet werden, wurden 2001 festgelegt und 2005, 2010 und 2017 überarbeitet (Polman et al., 2011; DGN/ KKNMS, 2018). Die Diagnose von MS beruht auf dem klinischen und bildgebenden (MRT mit Kontrastmittel) Nachweis von Symptomen und Anzeichen, die auf Läsionen der weißen Substanz zurückzuführen sind, mit zeitlicher und räumlicher Dissemination, zusammen mit dem Ausschluss anderer Erkrankungen, die eine MS nachahmen können (Milo & Miller, 2014). Es gibt bislang keinen einzelnen gezielten diagnostischen Test für MS. Die Diagnose beruht auf dem Nachweis (1) von mindestens zwei verschiedenen Läsionen (Plaques oder Narben) in der weißen Substanz des ZNS (Kriterium der räumlichen Verbreitung), (2) von mindestens zwei verschiedenen Episoden im Krankheitsverlauf (Kriterium der zeitlichen Verbreitung) und (3) einer chronischen Entzündung des ZNS, die durch die Analyse des Liquors (Kriterium der Entzündung) bestimmt wird (Goldenberg, 2012).

Das Vorhandensein eines oder mehrerer dieser Kriterien ermöglicht eine allgemeine Diagnose der MS, die je nach dem weiteren Verlauf der Krankheit einer der vier oben beschriebenen Verlaufsformen zugeordnet werden kann. Ein internationales Gremium für die Diagnose von MS schlug vor, dass das Kriterium der zeitlichen Verbreitung durch klinische Anzeichen auf dem MRT mindestens drei Monate nach der vorherigen klinischen Episode oder auf einem früheren MRT bestätigt werden sollte (Goldenberg, 2012; Tullman, 2013). Das Gremium schlug

ebenfalls vor, dass das Entzündungskriterium das Kriterium der zeitlichen Verbreitung ersetzen könnte, wenn dieses auf klinischer und paraklinischer Ebene fehlt.

Um eine Diagnose für eine schubhaft remittierende oder primär progrediente MS zu stellen, muss der Arzt gemäß McDonald-Kriterien 2017 (Wurth, 2017):

- darlegen, dass mehr als zwei klinisch nachgewiesene Schübe und ein objektiv klinischer Nachweis oder mehr als zwei Läsionen vorhanden sind. In dem Fall sind keine weiteren Anforderungen zur Diagnose nötig (schubhaft remittierend)
- darlegen, dass mehr als zwei klinisch nachgewiesene Schübe und ein objektiv klinischer Nachweis oder eine Läsion vorhanden sind. In dem Fall sind für weitere Anforderungen zur Diagnose der räumlichen Dissemination entweder ein klinisch nachgewiesener Schub einer zweiten, räumlich getrennten klinisch nachgewiesenen Läsion **oder** ein Nachweis der räumlichen Dissemination im MRT (hierfür sind weitere Kriterien vorgegeben) zu begründen (schubhaft remittierend)
- darlegen, dass ein klinisch nachgewiesener Schub und ein objektiv klinischer Nachweis oder mehr als zwei Läsionen vorhanden sind. In dem Fall sind für weitere Anforderungen zur Diagnose der zeitlichen Dissemination entweder ein weiterer klinisch nachgewiesener Schub **oder** ein Nachweis der zeitlichen Dissemination im MRT (hierfür sind weitere Kriterien vorgegeben) **oder** oligoklonale Banden im Liquor, welche nicht im Serum vorhanden sind, zu begründen (schubhaft remittierend)
- darlegen, dass ein klinisch nachgewiesener Schub und ein objektiv klinischer Nachweis und eine Läsion vorhanden sind. In dem Fall gelten die weiteren Anforderungen zur Diagnose der räumlichen **und** zeitlichen Dissemination (schubhaft remittierend)
- darlegen, dass über ein Jahr eine klinische Behinderungsprogression ohne Schübe vorhanden ist. In dem Fall sind für weitere Anforderungen zur Diagnose entweder mehr als eine T2-Läsion im MRT in mehr als einer der folgenden Lokalisationen, entweder periventrikulär, kortikal/juxtakortikal oder infratentoriell, **oder** mehr als 2 T2-Läsionen im spinalen MRT **oder** eine intrathekale Immunglobulinsynthese zu begründen

Die Diagnose von MS wurde durch die MRT-Technologie revolutioniert, welche im klassischen Fall mehrere, asymmetrisch lokalisierte Läsionen der weißen Substanz aufzeigt, die über die gesamte weiße Substanz des ZNS verteilt sein können und eine Präferenz für das Corpus callosum und tiefe periventrikuläre Regionen haben. Neue Läsionen zeigen durch die gestörte Blut-Hirn-Schranke (BHS) (Milo & Miller, 2014), eine Anreicherung des Schwermetalls Gadolinium (als i.v. Kontrastmitteln (Milo & Miller, 2014). Rückenmarksläsionen sind häufig vorhanden und können mit hoher Sensitivität mittels Hochfeld-MRT nachgewiesen werden. Als ergänzende Tests, die vor allem in unsicheren oder problematischen Fällen eingesetzt werden, werden Untersuchungen des Liquors durchgeführt, die meist eine gering ausgeprägte Liquorpleozytose mit mononukleärem Zellbild (im Allgemeinen weniger als 50 Zellen pro mm³) und liquoreigene oligoklonale Banden zeigen. Evozierte Potentiale der Seh-, Hör- oder Sinnesbahnen können ebenfalls hilfreich sein, um zusätzliche, stumme Läsionen zu identifizieren (Milo & Miller, 2014).

Zusätzliche Laboruntersuchungen, sind erforderlich, um phänotypisch ähnliche Krankheiten auszuschließen. Hierzu gehören; Serum-Vitamin-B12-Spiegel, Titer des humanen T-Zell-lymphotropen Virus Typ I (HTLV-I), Sedimentationsrate von Erythrozyten, Rheumafaktor, antinukleäre Anti-DNA-Antikörper (als Hinweis auf das Vorliegen eines systemischen Lupus erythematoses), Serum VDRL (Test auf Vorliegen einer Infektion mit Treponema Palladium), Angiotensin-konvertierendes Enzym (als Hinweis auf das Vorliegen einer Sarkoidose), Borrelienserologie (Borreliose), sehr langkettige Fettsäuren (Adrenoleukodystrophie) und Serum- oder Liquorlaktat, Muskelbiopsie oder mitochondriale DNA-Analyse (mitochondriale Störungen) (Hauser et al., 2015).

1.1.5. Therapie

Die Infiltration von Immunzellen aus der Peripherie zu verhindern - die bei der häufigen, schubförmig remittierenden Form der Erkrankung besonders ausgeprägt ist - ist das Hauptziel der derzeit verfügbaren Therapien für Multiple Sklerose (s. Abb. 1.1-3). Obwohl diese Immunmodulatoren die Aktivität der Immunzellen und den Eintritt in das ZNS reduzieren und die Rückfallhäufigkeit verringern, sind sie häufig mit Nebenwirkungen verbunden (Dendrou, Fugger & Friese, 2015). Diese reichen von grippeähnlichen Symptomen und der Entwicklung anderer Autoimmunerkrankungen bis hin zu malignen Erkrankungen und sogar tödlichen opportunistischen Infektionen wie der progressiven multifokalen Leukoencephalopathie (einer durch das JC-Virus* ausgelösten ZNS Erkrankung), wobei auf die Notwendigkeit hingewiesen wird, spezifischere therapeutische Ziele zu definieren, die wirksam moduliert werden können, aber ohne solch signifikante Nebenwirkungen zu verursachen (Dendrou, Fugger & Friese, 2015).

Gleichzeitig wird zunehmend anerkannt, dass die seit langem für Multiple Sklerose zugelassenen Therapien zwar Schübe reduzieren können, die Krankheit aber nicht komplett aufhalten. Neuroaxonale Schäden - mit der daraus resultierenden körperlichen Behinderung - sind progredient (Dendrou, Fugger & Friese, 2015). Dies unterstützt die Auffassung, dass es unterschiedliche Mechanismen bei den Prozessen gibt, die zu klinischen Schüben führen, und denen, die den chronischen Verlauf der Krankheit bestimmen, gibt. In der Tat ist die sekundär progrediente Erkrankung möglicherweise keine zeitlich abgegrenzte Phase der Erkrankung, die als direkte Folge der schubförmig-remittierenden Erkrankung auftritt, sondern kann stattdessen das Ergebnis anderer zugrundeliegender Pathomechanismen sein (Dendrou, Fugger & Friese, 2015).

Stufentherapieschema
Übersichtstabelle

| Indikation | Verlaufsmodifizierende Therapie | | RRMS ¹ | | | SPMS ² | | PPMS |
|-------------------------------------|--|---|--|--|----------------------------|--|--|---------------|
| | Milde/moderate Verlaufsform | (Hoch-)aktive Verlaufsform | 1. Wahl | 2. Wahl | 3. Wahl | mit aufgesetzten Schüben | ohne aufgesetzte Schübe | |
| CSI ³ | » Glatirameracetat » Interferon-β 1a im » Interferon-β 1a sc » Interferon-β 1b sc | » Dimethylfumarat » Glatirameracetat » Interferon-β 1a im » Interferon-β 1a sc » Interferon-β 1b sc » PEG-IFN-β 1a sc » Teriflunomid » Azathioprin ⁴ » IVIg ⁵ | » Alemtuzumab » Cladribin » Fingolimod » Natalizumab » Ocrelizumab | » Mitoxanton (+ Cyclophosphamid) ⁶ | » Experimentelle Verfahren | » Interferon-β 1a sc » Interferon-β 1b sc » Mitoxanton (+ Cyclophosphamid) ⁶ | » Mitoxanton (+ Cyclophosphamid) ⁶ | » Ocrelizumab |
| | | | | | | | | |
| Schubtherapie 1. Wahl 2. Wahl | » Methyprednisolonpuls | | | | | | | |

Bei Versagen einer verlaufsmodifizierenden Therapie bei milder/moderater Verlaufsform einer MS werden diese Patienten wie eine aktive MS behandelt.

¹ Substanzen in alphabetischer Reihenfolge; die hier gezeigte Darstellung impliziert KEINE Reihenfolge der Wirksamkeit gegenüber einer anderen innerhalb einer Substanzgruppe (abhängig vom Schweregrad der Krankheit).

² Zugelassen, wenn Interferon-β nicht möglich oder einer Azathioprin-Therapie stabile Wirkung erreicht.

³ Einsatz nur postnatal im Einzelfall gerechtfertigt, insbesondere vor dem Hintergrund fehlender Behandlungsoptionen.

⁴ Zugelassen für bedingt bis vollständig verlaufende Autoimmunreaktionen, sonst lediglich für Lähmungsfälle als Ausweichtherapie vorzuziehen, Deletereweise nur an ausgewiesenen MS-Zentren.

Quelle: DGN / KKNMS; Leitlinie zur Diagnose und Therapie der Multiplen Sklerose (August 2014).

Abbildung 1.1-3: Stufentherapieschema nach der KKNMS Leitlinie von August 2014 (DGN / KKNMS, 2018)

Das Autoimmunmodell der MS-Pathogenese hat die Immuntherapie als grundlegende Therapiestrategie bei dieser Krankheit vorgegeben, zunächst durch eine globale Immunsuppression und in jüngerer Zeit durch die selektive Ausrichtung auf spezifische Komponenten der Immunantwort (Bruck et al., 2013). In den letzten Jahren hat jedoch die Erkenntnis, dass ein neurodegenerativer Prozess, der nicht auf Immunsuppression reagiert, für die fortschreitende neurologische Beeinträchtigung verantwortlich ist, die Myelinbiologie in den Vordergrund der MS-

Forschung gerückt und die Notwendigkeit betont, auch die axonalen Veränderungen nach der Demyelinisierung, die Axon-Myelin-Interaktionen, welche für die normale neuronale Funktion und das Überleben sowie die Oligodendrozyten-Differenzierung und Remyelinisierung besser zu verstehen (Hauser et al., 2013; Hauser et al., 2015).

1.1.6. Medikation

(1) Basistherapie

- a. Interferon β 1a s.c. / i.m. und Interferon β 1b s.c.

Die IFN- β -Therapie bei MS reduziert die Auftretenswahrscheinlichkeit von Schüben, verkürzt Schübe und reduziert ebenso neue MRT-Hirnläsionen, MRT T1-Black-Hole-Bildung, Progression und kognitiven Verlust. Die Langzeittherapie induziert neuroprotektive Proteine wie BDNF, NGF, Nrf2 und NCOA7-AS (Croze et al., 2013). Eine fünfjährige IFN- β -1b-Therapie, welche acht Jahre nach den ersten Symptomen begonnen wird, reduziert die Sterblichkeitsrate um 47% (Goodin et al., 2012). Ihre Wirkungsweise ist komplex, mit dosisabhängigen Veränderungen in verschiedenen Zellen und Geweben und Variationen in verschiedenen Phasen der MS.

- b. Glatirameracetat

Im Gegensatz zu anderen immunmodulatorischen MS-Therapien hat Glatirameracetat (GA) folgenden Wirkmechanismus: Es zeigt eine anfänglich starke Bindung an wichtige Histokompatibilitätskomplex-Moleküle und eine daraus resultierende Konkurrenz mit verschiedenen (Myelin-)Antigenen um deren Präsentation in T-Zellen (Ziemssen & Schrempf, 2007). Es wandern GA-spezifische, meist T-Helfer-2-Zellen, ins Gehirn und führen zu einer in-situ-Unterdrückung des Entzündungsprozesses im Gehirn. Die Behandlung induziert eine in vivo-Veränderung der Frequenz, des Cytokin-Sekretionsmusters und der Effektorfunk-

tion von GA-spezifischen CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen, wahrscheinlich durch Beeinflussung der Eigenschaften von Antigen-präsentierenden Zellen wie Monozyten und dendritischen Zellen (Ziemssen & Schrempf, 2007).

c. Teriflunomid

Teriflunomid blockiert die de novo Pyrimidin-Synthese durch spezifische nicht-kompetitive, reversible Hemmung des mitochondrialen Enzyms Dihydro-orotat-Dehydrogenase (DHODH), ein Enzym, welches in proliferierenden Lymphozyten in hohen Konzentrationen exprimiert wird (Löffler et al., 2004). Die Blockade der Pyrimidin-Synthese unterbricht den Zellzyklus und übt eine zytostatische Wirkung auf proliferierende T- und B-Zellen aus, wodurch ihre Beteiligung an den Entzündungsprozessen der MS-Pathogenese begrenzt wird (Gold & Wolinsky, 2011)

d. Dimethylfumarat

Die Behandlung mit Dimethylfumarat verändert das Profil des Immunsystems in Bezug auf die Zellzusammensetzung und Entzündungsaktivität. Die molekularen Mechanismen, die diesen Veränderungen zugrunde liegen, werden zwar noch aufgeklärt, doch neuere Arbeiten weisen darauf hin, dass das veränderte Immunprofil zum therapeutischen Nutzen von Dimethylfumarat beiträgt. Die Mehrzahl der durch die Behandlung regulierten Proteine scheint antioxidative und/oder entzündungshemmende Eigenschaften zu haben. Beispielsweise ist das Ziel die Häm-Oxygenase-1 (HO-1), ein Antioxidans, welches auch die Expression des proinflammatorischen Zytokins IL-12 verringert und T-regulierende Zellen stimuliert (Sun et al., 2011). Zusätzlich wurde gezeigt, dass Dimethylfumarat in der Lage ist, durch seine elektrophile Aktivität eine Vielzahl von Proteinen zu modifizieren, die an der T-Zell-Aktivierung beteiligt sind (Blewett et al., 2016).

(2) Eskalationstherapie

a. Fingolimod

Wie andere krankheitsmodifizierende Wirkstoffe für MS kann Fingolimod die Häufigkeit klinischer Exazerbationen verringern und die Häufung körperlicher

Behinderungen verzögern (Chun & Brinkmann, 2011). Der Wirkmechanismus von Fingolimod ist unvollständig verstanden, scheint sich aber grundlegend von anderen MS-Medikamenten zu unterscheiden. Fingolimod-Phosphat blockiert die Fähigkeit der Lymphozyten, aus den Lymphknoten auszutreten, wodurch die Anzahl der Lymphozyten im peripheren Blut verringert wird. Fingolimod fördert die Sequestrierung von Lymphozyten innerhalb der Lymphknoten, was die Lymphozytenmigration in das zentrale Nervensystem verringern kann (Chun & Brinkmann, 2011).

b. Ocrelizumab

Ocrelizumab ist ein Anti-CD20-Antikörper, welcher zirkulierende unreife und reife B-Zellen dezimiert, aber CD20-negative Plasmazellen schont. Ocrelizumab verringerte die CD19+-B-Zellzahl (CD19+-Zellen stellen ein Maß für die B-Zellzahl bei anti-CD20-behandelten Patienten dar) im Blut nach zweiwöchiger Behandlung in zwei Phase-III-Studien an Patienten mit schubförmig-remittierender MS vollständig (Hauser et al., 2017). Ocrelizumab ist in vitro mit verstärkten antikörperabhängigen, zellvermittelten zytotoxischen Effekten und reduzierten komplementabhängigen zytotoxischen Effekten assoziiert. Als humanisiertes Molekül wird erwartet, dass Ocrelizumab bei wiederholten Infusionen weniger immunogen ist und daher ein günstigeres Nutzen-Risiko-Profil als üblich aufweisen könnte (Kappos et al., 2011).

c. Cladribin

Cladribin, auch bekannt als 2-CdA, ist ein synthetisches Purin-Nukleosid-Analogon, das ursprünglich zur Behandlung von hämatologisch-bösartigen Tumoren entwickelt wurde. Die Behandlung mit Cladribin führt zu einer bevorzugten und nachhaltigen Reduktion von Lymphozyten und Monozyten, was zu einer lang anhaltenden Reduktion von CD4+- und CD8+-T-Zellen führt (Schreiber & Sorensen, 2011). Diese zytotoxischen Mechanismen stören die Synthese und Reparatur von DNA sowohl in ruhenden als auch in sich teilenden Lymphozyten und sorgen

für eine wirksame Immunsuppression, geben aber Anlass zu Bedenken hinsichtlich des Risikos einer sekundären Malignität (Schreiber & Sorensen, 2011).

d. Natalizumab

Natalizumab ist als Monotherapie zur Behandlung von Patienten mit schubförmiger MS angezeigt, um die Akkumulation von körperlichen Behinderungen zu verzögern und die Häufigkeit klinischer Exazerbationen zu reduzieren. Es wird im Allgemeinen bei Patienten eingesetzt, die auf eine krankheitsmodifizierende Erstlinientherapie nicht angesprochen haben (Luzzio, 2020).

e. Alemtuzumab

Wegen des Risikos schwerer autoimmuner Nebenwirkungen ist es für den Einsatz bei Patienten reserviert, die auf zwei oder mehr MS-Medikamente unzureichend angesprochen haben. Alemtuzumab ist ein rekombinanter monoklonaler Antikörper gegen CD52 (Lymphozyten-Antigen). Diese Wirkung fördert die antikörperabhängige Zellyse. Alemtuzumab reduziert so wirksam die Rezidivraten und verbessert die klinischen Ergebnisse, wie eine Studie an 45 Patienten zeigte (Luzzio, 2020).

1.1.7. Verlauf und Prognose

Der Verlauf der MS ist sehr unterschiedlich und schwer vorhersehbar. Bei den meisten Patienten ist die Erkrankung zunächst durch Episoden reversibler neurologischer Defizite (Schübe) gekennzeichnet, denen oft eine fortschreitende neurologische Verschlechterung im Laufe der Zeit folgt (Goldenberg, 2012).

Die MS beginnt schleichend und verschlimmert sich allmählich bei etwa 10% der Patienten. Die Symptome, die von der Lage der Läsion und dem Ausmaß der Gewebeerstörung abhängen, reichen von leicht bis schwer (Haider et al., 2011).

Es ist allgemeiner Konsens, dass Patienten je nach Krankheitsverlauf in vier Hauptkategorien eingeteilt werden können (Goldenberg, 2012):

1. Die schubförmig-remittierende MS: die häufigste Form, die etwa 85% der MS-Patienten betrifft. Sie ist gekennzeichnet durch Schübe, gefolgt von Remissionsphasen, in denen sich die Symptome verbessern oder verschwinden.
2. Sekundär progrediente MS: kann sich bei einigen Patienten mit schubförmig-remittierender MS entwickeln. Bei vielen Patienten hilft die Behandlung mit krankheitsmodifizierenden Mitteln, ein solches Fortschreiten zu verzögern. Der Krankheitsverlauf verschlechtert sich weiter mit oder ohne Remissionsphasen bzw. ohne Abklingen der Symptomschwere (Plateaus).
3. Primär progrediente MS: betrifft etwa 10% der MS-Patienten. Die Symptome verschlechtern sich von Anfang an allmählich weiter. Es gibt keine Schübe oder Remissionen, aber es kann gelegentlich zu Plateaus kommen. Diese Form der MS ist resistenter gegen die üblicherweise zur Behandlung der Krankheit eingesetzten Medikamente.
4. Progressiv-rezidivierende MS: eine seltene Form, von der weniger als 5% der Patienten betroffen sind. Sie ist von Anfang an progressiv, wobei sich die Symptome im Laufe der Zeit intermittierend verschlimmern. Es gibt keine Remissionsphasen. Diese vierte Kategorie ist jedoch als eigene Entität nach wie vor umstritten.

Obwohl der Verlauf der MS bei einem einzelnen Patienten im Wesentlichen nicht vorhersagbar ist, sind weibliches Geschlecht, jüngeres Alter bei Beginn und eine geringe Behinderung 5 Jahre nach Beginn der Erkrankung im Allgemeinen günstige prognostische Faktoren. Männliches Geschlecht, höheres Alter bei Erkrankungsbeginn, häufige Schübe zu Beginn des Krankheitsverlaufs, ein kurzes Intervall zwischen den ersten Schüben, eine unvollständige Erholung nach dem ersten Schub, eine rasch progredient Behinderung, eine Beteiligung des Kleinhirns als erstes Symptom und eine fortschreitende Krankheit von Beginn an sind mit einem schlechteren Langzeitverlauf verbunden (Tullman, 2013).

Einige Patienten haben eine sehr milde Form der RRMS, mit minimaler oder keiner Behinderung zehn Jahre nach dem Ausbruch der Krankheit, die oft als gutartige MS bezeichnet wird. Obwohl Studien zum natürlichen Verlauf der MS zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt haben, deuten die meisten darauf hin, dass

viele dieser Patienten innerhalb von 20 Jahren eine signifikante Behinderung entwickeln und in die sekundär-progressive Phase der Krankheit eintreten können (Tullman, 2013). Es gibt keine verlässlichen Prädiktoren, um festzustellen, welche Patienten weiterhin einen milden Verlauf haben werden. Darüber hinaus zeigen neuropsychologische Tests kognitive Beeinträchtigungen bei bis zu 45% der Patienten, die als gutartige MS gelten. Daher sollte die Diagnose der benignen MS eine Beurteilung der kognitiven Funktion beinhalten und erst im Nachhinein und nach längerer Nachbeobachtung in Betracht gezogen werden (Tullman, 2013).

1.2. Entzündungsparameter Calprotectin

Fäkales Calprotectin ist ein nichtinvasiver Marker für Darmentzündungen und hat eine bessere Korrelation mit der endoskopischen und histologischen Aktivität gezeigt als klassische Serummarker (D'Haens et al., 2012; Burri & Beglinger, 2014), insbesondere wenn eine Beteiligung des Dickdarms vorliegt.

Calprotectin ist ein kalziumbindendes Protein aus der S100-Familie, welches hauptsächlich von Neutrophilen, Monozyten und Makrophagen freigesetzt wird (Foell et al., 2007). Es stellt die Antwort des angeborenen Immunsystems dar und übt antibakterielle, proapoptotische und chemotaktische Aktivität aus (Viemann et al., 2007). Erhöhte Calprotectinspiegel im Stuhl spiegeln die Migration von Neutrophilen in den Gastrointestinaltrakt infolge einer Infektion oder eines anders gearteten entzündlichen Prozesses wider (Pathirana et al., 2018).

In einer robusten Fall-Kontroll-Studie wurde gezeigt, dass fäkales Calprotectin ein sehr nützlicher Biomarker ist, um entzündliche Darmerkrankungen von nicht-entzündlichen Darmerkrankungen bei Kindern mit Verdacht auf eine Darmentzündung zu unterscheiden, welche sich in der Folge einer Endoskopie unterziehen (Henderson et al., 2012). Bei dieser Patientengruppe konnte gezeigt werden, dass fäkales Calprotectin besser als andere Blutparameter wie Hb, Thrombozytenzahl,

Anzahl der weißen Blutkörperchen, ESR und CRP abschneidet (Henderson et al., 2012).

1.3. Kurzkettige Fettsäuren

Kurzkettige Fettsäuren sind in der Lage, die Hirnaktivität direkt beim Passieren der BHS zu beeinflussen. Der Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl wird durch bestimmte Faktoren beeinflusst, wie z.B. mit der Nahrung aufgenommene Ballaststoffe, die gastrointestinale Transitzeit, die Einnahme von Medikamenten und die bakterielle Zusammensetzung im Darm. Die Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren variiert entlang der Länge des Darms, mit höchsten Werten im Zäkum und im proximalen Kolon, während sie zum distalen Kolon hin abnimmt (Li und Zhou, 2016), da kurzkettige Fettsäuren den Enterozyten auch als Energiequelle dienen.

Kurzkettige Fettsäuren sind eines der Hauptprodukte der intestinalen Mikrobiota, insbesondere Acetat, Propionat und Butyrat (Russell et al., 2011). Eine der wichtigsten kurzkettigen Fettsäuren, Acetat, kann von vielen Darmbakterien aus Pyruvat hergestellt werden, entweder über Acetyl-CoA oder über den Wood-Ljungdahl-Syntheseweg, bei dem Acetat über zwei Zweige synthetisiert wird. Eine weitere wichtige kurzkettige Fettsäure, Propionat, wird durch die Umwandlung von Succinat in Methylmalonyl-CoA über den Succinatweg hergestellt. Propionat kann auch aus Acrylat mit Lactat als Vorläufer über den Acrylatweg und über den Propandiolweg synthetisiert werden, bei dem Desoxyhexose-Zucker (wie Fucose und Rhamnose) als Substrate dienen (Scott et al., 2006). Die dritte wichtige kurzkettige Fettsäure, Butyrat, entsteht durch die Kondensation von zwei Molekülen Acetyl-CoA und anschließende Reduktion zu Butyryl-CoA, die über den so genannten klassischen Weg durch Phosphotransbutyrylase und Butyratkinase in Butyrat umgewandelt werden kann (Louis et al., 2004). Butyryl-CoA kann auch über den Butyryl-CoA:Acetat-CoA-Transferase-Weg in Butyrat umgewandelt werden. Einige Mikroben im Darm können sowohl Laktat als auch

Acetat zur Synthese von Butyrat verwenden, was die Akkumulation von Laktat verhindert und das Darmmilieu stabilisiert (Vital et al., 2014). Propionat wird in der Leber verstoffwechselt und ist daher nur in geringer Konzentration in der Peripherie vorhanden, so dass Acetat als häufigste kurzkettige Fettsäure in der peripheren Zirkulation verbleibt. Darüber hinaus kann Acetat über einen zentralen homöostatischen Mechanismus die Blut-Hirn-Schranke überwinden und den Appetit reduzieren (Frost et al., 2014).

In einem Tiermodell der MS, dem EAE (experimentelle autoimmune Encephalomyelitis) Modell, konnte nicht nur gezeigt werden, dass die Entwicklung der EAE das Vorhandensein von Darmbakterien voraussetzt (Berer et al., 2011) - keimfrei gehaltene Mäuse entwickelten keine EAE, sondern auch, dass die kurzkettige Fettsäure Butyrat die EAE Pathologie günstig beeinflusst (Chen et al., 2019). Auch für Valerat wurde ein protektiver Effekt in diesem Zusammenhang beschrieben (Luu et al., 2019). Darmbakterien und deren Stoffwechselprodukte scheint demnach eine Rolle in der Pathogenese der MS zuzukommen. Neben diesen experimentellen Arbeiten konnte auch eine Studie an einem chinesischen MS Kollektiv eine reduzierte Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl der MS Patienten nachweisen (Zeng et al., 2019).

1.3.1. Acetat

Acetat (CH_3COO^-) ist ein Ion mit großen Anwendungen in der Industrie und wichtigen Auswirkungen auf das Leben. Tatsächlich ist das Acetat-Ion entscheidend für die Synthese zahlreicher Derivate wie Acetyl-Coenzym A, Zitronensäure und Oxalacetat in Zellorganismen. Darüber hinaus ist das Acetat-Ion ein Analogon eines Anteils, welcher häufig in vielen wichtigen Biomolekülen wie Aminosäuren, Lipiden und Osmolyten zu finden ist, wobei die Carboxylatgruppe über eine hydrophobe Methylengruppe ($-\text{CH}_2-$) kovalent an eine größere Struktur gebunden ist. Frühere Studien über die Acetat-Ion-Solvatisierung zeigten seine interessanten und einzigartigen Eigenschaften (Banno, Ohta & Tominaga, 2012;

Banerjee, Yashonath & Bagchi, 2017). Einige dieser Studien kamen jedoch zu widersprüchlichen Schlussfolgerungen. Bspw. wurde festgestellt, dass die Reihenfolge der Aktivitätskoeffizienten für die gegebene Konzentration von Alkali in Acetat ($\text{Li}^+ < \text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{Rb}^+ < \text{Cs}^+$) im Vergleich zu Alkalichloridsalzen umgekehrt ist und durch „lokalisierte Hydrolyse“ erklärt wurde. Im Gegensatz dazu wurde postuliert, dass Acetat-Ionen strukturbildend sind, da die hydrophobe Gruppe (Methyl, $-\text{CH}_3$) eine vergleichsweise größere Wirkung hat als ihre hydrophilen Gruppen (Carboxylat, $-\text{CO}_2$) (Rahman, Hefter & Buchner, 2012). Zudem hat sich gezeigt, dass die Verabreichung von Acetat die Appetitunterdrückung, die Blutdruckregulation und Veränderungen der Immunfunktion *in vivo* moduliert (Trompette et al., 2014). Insbesondere ist die Acetat-Supplementierung in der Lage, einen erhöhten Acetyl-CoA-Metabolismus zu induzieren, der die Histonacetylierung erhöht, was wiederum zu einem konservierten Rückenmark-Lipidgehalt führt und den Ausbruch klinischer Symptome der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis im Wesentlichen verhindert (Chevalier & Rosenberger, 2017).

1.3.2. Propionat

Propionat (Propionsäure), eine natürlich vorkommende kurzkettige Fettsäure (= *short-chain fatty acid* = SCFA), ist ein starker Schimmelpilzhemmer, welcher auch als Lebensmittelkonservierungsmittel in Käse und Backwaren sowie in Tierfutter und künstlichen Aromen weit verbreitet ist (Macfarlane & Macfarlane, 2003). Die metabolischen Wirkungen von Propionat wurden erstmals 1912 von Ringer beschrieben, der einen signifikanten Anstieg der Glukoseproduktion nach Verabreichung von Propionat an Hunde zeigte und zu dem Schluss kam, dass dieses Drei-Kohlenstoff-Molekül durch Glukoneogenese in Glukose umgewandelt wird, obwohl er auch erkannte, dass mehr Glukose produziert wurde, als durch die stöchiometrische Umwandlung von Propionat in Glukose theoretisch erklärt

werden konnte. In der Folge wurde gezeigt, dass Propionat die endogene Glukoseproduktion in anderen Säugetieren stark stimuliert (Perry et al., 2016). Aufgrund der einzigartigen Eigenschaft von Propionat, die Glukoseproduktion zu erhöhen, wird es weithin als Energiequelle für Milchkühe und Schafe verwendet, um die Konzentration von Glukose in der Milch zu erhöhen (Aschenbach et al., 2010).

Kürzlich haben Studien mit markiertem Propionat gezeigt, dass die direkte Umwandlung in Glukose nicht mehr als 5% des Anstiegs der endogenen Glukoseproduktion erklären konnte, der bei mit Propionat infizierten Ratten beobachtet wurde, der Rest wurde auf eine erhöhte Pyruvat-Carboxylase-Aktivität durch einen bisher unklaren Mechanismus zurückgeführt (Perry et al., 2016). In einer kleinen Studie an gesunden menschlichen Freiwilligen führte die Zugabe von Propionat zum Brot als Konservierungsmittel zu einem höheren postprandialen Insulinspiegel im Vergleich zu Plazebo-unterstütztem Brot, was auf eine mögliche Induktion einer postprandialen Insulinresistenz hindeutet (Darz, Frost & Robertson, 2012). Die Hyperglykämie und Hyperinsulinämie, welche nach der Exposition mit exogenem Propionat beobachtet wurden, stehen in gewissem Gegensatz zu den positiven metabolischen Wirkungen, die endogen produziertem Propionat und anderen SCFAs zugeschrieben werden. Im Dickdarm werden diese Moleküle hauptsächlich durch Fermentation unverdauter Kohlenhydrate hergestellt (Jakobsdottir, Jädert, Holm, & Nyman, 2013).

Darüber hinaus ergab sich aus der klinischen Studie von Duscha et al. (2020) an MS Patienten, dass nach zwei Wochen einer oralen Propionat-Einnahme eine signifikante und anhaltende Zunahme der funktionell kompetenten regulatorischen T-Zellen auftraten, während Th1- und Th17-Zellen signifikant abnahmen (Duscha et al., 2020). Post-hoc-Analysen ergaben außerdem eine verringerte jährliche Rezidivrate, eine Stabilisierung der Behinderung und eine verringerte Hirnatrophie nach drei Jahren Propionat-Einnahme. Funktionelle Mikrobiomanalysen

eine erhöhte Expression von funktionell kompetenten regulatorischen T-Zell-induzierenden Genen im Darm nach Propionat-Aufnahme. Darüber hinaus normalisierte Propionat die mitochondriale Funktion und Morphologie der T-Zellen bei MS. Die Ergebnisse der Studie von Duscha et al. deuten darauf hin, dass Propionat als potente immunmodulatorische Ergänzung zu MS-Medikamenten dienen kann (Duscha et al., 2020).

1.3.3. Butyrat

Die kurzkettige Fettsäure Butyrat gilt als ein Schlüsselmediator, der Informationen vom Darmmikrobiom an den Wirt überträgt und dadurch nicht nur die Homöostase des Darms, sondern auch ganz allgemein Prozesse im Körper beeinflusst. Butyrat entsteht durch Fermentation von nicht verwertbaren Polysacchariden, insbesondere von Nahrungsfasern (Ballaststoffen) wie resistenter Stärke, und wird vor allem im proximalen Dickdarm von anaeroben Bakterien, wie *Clostridium butyricum*, *Faecalibacterium prausnitzii* und *Roseburia*-Arten produziert. Insbesondere können die Luminalbutyrat-Konzentrationen im proximalen und distalen Dickdarm je nach Ernährungsparametern und bakterieller Besiedlung 20 bzw. 10 mM erreichen. Butyrat ist nicht nur eine Hauptenergiequelle für Enterozyten, sondern beeinflusst auch das Immunsystem (Tan et al., 2014; Tilg & Moschen, 2015). Biochemisch gesehen, hat Butyrat neben seiner Funktion als Energiequelle für Enterozyten mindestens zwei weitere wichtige biologische Mechanismen: Butyrat hemmt Histondeacetylasen (HDACs), offenbar mit einer Präferenz für die Enzyme der Klasse I (HDAC-1, -2, -3, -8) und der Klasse IIa (HDAC-4, -5, -7, -9) (Schilderink, Verseijden & de Jonge, 2013). Die Histon-Hyperacetylierung und die damit einhergehenden Veränderungen der Genexpression sind also epigenetische Konsequenzen, die unter dem Einfluss von Butyrat zustande kommen. Abgesehen von seiner direkten Wirkung auf die HDAC-Aktivität kann Butyrat einige G-Protein-gekoppelte Rezeptoren auf Kolonepithelzellen aktivie-

ren, insbesondere GPR109A (Macia et al., 2015). Vereinfacht und zusammenfassend ausgedrückt ist die Funktion von Butyrat im Dickdarm im Wesentlichen entzündungshemmend und gewebeschützend (Schilderink, Verseijden & de Jonge, 2013; Tan et al., 2014). Denkbar ist auch, dass Butyrat (und auch andere SCFA) nachdem sie in den Blutkreislauf gelangen, auch systemische Effekte entfalten und Einfluss auf die Integrität der Bluthirnschranke nehmen.

1.3.4. Valerat

Valerat gehört ebenfalls zu den kurzkettigen Fettsäuren. Im Gegensatz zu Acetat (C₂), Propionat (C₃) und Butyrat (C₄) wird Valerat neben Formiat und Caproat nur in geringeren Mengen produziert. Es ist unter anderem für den pH-Abfall beim Übergang vom terminalen Ileum zum proximalen Kolon verantwortlich (Dalile et al., 2019).

1.3.5. Iso-Butyrat und Iso-Valerat

Verzweigte kurzkettige Fettsäuren (= *branched short-chain fatty acids* = BSCFAs), z.B. Iso-Butyrat und Iso-Valerat, werden durch Fermentation verzweigter Aminosäuren, Valin, Leucin und Isoleucin erzeugt, welche aus unverdaulichem Protein, das den Dickdarm erreicht, entstehen (Nilsson et al., 2013; Lynch & Adams, 2014).

1.4. Fragestellungen

Die Pathomechanismen, insbesondere Entzündungsprozesse und Einflussfaktoren außerhalb des ZNS bei der MS sind bislang nicht vollständig verstanden. Es gibt Hinweise, dass die entzündlichen Prozesse im Darm eine wichtige Rolle bei der MS spielen können (Haase et al., 2018; Opazo et al., 2018).

Das Ziel dieser Studie ist es zu untersuchen, ob es einen Zusammenhang zwischen Entzündung im Darm (erfasst mit dem Entzündungsmarker Calprotectin) und der

Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl (als mögliche Entzündungsmediatoren) und schubförmiger MS gibt.

2. Methodik

2.1. Ethikantrag

Das Studienprotokoll zu dieser Studie wurde der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes und Landesärztekammer Rheinland-Pfalz vorgelegt und erhielt ein positives Votum (Kenn. Nr. 81/18). Alle Studienteilnehmer wurden vor Einschluss ärztlich über Hintergrund, Ablauf und Risiken der Studie sowie Aspekte des Datenschutzes aufgeklärt und erklärten schriftlich ihre Einwilligung zur freiwilligen Teilnahme.

2.2. Studienkollektiv

Es handelt sich bei der vorliegenden Studie um eine Fall-Kontroll-Studie mit 41 Patienten mit schubförmiger Multipler Sklerose und 35 Kontrollpersonen. Zwischen August 2018 und Oktober 2019 befanden sich alle Patienten in ambulanter Behandlung der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums des Saarlandes und die meisten Kontrollpersonen in stationärer und teil-stationärer Behandlung der Klinik für Neurologie des Gesundheitszentrums Glantal. Im Rahmen dieser Studie wurden bei Patienten und einer Gruppe von altersgleichen Kontrollpersonen der Entzündungsmarker Calprotectin und die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl bestimmt sowie klinische und demographische Daten erhoben. Ziel war es zu untersuchen, ob sich MS Patienten von Kontrollpersonen hinsichtlich der erhobenen Parameter unterscheiden.

2.2.1. Einschlusskriterien

- Alter von 18 bis 80 Jahre
- Schriftliches Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme an der Studie
- Fähigkeit, Risiken und Komplikationen der Untersuchungen zu verstehen und zu beurteilen.
- Zusätzliche Einschlusskriterien für MS Patienten:
 - Die Diagnose einer Multiplen Sklerose nach den McDonald-Kriterien 2017.

2.2.2. Ausschlusskriterien

- Nicht einwilligungsfähige Personen
- Vorliegen einer Schwangerschaft.
- Vorliegen einer neurodegenerativen Erkrankung
- Vorliegen einer manifesten psychiatrischen Erkrankung.
- Vorliegen einer manifesten chronisch-entzündlichen Darmerkrankung
- Vorliegen einer akuten Magen-Darm-Erkrankung
- Vorliegen einer akuten Infektionserkrankung in den zurückliegenden 4 Wochen oder Antibiotika- oder Antimykotika Einnahme in den zurückliegenden 8 Wochen.
- Zusätzliche Ausschlusskriterien für Kontrollpersonen: Vorliegen einer entzündlichen ZNS-Erkrankung.
- Vorliegen einer anderen autoimmun vermittelten Erkrankung.

2.3. Studiendesign

2.3.1. Ablauf

Die Probanden wurden ausführlich über die Teilnahme an der Studie aufgeklärt. Wenn der Proband seine schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie gab, wurden die Einschluss- und Ausschlusskriterien überprüft. Anschließend wurde jeder Teilnehmer körperlich und neurologisch untersucht sowie eine ausführliche Anamnese erhoben. Des Weiteren wurden folgende Scores und Skalen erhoben: Expanded Disability Status Scale (EDSS), Obstipationsscore, Mini-Mental Status Test (MMST), Beck Depression Inventar (BDI) und Fatigue Impact scale (FIS). Vorausgesetzt, dass alle Kriterien zur Teilnahme erfüllt waren und keine Gründe dagegen sprachen, wurden die Probanden gebeten, im Rahmen der Studie bei einem Toilettengang zuhause ca. 5g Stuhl in ein dafür bereit gestelltes Röhrchen abzufüllen und dieses in einem vorfrankierten Umschlag zur Analyse einzusenden. Danach war die Teilnahme an der Studie für den jeweiligen Probanden beendet.

Die Probanden hatten zu jedem Zeitpunkt und ohne Angaben von Gründen das Recht, ihre Einwilligung zu widerrufen, ohne dass sich diese Entscheidung nachteilig für sie auswirken wird. Auch über diesen Aspekt wurden alle Probanden aufgeklärt.

2.3.2. Anamnese, körperliche Untersuchung, Fragebögen

Die Anamnese erfolgte strukturiert anhand eines vorab konzipierten Fragebogens (siehe Anhang). Die Anamnese umfasste auch die Familiennanamnese (insbesondere für MS oder andere autoimmunvermittelte Erkrankungen), aktuelle gastrointestinale Symptome, Vorerkrankungen (insbesondere Operationen und chronische oder schwere Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes) als auch Besonderheiten der Ernährung. Zudem wurde die aktuelle Medikation für die Multiple Sklerose aufgezeichnet.

Die neurologische Untersuchung umfasst Hirnnervenstatus, Sprache/Sprechen, Motorik, Koordination und Sensibilität. Der Schweregrad und das Ausmaß der MS-bedingten Defizite wurden mithilfe des EDSS erfasst.

Expanded Disability Status Scale (EDSS)

Das am weitesten verbreitete Instrument zur Erfassung der Behinderung bei Patienten mit MS ist die erweiterte Invaliditätsstatusskala (EDSS), welche eine zusammengesetzte Skala von 0-10 mit 0,5-Punkt-Schritten ist und auf acht Skalen des individuellen Funktionssystems (FS) basiert (Zurawski et al., 2019). Diese FS-Skalen messen sieben verschiedene Aspekte der Krankheit mit fünf bis sieben ordinalen Skalenschritten: Pyramidenfunktion, Kleinhirnfunktion, Hirnstammfunktion, sensorische Funktion, Darm-/Blasenfunktion, geistige Funktion und visuelle Funktion.

Es wurden zusätzlich weitere Fragebögen ausgefüllt und ausgewertet. Dazu gehörten:

- Mini-Mental Status Test (MMST)

- Beck Depressions Inventar (BDI)
- Fatigue Impact Scale (FIS)
- Obstipation Score

Mini-Mental Status Test (MMST)

Der Mini-Mental Status Test (MMST) gilt als Standardinstrument zur kognitiven Beurteilung und wird häufig bei der Diagnose von Demenz eingesetzt, er ist jedoch unempfindlich für die Erkennung leichter kognitiver Beeinträchtigungen. Der Test kann mündlich durchgeführt werden und ist in verschiedenen Sprachen verfügbar (Lim & Loo, 2018).

Der MMST ist ein routinemäßig angewandter 30-Punkte-Test, der sieben Bereiche der Kognition untersucht: Orientierung, Registrierung, Aufmerksamkeit und Berechnung, Gedächtnis, Sprache, Benennung und visuell-räumliche Wahrnehmung. Ein Score von weniger als 26 gilt als optimaler Cutoff-Punkt für die Diagnose einer kognitiven Beeinträchtigung (Ahmadi, Ashrafi & Behnam, 2015).

Beck Depressions Inventar (BDI)

Das Beck Depressions Inventar (BDI) bewertet das Vorhandensein und den Schweregrad depressiver Symptome auf Grundlage der Depressionskriterien des Diagnostischen und Statistischen Handbuchs der Störungen (Hösl et al., 2018). Jede Frage kann von 0 bis 5 Punkten bewertet werden, wobei höhere Werte auf schwerwiegendere Symptome hindeuten und ein Summenscore von über 35 Punkten mit einer Wahrscheinlichkeit von 90% auf eine klinisch relevante Depression hinweist (Hösl et al., 2018).

Fatigue Impact Scale (FIS)

Die Bewertung der Müdigkeit ist weitgehend subjektiv und beschränkt sich auf halbquantitative Fragebögen, die von den Betroffenen selbst ausgefüllt werden. Obwohl viele Fatigue-Skalen zur Verfügung stehen, zählt die Fatigue Impact

Scale (FIS) weltweit zu den am häufigsten verwendeten Instrumenten zur Diagnose, Quantifizierung und Überwachung der Müdigkeit bei MS-Patienten. Es gibt mehrere Versionen, darunter die ursprüngliche 40-teilige Skala, eine 21-teilige modifizierte Skala und eine kurze 8-teilige Version für den täglichen Gebrauch (Lundgren-Nilsson, 2019). In dieser Studie wurde FIS-D (deutsche Version) verwendet.

Obstipation Score

Um das Ausmaß einer möglicherweise vorliegenden Obstipation einschätzen zu können, wurden mehrere Obstipation Scores veröffentlicht. Die am häufigsten verwendeten sind der Cleveland Clinic Florida Obstipation Score, der ODS-Score nach Longo oder die selbst modifizierte Form, der Knowles-Eccersley-Scott-Symptom-Score. Beim Cleveland Clinic Florida Obstipation Score können maximal 30 Punkte erreicht werden, eine Punktzahl höher als 15 spricht für einen hohen Grad an Obstipation (Pfeifer, 2016).

2.4. Statistische Auswertung

2.4.1. t-Test

Der t-Test wird angewendet, um festzustellen, ob es einen signifikanten Unterschied zwischen den Mittelwerten zweier Gruppen gibt, welche in bestimmten Merkmalen miteinander verbunden sein können. Er wird verwendet, wenn die Datensätze einer Normalverteilung folgen und unbekannte Abweichungen aufweisen können [Institute for Digital Research & Education, 2020]. Dieser Test wurde verwendet, um die MS-Patienten von den Kontrollpersonen altersmäßig sowie den BDI, die FSI und den Anteil Butyrat der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentration im Stuhl vergleichen zu können.

2.4.2. Mann-Whitney-U-Test

Der Mann-Whitney-U-Test, auch Wilcoxon-Test genannt, wird für unabhängige Stichproben angewendet, um nicht normalverteilte Ergebnisvariablen in einer kleinen Stichprobe vergleichen zu können [SPSS tutorials, 2020]. Der Mann-Whitney-U-Test wurde eingesetzt, um die Vergleichsgruppen bezüglich CRP, MMST, dem Obstipation-Score, der fäkalen Calprotectin-Konzentration und der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentration im Stuhl analysieren zu können.

2.4.3. Kruskal Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test ist ein verteilungsfreier, nichtparametrischer Test und findet Anwendung, wenn die Annahmen der Einweg-ANOVA nicht erfüllt sind. Mit dem Test wird geprüft, ob signifikante Unterschiede bei kontinuierlichen abhängigen Variablen aufgrund einer kategorischen unabhängigen Variable (mit zwei oder mehr Gruppen) vorhanden sind [Statistical Solutions, 2020]. In dieser Studie wurde der Kruskal Wallis-Test angewendet, um das Verhältnis zwischen den MS-Patienten und den Kontrollpersonen in Bezug auf die fäkale Calprotectin-Konzentration und die kurzkettige Fettsäuren-Konzentration im Stuhl bestimmen zu können.

2.4.4. Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)

Die einfaktorielle Varianzanalyse ist eine lineare Modellierungsmethode zur Prüfung der Mittelwerte auf Unterschiedlichkeit, um die erklärte Varianz mit der unerklärten Varianz (verursacht durch die Fehlerquelle) zu untersuchen [IBM, o. A.]. Im Rahmen der Studie wurde die ANOVA zur Vergleichsbestimmung der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentration im Stuhl in Bezug auf den Anteil Butyrat zwischen MS-Patienten und den Kontrollpersonen durchgeführt.

2.4.5. Exakter Test nach Fisher

Der exakte Test von Fisher ist ein nicht-parametrischer Test zur Prüfung der Unabhängigkeit, der in der Regel nur für eine 2×2-Kontingenztabelle verwendet wird. Als exakter Signifikanztest erfüllt der Test von Fisher alle Annahmen, auf deren Grundlage die Verteilung der Teststatistik definiert wird. In der Praxis bedeutet dies, dass die Falschrückweisungsrate dem Signifikanzniveau des Tests entspricht, was bei approximativen Tests wie dem Chi-Quadrat-Test nicht unbedingt der Fall ist (Lalanne & Mesbah, 2016). Kurz gesagt, der exakte Test nach Fisher beruht auf der Berechnung des p-Wertes entsprechend der hypergeometrischen Verteilung unter Verwendung von Binomialkoeffizienten. Da die berechneten Faktoren sehr groß werden können, funktioniert der exakte Test von Fisher möglicherweise nicht für große Stichprobengrößen (Lalanne & Mesbah, 2016).

2.4.6. Shapiro-Wilk-Test

Der Shapiro-Wilk-Test wird angewendet, um festzustellen, ob eine Zufallsstichprobe aus einer Normalverteilung stammt. Er wurde 1965 von Shapiro und Wilk eingeführt. Der Test vergleicht die geordneten Stichprobenwerte mit den entsprechenden Ordnungsstatistiken aus der angegebenen Verteilung (Oxford Reference, 2020). Die Teststatistik ergibt einen W-Wert; kleine Werte zeigen an, dass die Stichprobe nicht normalverteilt ist (Nullhypothese, welche eine Normalverteilung annimmt, kann verworfen werden, wenn die Werte unter einem bestimmten Schwellenwert liegen). Jedoch hat dieser Test Einschränkungen: Je größer die Stichprobe, desto wahrscheinlicher ist es, dass ein statistisch signifikantes Ergebnis eintritt (Oxford Reference, 2020).

2.4.7. Boxplot Diagramm

Die Darstellung der mindestens ordinalskalierten Daten erfolgte mittels Boxplot-Diagrammen. Es wird der Bereich der 50% mittleren Werte als Box gezeigt, entsprechend den Werten zwischen dem 25 %- und 75 %-Perzentil (Novustat, 2018).

Der Median wird durch einen schwarzen Strich in der Box dargestellt. Der größte bzw. kleinste Wert wird über einen horizontalen Strich über bzw. unter der Box gekennzeichnet, welcher jedoch nicht als extremer Wert oder Ausreißer kategorisiert werden soll. Werte, die als Kreis (°) dargestellt sind, werden als Ausreißer bezeichnet, und befinden sich bis zu einem 1,5-fachen oder dreifachen Abstand der Boxhöhe zum 25 %- oder 75 %-Perzentil. Beträgt der Abstand der Boxhöhe mehr als das Dreifache zum 25 %- oder 75 %-Perzentil, so werden diese Werte als extreme Werte bezeichnet und mit einem Stern als Symbol (*) gekennzeichnet (Novustat, 2018).

3. Ergebnisse

3.1. Studienpopulation

Es nahmen insgesamt 76 Probanden an der Studie teil. In der Gruppe mit Multipler Sklerose nahmen 41 Probanden teil, von denen 29 Frauen und 12 Männer waren. Der Mittelwert für das Alter in dieser Gruppe betrug 47,2 Jahre und der Median des C-reaktiven Proteins 1,3 mg/l. Bei acht Patienten lag ein Z.n. Appendektomie vor. In der Kontrollgruppe wurden 35 Personen untersucht, worunter sich 13 Frauen und 22 Männer befanden. Der Mittelwert für das Alter in der Kontrollgruppe betrug 46,5 Jahre und der Median des C-reaktiven Proteins 1,1mg/l. Bei 12 Patienten der Kontrollgruppe lag ein Z.n. Appendektomie vor. Die demographischen Daten können der Tabelle 3.1-1 entnommen werden. Die Daten für Alter, CRP, BDI, MMST, FIS und Obstipation wurden auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Tests geprüft, hier waren alle Daten nicht normalverteilt und es wurden die Tests für nicht normalverteilte Daten angewendet (Mann-Whitney-U-Test).

Tabelle 3.1-1 Demographische Daten der MS-Patienten und Kontrollpersonen

| Daten | Multiple Sklerose-Gruppe | Kontrollgruppe | p-Wert |
|---|---------------------------------|-----------------------|---------------|
| Anzahl der Probanden | 41 | 35 | |
| Geschlecht m / w | 12 / 29 | 22 / 13 | |
| Alter (in Jahren) | M: 48 SB: [22– 68] | M: 48 SB: [23– 72] | 0,963 |
| Aktivität mild / moderat aktiv / hochaktiv | 18 (44 %) 23 (56%) | - | - |

| | | | |
|----------------------|--|---|-------|
| CRP (in mg/l) | n ₁ : 27 M: 1,3 SB: [1,0 – 9,6] | n ₂ : 29 M: 1,1 SB: [1,0 – 14,0] | 0,926 |
| Appendektomie | 8 (19,5%) | 12 (34,3%) | |

Legende: m = männlich, w = weiblich, M = Median, SB = Spannbreitem, n₁ = Anzahl der MS-Patienten, bei denen CRP bestimmt wurde, n₂ = Anzahl der Kontrollpersonen, bei denen CRP bestimmt wurde.

3.1.1. Geschlecht

Nach der Durchführung des Exakten Tests nach Fisher zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Geschlechterverteilung zwischen den MS-Patienten mit 29,3% männlichen und 70,7% weiblichen Patienten und der Kontrollgruppe mit 62,9% männlichen und 37,1% weiblichen Personen.

3.1.2. Alter

Die Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests ergab für die unverbundene Stichprobe keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den MS-Patienten und den Kontrollpersonen.

3.1.3. CRP

CRP Werte lagen nicht für alle Probanden vor (MS Patienten n₁= 27, Kontrollpersonen n₂= 29). Der Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied in Bezug auf den CRP Wert zwischen MS-Patienten und Kontrollpersonen.

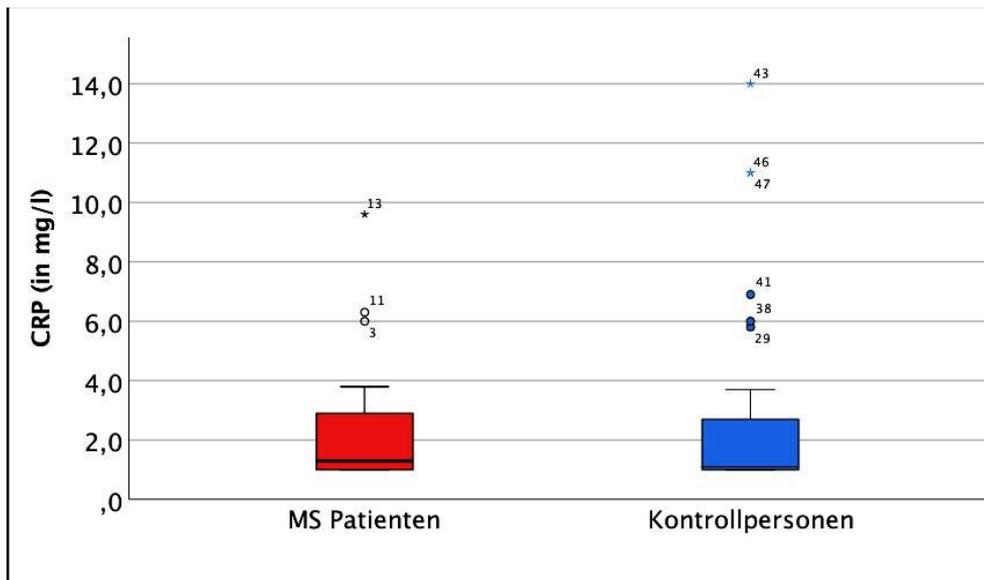


Abbildung 3.1-3: CRP-Vergleich der beiden Gruppen

Legende: CRP der MS-Patienten (rot) sowie der Kontrollpersonen (blau) als Boxplot dargestellt.

3.1.4. Appendektomie

Nach der Durchführung des Exakten-Tests nach Fisher zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Bezug auf Zustand nach Appendektomie zwischen den MS-Patienten mit 19,5% und den Kontrollpersonen mit 34,3%.

3.1.5. Immuntherapien

Tabelle 3.1-3: Medikation

| | MS-Patienten | Kontrollpersonen |
|---------------------------------------|--------------|------------------|
| Anzahl der angemeldeten Proben | 41 | 35 |
| Keine Prophylaxe | 3 | 35 |
| Basistherapie | 18 | - |
| Eskalationstherapie | 20 | - |
| Betaferone | 5 | - |
| Glatirameracetat | 6 | - |

| | | |
|--------------|----|---|
| Teriflunomid | 1 | - |
| Fumarsäure | 6 | - |
| Fingolimod | 6 | - |
| Natalizumab | 14 | - |

3.2. Fragebögen / Skalen

3.2.1. Beck-Depression-Inventar

Die Ergebnisse des Beck-Depression-Inventar (BDI) sind in der Tabelle 3.2-1 zu sehen und in der Abbildung 3.2-1 graphisch dargestellt.

Die Auswertung mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den MS-Patienten und den Kontrollpersonen.

Tabelle 3.2-1: BDI

| | MS-Patienten | Kontrollpersonen | p-Wert |
|----------------------|---------------|------------------|--------|
| BDI - Score [0 – 63] | (8); [0 – 33] | (6); [0 – 21] | 0,156 |

Legende: BDI = Beck Depression Inventar; Median (); Spannbreit [].

3.2.2. Mini-Mental-Status-Test

Die Ergebnisse des Mini-Mental-Status-Test (MMST) sind in der Tabelle 3.2-2 zu sehen und in der Abbildung 3.2-2 graphisch dargestellt.

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied in Bezug auf die erreichte Punktzahl zwischen den MS-Patienten und den Kontrollpersonen.

Tabelle 3.2-2: Mini-Mental-Status-Test

| | MS-Patienten | Kontrollpersonen | p-Wert |
|---------------|-----------------|------------------|--------|
| MMST [0 – 30] | (29); [23 – 30] | (29); [24 – 30] | 0,410 |

Legende: MMST = Mini-Mental-Status-Test; Median (); Spannbreit [].

3.2.3. Fatigue Impact Scale

Die Ergebnisse des Fatigue Impact Scale (FIS) sind in der Tabelle 3.2-3 zu sehen und in der Abbildung 3.2-3 graphisch dargestellt.

Nach Auswertung der Daten mittels Mann-Whitney-U-Tests ergaben sich für MS-Patienten signifikant höhere Punktwerte.

Tabelle 3.2-3: Fatigue Impact Scale

| | MS-Patienten | Kontrollpersonen | p-Wert |
|---------------|-----------------|------------------|--------|
| FIS [0 – 160] | (47); [2 – 118] | (23); [0 – 96] | 0,001 |

Legende: FIS = Fatigue Impact Scale; Median (); Spannbreit [].

3.2.4. Obstipation-Score

Die Ergebnisse des Obstipation-Scores sind in der Tabelle 3.2-4 zu sehen.

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied in Bezug auf die erreichte Punktzahl zwischen den MS-Patienten und den Kontrollpersonen. MS-Patienten zeigten signifikant höhere Punktwerte.

Tabelle 3.2-4: Obstipation-Score

| | MS-Patienten | Kontrollpersonen | p-Wert |
|----------------------|-----------------|------------------|--------|
| Obstipation [0 – 30] | (2,0); [0 – 17] | (0,0); [0 – 16] | 0,006 |

Legende: Median (); Spannbreit [].

3.2.5. Expanded Disability Status Scale (EDSS)

Die Ergebnisse der Expanded Disability Status Scale (EDSS) sind in der Tabelle 3.2-5 zu sehen.

Mit der EDSS wurde die Schwere der Defizite bei MS-Patienten untersucht.

Tabelle 3.2-5: EDSS

| | |
|------|--------------------|
| | MS-Patienten |
| EDSS | (2,5); [0,0 – 7,0] |

Legende: Median (); Spannbreit [].

3.3. Fäkale Calprotectin-Konzentration

Die Ergebnisse der fäkalen Calprotectin-Konzentration sind in der Tabelle 3.3-1 zu sehen und in den Abbildungen 3.3-1 und 3.3-2 graphisch dargestellt. Die Daten für die fäkale Calprotectin Konzentration waren nicht normalverteilt und somit wurden Mann-Whitney-U-Test und Kruskal-Wallis-Test angewendet.

Der Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den MS-Patienten und den Kontrollpersonen. Weiterhin ergab der Kruskal-Wallis-Test zur Auswertung der Calprotectin-Konzentration zwischen den verschiedenen Therapieregimen (Basistherapie, Eskalationstherapie und ohne Therapie) keinen statistisch signifikanten Unterschied innerhalb der Gruppe der MS Patienten.

Tabelle 3.3-1: Fäkale Calprotectin-Konzentration bei MS Patienten und Kontrollpersonen

| | MS-Patienten | Kontrollpersonen | p-Wert |
|---|---------------------|---------------------|----------------------|
| Calprotectin-Konzentration in $\mu\text{g/g}$ | (19); [19 – 141] | (19); [19 – 328] | 0,990 ⁽¹⁾ |

Legende: Median (); Spannbreit []; (1): p-Wert bei Mann-Whitney-Test.

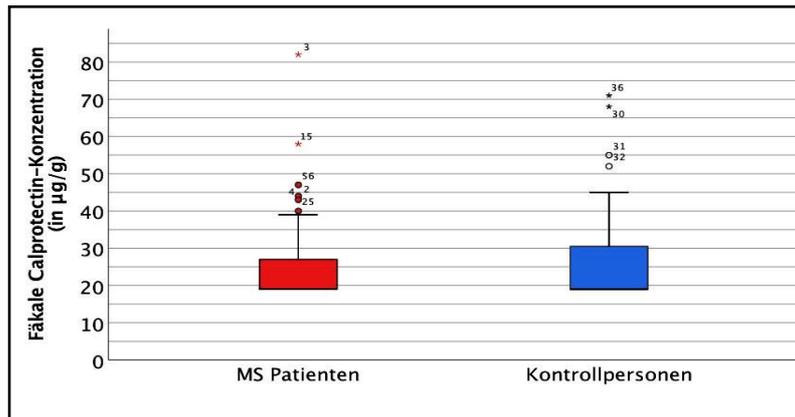


Abbildung 3.3-1: Fäkale Calprotectin-Konzentrationen bei MS Patienten und Kontrollpersonen

Legende: Calprotectin-Konzentration der MS-Patienten (rot) im Vergleich zu der Calprotectin-Konzentration der Kontrollpersonen (blau) als Boxplot-Diagramm dargestellt.

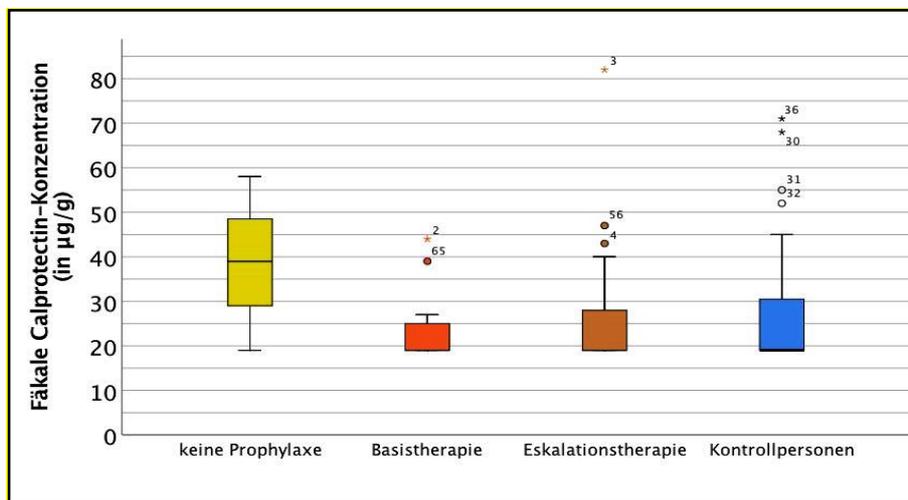


Abbildung 3.3-2: Fäkale Calprotectin-Konzentration bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

Legende: Calprotectin-Konzentration der Kontrollpersonen (blau) im Vergleich zu der Calprotectin-Konzentration der MS-Patienten ohne Therapie (gelb) mit Basistherapie (orange) und Eskalationstherapie (braun) als Boxplot-Diagramm dargestellt.

3.4. Kurzkettige Fettsäuren-Konzentration im Stuhl

Die Ergebnisse der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentration im Stuhl sind in der Tabelle 3.4-1 zu sehen und in den Abbildungen a bis g graphisch dargestellt. Die Daten für kurzkettige Fettsäuren wurden auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Tests geprüft, hier waren alle Daten außer dem prozentualen Anteil von Butyrat an der Gesamtkonzentration der kurzkettigen Fettsäuren nicht normalverteilt. Da die Daten überwiegend nicht normalverteilt waren, wurden Tests für nicht normalverteilte Daten angewendet (Mann-Whitney-U-Test, Kruskal-Wallis-Test).

Der Mann-Whitney-U-Test ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied in Bezug auf die Konzentration von Acetat, Propionat, Butyrat, Iso-Butyrat, Valerat, Iso-Valerat und den prozentualen Anteil von Butyrat an der Gesamtkonzentration der kurzkettigen Fettsäuren (als für Immunprozesse vermutlich relevanteste SCFA) im Stuhl zwischen den MS-Patienten und den Kontrollpersonen. Weiterhin ergab der Kruskal-Wallis-Test zur Auswertung der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentration in Bezug auf Basistherapie, Eskalationstherapie und Patienten ohne Therapie keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Therapiegruppen.

Tabelle 3.4-1: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentrationen im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

| | MS-Patienten | Kontrollpersonen | p-Wert |
|-------------------------|----------------------------|---------------------------|--|
| Acetat (in mmol/g) | (41,6); [0,069 – 160,2] | (37,9); [0,66 – 193] | 0,606 ⁽¹⁾ 0,690 ⁽²⁾ |
| Propionat (in mmol/g) | (5,5); [0,1 – 99,4] | (11,3); [0,173 – 87,8] | 0,258 ⁽¹⁾ 0,801 ⁽²⁾ |
| Butyrat (in mmol/g) | (1,2); [0,02 – 41,4] | (5,4); [0,053 – 52,5] | 0,219 ⁽¹⁾ 0,771 ⁽²⁾ |
| Iso-Butyrat (in mmol/g) | (1,3); [0,004 – 6,1] | (2,1); [0,008 – 11,3] | 0,171 ⁽¹⁾ 0,693 ⁽²⁾ |
| Valerat (in mmol/g) | (0,59); [0,002 – 5,6] | (1,0); [0,011 – 19,7] | 0,072 ⁽¹⁾ 0,582 ⁽²⁾ |
| Iso-Valerat (in mmol/g) | (0,99); [0,007 – 5,8] | (2,1); [0,012 – 17,0] | 0,128 ⁽¹⁾ 0,661 ⁽²⁾ |
| Anteil-Butyrat (in %) | (10,8); [1,6 – 23,5] | (11,7); [3,5 – 25,2] | 0,249 ⁽¹⁾ 0,712 ⁽²⁾ |

Legende: Median (); Spannbreit []; (1): p-Wert bei Mann-Whitney-Test; (2): p-Wert bei Kruskal-Wallis-Test.

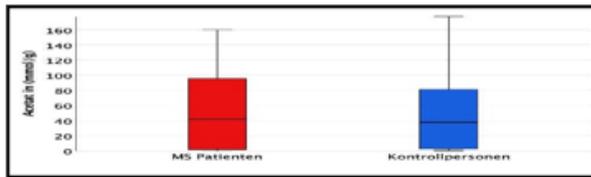


Abbildung a: Acetat-Konzentration im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

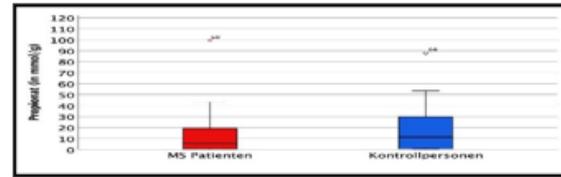


Abbildung b: Propionat-Konzentration im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

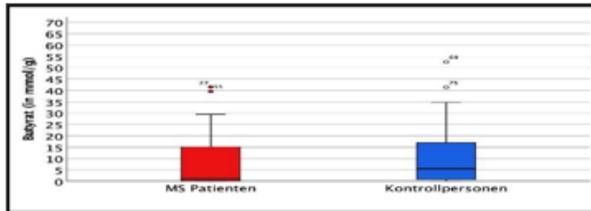


Abbildung c: Butyrat-Konzentration im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

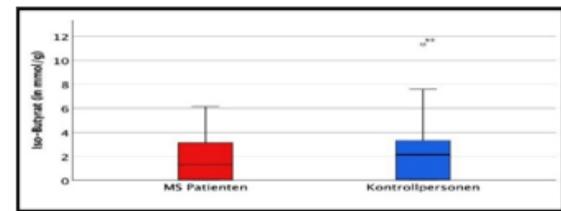


Abbildung d: Iso-Butyrat-Konzentration im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

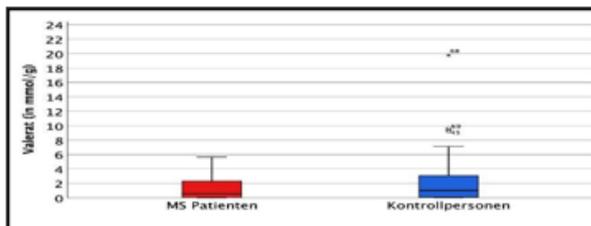


Abbildung e: Valerat-Konzentration im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

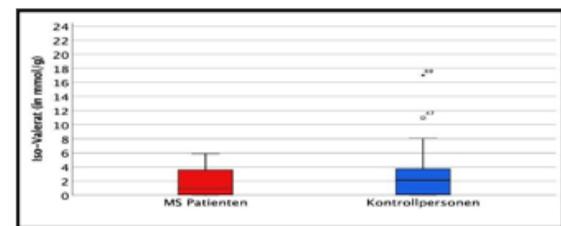


Abbildung f: Iso-Valerat-Konzentration im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

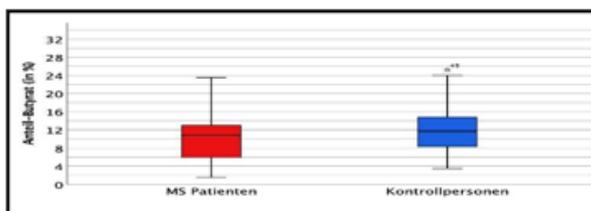


Abbildung g: Anteil-Butyrat-Konzentration im Stuhl bei MS Patienten und Kontrollpersonen

Abbildung 3.4-1 SCFA Konzentrationen im Stuhl von MS-Patienten und Kontrollpersonen. Acetat-Konzentration (a), Propionat-Konzentration (b), Butyrat-Konzentration (c), Iso-Butyrat-Konzentration (d), Valerat-Konzentration (e), Iso-Valerat-Konzentration (f) & Anteil-Butyrat (g) der MS-Patienten (rot) im Vergleich zu den Kontrollpersonen (blau) als Boxplot-Diagramm dargestellt.

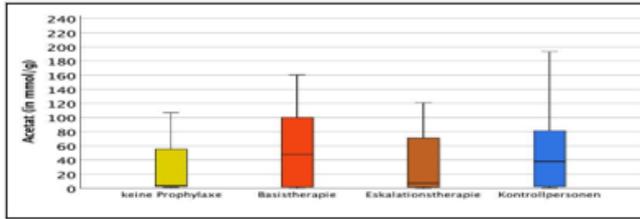


Abbildung a: Acetat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

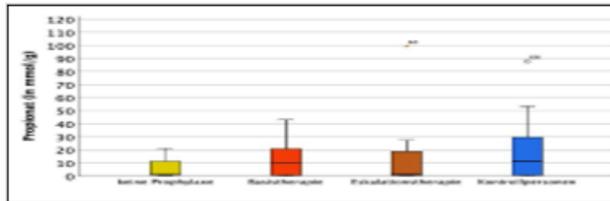


Abbildung b: Propionat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

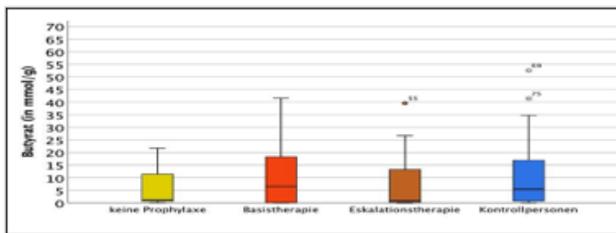


Abbildung c: Butyrat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

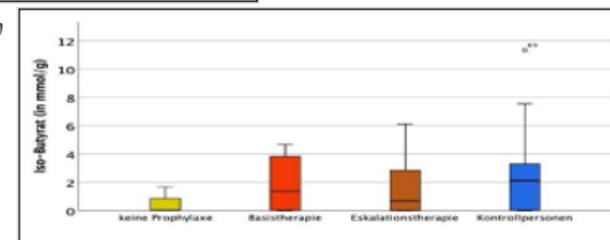


Abbildung d: Iso-Butyrat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

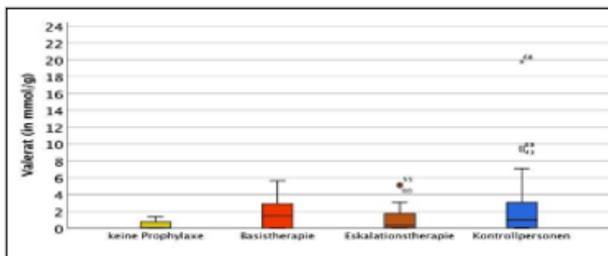


Abbildung e: Valerat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

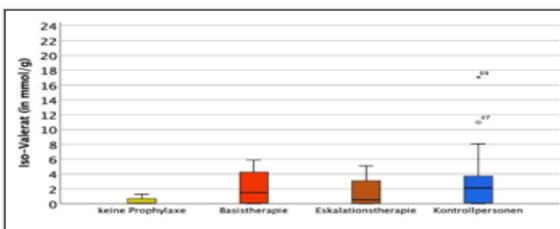


Abbildung f: Iso-Valerat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

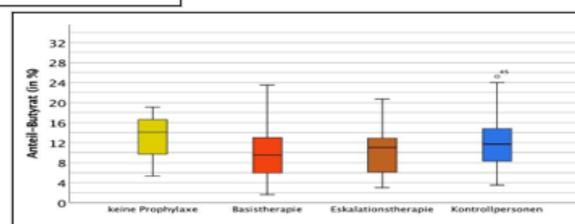


Abbildung g: Anteil-Butyrat im Stuhl bei Kontrollpersonen und MS Patienten ohne Therapie, mit Basistherapie und Eskalationstherapie

Abbildung 3.4-2 SCFA Konzentrationen im Stuhl von Kontrollpersonen und MS-Patienten ohne Therapie, mit Basis- und Eskalationstherapie. Acetat-Konzentration (a), Propionat-Konzentration (b), Butyrat-Konzentration (c), Iso-Butyrat-Konzentration (d), Valerat-Konzentration (e), Iso-Valerat-Konzentration (f) & Anteil-Butyrat (g) der Kontrollpersonen (blau) im Vergleich zu Anteil-Butyrat der MS-Patienten ohne Therapie (gelb) mit Basistherapie (rot) und Eskalationstherapie (braun) als Boxplot-Diagramm dargestellt.

3.5. Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der kurzzeitigen Fettsäuren (SCFA)

Die Ergebnisse der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentration im Stuhl getrennt nach Geschlecht sind in den Tabellen 3.5-1 bis 3.5-3 zu sehen und in den Abbildungen a bis g graphisch dargestellt.

In der Analyse aller Probanden (MS Patienten und Kontrollpersonen) in Bezug auf die Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentration ergab der Mann-Whitney-U-Test einen signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen für Acetat, Propionat, Butyrat und Valerat. Weiterhin ergab der Mann-Whitney-U-Test in der Analyse der Subgruppe der Kontrollpersonen in Bezug auf die Konzentration der SCFA einen signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen für Acetat, Propionat und Butyrat.

Im Gegensatz zu den Probanden der Kontrollgruppe ergab der Mann-Whitney-U-Test in der Analyse der Konzentration der SCFA keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen.

Tabelle 3.5-1: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentrationen im Stuhl bei MS Patienten bzgl. des Geschlechtes

| SCFA | Männlich (Patienten) | Weiblich (Patienten) | p-Wert |
|-------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------|
| Acetat (in mmol/g) | (51,4); [0,667 – 121,0] | (3,7); [0,69 – 160,2] | 0,357 ⁽¹⁾ |
| Propionat (in mmol/g) | (14,2); [0,373 – 99,4] | (1,2); [0,1 – 43,0] | 0,227 ⁽¹⁾ |
| Butyrat (in mmol/g) | (9,1); [0,141 – 39,5] | (0,88); [0,02 – 41,4] | 0,127 ⁽¹⁾ |
| Iso-Butyrat (in mmol/g) | (1,8); [0,015 – 4,2] | (0,07); [0,004 – 6,1] | 0,436 ⁽¹⁾ |
| Valerat (in mmol/g) | (1,5); [0,013 – 5,1] | (0,08); [0,002 – 5,6] | 0,142 ⁽¹⁾ |
| Iso-Valerat (in mmol/g) | (1,6); [0,017 – 5,8] | (0,09); [0,007 – 5,4] | 0,342 ⁽¹⁾ |
| Anteil-Butyrat (in %) | (11,8); [3,0 – 19,6] | (8,2); [1,6 – 23,5] | 0,205 ⁽¹⁾ |

Legende: Median (); Spannweite []; (1): p-Wert bei Mann-Whitney-Test.

Tabelle 3.5-2: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentrationen im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechtes

| SCFA | Männlich (Kontrollpersonen) | Weiblich (Kontrollpersonen) | p-Wert |
|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Acetat (in mmol/g) | (73,4); [1,0 – 193,0] | (8,0); [0,66 – 71,2] | 0,005 ⁽¹⁾ |
| Propionat (in mmol/g) | (21,0); [0,224 – 87,8] | (1,5); [0,173 – 27,0] | 0,004 ⁽¹⁾ |
| Butyrat (in mmol/g) | (15,9); [0,053 – 52,5] | (1,8); [0,076 – 18,9] | 0,016 ⁽¹⁾ |

| | | | |
|-------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------|
| Iso-Butyrat (in mmol/g) | (2,3); [0,019 – 11,3] | (1,5); [0,008 – 4,0] | 0,243 ⁽¹⁾ |
| Valerat (in mmol/g) | (2,0); [0,011 – 19,7] | (0,6); [0,013 – 3,0] | 0,067 ⁽¹⁾ |
| Iso-Valerat (in mmol/g) | (2,2); [0,02 – 17,0] | (2,0); [0,012 – 5,3] | 0,335 ⁽¹⁾ |
| Anteil-Butyrat (in %) | (12,3); [3,5 – 25,2] | (10,2); [6,6 – 15,2] | 0,389 ⁽¹⁾ |

Legende: Median (); Spannweite []; (1): p-Wert bei Mann-Whitney-Test.

Tabelle 3.5-3: Kurzkettige Fettsäuren-Konzentrationen im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechtes

| SCFA | Männlich (alle Probanden) | Weiblich (alle Probanden) | p-Wert |
|-------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------|
| Acetat (in mmol/g) | (68,8); [0,667 – 193,0] | (6,4); [0,069 – 160,2] | 0,012 ⁽¹⁾ |
| Propionat (in mmol/g) | (19,4); [0,224 – 99,4] | (1,4); [0,1 – 43,0] | 0,002 ⁽¹⁾ |
| Butyrat (in mmol/g) | (15,6); [0,053 – 52,5] | (1,3); [0,020 – 41,4] | 0,003 ⁽¹⁾ |
| Iso-Butyrat (in mmol/g) | (2,0); [0,015 – 11,3] | (0,88); [0,004 – 6,1] | 0,061 ⁽¹⁾ |
| Valerat (in mmol/g) | (1,5); [0,011 – 19,7] | (0,5); [0,002 – 5,6] | 0,004 ⁽¹⁾ |
| Iso-Valerat (in mmol/g) | (1,9); [0,017 – 17,0] | (0,5); [0,007 – 5,4] | 0,068 ⁽¹⁾ |
| Anteil-Butyrat (in %) | (12,1); [3,0 – 25,2] | (9,6); [1,6 – 23,5] | 0,071 ⁽¹⁾ |

Legende: Median (); Spannweite []; (1): p-Wert bei Mann-Whitney-Test.

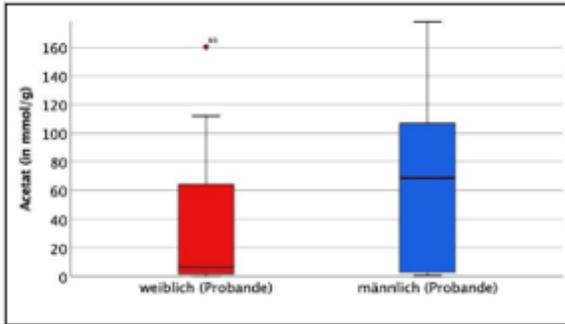


Abbildung a: Acetat-Konzentration im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts

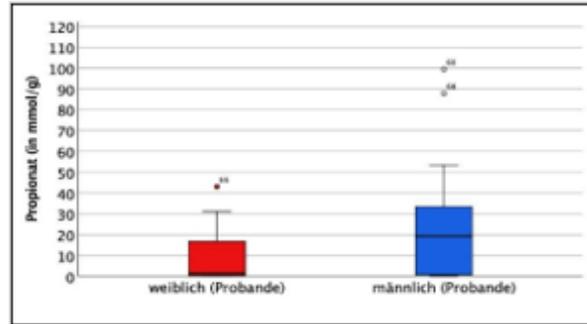


Abbildung b: Propionat-Konzentration im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts

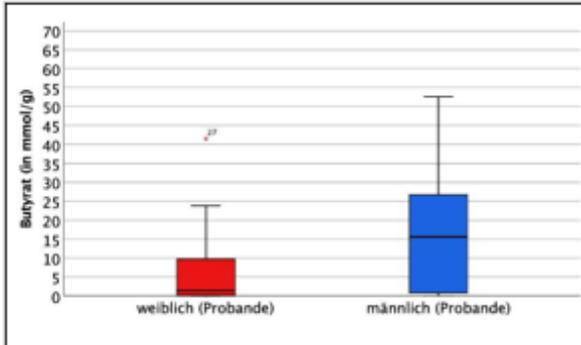


Abbildung c: Butyrat-Konzentration im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts

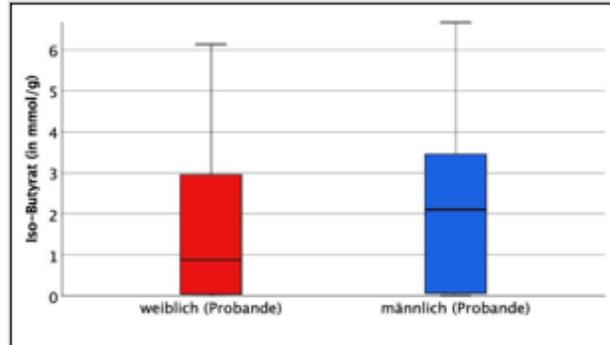


Abbildung d: Iso-Butyrat-Konzentration im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts

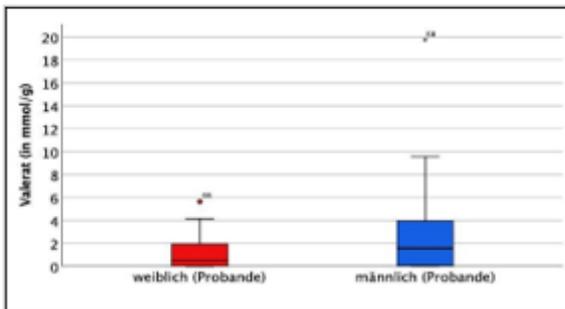


Abbildung e: Valerat-Konzentration im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts

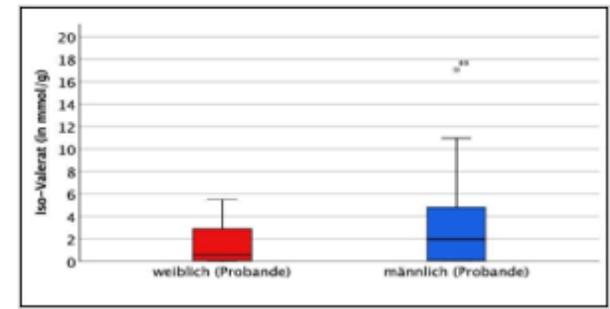


Abbildung f: Iso-Valerat-Konzentration im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts

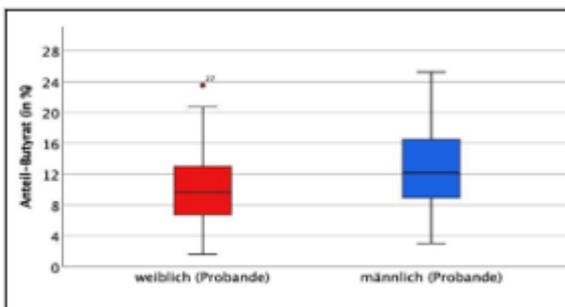


Abbildung g: Anteil-Butyrat im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts

Abbildung 3.5-1 SCFA Konzentrationen im Stuhl bei Probanden bzgl. des Geschlechts. Acetat-Konzentration (a), Propionat-Konzentration (b), Butyrat-Konzentration (c), Iso-Butyrat-Konzentration (d), Valerat-Konzentration (e), Iso-Valerat-Konzentration (f) & Anteil-Butyrat (g) der weiblichen Probanden (rot) im Vergleich zu den männlichen Probanden (blau) als Boxplot-Diagramm dargestellt.

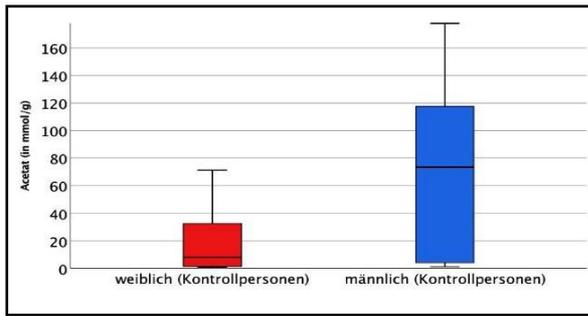


Abbildung a: Acetat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts

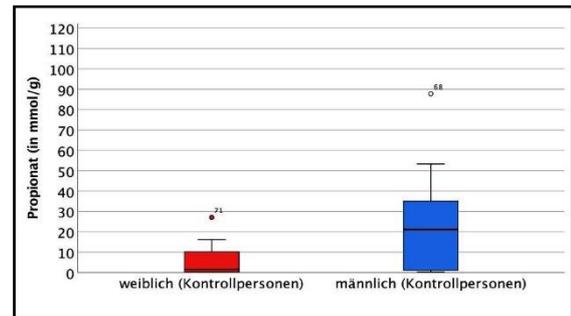


Abbildung b: Propionat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts

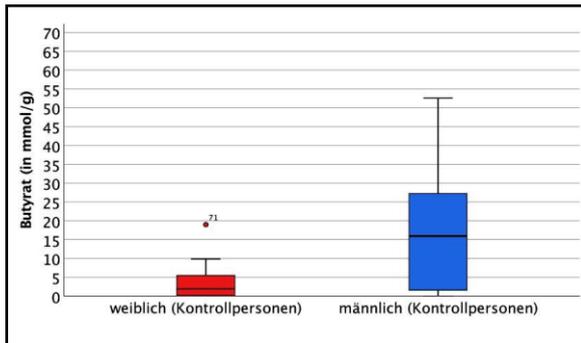


Abbildung c: Butyrat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts

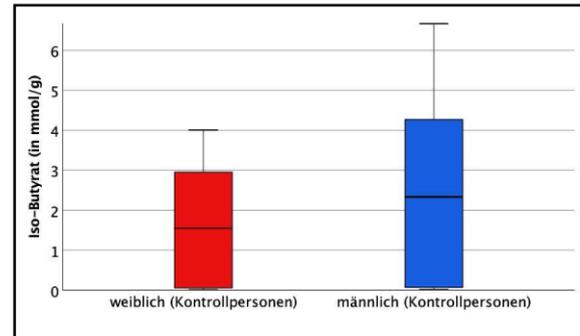


Abbildung d: Iso-Butyrat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts

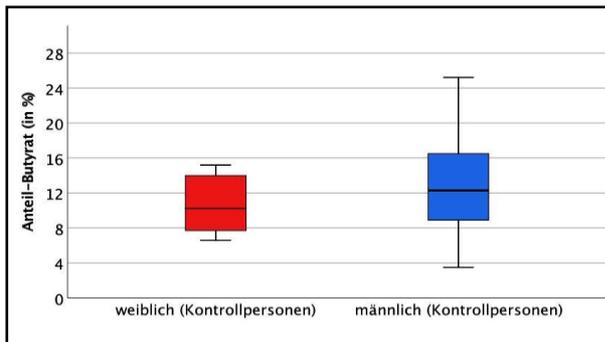


Abbildung e: Valerat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts

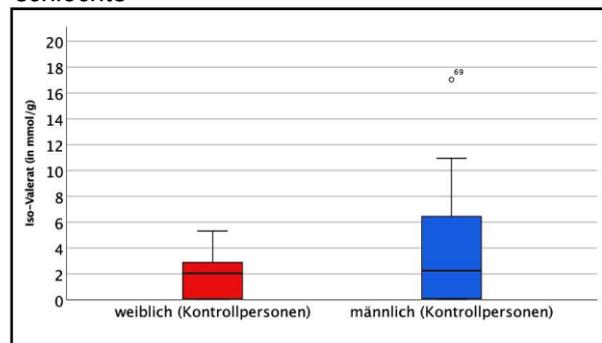


Abbildung f: Iso-Valerat-Konzentration im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts

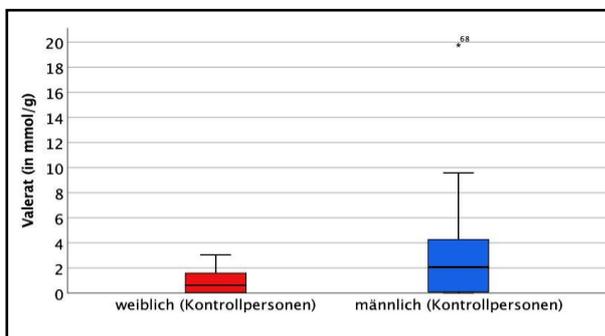


Abbildung g: Anteil-Butyrat im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts

Abb. 3.5-2 SCFA Konzentrationen im Stuhl bei Kontrollpersonen bzgl. des Geschlechts. Acetat-Konzentration (a), Propionat-Konzentration (b), Butyrat-Konzentration (c), Iso-Butyrat-Konzentration (d), Valerat-Konzentration (e), Iso-Valerat-Konzentration (f) & Anteil-Butyrat (g) der weiblichen Kontrollpersonen (rot) im Vergleich zu den männlichen Kontrollpersonen (blau) als Boxplot-Diagramm dargestellt.

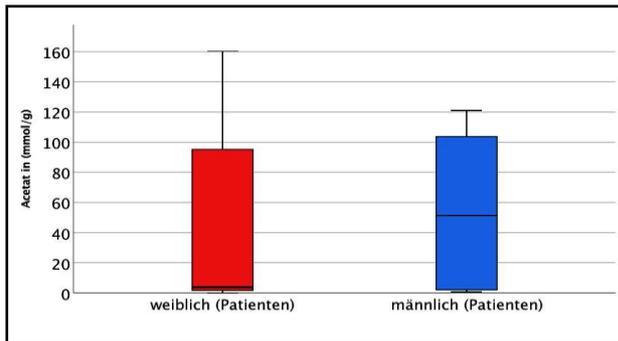


Abbildung a: Acetat-Konzentration im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts

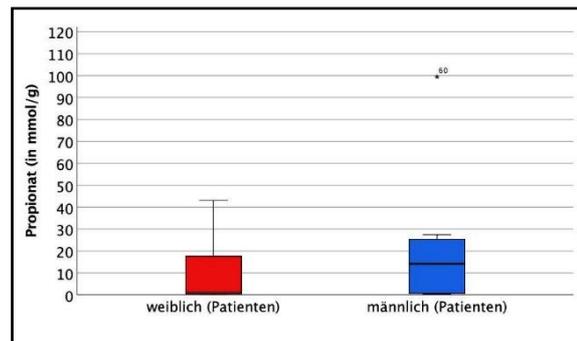


Abbildung b: Propionat-Konzentration im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts

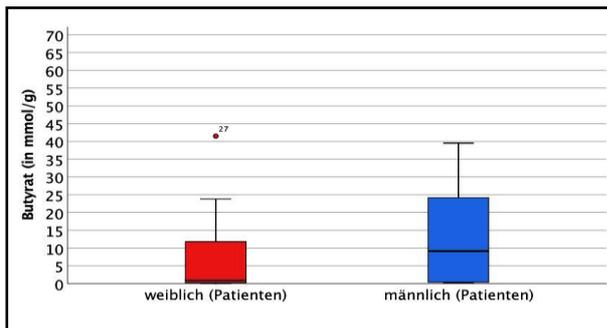


Abbildung c: Butyrat-Konzentration im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts

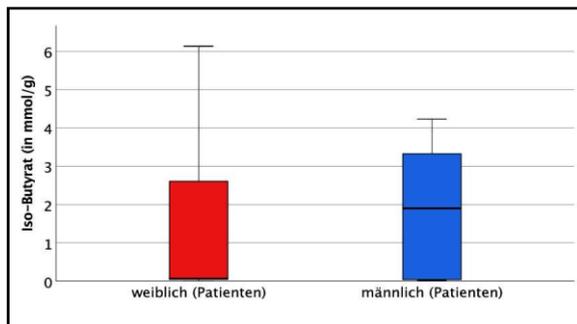


Abbildung d: Iso-Butyrat-Konzentration im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts

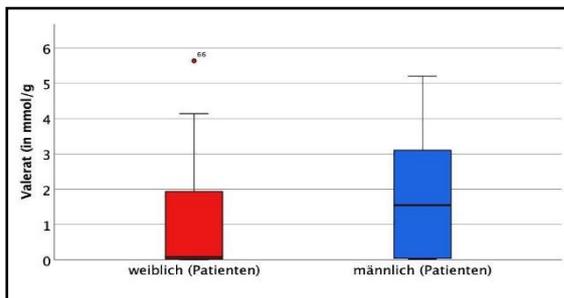


Abbildung e: Valerat-Konzentration im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts

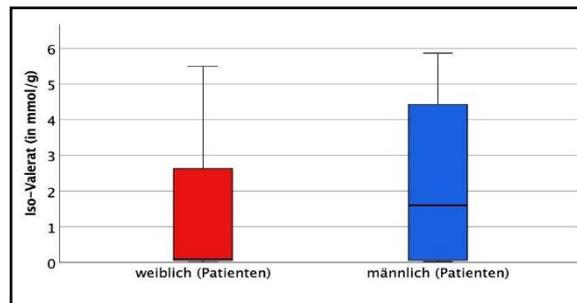


Abbildung f: Iso-Valerat-Konzentration im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts

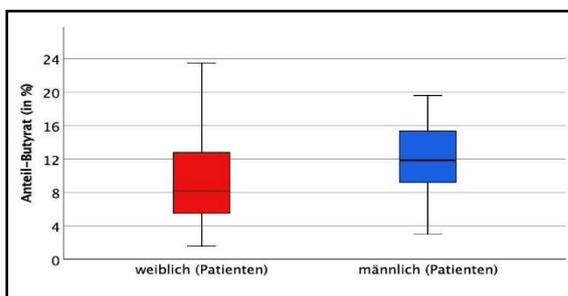


Abbildung g: Anteil-Butyrat im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts

Abb. 3.5-3 SCFA Konzentrationen im Stuhl bei MS-Patienten bzgl. des Geschlechts. Acetat-Konzentration (a), Propionat-Konzentration (b), Butyrat-Konzentration (c), Iso-Butyrat-Konzentration (d), Valerat-Konzentration (e), Iso-Valerat-Konzentration (f) & Anteil-Butyrat (g) der weiblichen MS-Patienten (rot) im Vergleich zu den männlichen MS-Patienten (blau) als Boxplot-Diagramm dargestellt.

3.6. Sonstige Daten

3.6.1. Zusammenhang zwischen Therapiegruppe (ohne Therapie, Basistherapie, Eskalationstherapie) und Calprotectin-Konzentration im Stuhl

In der Abbildung 3.3-2 zeigten sich deskriptiv höhere Calprotectin-Konzentrationen im Stuhl von Patienten ohne Therapie (3 Patienten) im Vergleich zu den Kontrollpersonen sowie im Vergleich zu den Patienten mit einer Basistherapie oder Eskalationstherapie. Statistisch gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied (p-Wert = 0,593).

3.6.2. Zusammenhang zwischen Therapiegruppe und Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl

In den Abbildungen 3.4-2, 3.4-4, 3.4-6, 3.4-8, 3.4-10 und 3.4-12 zeigten sich deskriptiv niedrige Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl bei Patienten ohne Therapie (3 Patienten) und Patienten mit Eskalationstherapie (20 Patienten) im Vergleich zu den Kontrollpersonen und Patienten mit einer Basistherapie (18 Patienten). Es gab jedoch statistisch keinen signifikanten Unterschied (Acetat p-Wert = 0,761; Propionat p-Wert = 0,664; Butyrat p-Wert = 0,521; Iso Butyrat p-Wert = 0,433; Valerat p-Wert = 0,215; Iso Valerat p-Wert = 0,386).

4. Diskussion

Die Ätiologie der MS ist komplex und bisher nicht vollständig verstanden. Jedoch scheinen sowohl genetische als auch Umweltfaktoren an der Entwicklung der Krankheit beteiligt zu sein.

In den letzten Jahren hat die potenzielle Beteiligung der Darmmikrobiota an Autoimmunkrankheiten, einschließlich MS, zunehmend Beachtung gefunden (Chen et al., 2017). SCFAs, mikrobielle Metaboliten, welche im Dickdarm durch bakterielle Fermentation von nicht verdaulichen Kohlenhydraten wie Ballaststoffen und resistenter Stärke gebildet werden, haben erwiesenermaßen immunmodulierende Wirkung. SCFAs haben entzündungshemmende Wirkungen, während langkettige Fettsäuren (LCFAs) eher ein proinflammatorisches Potenzial haben (Colpitts & Kasper, 2017). Es hat sich bspw. gezeigt, dass das Valerat seine immunmodulatorischen Effekte durch metabolische und epigenetische Reprogrammierung von T- und B-Lymphozyten ausübt und so in der Lage ist, die T-Zell-vermittelte Autoimmunantwort im Darm und Gehirn von Mäusen zu unterdrücken (Luu et al., 2019).

Das am häufigsten verwendete Tiermodell für die MS ist das EAE-Modell (Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis). EAE-Modelle weisen Demyelinisierung, Axonverlust und T-Zell-Aktivierung im ZNS auf und zeigen daher die entsprechenden klinischen Symptome und pathologischen Veränderungen wie bei MS. Das EAE-Modell wird nach Immunisierung mit ZNS-Antigenen, einschließlich Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG), Myelin-Basisprotein (MBP) oder Proteolipid (PLP), induziert, was zu Myelin-reaktiven T-Zellen führt, welche EAE induzieren (Melbye et al., 2018). Das EAE-Tiermodell weist darauf hin, dass Darmmikrobiota bei der Pathogenese der MS eine Rolle spielen, da

keimfreie gehaltene Tiere nur dann den entsprechenden klinischen und pathohistologischen Phänotyp entwickeln, wenn sie im Darm mit Bakterien kolonialisieren werden. Keimfrei gehaltene Tiere entwickeln trotz Immunisierung keine EAE.

Während entzündliche Prozesse im Darm bei MS in experimentellen Arbeiten bereits eingehender untersucht wurden, gibt es bislang nur wenige Arbeiten zur Rolle dieser Prozesse beim Menschen. Wir untersuchten daher sowohl den Entzündungsmarker fäkales Calprotectin als auch SCFA (als mögliche Mediatoren für immunologische Prozesse im Darm) bei RRMS-Patienten und Kontrollpersonen.

4.1. Zusammenfassung der Hauptergebnisse

- I. Es wurde weder statistisch noch deskriptiv ein Unterschied zwischen MS-Patienten und Kontrollpersonen bezüglich fäkaler Calprotectin-Konzentration nachgewiesen.
- II. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen MS-Patienten und Kontrollpersonen bezüglich der Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl nachgewiesen. Deskriptiv zeigte sich jedoch eine Reduktion der Konzentrationen kurzzeitiger Fettsäuren im Stuhl bei Patienten mit schubförmiger MS im Vergleich zu den Kontrollpersonen.
- III. Es zeigte sich ein signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen in Bezug auf die Konzentrationen kurzzeitiger Fettsäuren im Stuhl. Bei Frauen waren die Konzentrationen der SCFA im Stuhl signifikant niedriger als bei Männern. Dieser Unterschied fand sich auch, wenn nur die gesunden Kontrollpersonen untersucht wurden. Der Unterschied war bei den MS Patienten statistisch nicht mehr signifikant, deskriptiv zeigten aber Frauen auch in dieser Gruppe tendenziell niedrigere Konzentrationen.

4.2. Ergebnisdiskussion

4.2.1. Entzündungsparameter Calprotectin

Berg-Hansen et al. berichteten 2009 erhöhte Konzentrationen von Calprotectin im Liquor von MS-Patienten (Berg-Hansen et al., 2009). Daten zur fäkalen Calprotectin-Konzentrationen bei MS-Patienten lagen bislang jedoch nicht vor. In der vorliegenden Studie zeigten sich keine erhöhten fäkalen Calprotectin-Konzentrationen in unserer RRMS-Kohorte. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass das fäkale Calprotectin bei RRMS-Patienten untersucht wurde, welche zum überwiegenden Anteil bereits unter einer Immuntherapie standen. Systemische und enterische Entzündungen und damit auch die fäkale Calprotectin-Konzentrationen könnten durch Immuntherapien (welche dem Entzündungsprozess im ZNS entgegenwirken) bereits beeinflusst worden sein. Für Natalizumab ist die enterische entzündungshemmende Wirkung bereits bekannt und wird bei der Therapie des Morbus Crohn therapeutisch eingesetzt (Nelson et al., 2018).

Dieser Effekt könnte unter der Annahme, dass MS-Therapien die darmassoziierte Immunität beeinflussen, auch die Darmmikrobiota (wie von Storm-Larsen et al. für Dimethylfumarat gezeigt (Storm-Larsen et al., 2019)) und in der Folge auch die SCFA-Produktion modulieren.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse dieser Studie ist es nicht möglich, Rückschlüsse auf fäkales Calprotectin bei medikamentös-naiven MS-Patienten zu ziehen, da die überwiegende Mehrheit der RRMS-Kohorte unter Therapie stand. Es wird daher vorgeschlagen, die Darmentzündung bei Patienten mit arzneimittel-naiver MS und bei MS-Schüben zu untersuchen.

4.2.2. Kurzkettige Fettsäuren

Immer mehr Beweise deuten darauf hin, dass Darmmikrobiota und deren Stoffwechselprodukte eine regulatorischen Wirkungen auf die Entzündung des ZNS

ausüben. Diese können entzündliche Reaktionen durch Antigen-präsentierende Zellen in anderen Geweben außerhalb des ZNS-Systems lindern. Zum Beispiel können SCFAs Makrophagen so konditionieren, dass sie die Produktion von Entzündungsmediatoren verringern und ihre phagozytische Aktivität und die Produktion antimikrobieller Peptide im Darm erhöhen (Park et al., 2019).

Kürzlich zeigten mehrere Studien, dass das Darmmikrobiom bei Patienten mit MS verändert ist (Chen et al., 2016), was auf eine mögliche Assoziation zwischen MS und dem Darmmikrobiom hindeutet. Es ist außerdem bekannt, dass SCFAs Treg-Zellen induzieren (Smith et al., 2013) und Entzündungskrankheiten in Tiermodellen der MS unterdrücken können (Haghikia et al., 2016). Zudem ist erwiesen, dass die Darmmikrobiota die Expression von Wirtsgenen entweder durch direkten Kontakt mit Zellwandbestandteilen oder durch die Sekretion von Faktoren modulieren, die durch Wirtsrezeptoren oder durch epigenetische Modifikationen, die die Methylierung oder Acetylierung von Transkriptionspromotoren verändern können, signalisieren können (Jangi et al., 2016). Die mikrobielle Besiedlung von keimfreien Mäusen kann die Expression angeborener und adaptiver Immungene bereits vier Tage nach der mikrobiellen Inokulation in verschiedenen Zellkompartimenten modulieren (Jangi et al., 2016). In einer Studie über entzündliche Darmerkrankungen beim Menschen wurden Assoziationen zwischen Mikroben und der Expression von Wirtsgenen in angeborenen und adaptiven Immunwegen gefunden (Jangi et al., 2016).

Die Befunde dieser Studie, zum einen die deskriptiv reduzierte fäkale SCFA-Konzentration bei RRMS-Patienten, stimmt mit anderen Studien auf diesem Gebiet überein: Park et al. konnten in ihrer Studie nachweisen, dass die SCFA-Blutspiegel bei MS-Patienten um etwa 50-65% reduziert waren (Park et al., 2019). Des Weiteren wurde berichtet, dass bei MS-Patienten in einer chinesischen Kohorte die fäkalen SCFA-Konzentrationen reduziert waren (Zeng et al., 2019). Die potenzielle Rolle der SCFAs als wichtige mikrobielle Mediatoren in der Mikrobiota-

Gut-Hirn-Achse wurde in der Studie von Zeng et al. (2019) verstärkt beachtet. Eine Vielzahl von Studien hat die positiven Auswirkungen von Butyrat im Gehirn bereits gezeigt, wie z.B. die Erleichterung der neuronalen Plastizität und der Bildung des Langzeitgedächtnisses (Lattal et al., 2007) und die Wiederherstellung der kognitiven Funktion (Govindarajan et al., 2011). Darüber hinaus fanden Hoyles et al. (2018) heraus, dass Propionat schützende Wirkungen gegen die durch Lipopo-Lysaccharide (LPS) induzierte Störung der Blut-Hirn-Schranke und oxidativen Stress hat. Darüber hinaus zeigten Haghikia et al. (2016), dass SCFAs im Allgemeinen die Differenzierung von T-Zellen in regulatorische Subtypen (Treg-Zellen) fördern, welche den Autoimmunprozess im Gehirn verbessern. In-vitro-Studien und Tierversuche haben gezeigt, dass Butyrat und Propionat die periphere regulatorische T-Zellgenerierung fördern (Arpaia et al., 2013). Darüber hinaus wurde bereits im Vorfeld berichtet, dass Natriumbutyrat (NaB), eine der kurzkettigen Fettsäuren, die Anzahl der T-regulierenden (Treg) Zellen sowohl in drainierenden Lymphknoten als auch in der Milz von Mäusen mit experimenteller Autoimmun-Uveitis (EAU) signifikant erhöht (Chen et al., 2017; Zeng et al., 2019). In der Studie von Zeng et al. (2019) wurde ebenfalls festgestellt, dass fäkale SCFAs signifikant positiv mit den Anteilen der Tregs korrelierten. Zusammengenommen liefern diese Beobachtungen Belege für die potenzielle Rolle entzündungshemmender Metaboliten in der MS-Pathogenese Zeng et al., 2019).

Überdies wurden von MS-Patienten Veränderungen in der Darmmikrobiota publiziert (Chen et al., 2016; Jangi et al., 2016; Miyake et al., 2015). In der Studie von Miyake et al. (2015) konnte auch eine Verringerung des Anteils mehrerer Bacteroides-Arten, darunter *B. stercoris*, *B. coprocola* und *B. coprophilus*, in der Darmmikrobiota von Patienten mit MS gefunden werden. In ähnlicher Weise wurde eine verringerte Häufigkeit mehrerer Bacteroides-Arten in fäkalen und Schleimhaut-assoziierten Mikrobiota bei Patienten beobachtet (Miyake et al.,

2015). Im Gegensatz dazu wurden auch positive Korrelationen zwischen Bacteroides und systemischen Entzündungen nachgewiesen. Wie bereits erwähnt, waren die strukturellen Veränderungen und Veränderungen auf Speziesebene in der mit MS assoziierten Mikrobiota des Darms bei japanischen Patienten nicht immer denen ähnlich, die in der Mikrobiota des Darms von Patienten mit anderen Entzündungskrankheiten beobachtet wurden (Miyake et al., 2015). Diese Diskrepanz könnte einfach auf den Unterschied in den mikrobenassoziierten Immunitätszuständen zwischen MS und anderen Krankheiten zurückzuführen sein. Alternativ dazu könnten die beobachteten Veränderungen spezifisch für japanische Patienten sein, ähnlich wie die geographischen oder bevölkerungsweiten Variationen, welche für die Mikrobiota des Darms von Patienten mit Typ-2-Diabetes vorgeschlagen wurden. Auch wenn die verfügbaren Informationen derzeit zu begrenzt sind, schließen Miyake et al. (2015) die Möglichkeit nicht aus, dass die Mikrobiota des Darms die neurodegenerativen Prozesse bei MS beeinflussen könnten. Weitere Experimente mit gnotobiotischen-Mäusen, die von diesen Arten kolonisiert wurden, könnten helfen zu verstehen, ob die Veränderungen bei bestimmten Arten bei MS primär oder sekundär durch die MS-Pathogenese bedingt sind (Miyake et al., 2015).

In einer klinischen Studie von Duscha et al. wurde kürzlich die allgemeine Bedeutung der SCFA für die MS untersucht, welche eine Verringerung der Autoinflammation, eine Verstärkung der Treg-Differenzierung und eine Verbesserung des Krankheitsverlaufs nach oraler Verabreichung von Propionat beobachteten (Duscha et al., 2020). Es sollte dennoch nicht außer Acht gelassen werden, dass eine orale Verabreichung von SCFA womöglich nicht die gleichen Effekte wie die direkte Produktion von SCFA im Dickdarm erzeugen wird: oral verabreichte SCFA werden im Dünndarm resorbiert und wirken systemisch, während SCFA, welche im Dickdarm von den Darmmikrobiota produziert werden, hauptsächlich lokale Effekte ausüben und die SCFA-Konzentrationen im Blut wahrscheinlich

nicht in relevanter Weise beeinflussen (Duscha et al., 2020). Allerdings fanden Park et al. heraus, dass die orale Verabreichung von SCFAs einen mäßig protektiven Effekt auf die EAE-Pathogenese hat, der zum Teil durch die von SCFAs induzierte IL-10-Produktion in T-Zellen und Antigen-präsentierende Zellen vermittelt wird. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen die vielfältigen Funktionen des DF-SCFA-GPCR-Systems bei der Regulierung autoimmuner Entzündungen des ZNS auf. SCFAs scheinen hochkomplexe Funktionen bei der Regulierung autoimmuner ZNS-Entzündungen zu spielen (Park et al., 2019).

Ein Vorbehalt bei der Verwendung von SCFAs zur Regulierung der Entzündung des ZNS ist, dass SCFAs auch die Bildung von T17- und T1-Zellen begünstigen können. Bei Tieren, die mit SCFA-Wasser oder HFD gefüttert wurden, war die Anzahl der T-Zellen des Faktors T erhöht. Diese Defektor-T-Zellen können Mikroben im Darm kontrollieren, aber eine ZNS-Entzündung vermitteln. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, dass die Bildung von EAE-induzierenden entzündlichen T-Zellen während aktiver Entzündungsreaktionen durch SCFAs sogar gefördert werden kann (Park et al., 2019). Diese Möglichkeit wurde in der Tat in der Studie von Park et al. (2019) durch den inflammatorischen Phänotyp von C2-behandelten T-Zellen gezeigt, welche mit C2 in vitro konditioniert, aber aus MOG-immunisierten Mäusen isoliert wurden. Es konnte übereinstimmend beobachtet werden, dass sowohl Effektorzellen als auch IL-10⁺ T-Zellen durch SCFA- oder DF-Aufnahme induziert werden. Dieses ausgewogene Effektor-zu-regulierenden T-Zell-Profil scheint der Hauptgrund für den protektiven Gesamteffekt der SCFAs zu sein (Park et al., 2019). Zudem wurde diskutiert, ob SCFAs das Potential haben, ihre protektiven Effekte indirekt durch Antigen-präsentierende Zellen zu fördern. Z.B. haben Gliazellen, wie z.B. Mikrogliazellen, das Potential, den protektiven Effekt von SCFAs zu vermitteln. Es konnte in der Studie gezeigt werden, dass SCFAs tolerogene Gliazellen erzeugen, die ihrerseits IL-10 exprimieren und zur Bildung von IL-10⁺ T-Zellen beitragen können. Diese regulatorische

Funktion von aus dem Darm stammenden SCFAs im ZNS erinnert ein wenig an den regulatorischen Effekt von Tryptophan-Metaboliten auf Mikrogliazellen (Park et al., 2019).

Ein Hauptergebnis unserer Studie war der deutliche geschlechtsspezifische Unterschied in der SCFA-Konzentration zwischen Frauen und Männern - selbst innerhalb gesunder Kontrollen. Es wurden bereits geschlechtsspezifische Unterschiede für die Mikrobiota beschrieben (Rizzetto et al., 2018), allerdings gibt es immer noch einen Mangel an Studien, welche primär geschlechtsspezifische Unterschiede für fäkale SCFA untersuchen. Abgesehen von den verzweigt-kettigen SCFAs wiesen alle fäkalen SCFA-Konzentrationen in unserer Studie bei Frauen eine reduzierte Signifikanz auf. Die Reproduzierbarkeit und die Relevanz dieser Ergebnisse erfordert jedoch noch weitere Untersuchungen. Darüber hinaus müssen Störfaktoren, wie bspw. die Ernährung, mit einbezogen werden. Die fäkalen SCFA-Konzentrationen waren bereits Gegenstand mehrerer Studien, unter anderem in Bezug auf die Anorexie (Speranza et al., 2018), Adipositas, Diabetes und als Risikomarker für kardiometabolische Erkrankungen (La Cuesta-Zuluaga et al., 2018). Weder Chen et al., Jangi et al. noch Miyake et al. berichten geschlechtsspezifischen Effekt auf fäkale SCFA in ihren Studien, weil dieser Aspekt nicht primär analysiert wurde. In einer gastroenterologischen Studie aus dem Jahr 2013, in der Jakobsdottir et al. (2013) Patienten mit mikroskopischer Kolitis und Zöliakie verglichen, konnte ebenfalls ein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied, jedoch der Serum-SCFA-Konzentrationen gefunden werden (Jakobsdottir et al., 2013) Frauen zeigten in dieser Studie signifikant reduzierte Blutkonzentrationen von SCFA. Bei den Frauen waren die mittleren Acetatkonzentrationen um etwa 12% reduziert. In der vorliegenden Studie war das mittlere Fäkalacetat bei Frauen um 90,6% reduziert. Allerdings sind, wie oben bereits diskutiert, Serum-SCFA und fäkale SCFA nicht direkt vergleichbar. In einer weiteren chinesischen Studie von Chen et al. konnten die Forscher jedoch bei der Analyse der Serum-

SCFA-Konzentrationen keinen geschlechtsspezifischen Unterschied feststellen (Chen et al., 2019).

Die genauen Gründe für die höhere weibliche Anfälligkeit für MS sind noch nicht bekannt. SCFA sind von denen, die man annimmt, dass sie das Immunsystem modulieren, könnten (basierend auf den Ergebnissen dieser Studie) pathophysiologisch relevant für MS sein, insbesondere wenn Studien an medikamentös-naiven MS-Patienten diesen Befund reproduzieren können. Reduzierte fäkale SCFA-Konzentrationen bei weiblichen Probanden könnten also ein zusätzlicher Risikofaktor für MS, der zu der höheren Anfälligkeit im Vergleich zu Männern beiträgt.

Insgesamt unterstützen unsere Ergebnisse die Bedeutung der SCFAs als Regulatoren der ZNS-Entzündung. Die Werte bestimmter SCFAs sind in der Zirkulation von langfristig aktiven MS-Patienten deutlich vermindert. SCFAs können tolerogene ZNS-APCs erzeugen, die IL-10 produzieren und entzündungshemmende T-Zellen induzieren, und dies kann ihre schützenden Effekte vermitteln und möglicherweise die erhöhte Anzahl von entzündungshemmenden T-Zellen ausgleichen. Da SCFA dafür bekannt sind, die Darmmotilität zu verbessern, könnte eine veränderte Darmmikrobiota (und eine nachfolgende Verringerung der fäkalen SCFA) zu Obstipation prädisponieren. Tatsächlich konnten in der vorliegenden Studie bei RRMS-Patienten höhere CSS-Scores im Vergleich zu altersangepassten Kontrollen beobachtet werden.

4.3. Limitationen

Während die Untersuchungen der kurzkettigen Fettsäuren und der Konzentration des Entzündungsmarkers fäkales Calprotectin bei MS erste Einblicke in das Verständnis der möglichen Rolle des Mikrobioms bei dieser Krankheit liefert, hat diese Studie gewisse Einschränkungen. Zum einen ist die Kontrollgruppe altersgematched, aber nicht geschlechts-gematched. Es haben sich diesbezüglich Unterschiede zwischen Frauen und Männern bei den Ergebnissen ergeben. Des Weiteren kann keine konkrete Aussage in Bezug auf MS-Patienten getroffen werden, welche neu mit der Erkrankung diagnostiziert werden und dem entsprechend noch keine Therapie erhalten haben. Untersuchungen an therapienaiven Patienten sind jedoch notwendig, um zwischen Therapieeffekten und krankheitsspezifischen Veränderungen zu unterscheiden. Es könnte beispielsweise sein, dass der fehlende Nachweis einer intestinalen Entzündung (untersucht mit dem Surrogatmarker fäkales Calprotectin) durch die bereits erfolgte Immuntherapie zu erklären ist. Hier lag in der vorliegenden Arbeit die Schwierigkeit, dies umzusetzen, da von neu diagnostizierten MS-Patienten ohne Therapie schwer Proben zu erhalten waren, bevor eine Therapie begonnen wurde. Bspw. spielt hier der Cortison-Stoß eine Rolle, welcher bei fast allen Patienten unmittelbar nach Diagnosestellung gegeben wird.

Weiterhin bezieht sich die Fragestellung der Doktorarbeit ausschließlich auf SCFA und das fäkale Calprotectin. In zukünftigen Studien sollte ebenfalls die bakterielle Zusammensetzung des Stuhl untersucht werden. So kann festgestellt werden, ob bspw. bestimmte Bakterien, welche mit autoimmunen Prozessen assoziiert sind, bei MS-Patienten häufiger vorkommen oder auch, ob Bakterien, welche SCFA produzieren, bei MS reduziert sind. Zusätzlich benötigen weitere Studien eine größere Fallzahl, insbesondere bei Sub-Gruppen der MS-Patienten, um belastbare Aussagen treffen zu können.

Da es sich bei dieser Studie um eine Pilot-Studie handelt, waren die Gruppen für die jeweiligen Untersuchungen eher klein bemessen. Es sollte zunächst untersucht werden, ob sich erste Anhaltspunkte für Unterschiede in den Konzentrationen der SCFA zeigen.

4.4. Fazit und Ausblick

Ziel dieser Studie war es, Patienten mit einer schubförmigen MS hinsichtlich des intestinalen Entzündungsmarkers Calprotectin und hinsichtlich der Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl mit alters-gematchten Kontrollpersonen zu vergleichen, um so erste Hinweise auf eine mögliche Relevanz dieser Stuhlmarker für MS und damit auch für einen Teilaspekt der Pathogenese der MS zu erhalten.

Der Ursprung des Autoimmunprozesses bei MS ist noch wenig verstanden, und es ist nicht bekannt, ob zusätzliche auslösenden Faktoren möglicherweise auch in der Peripherie (Darm) liegen könnten. Es tragen wahrscheinlich sowohl genetische als auch Umweltfaktoren zur Entstehung der Krankheit bei und die Darm-Mikrobiota (und deren Stoffwechselprodukte) könnten ein solcher Umweltfaktor sein. Es ist bekannt, dass die Darmmikrobiota die Expression von Wirtsimmungenen durch direkten Kontakt mit Zellwandbestandteilen oder durch die Sekretion von Faktoren modulieren (Levy, Thaiss & Elinav, 2015). Die mikrobielle Besiedlung im Darm kann die Expression angeborener und adaptiver Immungene bereits vier Tage nach der mikrobiellen Inokulation in verschiedenen Zellkompartimenten modulieren (Levy, Thaiss & Elinav, 2015).

Angesichts der Tatsache, dass SCFAs, insbesondere Butyrat, in der Lage sind, regulatorische T-Zellen zu induzieren, könnte eine Modulation der Darmmikrobiota in Richtung einer erhöhten Produktion dieser Metaboliten ein interessanter therapeutischer Ansatz bei MS sein. In der Tat ist es bemerkenswert, dass die orale Verabreichung von SCFAs den Krankheitsschweregrad der experimentellen autoimmunen EAE, einem Tiermodell der MS, verbesserte (Mizuno et al., 2017). Insbesondere die Acetat-Supplementierung ist in der Lage, einen erhöhten Acetyl-CoA-Metabolismus zu induzieren, welcher die Histonacetylierung erhöht, was zu einem konservierten Rückenmark-Lipidgehalt führt und den Ausbruch klinischer Symptome der EAE im Wesentlichen verhindert. Darüber hinaus unter-

drückt die Behandlung mit Butyrat die Demyelinisierung und fördert die Remyelinisierung durch Oligodendrozytenreifung und -differenzierung (Chen et al., 2019). Auch erste klinische Studien sprechen für einen therapeutischen Nutzen von SCFA bei MS (Duscha et al.). An dem von uns untersuchten Kollektiv konnte zwar kein statistisch signifikanter Unterschied in der Konzentration kurzkettiger Fettsäuren nachgewiesen werden, dennoch zeigten sich deskriptiv eine verminderte Konzentration einzelner kurzkettiger Fettsäuren, die auf eine mögliche Rolle kurzkettiger Fettsäuren bei MS hinweisen könnte.

Wie bereits von Jangi et al. (Ref.) diskutiert, könnten zukünftig auch solche therapeutische Interventionen für MS geeignet sein, welche das Mikrobiom beeinflussen, wie z.B. Probiotika, Fäkaltransplantation und Abgabe von Bestandteilen von Organismen, die aus dem Mikrobiom isoliert wurden. Darüber hinaus kann die Charakterisierung des Darmmikrobioms bei MS Biomarker für die Bewertung der Krankheitsaktivität liefern und könnte theoretisch ein Weg sein, um MS in jungen Risikopopulationen frühzeitig zu erkennen.

Der deutlich geschlechtsspezifische Unterschied in der SCFA-Konzentration und die Tatsache, dass Frauen nicht nur niedrigere SCFA-Konzentrationen aufwiesen, sondern auch deutlich häufiger an MS erkranken ist besonders interessant. Postuliert man einen anti-inflammatorischen Effekt für SCFA, so könnten die bei Frauen beobachteten niedrigeren SCFA-Konzentrationen Autoimmunprozesse triggern bzw. die Vulnerabilität für Autoimmunprozesse erhöhen. Hier sind jedoch weitere Studien notwendig, die auch Ernährungsgewohnheiten, Darmmotilität und andere Einflussfaktoren berücksichtigen. Sollte sich die Beobachtung niedriger SCFA-Konzentrationen bei Frauen bestätigen, stellt dies einen interessanten therapeutischen Ansatzpunkt dar. Die kürzlich publizierte und bereits mehrfach zitierte Studie von Duscha et al. (Ref.) hat gezeigt, dass ein solcher Ansatz (Supplementation mit SCFA) prinzipiell machbar und effektiv ist.

Darüber hinaus sind Längsschnittstudien an therapienaiven Patienten erforderlich, um zwischen krankheitsimmanenten und therapeutischen Auswirkungen auf die Darmmikrobiota, deren Stoffwechselprodukte und eine mögliche intestinale Entzündung bei MS zu unterscheiden. Schließlich könnten zukünftige Studien ebenfalls den Entzündungsmarker Calprotectin in bestimmten Situationen genauer untersuchen, zum Beispiel, ob dessen Konzentration im Rahmen eines akuten Schubs erhöht ist.

5. Literaturverzeichnis

Ahmadi, M. A., Ashrafi, F. & Behnam, B. (2015). Comparison of Montreal Cognitive Assessment test and Mini Mental State Examination in detecting cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *International Clinical Neuroscience Journal*, 2 (4), pp. 137-141.

Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., et al. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T cell generation. *Journal of Nature*, 504 (7480), pp. 451.

Aschenbach, J. R., Kristensen, N. B., Donkin, S. S., Hammon, H. M. & Penner, G. B. (2010). Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. *Journal of International Union of Biochemistry and Molecular Biology life*, 62 (12), pp. 869–877.

Banerjee, P., Yashonath, S. & Bagchi, B. (2017). Rotation driven translational diffusion of polyatomic ions in water: A novel mechanism for breakdown of Stokes-Einstein relation. *Journal of Chemical Physics*, 146 (16), pp. 164502.

Banno, M., Ohta, K. & Tominaga, K. (2012). Vibrational dynamics of acetate in D₂O studied by infrared pump–probe spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, pp. 6359.

Baumhackl, U. & Berger, T. (2018). ÖMSB ÖSTERREICHISCHE MULTIPLE SKLEROSE BIBLIOTHEK Evidenzbasierte Informationen zu allen Aspekten der MS für Betroffene sowie Ärzte und Ärztinnen. 3., überarb. Auflage 2018. Retrieved from: file:///C:/Users/darin/Downloads/%C3%96MSB.%20Ulf%20Baumhackl%20Thomas%20Berger%20(Hg.)%20%C3%96STERREICHISCHE%20MULTIPLE%20SKLEROSE%20BIBLIOTHEK.pdf on 20.04.2020.

Berer, K., Mues, M., Koutrolos, M., Rasbi, Z. A., Boziki, M., Johner, C., Wekerle, H. & Krishnamoorthy, G. (2011). Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination. *Journal of Nature*, 479, pp. 538-541.

Blewett, M. M., Xie, J., Zaro, B. W., Backus, K. M., Altman, A., Teijaro, J. R., Cravatt, B. F. (2016). Chemical proteomic map of dimethyl fumarate-sensitive cysteines in primary human T cells. *Journal of Science signaling*, 9 (445), pp. 1-25.

Bruck, W., Gold, R., Lund, B. T. (2013). Therapeutic decisions in multiple sclerosis: moving beyond efficacy. *Journal of the American Medical Association neurology*, 70 (10), pp.1315–1324.

Burri, E. & Beglinger, C. (2014). The use of fecal calprotectin as a biomarker in gastrointestinal disease. *Journal of Expert review of gastroenterology & hepatology*, 8 (2), pp. 197–210.

Chen, J., Chia, N., Kalari, K. R., Yao, J. Z., Novotna, M., Paz Soldan, M. M., Luckey, D. H., Marietta, E. V., Jeraldo, P. R., Chen, X., Weinshenker, B. G., Rodriguez, M., Kantarci, O. H., Nelson, H., Murray, J. A., Mangalam, A. K. (2016). Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Journal Scientific reports*, 27 (6), 28484.

Chen, B., Sun, L., Zhang, X. (2017). Integration of microbiome and epigenome to decipher the pathogenesis of autoimmune diseases. *Journal of autoimmunity*, 83, pp. 31-42.

Chen, Z., Wu, Y., Shrestha, R., Gao, Z., Zhao, Y., Miura, Y. et al. (2019). Determination of total, free and esterified short-chain fatty acid in human serum by liquid chromatography-mass spectrometry. *Annals of Clinical Biochemistry*, 56 (2), pp. 190–7.

Chen, T., Noto, D., Hoshino, Y., Mizuno, M. & Miyake, S. (2019). Butyrate suppresses demyelination and enhances remyelination. *Journal of Neuroinflammation*, 16 (165), pp. 1-13.

Chevalier, A. C., Rosenberger, T. A. (2017). Increasing acetyl-CoA metabolism attenuates injury and alters spinal cord lipid content in mice subjected to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neurochemistry*, 141, pp. 721–37.

Chun, J., & Brinkmann, V. (2011). A mechanistically novel, first oral therapy for multiple sclerosis: the development of fingolimod (FTY720, Gilenya). *Journal of Discovery Medicine*, 12 (64), pp. 213-28.

Colpitts, S. L. & Kasper, L. H. (2017). Influence of the Gut Microbiome on Autoimmunity in the Central Nervous System. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*, 198 (2), pp. 596-604.

Croze, E., Yamaguchi, K. D., Knappertz, V., Reder, A. T., Salamon, H. (2013). Interferon-beta-1b-induced short- and long-term signatures of treatment activity in multiple sclerosis. *Pharmacogenomics Journal*, 13 (5), pp. 443–451.

Dalile, B., Van Oudenhove, L., Vervliet, B., & Verbeke, K. (2019). The role of short-chain fatty acids in microbiota–gut–brain communication. *Journal of Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16, pp. 461-478.

Darzi, J., Frost, G. S. & Robertson, M. D. (2012). Effects of a novel propionate-rich sourdough bread on appetite and food intake. *European journal of clinical nutrition*, 66 (7), pp. 789–794.

Dendrou, C. A., Fugger, L., Friese, M. A. (2015). Immunopathology of multiple sclerosis. *Journal of Nature Reviews Immunology*, 15 (9), pp. 545-558.

DGN/KKNMS (2018). Stufentherapieschema. Übersichtstabelle. Retrieved from: http://www.kompetenznetz-multiplesklerose.de/wp-content/uploads/2018/03/KKNMS_Qualit%C3%A4tshandbuch_Stufentherapieschema_20180307_webfrei.pdf on 13.05.2020.

D'Haens, G., Ferrante, M., Vermeire, S., Baert, F., Noman, M., Moortgat, L., Geens, P., Iwens, D., Aerden, I., Van Assche, G., Van Olmen, G. & Rutgeerts, P. (2012). Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Journal of Inflammatory bowel diseases*, 18 (12), pp. 2218–2224.

DMSG (2018): SENSIBILITÄTS-, SEH- UND MOTORISCHE STÖRUNGEN SIND DIE HÄUFIGSTEN SYMPTOME ZU BEGINN EINER MULTIPLER SKLEROSE. Retrieved from: <https://www.dmsg.de/multiple-sklerose-news/ms-forschung/sensibilitaets-seh-und-motorische-stoerungen-sind-die-haeufigsten-symptome-zu-beginn-einer-multip/> on 22.02.2020.

Duscha, A., Gisevuis, B., Hirschber, S., Linker, R. A., Gold, R., Haghika, A. (2020). Propionic Acid Shapes the Multiple Sclerosis Disease Course by an Immunomodulatory Mechanism. *Journal of Cell*, 180 (6), pp. 1067-1080.

Frischer, J. M., Bramow, S., Dal Bianco, A., Lucchinetti, C. F., Rauschka, H., Schmidbauer, M., Laursen, H., Sorensen, P. S., Lassmann, H. (2009). The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Journal of Neurology: Brain*, 132, pp. 1175–89.

Frost, G., Sleeth, M.L., Sahuri-Arisoylu, M., Lizarbe, B., Cerdan, S., Brody, L., Anastasovska, J., Ghourab, S., Hankir, M., Zhang S., Carling, D., Swann, J. R., Gibson, G., Viardot, A., Morrison, D., Louise Thomas, E. & Bell, J. D. (2014). The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Journal of Nature communications*, 5, pp. 3611.

Foell, D., Wittkowski, H., Vogl, T. & Roth, J. (2007). S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. *Journal of Leukocyte Biology*, 81 (1), pp. 28–37.

Govindarajan, N., Agis-Balboa, R.C., Walter, J., Sananbenesi, F., et al. (2011). Sodium butyrate improves memory function in an Alzheimer's disease mouse model when administered at an advanced stage of disease progression. *Journal of Alzheimer's Disease*, 26 (1), pp. 187–197.

Gold, R. & Wolinsky, J. S. (2011). Pathophysiology of multiple sclerosis and the place of teriflunomide. *Journal of Acta neurologica Scandinavica*, 124 (2), pp. 75–84.

Goldenberg, M. M. (2012). Multiple Sclerosis Review. peer-reviewed *Journal for Formulary Management*, 37 (3), pp. 175-184.

Goodin, D. S., Reder, A. T., Ebers, G. C., Cutter, G., Kremenchutzky, M., Oger, J., Langdon, D., Rametta, M., Beckmann, K., DeSimone, T. M., Knappertz, V. (2012). Survival in MS: a randomized cohort study 21 years after the start of the pivotal IFN β -1b trial. *Journal of Neurology*, 78 (17), pp. 1315–1322.

Granieri E., Casetta I., Govoni V., Tola M. R., Marchi D., Murgia S. B. & Rosati, G. (2000). The increasing incidence and prevalence of MS in a Sardinian province. *Journal of Neurology*, 55 (6), pp. 842–8.

Haase, S., Haghikia, A., Wilck, N., Müller, D. N. & Linker, R. A. (2018). Impacts of microbiome metabolites on immune regulation and autoimmunity. *Journal of Immunology*, 154 (2), pp. 230-238.

Haghikia, A., Jorg, S., Duscha, A., Berg, J., Manzel, A., et al. (2016). Dietary fatty acids directly impact central nervous system autoimmunity via the small intestine. *Journal of Immunity*, 44 (4), pp. 951–953.

Haider, L., Fischer, M. T., Frischer, J. M., et al (2011). Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Journal of Neurology: Brain*, 134 (7), pp. 1914-1924.

Hauser, S. L., Chan, J. R., Oksenberg, J. R. (2013). Multiple sclerosis: prospects and promise. *Journal of Annals of Neurology*, 74 (3), pp. 317–327.

Hauser, S. L., Oksenberg, J. R. & Baranzini, S. E. (2015). Chapter 85 - Multiple Sclerosis. *Journal of Academic Press: Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease, Fifth Edition*, pp. 1001–1014.

Hauser, S. L., Bar-Or, A., Comi, G., Giovannoni, G., Hartung, H. P., Hemmer, B., Lublin, F., Montalban, X., Rammohan, K. W., Selmaj, K., Traboulsee, A., Wolinsky, J. S., Arnold, D. L., Klingelschmitt, G., Masterman, D., Fontoura, P., Belachew, S., Chin, P., Mairon, N., Garren, H., Kappos, L., OPERA I & OPERA II Clinical Investigators (2017). Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *New England journal of medicine*, 376 (3), pp. 221-234.

Henderson, P., Casey, A., Lawrence, S. J., Kennedy, N. A., Kingstone, K., Rogers, P., Gillett, P. M. & Wilson, D. C. (2012). The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory bowel disease. *American Journal of Gastroenterology*, 107 (6), pp. 941-9.

Höer, A, Schiffhorst, G, Zimmermann, A, Fischaleck, J, Gehrmann, L, Ahrens, H, Carl, G., Sigel, K. O., Osowski, U., Klein, M., Bleß, H. H. (2014). Multiple sclerosis in Germany: data analysis of administrative prevalence and healthcare delivery in the statutory health system. *Journal of BMC Health Services Research*, 14 (381), pp. 1-7.

Hösl, K. M., Deutsch, M., Wang, R., Roy, S., Winder, K., Niklewski, G., Lee, D.-H., Linker, R. A., Hilz, M. J. (2018): Sexual Dysfunction Seems to Trigger

Depression in Female Multiple Sclerosis Patients. *Journal of European Neurology*, 80, pp. 34-41.

Hoyles, L., Snelling, T., Umlai, U.K., Nicholson, J.K., et al. (2018). Microbiome-host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood-brain barrier. *Journal of Microbiome*, 6 (1), pp. 55.

IBM (o. A.). Analysis of variance (ANOVA). Retrieved from: [https://www.ibm.com/support/knowledge-center/SSEP7J_11.1.0/com.ibm.swg.ba.cognos.ug_ca_dshb.doc/analysis_of_variance_\(anova\).html](https://www.ibm.com/support/knowledge-center/SSEP7J_11.1.0/com.ibm.swg.ba.cognos.ug_ca_dshb.doc/analysis_of_variance_(anova).html) on 20.02.2020.

Institute for Digital Research & Education (2020). T-Test. Stata annotated output. Retrieved from: <https://stats.idre.ucla.edu/stata/output/t-test/> on 20.02.2020.

Jakobsdottir, G., Jädert, C., Holm, L. & Nyman, M. E. (2013). Propionic and butyric acids, formed in the caecum of rats fed highly fermentable dietary fibre, are reflected in portal and aortic serum. *British Journal of Nutrition*, 110 (9), pp. 1565–1572.

Jangi, S., Gandhi, R., Cox, L. M., Li, N., von Glehn, F., Yan, R., Patel, B., Mazzola, M. A., Liu, S., Glanz, B. L., Cook, S., Tankou, S., Stuart, F., Melo, K., Nejad, P., Smith, K., Topçuoğlu, B. D., Holden, J., Kivisäkk, P., Chitnis, T., De Jager, P. L., Quintana, F. J., Gerber, G. K., Bry, L., Weiner, H. L. (2016). Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Journal of Nature communications*, 28 (7), 12015.

Jakobsdottir, G., Bjerregaard, J. H., Skovbjerg, H., Nyman, M. (2013). Fasting serum concentration of short-chain fatty acids in subjects with microscopic colitis and celiac disease: no difference compared with controls, but between genders. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 48 (6), pp. 696–701.

Kappos, L., Li, D., Calabresi, P. A., O'Connor, P., Bar-Or, A., Barkhof, F., Yin, M., Leppert, D., Glanzman, R., Tinbergen, J., Hauser, S. L. (2011). Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Journal Lancet*, 378 (9805), pp. 1779-1787.

Kornek, B., Storch, M. K., Weissert, R., Wallstroem, E., Stefferl, A., Olsson, T., Linington, C., Schmidbauer, M., Lassmann, H. (2000). Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive, and remyelinated lesions. *American Journal of Pathology*, 157 (1), pp. 267–76.

Kurtzke, J.F. (2005). Epidemiology and etiology of multiple sclerosis. *Journal of Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 16 (2), pp. 327–49.

La Cuesta-Zuluaga, J. de, Mueller, N. T., Álvarez-Quintero, R., Velásquez-Mejía, E. P., Sierra, J. A., Corrales-Agudelo, V. et al. (2018). Higher Fecal Short-Chain Fatty Acid Levels Are Associated with Gut Microbiome Dysbiosis, Obesity, Hypertension and Cardiometabolic Disease Risk Factors. *Journal of Nutrients*, 11 (1).

Lalanne, C. & Mesbah, M. (2016). 2 - Measures of Association, Comparisons of Means and Proportions for Two Samples or More. *Journal of Biostatistics and Computer-based Analysis of Health Data using Stata*, pp. 25-57.

Lattal, K.M., Barrett, R.M., Wood, M.A. (2007). Systemic or intrahippocampal delivery of histone deacetylase inhibitors facilitates fear extinction. *Journal of Behavior Neurosciences*, 121 (5), pp. 1125–1131.

Li, Q. & Zhou, J. M. (2016). The microbiota–gut–brain axis and its potential therapeutic role in autism spectrum disorder. *Journal of Neuroscience*, 324, pp. 131-139.

Lim, M. Y. L. & Loo, J. H. Y. (2018). Screening an elderly hearing impaired population for mild cognitive impairment using Mini-Mental State Examination (MMSE) and Montreal Cognitive Assessment (MoCA). *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 33 (7), pp. 972-979.

Löffler, M., Klein, A., Hayek-Ouassini, M., Knecht, W. & Konrad, L. (2004). Dihydroorotate dehydrogenase mRNA and protein expression analysis in normal and drug-resistant cells. *Journal of Nucleosides, nucleotides, and nucleic acids*, 23 (8-9), pp. 1281-1285.

Louis, P., Duncan, S. H., McCrae, S. I., Millar, J., Jackson, M. S., Flint, H. J. (2004). Restricted distribution of the butyrate kinase pathway among butyrate-producing bacteria from the human colon. *Journal of Bacteriology*, 186 (7), pp. 2099-2106.

Lundgren-Nilsson, A., Tennant, A., Jakobsson, S., Simrén, M., Taft, C. & Dencker, A. (2019). Validation of Fatigue Impact Scale with various item sets – a Rasch analysis. *Journal of Disability and Rehabilitation*, 41 (7), pp. 840-846.

Luu, M., Pautz, S., Kohl, V., Singh, R., Romero, R., Lucas, S. et al. (2019). The short-chain fatty acid pentanoate suppresses autoimmunity by modulating the metabolic-epigenetic crosstalk in lymphocytes. *Journal of Nature Communications*, 10 (1), pp.1–12.

Luzzio, C. (2020). Multiple Sclerosis Treatment & Management. Retrieved from: <https://emedicine.medscape.com/article/1146199-treatment#d10> on 15.05.2020.

Lynch, C. J., Adams, S. H. (2014). Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Journal of Nature reviews. Endocrinology*, 10(12), pp. 723-36.

Macfarlane, S. & Macfarlane, G. T. (2003). Regulation of short-chain fatty acid production. *Journal of Proceedings of the Nutrition Society* 62 (1), pp. 67–72.

Macia, L., Tan, J., Vieira, A. T., Leach, K., Stanley, D., et al. (2015). Metabotitesensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Journal of Nature communications*, 6, pp. 6734.

Manfred-Sauer-Stiftung (2020): Multiple Sklerose und Querschnittlähmung. Retrieved from: <https://www.der-querschnitt.de/archive/19706> on 22.02.2020.

Melbye, P., Olsson, A., Hansen, T. H., Søndergaard, H. B., & Oturai, A. B. (2018). Short-Chain Fatty Acids and Gut Microbiota in Multiple Sclerosis. *Journal of Acta Neurologica Scandinavica*, 139 (3), 208-219.

Milo, R. & Kahana, E. (2010). Multiple sclerosis: Geoeidemiology, genetics and the environment. *Journal of Autoimmunity Reviews*, 9 (5), pp. A387–A394.

Milo, R. & Miller, A. (2014): Revised diagnostic criteria of multiple sclerosis. *Journal of Autoimmunity Reviews*, 13 (4–5), pp. 518-524.

Miyake, S., Kim, S., Suda, W., Oshima, K., Nakamura, M., Matsuoka, T., Chihara, N., Tomita, A., Sato, W., Kim, S. W., Morita, H., Hattori, M., Yamamura, T. (2015). Dysbiosis in the Gut Microbiota of Patients with Multiple Sclerosis, with a Striking Depletion of Species Belonging to Clostridia XIVa and IV Clusters. *Journal PloS one*, 14, 10 (9), e0137429.

Mizuno, M., Noto, D., Kaga, N., Chiba, A., Miyake, S. (2017). The dual role of short fatty acid chains in the pathogenesis of autoimmune disease models. *Journal PloS one*, 12 (2), e0173032.

Nelson, S. M., Nguyen, T. M., McDonald, J. W., MacDonald, J. K. (2018). Natalizumab for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database System Review*, 8, CD006097.

Nilsson, A., Johansson, E., Ekstrom, L. & Bjorck, I. (2013). Effects of a brown beans evening meal on metabolic risk markers and appetite regulating hormones at a subsequent standardized breakfast: a randomized cross-over study. *Journal PLoS One*, 8 (4), e59985.

Novustat (2018). SPSS Boxplot richtig interpretieren – Was Sie aus Grafiken lernen können. Retrieved from: <https://novustat.com/statistik-blog/spss-boxplot-interpretieren.html> on 15.05.2020.

Opazo, M. C., Ortega-Rocha, E. M., Coronado-Arrázola, I., Bonifaz, L. C., Boudin, H., Neunlist, M., Bueno, S. M., Kalergis, A. M. & Riedel, C. A. (2018). Intestinal Microbiota Influences Non-intestinal Related Autoimmune Diseases. *Journal of Frontiers in microbiology*, 12 (9), pp. 432-452.

Oxford Reference (2020). Shapiro–Wilk test. Retrieved from: <https://www.oxfordreference.com/view/10.1093/oi/authority.20110803100459546> on 15.05.2020.

Pathirana, W. G. W., Chubb, S. P., Gillett, M. J. & Vasikaran, S. D. (2018). Faecal calprotectin. *Journal of Clinical Biochemistry Reviews*, 39 (3), pp. 77-90.

Park, J., Wang, Q., Wu, Q., Mao-Draayer, Y. & Kim, C. H. (2019). Bidirectional regulatory potentials of short-chain fatty acids and their G-protein-coupled receptors in autoimmune neuroinflammation. *Journal of Scientific Report*, 9 (1), pp. 1–13.

Perry, R. J., Borders, C. B., Cline, G. W., Zhang, X.-M., Alves, T. C., Petersen, K. F., Rothman, D. L., Kibbey, R. G. & Shulman, G. I. (2016). Propionate increases hepatic pyruvate cycling and anaplerosis and alters mitochondrial metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 291 (23), pp. 12161–12170.

Pfeifer, J. (2016). Obstipation. *Expertise Allgemein- und Viszeralchirurgie Koloproktologie*, pp. 160.

Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Lublin, F. D., Montalban, X., O'Connor, P., Sandberg-Wollheim, M., Thompson, A. J., Waubant, E., Weinshenker, B. & Wolinsky, J. S. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Journal of Annals of Neurology*, 69 (2), pp. 292-302.

Rahman, H. M. A., Hefter, G. & Buchner, R. (2012). Hydration of Formate and Acetate Ions by Dielectric Relaxation Spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry B* 2012, 116 (1) , pp. 314-323.

Rizzetto L, Fava F, Tuohy KM, Selmi C. (2018). Connecting the immune system, systemic chronic inflammation and the gut microbiome: The role of sex. *Journal of Autoimmunity*, 92, pp. 12–34.

Rosati, G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Journal of Neurological Sciences*, 22, pp. 117–39.

Russell, W. R., Gratz, S. W., Duncan, S. H., Holtrop, G., Ince, J., Scobbie, L., Duncan, G., Johnstone, A. M., Lobley, G. E., Wallace, R. J., Duthie, G. G., Flint, H. J. (2011). High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *American Journal of Clinical Nutrition*, 93 (5), pp. 1062-1072.

Schilderink, R., Verseijden, C., and de Jonge, W. J. (2013). Dietary inhibitors of histone deacetylases in intestinal immunity and homeostasis. *Journal of Frontiers in immunology*, 4, pp. 226.

Schreiber, K. & Sorensen, P. S. (2011). Cladribine in the treatment of multiple sclerosis. *Journal of Clinical Investigation*, 1 (2), 317-326.

Scott, K..P., Martin, J. C., Campbell, G., Mayer, C.-D., Flint, H.J. (2006). Whole-genome transcription profiling reveals genes up-regulated by growth on

fructose in the human gut bacterium “Roseburia inulinivorans”. *Journal of Bacteriology*, 188, pp. 4340-4349.

Smith, P. M., Howitt, M. R., Panikov, N., Michaud, M., et al., (2013). The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Journal of Science* 341, pp. 569–573.

Speranza, E., Cioffi, I., Santarpia, L., Del Piano, C., Caprio, C. de, Naccarato, M. et al. (2018). Fecal Short Chain Fatty Acids and Dietary Intake in Italian Women With Restrictive Anorexia Nervosa: A Pilot Study. *Journal of Frontier Nutrition*, 5, pp. 119.

SPSS tutorials (2020). SPSS Mann-Whitney Test – Simple Example. Retrieved from: <https://www.spss-tutorials.com/spss-mann-whitney-test-simple-example/> on 20.02.2020.

Statistical Solutions (2020). Kruskal-Wallis Test. Retrieved from: <https://www.statisticssolutions.com/kruskal-wallis-test/> on 20.02.2020.

Storm-Larsen, C., Myhr, K.-M., Farbu, E., Midgard, R., Nyquist, K., Broch, L. et al. (2019). Gut microbiota composition during a 12-week intervention with delayed-release dimethyl fumarate in multiple sclerosis - a pilot trial. *Multiple Sclerosis Journal*, 5 (4), 2055217319888767.

Sun, L., Shi, T., Qiao, H., Jiang, X., Jiang, H., Krissansen, G. W. & Sun, X. (2011). Hepatic overexpression of heme oxygenase-1 improves liver allograft survival by expanding T regulatory cells. *Journal of surgical research*, 166 (2), pp. e187-194.

Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., and Macia, L. (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Journal of Advances in immunology*, 121, pp. 91–119.

Tilg, H. & Moschen, A. R. (2015). Food, immunity, and the microbiome. *Journal of Gastroenterology*, 148 (6), pp. 1107–1119.

Trompette, A., Gollwitzer, E. S., Yadava, K., Sichelstiel, A. K., Sprenger, N., Ngom-Bru, C., Blanchard, C., Junt, T., Nicod, L. P., Harris, N. L., Marsland, B. J. (2014). Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Journal of Nature medicine*, 20 (2), 159-166.

Tullman, M. J. (2013). Overview of the Epidemiology, Diagnosis, and Disease Progression Associated With Multiple Sclerosis. *American journal of managed care*, 19 (2), pp. 15-20.

Wurth, Dr. S. (2017). Revision der MS-Diagnosekriterien. Retrieved from: <https://oegpb.at/2018/04/04/revision-der-ms-diagnosekriterien/> on 14.05.2020.

van Horssen, J., Witte, M. E., Schreibelt, G., de Vries, H. E. (2011). Radical changes in multiple sclerosis pathogenesis. *International Journal of Biochemistry and Biophysics*, 1812 (2), pp. 141–50.

Viemann, D., Barczyk, K., Vogl, T., Fischer, U., Sunderkötter, C., Schulze-Osthoff, K. & Roth, J. (2007). MRP8/MRP14 impairs endothelial integrity and induces a caspase-dependent and -independent cell death program. *Journal of Blood*, 109 (6), pp. 2453–60.

Vital, M., Howe, A. C., Tiedje J. M. (2014). Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. *Journal of American Society for Microbiology*, 5, pp. e00889.

Zeng, Q., Gong, J., Liu, X., Chen, C., Sun, X., Li, H., Zhou, Y., Cui, CP., Wand, Y., Yang, Y., Wu, A. et al. (2019). Gut dysbiosis and lack of short chain fatty acids in a Chinese cohort of patients with multiple sclerosis. *Journal of Neurochemistry International*, 129, 104468.

Ziemssen, T. & Schrempf, W. (2007). Glatiramer Acetate: Mechanisms of Action in Multiple Sclerosis. *Journal of International Review of Neurobiology*, 79, pp. 537-570.

Zurawski, J., Glanz B. I., Chua A., Lokhande, H., Rotstein, D., Weiner, H., Engler, D., Chitnis, T., Healy, B. C. (2019). Time between expanded disability status scale (EDSS) scores. *Journal of Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 30, pp. 98-103.

6. Anhang

Universitätsklinikum des Saarlandes, Klinik für Neurologie
Gebäude 90, D-66421 Homburg

Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. med. K. Faßbender
Gebäude 90, D-66421 Homburg
Telefon 0 68 41 / 16 - 2 41 00
Web www.uks.eu/neurologie

Name PD Dr. med. Marcus M. U
E-Mail marcus.unger@uks.eu
Telefon 0 68 41 / 16 - 2 41 00 (Pf)

Datum: 05. Juli 2018

Probandeninformation zur Studie

Entzündungsmarker im Stuhl bei Patienten mit Multipler Sklerose und Kontrollpersonen

Sehr geehrte Damen und Herren,

mit diesem Schreiben möchten wir Sie über den Hintergrund, Zweck und
Ablauf der oben genannten Studie informieren und Sie um Ihre
Teilnahme als Patient(in) bitten.

als Kontrollperson

Verantwortlicher Studienleiter:

PD Dr. med. Marcus Unger
Oberarzt
Klinik für Neurologie
Univ.klinikum d. Saarlandes
Kirrberger Straße
66421 Homburg/Saar
Tel.: 06841 16 24100
marcus.unger@uks.eu

Weitere beteiligte Ärzte:

Dr. Mathias Fousse
Oberarzt
Klinik für Neurologie
Univ.klinikum d. Saarlandes
Kirrberger Straße
66421 Homburg/Saar
Tel.: 06841 16 24100
mathias.fousse@uks.eu

Mosab Abuazab
Oberarzt
Klinik für Neurologie
Gesundheitszentrum Giental
Liebfrauenberg 32
55590 Meisenheim
Tel.: 06753 9 10-0
mosababuazab24@hotmail.de

Wissenschaftlicher Hintergrund und Gründe für die Durchführung dieser Studie

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine Erkrankung bei der es durch Entzündungsprozesse im Gehirn und Rückenmark zu einer Störung der Nervenfunktion kommt. Als Folge dieser gestörten Nervenfunktion können unter anderem Sehstörungen, Gefühlsstörungen und Lähmungen auftreten.

Die Prozesse, die bei der MS zu den genannten Entzündungen im Gehirn und Rückenmark führen, sind noch nicht vollständig verstanden. Inzwischen gibt es eine Vielzahl von Hinweisen, dass unter anderem die Ernährung und die Art der bakteriellen Besiedelung im Darm Einfluss auf die Krankheitsaktivität bei MS haben könnten: so hemmen beispielsweise kurzkettige Fettsäuren (die von Darmbakterien produziert werden) die Entzündungsaktivität im Körper. Dieser Mechanismus spielt möglicherweise auch bei MS eine Rolle. Der Krankheitsprozess bei MS könnte demnach auch von einer Entzündungsaktivität im Darm mitbeeinflusst werden.

Mit Hilfe einer Stuhlprobe lassen sich Rückschlüsse auf eine Entzündungsaktivität im Darm ziehen. Dies ist möglich, indem Stoffe im Stuhl gemessen werden, die bei einer Entzündung vermehrt in den Darm freigesetzt werden. Von anderen Erkrankungen ist bekannt, dass die Konzentration dieser Stoffe im Stuhl die Entzündungsaktivität im Darm widerspiegelt.

Im Rahmen dieser Studie werden wir bei Patienten mit MS und einer Gruppe von Kontrollpersonen diese Stoffe im Stuhl anhand einer Stuhlprobe bestimmen. Ziel ist es zu sehen, ob sich MS Patienten von Kontrollpersonen unterscheiden und ob die Entzündungsaktivität im Darm in Zusammenhang mit Schubereignissen bei MS steht.

Im beiliegenden Aufklärungsbogen können Sie sich vorab über den Ablauf dieser Studie informieren. Ihr Arzt wird Ihnen in einem persönlichen Aufklärungsgespräch noch weitere Informationen geben und Ihre Fragen beantworten.

Durchführung und Ablauf der Studie

Die Studie wird an der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums des Saarlandes sowie an der Neurologischen Klinik des Gesundheitszentrums Glantal durchgeführt. Die Namen der beteiligten Ärzte mit Kontaktmöglichkeiten finden Sie auf der ersten Seite dieses Schreibens. Wenn Sie sich für eine freiwillige Teilnahme an der Studie entscheiden, werden Ihnen einige Fragen zu Ihrem Gesundheitszustand und Ihrer Medikation gestellt. Sie werden körperlich und neurologisch untersucht werden. Sofern sich hieraus keine Gründe ergeben, die gegen eine Teilnahme an der Studie sprechen, werden Sie gebeten, im Rahmen eines Toilettenganges (zu Hause) ca. 5 g Stuhl in ein dafür bereit gestelltes Röhrchen abzufüllen und in einem vorfrankierten Umschlag zur Analyse einzusenden. Ihr Arzt wird Sie nochmals umfassend über den genauen Ablauf informieren.

Risiken und Komplikationen

Die Gewinnung der Stuhlprobe erfolgt wie oben beschrieben nicht-invasiv, so dass nicht von Risiken oder Komplikationen für Sie auszugehen ist.

Freiwilligkeit und Widerruf der Einwilligung

Ihre Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Sie haben zu jedem Zeitpunkt und ohne Angaben von Gründen das Recht, Ihre Zustimmung zu widerrufen (ein Widerruf der Einwilligung in mündlicher Form ist hierfür ausreichend), ohne dass sich diese Entscheidung nachteilig für Sie auswirken wird. Im Falle eines Widerrufs Ihrer Einwilligung haben Sie das Recht, die Löschung aller Ihrer bis dahin gespeicherten personenbezogenen Daten zu verlangen.

Datenschutz

Alle personenbezogenen Daten sind nur den an der Studie beteiligten Ärzten zugänglich und werden unter Achtung der Schweigepflicht vertraulich behandelt. Alle im Rahmen der Studie gewonnenen Daten werden nach Pseudonymisierung (Verschlüsselung) ausgewertet und auf einem elektronischen Datenträger in verschlüsselter Form gespeichert. Pseudonymisierung bedeutet, dass allen von Ihnen erhobenen Daten nicht Ihr Name, sondern eine Kombination aus Zahlen und Buchstaben zugeordnet wird, die keine Rückschlüsse auf Ihre Person erlaubt. Rückschlüsse auf Ihre Person sind nur mit Hilfe einer Schlüsseliste möglich, welche vom Projektleiter verschlossen aufbewahrt und 2 Jahre nach Ende der Studie vernichtet wird. Auch die Stuhlprobe, die Sie auf dem normalen Postweg zur Analyse einschicken, ist

nur mit dem oben beschriebenen Pseudonym versehen und erhält keine persönlichen Daten von Ihnen.

Vielen Dank, dass Sie diese Informationsschrift gelesen haben. Zur Beantwortung noch offener Fragen stehen wir Ihnen selbstverständlich gerne zur Verfügung. Wenn Sie sich entschließen, an der Studie teilzunehmen, werden Sie gebeten, die nachfolgende Einwilligungserklärung zu unterschreiben. Sie erhalten eine Kopie dieser Aufklärung und eine Kopie der Einwilligungserklärung.

Einwilligungserklärung zur freiwilligen Teilnahme an der Studie

**Entzündungsmarker im Stuhl bei Patienten mit Multipler Sklerose und
Kontrollpersonen**

Ich,..... (Name der / des Probandin/Probanden), wurde von Frau / Herrn(Name der Ärztin / des Arztes) vollständig über Wesen und Ablauf der o. g. Studie aufgeklärt. Ich habe den Aufklärungstext gelesen und verstanden. Ich hatte ausreichend Möglichkeit, Fragen zu stellen und habe die Antworten verstanden. Meine Ärztin bzw. mein Arzt hat mich über die mit der Studie verbundenen Risiken informiert. Ich hatte ausreichend Zeit, mich für oder gegen eine Teilnahme an dieser Studie zu entscheiden und weiß, dass die Teilnahme **freiwillig** ist. Ich weiß, dass ich zu jedem Zeitpunkt und ohne Angaben von Gründen diese Zustimmung widerrufen kann (ein Widerruf in mündlicher Form ist hierfür ausreichend), ohne dass sich dieser Entschluss nachteilig auswirken wird. Mir ist bekannt, dass die erhobenen Daten in verschlüsselter Form elektronisch gespeichert und zwei Jahre nach Abschluss der Studie vernichtet werden.

Mit meinem Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme an der o. g. Studie erkläre ich gleichzeitig, dass ich mit der im Rahmen dieser Studie erfolgenden Aufzeichnung von Daten über meine Gesundheit in Papierform und auf elektronischen Datenträgern einverstanden bin. Ich habe eine Kopie der Studieninformation sowie eine Kopie dieser Einwilligungserklärung ausgehändigt bekommen. Mit meiner Unterschrift erkläre ich meine freiwillige Teilnahme an der oben genannten Studie.

_____, den _____

Ich bestätige, dass ich die/den o. g. Probandin/Probanden umfassend über die o. g. Studie aufgeklärt habe.

_____, den _____

6.2 Anamnesebogen

**Universitätsklinikum
des Saarlandes**
Neurologische Klinik
Direktor: Prof. Dr. med. Faßbender

**Gesundheitszentrum
Glantal**
Neurologische Klinik
Chefärztin Frau Dr.med.
von der Osten-Sacken

STUDIE:
Calprotectin und kurzkettige Fettsäuren im Stuhl
bei Patienten mit Multipler Sklerose und Kontrollpersonen

Multiple Sklerose Patient(in) ()

Kontrollperson ()

| | | |
|------------------------|--------------|-------------|
| ----- | | |
| Name, Vorname | | |
| ----- | | |
| Geburtsdatum | Probanden ID | |
| ----- | | |
| Straße | PLZ. | Wohnort |
| ----- | | |
| Telefonnummer | | |
| ----- | | |
| Datum der Untersuchung | | Untersucher |

Einschlusskriterien für alle Probanden (Patienten und Kontrollpersonen):

| | | |
|---|--------|----------|
| Alter von 18 bis 80 Jahre | ja () | nein () |
| Schriftliches Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme an der Studie | ja () | nein () |
| Fähigkeit, Risiken und Komplikationen der Untersuchungen zu verstehen und zu beurteilen | ja () | nein () |

Zusätzliche Einschlusskriterien für Patienten:

| | | |
|--|--------|----------|
| Diagnose einer Multiplen Sklerose nach den McDonald-Kriterien 2017 | ja () | nein () |
|--|--------|----------|

Ausschlusskriterien für alle Probanden (Patienten und Kontrollpersonen):

| | | |
|---|--------|----------|
| Nicht einwilligungsfähige Person | ja () | nein () |
| Schwangere Frau | ja () | nein () |
| Vorliegen einer neurodegenerativen Erkrankung | ja () | nein () |
| Vorliegen einer kontrollierten psychiatrischen Erkrankung | ja () | nein () |

Probanden ID:

| | | |
|---|--------|----------|
| Vorliegen einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung | ja () | nein () |
| Vorliegen einer akuten Magen-Darmerkrankung | ja () | nein () |
| Vorliegen einer akuten Infektionserkrankung in den zurückliegenden 4 Wochen | ja () | nein () |
| Antibiotika- oder Antimykotikaeinnahme in den zurückliegenden 8 Wochen | ja () | nein () |

Zusätzliche Ausschlusskriterien für Kontrollpersonen:

| | | |
|---|--------|----------|
| Vorliegen einer entzündlichen ZNS-Erkrankung | ja () | nein () |
| Vorliegen einer anderen autoimmun-vermittelten Erkrankung | ja () | nein () |

Anamnese

| | | |
|--|--------|----------|
| Monat/Jahr der Erstdiagnose bei Pat./ Hauptdiagnose bei Kontrollpersonen | | |
| Schubförmige MS ohne aktuelle Schubaktivität | ja () | nein () |
| Schubförmige MS während eines akuten Schubereignisses | ja () | nein () |
| Moderate oder aktive/hochaktive MS ? | | |
| Anzahl der Schübe/Jahr | | |
| Wie lange liegt die letzte Cortisontherapie zurück ? | | |
| Bisherige bzw. frühere immunmodul./suppressive Therapien | | |

Körperliche und neurologische Untersuchung

Familienanamnese (insbesondere für MS oder andere autoimmunvermittelte Erkrankungen)

Vorerkrankungen

Probanden ID:

| | | |
|---|--------|----------|
| Z.n. Operationen am GI-Trakt | ja () | nein () |
| Z.n. Appendektomie | ja () | nein () |
| Wenn ja: wann ? | | |
| Z.n. Schwerer GI-Erkrankung (z.B. Divertikulitis) | ja () | nein () |
| Chronische Erkrankung des GI-Traktes | ja () | nein () |

Aktuelle (zurückliegende 4 Wochen) GI-Symptome

| | | |
|-------------------------------|--------|----------|
| Bauchschmerzen im Allgemein | ja () | nein () |
| Bauchschmerzen nach dem Essen | ja () | nein () |
| Bauchschmerzen nüchtern | ja () | nein () |
| Bauchkrämpfe | ja () | nein () |
| Sodbrennen | ja () | nein () |
| Völlegefühl | ja () | nein () |
| Blähungen | ja () | nein () |
| Appetitverlust | ja () | nein () |
| Übelkeit | ja () | nein () |
| Erbrechen | ja () | nein () |
| Durchfall | ja () | nein () |
| Obstipation | ja () | nein () |
| Wenn ja: Obstipation-Score | | |

Ernährung

Liegen Nahrungsmittelunverträglichkeit vor ?
 Besonderheiten der Ernährung (vegetarisch ?, Vegan ?)

| | | |
|-------------------------------|--------|----------|
| Raucher | ja () | nein () |
| Wenn ja: aktueller Konsum/Tag | PY: | |

Alkoholkonsum (Art, Durchschnitt/ Tag oder Woche)

| | | |
|---|--------|----------|
| Nehmen Sie Bedarfsmedikation ? (NSAID, Protonenpumpenhemmer) | ja () | nein () |
| Wenn ja: welche ? | | |

Probanden ID:

Aktuelle Medikation

| Name oder Wirkstoff | Dosierung | morgens | mittags | abends | nachts |
|---------------------|-----------|---------|---------|--------|--------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

Laborwerte:

CRP:

Leukozyten:

Erythrozyten:

Thrombozyten:

Mini-Mental-Status-Test (MMST)

(modifiziert nach Folstein, Folstein & McHugh)

Zeitliche Orientierung

(Frage: „Welchen Tag haben wir heute?“)

- Tag
- Monat
- Jahr
- Wochentag
- Jahreszeit

Örtliche Orientierung

(Frage: „Wo sind wir jetzt?“)

- Stadt
- Stadtteil
- Bundesland
- Klinik/Pflegeheim/Praxis
- Station/Stockwerk

Merkfähigkeit

(Folgende 3 Gegenstände nennen, dann zur Wiederholung auffordern)

- Apfel
- Schlüssel
- Ball

Aufmerksamkeit und Rechnen

(Jeweils 7 von 100 abziehen oder „STUHL“ rückwärts buchstabieren)

- 93 oder „L“
- 86 oder „H“
- 79 oder „U“
- 72 oder „T“
- 65 oder „S“

Erinnern

(Frage: „Was waren die Dinge, die Sie sich vorhin gemerkt haben?“)

- Apfel
- Schlüssel
- Ball

Benennen

(Die Testperson soll die folgenden zwei Gegenstände benennen)

- Armbanduhr
- Bleistift/Kugelschreiber

Wiederholen

(Die Testperson soll den folgenden Satz nachsprechen; nur ein Versuch ist erlaubt)

- „Kein Wenn und Aber“

Dreiteiliger Befehl

(„Nehmen Sie das Blatt Papier, falten es in der Mitte und lassen es auf den Boden fallen“)

- „Nehmen Sie das Blatt Papier,“
- „falten es in der Mitte“
- „und lassen es auf den Boden fallen“

Reagieren

(Die Testperson soll den Satz: „Schließen Sie die Augen“ lesen und befolgen)

- Testperson schließt die Augen

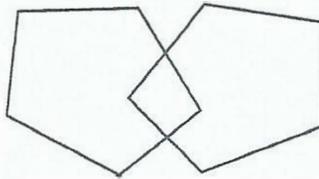
Schreiben

(Die Testperson soll einen beliebigen vollständigen Satz aufzuschreiben)

- Sinnhafter Satz mit Subjekt und Verb

Abzeichnen

(Testperson soll die folgende Zeichnung abzeichnen)



- Zwei sich an einer Ecke überschneidende 5-Ecke

Gesamtpunktzahl..... ____ (max. 30)

Interpretation des Testergebnisses

| Punkte | Beurteilung |
|---------------|----------------------|
| 30-27 | Keine Demenz |
| 26-20 | Leichte Demenz |
| 19-10 | Mittelschwere Demenz |
| ≤9 | Schwere Demenz |

6.4 Beck-Depressions Inventar (BDI)

BDI

Name: _____

Geschlecht: _____

Geburtsdatum: _____

Ausfülldatum: _____

Dieser Fragebogen enthält 21 Gruppen von Aussagen. Bitte lesen Sie jede Gruppe sorgfältig durch. Suchen Sie dann die eine Aussage in jeder Gruppe heraus, die am besten beschreibt, wie Sie sich in dieser Woche einschließlich heute gefühlt haben und kreuzen Sie die dazugehörige Ziffer (0, 1, 2 oder 3) an. Falls mehrere Aussagen einer Gruppe gleichermaßen zutreffen, können Sie auch mehrere Ziffern markieren. Lesen Sie auf jeden Fall alle Aussagen in jeder Gruppe, bevor Sie Ihre Wahl treffen.

A

- 0 Ich bin nicht traurig.
- 1 Ich bin traurig.
- 2 Ich bin die ganze Zeit traurig und komme nicht davon los.
- 3 Ich bin so traurig oder unglücklich, daß ich es kaum noch ertrage.

B

- 0 Ich sehe nicht besonders mutlos in die Zukunft.
- 1 Ich sehe mutlos in die Zukunft.
- 2 Ich habe nichts, worauf ich mich freuen kann.
- 3 Ich habe das Gefühl, daß die Zukunft hoffnungslos ist, und daß die Situation nicht besser werden kann.

C

- 0 Ich fühle mich nicht als Versager.
- 1 Ich habe das Gefühl, öfter versagt zu haben als der Durchschnitt.
- 2 Wenn ich auf mein Leben zurückblicke, sehe ich bloß eine Menge Fehlschläge.
- 3 Ich habe das Gefühl, als Mensch ein völliger Versager zu sein.

D

- 0 Ich kann die Dinge genauso genießen wie früher.
- 1 Ich kann die Dinge nicht mehr so genießen wie früher.
- 2 Ich kann aus nichts mehr eine echte Befriedigung ziehen.
- 3 Ich bin mit allem unzufrieden oder gelangweilt.

E

- 0 Ich habe keine Schuldgefühle.
- 1 Ich habe häufig Schuldgefühle.
- 2 Ich habe fast immer Schuldgefühle.
- 3 Ich habe immer Schuldgefühle.

F

- 0 Ich habe nicht das Gefühl, gestraft zu sein.
- 1 Ich habe das Gefühl, vielleicht bestraft zu werden.
- 2 Ich erwarte, bestraft zu werden.
- 3 Ich habe das Gefühl, bestraft zu sein.

G

- 0 Ich bin nicht von mir enttäuscht.
- 1 Ich bin von mir enttäuscht.
- 2 Ich finde mich fürchterlich.
- 3 Ich hasse mich.

H

- 0 Ich habe nicht das Gefühl, schlechter zu sein als alle anderen.
- 1 Ich kritisiere mich wegen meiner Fehler und Schwächen.
- 2 Ich mache mir die ganze Zeit Vorwürfe wegen meiner Mängel.
- 3 Ich gebe mir für alles die Schuld, was schiefgeht.

I

- 0 Ich denke nicht daran, mir etwas anzutun.
- 1 Ich denke manchmal an Selbstmord, aber ich würde es nicht tun.
- 2 Ich möchte mich am liebsten umbringen.
- 3 Ich würde mich umbringen, wenn ich die Gelegenheit hätte.

J

- 0 Ich weine nicht öfter als früher.
- 1 Ich weine jetzt mehr als früher.
- 2 Ich weine jetzt die ganze Zeit.
- 3 Früher konnte ich weinen, aber jetzt kann ich es nicht mehr, obwohl ich es möchte.

_____ Subtotal Seite 1

K

- 0 Ich bin nicht reizbarer als sonst.
- 1 Ich bin jetzt leichter verärgert oder gereizt als früher.
- 2 Ich fühle mich dauernd gereizt.
- 3 Die Dinge, die mich früher geärgert haben, berühren mich nicht mehr.

L

- 0 Ich habe nicht das Interesse an Menschen verloren.
- 1 Ich interessiere mich jetzt weniger für Menschen als früher.
- 2 Ich habe mein Interesse an anderen Menschen zum größten Teil verloren.
- 3 Ich habe mein ganzes Interesse an anderen Menschen verloren.

M

- 0 Ich bin so entschlußfreudig wie immer.
- 1 Ich schiebe Entscheidungen jetzt öfter als früher auf.
- 2 Es fällt mir jetzt schwerer als früher, Entscheidungen zu treffen.
- 3 Ich kann überhaupt keine Entscheidungen mehr treffen.

N

- 0 Ich habe nicht das Gefühl, schlechter auszu- sehen als früher.
- 1 Ich mache mir Sorgen, daß ich alt oder unattraktiv aussehe.
- 2 Ich habe das Gefühl, daß Veränderungen in meinem Aussehen eintreten, die mich häßlich machen.
- 3 Ich finde mich häßlich.

O

- 0 Ich kann so gut arbeiten wie früher.
- 1 Ich muß mir einen Ruck geben, bevor ich eine Tätigkeit in Angriff nehme.
- 2 Ich muß mich zu jeder Tätigkeit zwingen.
- 3 Ich bin unfähig zu arbeiten.

P

- 0 Ich schlafe so gut wie sonst.
- 1 Ich schlafe nicht mehr so gut wie früher.
- 2 Ich wache 1 bis 2 Stunden früher auf als sonst, und es fällt mir schwer, wieder einzuschlafen.
- 3 Ich wache mehrere Stunden früher auf als sonst und kann nicht mehr einschlafen.

Q

- 0 Ich ermüde nicht stärker als sonst.
- 1 Ich ermüde schneller als früher.
- 2 Fast alles ermüdet mich.
- 3 Ich bin zu müde, um etwas zu tun.

R

- 0 Mein Appetit ist nicht schlechter als sonst.
- 1 Mein Appetit ist nicht mehr so gut wie früher.
- 2 Mein Appetit hat sehr stark nachgelassen.
- 3 Ich habe überhaupt keinen Appetit mehr.

S

- 0 Ich habe in letzter Zeit kaum abgenommen.
- 1 Ich habe mehr als 2 Kilo abgenommen.
- 2 Ich habe mehr als 5 Kilo abgenommen.
- 3 Ich habe mehr als 8 Kilo abgenommen.

Ich esse absichtlich weniger, um abzunehmen:

JA NEIN

T

- 0 Ich mache mir keine größeren Sorgen um meine Gesundheit als sonst.
- 1 Ich mache mir Sorgen über körperliche Probleme, wie Schmerzen, Magenbeschwerden oder Verstopfung.
- 2 Ich mache mir so große Sorgen über gesundheitliche Probleme, daß es mir schwerfällt, an etwas anderes zu denken.
- 3 Ich mache mir so große Sorgen über gesundheitliche Probleme, daß ich an nichts anderes mehr denken kann.

U

- 0 Ich habe in letzter Zeit keine Veränderung meines Interesses an Sex bemerkt.
- 1 Ich interessiere mich weniger für Sex als früher.
- 2 Ich interessiere mich jetzt viel weniger für Sex.
- 3 Ich habe das Interesse an Sex völlig verloren.

_____ Subtotal Seite 2

_____ Subtotal Seite 1

_____ Summenwert

6.5 Fatigue Impact Scale (FIS)

Tab. 1 Fatigue Impact Scale (Müdigkeitsskala) FIS-D (deutsche Version).

Mit den folgenden Fragen soll erfasst werden, wie ausgeprägt Sie im letzten Monat einschließlich des heutigen Tages durch Erschöpfung beeinträchtigt gewesen sind. Bitte beantworten Sie alle Fragen und wählen Sie nur eine Antwort durch Ankreuzen aus

| Wegen meiner Müdigkeit ... | nie | selten | manchmal | oft | sehr oft |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. fühle ich mich weniger geistig frisch | <input type="checkbox"/> |
| 2. habe ich das Gefühl, dass ich mehr von sozialen Kontakten abgeschnitten bin | <input type="checkbox"/> |
| 3. muss ich meinen Arbeitsumfang oder meine Verpflichtungen einschränken | <input type="checkbox"/> |
| 4. bin ich launischer | <input type="checkbox"/> |
| 5. fällt es mir schwer, mich längere Zeit zu konzentrieren | <input type="checkbox"/> |
| 6. habe ich das Gefühl, dass ich nicht klar denken kann | <input type="checkbox"/> |
| 7. arbeite ich weniger effektiv (außerhalb und innerhalb meiner Wohnung) | <input type="checkbox"/> |
| 8. muss ich mich mehr auf andere Menschen verlassen, die mir helfen oder Dinge für mich erledigen | <input type="checkbox"/> |
| 9. habe ich Schwierigkeiten, Aktivitäten im Voraus zu planen | <input type="checkbox"/> |
| 10. bin ich unbeholfener und kann meine Bewegungen schlechter aufeinander abstimmen | <input type="checkbox"/> |
| 11. habe ich den Eindruck, vergesslicher zu sein | <input type="checkbox"/> |
| 12. bin ich reizbarer und schneller verärgert | <input type="checkbox"/> |
| 13. muss ich meine körperlichen Aktivitäten sorgfältig einteilen | <input type="checkbox"/> |
| 14. bin ich weniger motiviert, etwas körperlich Anstrengendes zu tun | <input type="checkbox"/> |
| 15. bin ich weniger motiviert, an sozialen Aktivitäten teilzunehmen | <input type="checkbox"/> |
| 16. ist meine Fähigkeit, mich außerhalb meiner Wohnung zu bewegen, eingeschränkt | <input type="checkbox"/> |
| 17. habe ich Schwierigkeiten, körperliche Anstrengungen über einen längeren Zeitraum durchzuhalten | <input type="checkbox"/> |
| 18. fällt es mir schwer, Entscheidungen zu treffen | <input type="checkbox"/> |
| 19. habe ich wenige soziale Kontakte außerhalb meiner Wohnung | <input type="checkbox"/> |
| 20. strengt mich Alltägliches an | <input type="checkbox"/> |
| 21. bin ich weniger motiviert, irgendetwas zu tun, das Nachdenken erfordert | <input type="checkbox"/> |
| 22. vermeide ich Situationen, die belastend für mich sind | <input type="checkbox"/> |
| 23. fühlen sich meine Muskeln viel schwächer an, als sie sollten | <input type="checkbox"/> |
| 24. hat mein körperliches Unwohlsein zugenommen | <input type="checkbox"/> |
| 25. habe ich Schwierigkeiten, mit etwas Neuem umzugehen | <input type="checkbox"/> |
| 26. bin ich weniger in der Lage, Aufgaben zu beenden, die Nachdenken erfordern | <input type="checkbox"/> |
| 27. fühle ich mich nicht in der Lage dazu, den Anforderungen anderer an mich nachzukommen | <input type="checkbox"/> |
| 28. bin ich weniger in der Lage, mich und meine Familie finanziell zu unterhalten | <input type="checkbox"/> |
| 29. bin ich sexuell weniger aktiv | <input type="checkbox"/> |
| 30. fällt es mir schwer, meine Gedanken zusammenzuhalten, wenn ich Dinge zu Hause oder auf der Arbeit erledige | <input type="checkbox"/> |
| 31. kann ich weniger gut Aufgaben erledigen, die körperliche Anstrengung erfordern | <input type="checkbox"/> |
| 32. Sorge ich mich, wie andere Menschen mein körperliches Aussehen beurteilen | <input type="checkbox"/> |
| 33. bin ich weniger in der Lage, mich mit Gefühlsdingen zu beschäftigen | <input type="checkbox"/> |
| 34. habe ich das Gefühl, dass ich langsam denke | <input type="checkbox"/> |
| 35. finde ich es schwer, mich zu konzentrieren | <input type="checkbox"/> |
| 36. habe ich Probleme, mich vollständig an familiären Aktivitäten zu beteiligen | <input type="checkbox"/> |
| 37. muss ich meine körperlichen Aktivitäten einschränken | <input type="checkbox"/> |
| 38. brauche ich häufigere oder längere Ruhepausen | <input type="checkbox"/> |
| 39. kann ich meiner Familie nicht so viel gefühlsmäßige Unterstützung zukommen lassen, wie ich sollte | <input type="checkbox"/> |
| 40. scheinen kleine Schwierigkeiten große Schwierigkeiten zu sein | <input type="checkbox"/> |

FIS-D

Auswertung: sehr oft = 4, oft = 3, manchmal = 2, selten = 1, nie = 0

Subskalen der Originalversion: kognitive Dimension: Items 1, 5, 6, 11, 18, 21, 26, 30, 34, 35 (Spannweite 0–40)

körperliche Dimension: Items 10, 13, 14, 17, 23, 24, 31, 32, 37, 38 (Spannweite 0–40)

psychosoziale Dimension: Items 2, 3, 4, 7, 8, 9, 12, 15, 16, 19, 20, 22, 25, 27, 28, 29, 33, 36, 39, 40 (Spannweite 0–80)

Gesamtscore: alle Items (Spannweite 0–160)

6.6 Obstipation Score

Fragebogen

Obstipation

Cleveland-Clinic-Obstipation-Score

Name:

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

Zur genaueren Beurteilung Ihrer Erkrankung möchten wir Sie bitten, folgende Fragen zu beantworten.

Bitte kreuzen Sie die zutreffende Antwort im entsprechenden Feld an.

| | | | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1. Wie oft hatten Sie in den letzten Wochen Stuhlgang? | 1-2 Mal alle 1-2 Tage | 2x pro Woche | 1x pro Woche | Seltener als 1x pro Woche | Seltener als 1x pro Monat |
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Nie | Selten | Manchmal | Häufig | Immer |
| 2. Haben Sie Schmerzen beim Stuhlgang | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Haben Sie ein Gefühl der unvollständigen Entleerung? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. Haben Sie Bauchschmerzen? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Wie viel Zeit brauchen Sie auf der Toilette? | Weniger als 5 min | 5-10 min | 10-20 min | 20-30 min | Mehr als 30 min |
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. Müssen Sie Ihre Stuhlentleerung unterstützen? | Nie | Abführmittel | | Klistier/Einlauf | |
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. Wie oft gehen Sie pro Tag ohne Erfolg zur Toilette? | Nie | 1-3 Mal | 3-6 Mal | 6-9 Mal | Mehr als 9 Mal |
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Wie lange leiden Sie an chronischer Verstopfung? | Weniger als 1 Jahr | 1-5 Jahre | 5-10 Jahre | 10-20 Jahre | Mehr als 20 Jahre |
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Kurtzke-Skala) [2240]

- Graduierung des Defizits bei MS; derzeit die am weitesten verbreitete Skala für klinische Verlaufsbeobachtungen und Therapiestudien
- bei 2 Untersuchern Abweichungen bis zu 1 Punkt möglich; ab einem Score > 5 relative Ungenauigkeit der Skala v.a. für Änderungen der Funktionsfähigkeit der oberen Extremitäten

| Punkte | Definition |
|---|---|
| 1. Pyramidenbahn (Kraftmaße nach der MRC-Skala, → S. 816): | |
| 0 | normal |
| 1 | abnorme Befunde ohne Behinderung |
| 2 | minimale Behinderung |
| 3 | leichte oder mittelschwere Paraparese oder Hemiparese (5 bis 3); schwere Monoparese (3 bis 1) |
| 4 | ausgeprägte Paraparese oder Hemiparese (3 bis 1); mittelschwere Tetraparese (4 bis 2); Monoplegie (0) |
| 5 | Paraplegie, Hemiplegie, ausgeprägte Tetraparese (2 bis 1) |
| 6 | Tetraplegie |
| 9 | unbekannt |
| 2. Kleinhirn: | |
| 0 | normal |
| 1 | abnorme Befunde ohne Behinderung |
| 2 | leichte Ataxie (benötigt keine Hilfe), erkennbarer Tremor |
| 3 | mäßige Rumpf- oder Extremitätenataxie (benötigt Stock, Abstützen an Wänden etc. Funktion zeitweise erschwert) |
| 4 | schwere Extremitätenataxie (benötigt Stützen oder Hilfsperson, Funktion konstant erschwert) |
| 5 | Unfähigkeit zu koordinierten Bewegungen infolge Ataxie |
| 9 | unbekannt |
| 2a. Kleinhirn Zusatzbefunde (bezüglich Kraft): | |
| 0 | Schwäche beeinflusst Untersuchungsergebnisse nicht |
| 1 | Schwäche (Grad 3 oder schwächer bei Pyramidenbahnfunktion), beeinflusst Untersuchung |
| 9 | unbekannt |
| 3. Hirnstamm: | |
| 0 | normal |
| 1 | abnorme Untersuchungsbefunde |
| 2 | mäßiger Nystagmus oder anderweitig leichte Behinderung |
| 3 | ausgeprägter Nystagmus, deutliche Paresen von äußeren Augenmuskeln, mäßige Funktionsstörungen anderer Hirnnerven |
| 4 | deutliche Dysarthrie oder andere ausgeprägte Funktionsstörungen |
| 5 | Unfähigkeit zu sprechen oder zu schlucken |
| 9 | unbekannt |
| 4. Sensorium: | |
| 0 | normal |
| 1 | Abschwächung von Vibrationssinn oder Zahlen-Erkennen an einer oder 2 Extremitäten |
| 2 | leichte Verminderung von Berührungs-, Schmerz- oder Lageempfindung; und/oder mäßige Abschwächung des Vibrationssinnes in einer oder 2 Extremitäten; oder Verminderung entweder des Vibrationssinnes oder des Zahlen-Erkennens allein an 3 oder 4 Extremitäten |
| 3 | mäßige Verminderung von Berührungs-, Schmerz- oder Lageempfindung sowie/oder Verlust der Vibrationsempfindung in einer oder 2 Extremitäten; oder leichte Verminderung von Berührungs- oder Schmerzempfindung sowie/oder mäßige Verminderung in allen propriozeptiven Tests in 3 oder 4 Extremitäten |
| 4 | deutliche Verminderung von Berührungs-, Schmerzempfindung und Propriozeption an einer oder kombiniert an einer oder 2 Extremitäten; oder mäßige Verminderung von Berührungs- oder Schmerzempfindung sowie/oder schwere Einschränkung der Propriozeption in mehr als 2 Extremitäten |
| 5 | weitgehender Sensibilitätsverlust in einer oder 2 Extremitäten; oder mäßige Verminderung der Berührungs- oder Schmerzempfindung und/oder Verlust der Propriozeption am größten Teil des Körpers |

| Punkte | Definition |
|--|--|
| 6 | weitgehender Sensibilitätsverlust unterhalb des Kopfes |
| 9 | unbekannt |
| 5. Blasen- und Mastdarmfunktionen (Bewertung der schlechteren Funktion) | |
| 0 | normal |
| 1 | leichtes Harnverhalten, leichter Harndrang |
| 2 | mäßig ausgeprägtes Harn- und/oder Stuhlverhalten. Mäßig ausgeprägter imperativer Harn- bzw. Stuhl drang. Seltene Harninkontinenz. Gelegentliche Verwendung von Laxanzien, intermittierend Selbstkatheterisierung, manuelle Blasen- bzw. Darmentleerung |
| 3 | häufige Urininkontinenz |
| 4 | beinahe konstante Katheterisierung und konstante Verwendung von Hilfsmitteln zur Stuhlentleerung |
| 5 | Verlust der Blasenfunktion |
| 6 | Verlust von Blasen- und Darmfunktion |
| 9 | unbekannt |
| 6. Sehfunktionen: | |
| 0 | normal |
| 1 | Skotom, Visus größer als 1,2 |
| 2 | schwächeres Auge mit Skotom und Visus 1,2 bis 0,6 |
| 3 | schwächeres Auge mit ausgedehntem Skotom, oder mäßige Gesichtsfeldeinschränkung, aber mit maximalem Visus 0,6 bis 0,4 |
| 4 | schwächeres Auge mit deutlicher Gesichtsfeldeinschränkung und maximalem Visus von 0,4 bis 0,2; Grad 3 plus maximalem Visus des besseren Auges 0,6 oder weniger |
| 5 | schwächeres Auge mit maximalem Visus unter 0,2. Grad 4 plus maximaler Visus des besseren Auges von 0,6 oder weniger |
| 6 | Grad 5 plus maximaler Visus des besseren Auges von 0,2 oder weniger |
| 9 | unbekannt |
| 7. zerebrale Funktionen: | |
| 0 | normal |
| 1 | Stimmungsschwankungen |
| 2 | leichte organische Wesensveränderung |
| 3 | mäßiggradige organische Wesensveränderung |
| 4 | ausgeprägte organische Wesensveränderung |
| 5 | schwere Demenz |
| 9 | unbekannt |
| 8. andere Funktionen: | |
| 0 | keine |
| 1 | andere neurologische Befunde, die auf die MS zurückzuführen sind |
| 9 | unbekannt |
| Zusatzbefund Spastizität: | |
| 0 | nicht vorhanden |
| 1 | vorhanden |
| 9 | unbekannt |

| Grad | Betroffen (FS) | Genauere Beschreibung |
|------|--|---|
| 0.0 | Grad 0 in allen funktionellen Systemen (FS) | normale neurologische Untersuchung |
| 1.0 | Grad 1 in einem FS | Keine Behinderung, minimale <u>Abnormität</u> in einem funktionellen System |
| 1.5 | Grad 1 in mehr als einem FS | Keine Behinderung, minimale Abnormität in mehr als 1 FS |
| 2.0 | Grad 2 in einem FS (andere 0 oder 1) | Minimale Behinderung in 1 FS |
| 2.5 | Grad 2 in mehr als einem FS (andere 0 oder 1) | Minimale Behinderung in 2 FS |
| 3.0 | Grad 2 in 3–4 FS oder Grad 3 in einem FS (andere 0 oder 1) | Mäßiggrade Behinderung in 1 FS oder leichte Behinderung in 3–4 FS, jedoch voll gehfähig. |
| 3.5 | Grad 3 in 1 FS und Grad 2 in 1–2 FS oder Grad 3 in 2 FS oder Grad 2 in 5 FS, (andere 0 oder 1) | Voll gehfähig, aber mit mäßiger Behinderung in einem FS (Grad 3) und 1–2 FS Grad 2; oder zwei FS Grad 3; oder fünf FS Grad 2 |
| 4.0 | Grad 4 in einem FS (andere 0 oder 1) | Gehfähig ohne Hilfe und Rast für mindestens 500 m. Aktiv während ca. 12 Stunden pro Tag trotz relativ schwerer Behinderung |
| 4.5 | Grad 4 in einem FS (andere 0 oder 1) | Gehfähig ohne Hilfe und Rast für mindestens 300 m. Ganztägig arbeitsfähig. Gewisse Einschränkung der Aktivität, benötigt minimale Hilfe, relativ schwere Behinderung. |
| 5.0 | Grad 5 in einem FS (andere 0 oder 1); oder Kombination niedrigerer Grade, aber über Grad 4.0 | Gehfähig ohne Hilfe und Rast für etwa 200 m. Behinderung schwer genug, um tägliche Aktivität zu beeinträchtigen (z. B. ganztägig zu arbeiten ohne besondere Vorkehrungen). |
| 5.5 | wie 5.0 | Gehfähig ohne Hilfe und Rast für etwa 100 m. Behinderung schwer genug, um normale tägliche Aktivität zu verunmöglichen. |
| 6.0 | Kombinationen von Grad 3 in mehr als 2 FS oder mehr | Bedarf intermittierend, oder auf einer Seite konstant, der Unterstützung (Krücke, Stock, Schiene) um etwa 100 m ohne Rast zu gehen. |
| 6.5 | wie 6.0 | Benötigt konstant beidseits Hilfsmittel (Krücke, Stock, Schiene), um etwa 20 m ohne Rast zu gehen. |
| 7.0 | Kombinationen von Grad 4 in mehr als 2 FS und mehr, selten Pyramidenbahn Grad 5 alleine | Unfähig, selbst mit Hilfe, mehr als 5 m zu gehen. Weitgehend an den Rollstuhl gebunden. Bewegt den Rollstuhl selbst und transferiert ohne Hilfe. |
| 7.5 | wie 7.0 | Unfähig, mehr als ein paar Schritte zu tun. An den Rollstuhl gebunden. Benötigt Hilfe für Transfer. Bewegt Rollstuhl selbst, aber vermag nicht den ganzen Tag im Rollstuhl zu verbringen. Benötigt eventuell motorisierten Rollstuhl. |
| 8.0 | Kombinationen meist von Grad 4 und mehr in mehreren FS | Weitgehend an Bett oder Rollstuhl gebunden; pflegt sich weitgehend selbständig. Meist guter Gebrauch der Arme. |
| 8.5 | wie 8.0 | Weitgehend ans Bett gebunden, auch während des Tages. Einiger nützlicher Gebrauch der Arme, einige Selbstpflege möglich. |
| 9.0 | Kombinationen meist Grad 4 und mehr | Hilfloser Patient im Bett. Kann essen und kommunizieren. |
| 9.5 | Kombinationen von fast ausschließlich Grad 4 und mehr | Gänzlich hilfloser Patient. Unfähig zu essen, zu schlucken oder zu kommunizieren. |
| 10.0 | | Tod infolge MS |

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt haben.

Insbesondere gilt mein Dank den folgenden Personen, ohne deren Hilfe die Anfertigung dieser Doktorarbeit niemals zustande gekommen wären:

Herrn Prof. Dr. med. Faßbender danke ich für die Ermöglichung der Dissertation in seiner Abteilung.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Unger für die engagierte Betreuung dieser Arbeit sowie der motivierenden und freundlichen Hilfe und Unterstützung. Insbesondere der konstruktive Austausch und die regelmäßigen Gespräche waren stets eine große Hilfe für mich und haben mich stets positiv beeinflusst und ermutigt.

Auch danke ich Herrn Dr. Fousse sowohl für die wissenschaftliche Betreuung als auch für die Hilfsbereitschaft, die stets eine große Unterstützung waren.

Danken möchte ich an dieser Stelle auch der Krankenschwester Petra Vollmer, die die Termine mit den MS Patienten organisierte.

Ich danke dem Institut für Mikrobiologie in Herborn, wo die Stuhlproben der Probanden analysiert wurden.

Frau Wagenpfeil vom Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und medizinische Informatik danke ich vielmals für freundliche und unkomplizierte Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten.

Meinen Eltern sowie meinen Brüdern und Schwestern möchte ich ganz besonders herzlich danken für die aufmerksame, liebevolle und vielseitige Unterstützung während dem Verfassen dieser Arbeit und während meines gesamten Studiums.

Meiner Ehefrau danke ich von ganzem Herzen für ihre uneingeschränkte Unterstützung, ihre Liebe und Motivation.

Spezieller Dank gebührt allen Probanden, die sich bereit erklärt haben, an dieser Studie teilzunehmen.