

**Beziehung des serotonergen Systems zur Aktivität der  
Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse  
bei Patienten mit Multipler Sklerose**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von: Franziska Möller  
geb. 21.06.1981 in Wurzen

angefertigt an: Universität Leipzig  
Klinik für Neurologie

Betreuer: Prof. Dr. med. Florian Then Bergh

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 26.06.2018

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	I
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	III
<b>1. Einleitung</b>	1
1.1 Einführung in die Fragestellung	1
1.2 Multiple Sklerose	1
1.2.1 Definition, Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese	1
1.2.2 Diagnosekriterien, Verlaufsformen, Klinik und Therapie	6
1.2.3 Fatigue und Multiple Sklerose	9
1.3 Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse	10
1.4 Das serotonerge System und die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse	13
1.5 Aufgabenstellung	16
<b>2. Materialien und Methoden</b>	17
2.1 Durchführung	17
2.2 Einschlusskriterien	17
2.3 Ausschlusskriterien	18
2.4 Allgemeiner Ablauf	19
2.5 Dexamethason-CRH-Test	19
2.6 Positronen-Emissions-Tomographie	20
2.7 Magnetresonanztomographie	22
2.8 Genotypisierung	22
2.9 Fragebögen zu Depression, Fatigue und Lebensqualität	22
2.9.1 Beck-Depressions-Inventar	22
2.9.2 Würzburger Erschöpfungsinventar bei Multipler Sklerose	23
2.9.3 Europäischer Lebensqualitäts-Fragebogen	23
2.10 Statistische Datenanalyse	24

<b>3. Ergebnisse</b>	25
3.1 Klinische und demographische Daten	25
3.2 Dexamethason-CRH-Test	27
3.3 Verfügbarkeit des Serotonintransporters (mittlere Distribution Volume Ratios)	29
3.4 Lateralität des Serotonintransporters	32
3.5 Beziehung der neuroendokrinen Funktion zur Serotonintransporter-Verfügbarkeit	33
3.6 Fatigue und Depression	34
<b>4. Diskussion</b>	35
4.1 Dexamethason-CRH-Test und Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse	35
4.2 Das serotonerge System	37
4.3 Fatigue	41
4.4 Lateralität	42
4.5 Methodenkritik	44
4.6 Therapeutischer Ausblick	45
<b>5. Zusammenfassung der Arbeit</b>	48
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	50
<b>7. Thematisch assoziierte Publikation als Zweitautorin</b>	69
<b>8. Anlagen</b>	79
8.1 Fragebögen	79
8.2 Selbständigkeitserklärung	87
8.3 Danksagung	88

## Abkürzungsverzeichnis

5-HT	5-Hydroxytryptamin
5-HTT	5-Hydroxytryptamintransporter
5-HIAA	5-Hydroxyindolylelessigsäure
<b>A</b>	
AAUC	Area Under the Curve (Fläche unter der Kurve) für ACTH
ACC	Anteriorer cingulärer Kortex
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AdeltaMax	Maximales ACTH nach Stimulation
AMax	Maximale ACTH-Konzentration
AMeloc	Mean Curve Location (mittlere Kurvenlage) für ACTH
ANOVA	One-factorial Analysis of Variance
AVP	Vasopressin
<b>B</b>	
BDI	Beck-Depressions-Inventar
BDNF	Brain-derived Neurotrophic Factor
BMI	Body Mass Index
<b>C</b>	
CAR	Cortisol Awakening Response
CAUC	Area Under the Curve (Fläche unter der Kurve) für Kortison
CDeltamax	Maximales Kortisol nach Stimulation
CERR	Kleinhirn
CLIA	Chemiluminescence-System
CMax	Maximale Kortisol-Konzentration
CMeloc	Mean Curve Location (mittlere Kurvenlage) für Kortisol
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
CrP	C-reaktives Protein
<b>D</b>	
Dex-CRH-Test	Dexamethason-CRH-Test
DASB	3-amino-4-(2-dimethylaminomethylphenylsulfanyl)-benzonitrile
DHEAS	Dehydroepiandrosteron-Sulfat
DLF	Dorsolateraler frontaler Kortex

dRN	Dorsaler raphe Nucleus
DVR	Distribution Volume Ratios
<b>E</b>	
ECLIA	Electrochemiluminescence-System
EDSS	Expanded Disability Status Scale
EuroQuoL	European Quality of Life Fragebogen
EAE	Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
<b>G</b>	
GABA	$\gamma$ -Aminobutyricacid
GAD	Glutamat-Decarboxylase
GR	Glukokortikoidrezeptor
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
<b>H</b>	
HCl	Hydrogenchlorid
HHN-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
HPP	Hippocampus
<b>I</b>	
IVIG	Intravenöse Immunglobuline
<b>K</b>	
KIS	Klinisch isoliertes Syndrom
<b>L</b>	
L	Long
<b>M</b>	
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance
MAO-A	Monoaminoxidase-A
MBP	Myelin Basic Protein
MFC	Medialer frontaler Kortex
MOG	Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein
MP	Methylprednisolon
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
<b>N</b>	
N. a.	Nicht anwendbar

NaCl	Natriumchlorid
NAWM	Normal Appearing White Matter
Ncl. Acc	Nucleus accumbens
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
N. s.	Nicht signifikant
<b>O</b>	
OCC	Okzipitallappen
OFC	Orbitofrontaler Kortex
<b>P</b>	
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PPMS	Primary Progressive MS (primär progrediente MS)
PVN	Paraventriculärer Nucleus
<b>R</b>	
RIS	Radiologisch isoliertes Syndrom
RRMS	Relapsing-remitting MS (schubförmige MS)
<b>S</b>	
S	Short
S. C.	Subkutan
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SERT	Serotonintransporter
SERT-LPR	SERT-Linked-Promotor-Region
SPMS	Sekundär progrediente MS
SSEP	Somatosensorisch evozierte Potentiale
SSRI	Selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer
<b>T</b>	
TEMP	Temporallappen
<b>V</b>	
VEP	Visuell evozierte Potentiale
VOI	Volumes-of-Interest
<b>W</b>	
WEIMuS	Würzburger Erschöpfungsinventar bei Multipler Sklerose
<b>Z</b>	
ZNS	Zentralnervensystem

# 1. Einleitung

## 1.1 Einführung in die Fragestellung

Unter den neurologischen Erkrankungen ist die Multiple Sklerose (MS) die häufigste Erkrankung des jungen Erwachsenenalters, die zu bleibender Beeinträchtigung führt. Sie ist eine chronisch entzündliche Autoimmunerkrankung des Zentralnervensystems (ZNS), die durch Demyelinisierungsherde gekennzeichnet ist und sich klinisch durch (sub-)akute Schübe mit mehr oder weniger vollständiger Rückbildung manifestiert.

Die Regulation des Immunsystems ist in erster Linie intrinsisch, unterliegt jedoch auch modulierenden Einflüssen anderer Organsysteme, u.a. des endokrinen Systems. Vorrangig ist hier der immunsuppressive Effekt der Glukokortikoide, der therapeutisch durch den Einsatz synthetischer Glukokortikoide genutzt wird. Vor diesem Hintergrund konnte in früheren Untersuchungen gezeigt werden, dass bei Patienten mit Multipler Sklerose eine subklinische Hyperaktivität des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden (HHN)-Systems vorliegt.

Anatomisch und tierexperimentell lässt sich darstellen, dass serotonerge bzw. noradrenerge Neurone aus verschiedenen Regionen den Hypothalamus innervieren und zur Aktivierung der HHN-Achse beitragen. Diese Systeme scheinen die stressassoziierte bzw. inflammatorische HHN-Aktivierung zu vermitteln.

Die vorliegende Arbeit soll dabei helfen, die Zusammenhänge zwischen der neuroendokrinen Achse und dem monoaminergen bzw. serotonergen System bei Patienten mit Multipler Sklerose zu untersuchen und besser zu verstehen.

## 1.2 Multiple Sklerose

### 1.2.1 Definition, Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese

Die Multiple Sklerose ist eine immunvermittelte, chronisch entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems, die charakteristischer Weise durch multifokale Demyelinisierungen und axonale Schäden gekennzeichnet ist (Compston 2005).

Weltweit sind etwa 2,5 Millionen Menschen von der Erkrankung betroffen (National-Multiple-Sclerosis-Society 2016). Schätzungen zufolge leben in Deutschland mehr als 210.000 Betroffene (DMSG-Register 2016).

Die weltweiten Prävalenz- und Inzidenzraten variieren deutlich entlang des so genannten Nord-Süd-Gefälles, wonach die Erkrankung in äquatornahen Ländern seltener auftritt und polwärts zunimmt (Kurtzke 1993). In der von (Kurtzke 1975) verfassten Originalversion wurden somit drei Regionen mit hoher, mittlerer bzw. niedriger Prävalenz beschrieben. Mittlerweile wird jedoch davon ausgegangen, dass mindestens fünf Subgruppen gebildet werden müssen, um die geographischen Unterschiede entsprechend zu veranschaulichen (Wade 2014).

Zusätzlich weisen bestimmte Regionen auch interethnische Unterschiede auf, wobei z. B. Inuit nahezu nicht und Schwarzafrikaner viel seltener als Weißafrikaner von der Erkrankung betroffen sind (Pierrot-Deseilligny 2009).

Regionen mit besonders hoher Prävalenz sind Nord- und Zentraleuropa, östliche Teile Russlands, Israel, Nordamerika und südöstliche Teile Australiens und Neuseeland (Kurtzke 2000). Deutschland gehört somit zu den Ländern einer besonders hohen Prävalenz von 100-150:100.000 Einwohnern (Hein and Hopfenmuller 2000).

Multiple Sklerose betrifft hauptsächlich junge Erwachsene mit einem Erkrankungsgipfel zwischen 25 und 30 Jahren. Aktuell zeigen sich jedoch auch steigende Zahlen betroffener Kinder und Jugendlicher (Dale, Brilot et al. 2009) sowie Erwachsener jenseits des 45. Lebensjahres. Die Erkrankung kommt mit zwei Dritteln (steigende Inzidenz) hauptsächlich bei Frauen vor (Koch-Henriksen and Sorensen 2010), wobei die primär chronisch progrediente Verlaufsform Männer und Frauen gleichermaßen betrifft, sich aber meist erst um die vierte bis fünfte Lebensdekade manifestiert (Kantarci, Siva et al. 1998).

Die Ätiologie der Multiplen Sklerose ist weiterhin nicht ausreichend geklärt, naheliegend ist jedoch eine multifaktorielle Genese.

Verschiedene Umweltfaktoren (sozioökonomische und genetische Faktoren sowie Sonnenlichtexposition und Jahresdurchschnittstemperatur), Ernährung und Hygienebedingungen werden diskutiert.

Andererseits liegt die Erkrankungswahrscheinlichkeit für Verwandte ersten Grades bei etwa 5% (Kahana 2000) und bei eineiigen Zwillingen sogar bei 26% (Hansen, Skytthe et al. 2005).

Zudem besteht eine Verbindung zu bestimmten Haplotypen des MHC-Komplexes (International Multiple Sclerosis Genetics, Hafler et al. 2007), (Briggs, Goldstein et al. 2010), (Patsopoulos, Bayer Pharma et al. 2011). Reproduzierbar nachgewiesen wurden z. B. HLA Klasse II Gene, lokalisiert auf Chromosom 6p21 (Oksenberg and Barcellos 2005), die das individuelle Risiko um den Faktor 3-5 steigern sollen.

Für die multifaktorielle Genese mit einer Interaktion von Umwelt und Vererbung spricht, dass Kinder, die vor ihrem 15. Lebensjahr in ein Land mit hoher MS Prävalenz auswandern, sich dem Erkrankungsrisiko ihres Ziellandes anpassen und die, die nach dem 15. Lebensjahr auswandern, das Risiko ihres Heimatlandes behalten (Rosati 1994). Dabei gibt es ethnische Gruppen mit vor allem afrikanischer und asiatischer Abstammung, die nahezu nie an MS erkranken, unabhängig davon, wann sie aus ihrem Heimatland auswandern. Hier ist von prädisponierenden, genetischen Polymorphismen auszugehen (Reich, Patterson et al. 2005).

Drei große Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) konnten inzwischen etwa 100 Genvarianten, die zum MS-Risiko beitragen, identifizieren (Baranzini, Wang et al. 2009), (International Multiple Sclerosis Genetics, Wellcome Trust Case Control et al. 2011), (International Multiple Sclerosis Genetics, Beecham et al. 2013).

Weiterhin wird eine protektive Wirkung von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D diskutiert (Koch, Metz et al. 2013), z. B. konnte gezeigt werden, dass die regelmäßige Einnahme von mindestens 400 IE Vitamin D pro Tag bei Frauen zu einem um 40% verringerten Risiko führt an einer MS zu erkranken und ein hoher Vitamin-D-Spiegel das Risiko um 62% reduziert (Munger, Levin et al. 2006). Gleichzeitig ergab sich bei MS-Patienten im akuten Schub ein verringertes Vitamin D (Soilu-Hanninen, Laaksonen et al. 2008).

Kontrovers wird der Vitamin-D-Spiegel bei Schwangeren diskutiert. (Willer, Dyment et al.

2005) konnten darstellen, dass für im Mai Geborene ein erhöhtes Risiko besteht an einer MS zu erkranken. Hierbei soll die verminderte Sonnenlichtexposition und Vitamin D Bildung während einer Schwangerschaft in den Wintermonaten eine Rolle spielen. Andere Studien stellten jedoch keinen Zusammenhang eines während der Schwangerschaft bei der Mutter bzw. neonatal beim Kind bestimmten Vitamin-D-Spiegels und dem Risiko, später an einer MS zu erkranken, her (Salzer, Hallmans et al. 2012), (Ueda, Rafatnia et al. 2014).

Mechanistisch gesehen beeinflusst Vitamin D das Immunsystem durch verschiedenste Mechanismen und scheint einen immunsuppressiven Effekt zu haben, was die Supplementierung bei MS interessant machen könnte (Correale and Gaitan 2015).

Kontrovers wird der Zusammenhang einer infektiösen Genese diskutiert. Hier stehen vor allem Chlamydia pneumoniae und EBV im Verdacht, ein Trigger zum Ausbruch der Krankheit zu sein (Owens and Bennett 2012), (Tschochner, Leary et al. 2016).

Zudem wird angenommen, dass der Lebensstil zur Erkrankung beiträgt, wie z. B. regelmäßiges Rauchen, was zu einer 1,5-fachen Risikosteigerung führt und Männer häufiger als Frauen betrifft (Hernan, Olek et al. 2001), (Zhang, Wang et al. 2016). Hierbei scheint es auch wichtige Interaktionen zwischen Umweltfaktoren (Simon, van der Mei et al. 2010) und genetischen Risikofaktoren (Hedstrom, Sundqvist et al. 2011) zu geben. Außerdem sprechen Daten dafür, dass Rauchen den Übergang von einem schubförmigen in einen sekundär progredienten Verlauf (Hernan, Jick et al. 2005), sowie den Übergang eines klinisch isolierten Syndroms in eine gesicherte MS begünstigt (Di Pauli, Reindl et al. 2008).

In jüngster Vergangenheit wird auch dem Gewicht von MS-Patienten eine größere Bedeutung zugesprochen. Ausgegangen wird davon, dass Übergewicht, v. a. im Kindes- und Adoleszentenalter, in enger Verbindung mit einem vergrößerten Risiko an einer MS zu erkranken stehen soll. In einer Arbeit von (Cortese, Riise et al. 2017) konnte dies bestätigt werden; darüberhinaus schien das Risiko bei körperlich aktiven Personen vermindert.

Die biologischen Mechanismen sind hierbei noch unklar. Eine Hypothese könnte sein, dass die Adipositas zu einer chronisch unterschweligen, inflammatorischen Reaktion führt und durch erhöhte Konzentrationen von CrP (C-reaktives Protein), Interleukin-6 und Leptin zur Entwicklung einer MS beiträgt (Kanneganti and Dixit 2012), (Gianfrancesco, Acuna et al. 2014). Andererseits findet im Fettgewebe die Konversion von Sexualhormonen statt, die differenzielle Wirkungen auf das Immunsystem haben.

Im Gegensatz zu den noch nicht ausreichend geklärten Ursachen der Erkrankung sind die in die Pathophysiologie/Pathogenese involvierten Prozesse deutlich besser verstanden. Neuropathologisch ist die MS durch eine perivaskuläre Entzündung, Demyelinisierung, axonalen Schaden und letztlich einer Gliose gekennzeichnet. Eine Initiatorrolle bei der Entwicklung einer MS wird der peripheren Aktivierung von CD-4- und CD-8-Zellen gegenüber Myelinantigenen zugeschrieben, die dann über die Blut-Hirn-Schranke ins ZNS einwandern. Somit sieht man im akuten, typischen Entmarkungsherd hauptsächlich phagozytierende Zellen (Bruck, Porada et al. 1995) sowie perivaskuläre, parenchymatöse CD-4- und CD-8-positive, T-lymphozytäre Infiltrate. Er wird auch als makrophagen-assoziiertes Entmarkungsherd bezeichnet. Daneben sind zahlreiche axonale Schäden (Ferguson, Matyszak et al. 1997), (Bitsch, Schuchardt et al. 2000), (Rosche, Kieseier et al. 2003) sowie eine ausgeprägte Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke mit Einströmen von Serumproteinen nachzuweisen (Plumb, McQuaid et al. 2002).

Ein zweites Demyelinisierungsmuster ist eine antikörper- und komplementmedierte Entmarkung, in der sich zahlreiche proinflammatorische, aber auch reparative Zytokine nachweisen lassen (Lock, Hermans et al. 2002).

Im dritten Läsionsmuster wird eine T-Lymphozyten-vermittelte, mikrovaskuläre Entzündung hervorgerufen, die zu einer Apoptose von Oligodendrozyten durch Vaskulitiden sowie Thrombosen kleinster Gefäße führt (distale Oligodendrogliepathie).

In der vierten Gruppe schließlich kommt es durch metabolisch geschädigte Oligodendrozyten zu ihrem primären Untergang mit sekundärer Entmarkung; dieses Bild (primäre Oligodendrozytendegeneration mit sekundärer Demyelinisierung) ist ausschließlich typisch für eine primär chronisch progrediente MS.

Die chronischen Entmarkungsherde sind eher von Heterogenität gekennzeichnet, teils mit nahezu vollständigem Markscheidenverlust und partiellem Axonverlust, teils mit unvollständiger Remyelinisierung (Goldschmidt T 2009). Auf der anderen Seite sieht man vollständige Remyelinisierung oder anhaltende, chronische Krankheitsaktivität (Prineas, Kwon et al. 2001).

Neben den fokalen Läsionen der weißen Substanz finden sich auch kortikale, meist subpiale, Entmarkungsläsionen (Kutzelnigg, Faber-Rod et al. 2007), oft mit bemerkenswertem Ausmaß bei chronischen Verlaufsformen.

Häufig wird beobachtet, dass die Klinik nicht mit der Läsionslast korreliert. Ein in diesem

Zusammenhang gebrauchter Begriff ist der der (kernspintomographisch) „normal appearing white matter“ (NAWM), in der dennoch diffuse Veränderungen der weißen Substanz, wie T-Zellinfiltration, Mikrogliaaktivierung und axonale Schädigungen (Singh, Metz et al. 2013), zum Tragen kommen, die radiologisch aber mit Standard-Magnetresonanztomographie-Sequenzen nicht sichtbar sind.

### 1.2.2 Diagnosekriterien, Verlaufsformen, Klinik und Therapie

2010 wurden die 2001 erstmals erschienenen McDonald Kriterien zur Diagnosestellung einer MS revidiert (Polman, Reingold et al. 2005), (Polman, Reingold et al. 2011). Die entscheidende Neuerung ergab sich daraus, dass bei Vorliegen eines so genannten „klinisch isolierten Syndroms (KIS) einer ZNS-Demyelinisierung“ durch die Durchführung einer Magnetresonanztomographie (MRT) oft schon die Diagnose einer MS gestellt werden kann.

Die Diagnosestellung stützt sich zunächst auf die Anamnese, um stattgehabte Ereignisse zu detektieren, weiterhin auf die klinisch-neurologische Objektivierung sowie den kernspintomographischen Nachweis einer zeitlichen und örtlichen Disseminierung.

Die sogenannte zeitliche Disseminierung ist erfüllt, wenn „1. eine nicht symptomatische kontrastmittelaufnehmende Läsion zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung vorliegt oder 2. eine neue T2- oder (asymptomatische) Gadolinium aufnehmende Läsion in einem zu einem beliebigen Zeitpunkt durchgeführten MRT-Scan im Vergleich zu der nach Auftreten der ersten klinischen Beschwerden angefertigten Referenzbildgebung zur Darstellung kommt.“ (Gold 2012).

Darüber hinaus müssen zur Diagnosestellung die Kriterien der örtlichen Disseminierung erfüllt sein. Diese liegen vor, wenn „nach einem ersten Krankheitsschub klinisch nachweisbare Auffälligkeiten in mindestens einem Funktionssystem bzw. durch Untersuchung der visuell evozierten Potenziale (VEP) vorliegen und sich zusätzlich 2 oder mehr charakteristische Läsionen in der initialen MRT finden. Die Lokation dieser Herde sollte in mindestens 2 der 4 folgenden Hirnregionen liegen: periventrikulär, juxtakortikal, infratentoriell oder Rückenmark (wird nicht gewertet bei Hirnstamm- oder spinalen Symptomen).“ (Gold R 2012).

Definitionsgemäß muss ein neurologisches Symptom 24 Stunden anhalten, um als Schub bezeichnet zu werden, außerdem muss ein Zeitintervall von 30 Tagen seit dem Beginn des letzten Schubs bestehen.

Klinisch wird die MS in vier unterschiedliche Verlaufsformen eingeteilt: das klinisch isolierte Syndrom, die schubförmige („relapsing-remitting“, RRMS), die sekundär progrediente (SPMS) und die primär progrediente (PPMS) Verlaufsform. Das radiologisch isolierte Syndrom (RIS), welches durch zufällig detektierte Läsionen in der weißen Substanz, eine unauffällige neurologische Untersuchung sowie durch fehlende „MS-typische“ Symptome gekennzeichnet ist (Okuda, Mowry et al. 2009), wird in den Leitlinien nicht den Verlaufsformen der MS zugeordnet, könnte aber als Vorstufe des KIS gewertet werden.

Bei zirka 85% beginnt die MS klinisch mit einem schubförmigen und bei nur 15% mit einem primär chronisch progredienten Verlauf (Cottrell, Kremenchutzky et al. 1999). Zwei Drittel der RRMS-Patienten nehmen im Laufe der Erkrankung einen sekundär chronisch progredienten Verlauf an.

Die ersten Frühsymptome sind in der Regel durch eine einseitige Optikusneuritis, Sensibilitäts- und/ oder Gangstörungen gekennzeichnet (Weinshenker 1998). Die Symptome bilden sich meist komplett nach sechs bis acht Wochen zurück oder es verbleiben Residuen, die sich, wenn sie länger als sechs Monate bestehen, lediglich mit einer Wahrscheinlichkeit von weniger als 5% zurückbilden (Ellison, Myers et al. 1994). Bei einer unbehandelten MS würde die Schubrate bei ca. 1,8 Schüben pro Jahr liegen und mit den Folgejahren abnehmen (Tremlett, Zhao et al. 2008). Als Anfangsstadium der MS wird das KIS beschrieben, das zwar mit den typischen Symptomen einer MS einhergeht, jedoch die Kriterien der zeitlichen Dissemination nicht erfüllt (Miller 2004).

Bei unbehandelten Patienten kommt es nach etwa zehn Jahren bei zirka 50% zu einer sekundären Progredienz, anfangs meist noch mit, später ohne aufgelagerte Schübe (Flachenecker and Hartung 1996).

Die kleine Gruppe der Patienten ohne Schübe wird als PPMS bezeichnet; diese Verlaufsform ist meist durch eine spastische Gangstörung, seltener auch ein progredientes zerebelläres Syndrom (Thompson, Montalban et al. 2000) gekennzeichnet.

Prognostisch weisen weibliche Patientinnen sowie diejenigen, die vor ihrem 40. Lebensjahr erkranken, tendenziell einen günstigeren Krankheitsverlauf auf (Flachenecker

and Hartung 1996). Patienten mit einer hohen Schubrate innerhalb der ersten Jahre (Kurtzke 1983), sowie polysymptomatischem Beginn, frühen motorischen und zerebellären Symptomen, lang andauernden, schlecht zurückbildenden Schüben, initial hoher Läsionslast in der MRT, Nachweis von oligoklonalen Banden (Tintore, Rovira et al. 2015) und früh pathologischen SSEP sowie MEP (Kallmann, Fackelmann et al. 2006) zeigen i. d. R. einen schwerwiegenderen Krankheitsverlauf.

Neben den bereits erwähnten Anfangssymptomen zählen zu den häufigsten Manifestationen im Verlauf Sensibilitätsstörungen (86%), spastische Paresen (85%), Hirnstamm- und zerebelläre Symptome wie Ataxie, Dysarthrie, Dysdiadochokinese und Intentionstremor (79%) sowie Blasen- bzw. Mastdarmstörungen (61%). Die Häufigkeit der Optikusneuritis liegt im Verlauf bei 62% und zu 36% treten Augenmuskelparesen sowie andere Störungen der Okulomotorik auf (Poser 1980). Daneben sind auch kognitive Defizite (Stuke 2009), Konzentrationsstörungen, depressive Symptome (Lobentanz, Asenbaum et al. 2004) sowie das von bis zu 40% der Patienten beklagte Fatigue-Syndrom zu verzeichnen (Murray 1985).

Die Therapie der MS gliedert sich in drei Säulen: die Schubtherapie, die Dauertherapie mit dem Ziel, den Krankheitsverlauf zu modifizieren, sowie die symptomatische Therapie.

Die Therapie des akuten Schubs mit einem intravenös verabreichten Glukokortikoid ist als Standardtherapie anzusehen. Als im deutschsprachigen Raum anerkannte Dosierung gilt 500 - 1.000 mg Methylprednisolon i.v. über 3-5 Tage. Als Eskalationstherapie kommen entweder eine ultrahochdosierte Methylprednisolontherapie (2 g i.v. über 5 Tage) oder eine Plasmapherese bzw. Immunadsorption in Betracht.

Als immunmodulatorische Basistherapien zur Reduktion der Schubfrequenz stehen beim KIS und der RRMS subkutan (s. c.) bzw. intramuskulär zu verabreichende, rekombinante Interferon-beta-Präparate, IFN-beta-1a und IFN-beta-1b, zur Verfügung sowie Glatirameracetat; oral verfügbar sind Teriflunomid und Dimethylfumarat. Eine Therapie mit Azathioprin ist eher als Ausweichpräparat empfohlen, wenn z. B. die o. g. Basistherapie nicht möglich ist oder ein stabiler Krankheitsverlauf dokumentiert werden kann. Ebenso ist der Einsatz von intravenös verabreichten Immunglobulinen (IVIg) nur im Einzelfall gerechtfertigt und nicht als etablierte Therapie zugelassen. Bei der SPMS mit aufgelagerten Schüben stehen Interferon-beta 1a s. c. und 1b s. c. sowie Mitoxantron zu Verfügung. Ebenso wird Mitoxantron bei der SPMS ohne aufgelagerte Schübe verabreicht.

In Einzelfällen kommt bei der hochaktiven SPMS Cyclophosphamid zum Einsatz.

Zur krankheitsmodifizierenden Therapie der hochaktiven, schubförmigen MS sind Fingolimod und Natalizumab, Alemtuzumab, Daclizumab sowie seit Kurzem Cladribin zugelassen.

Eine Reihe monoklonaler Antikörper zur B-Zell-Depletion (Rituximab, Ocrelizumab, Ofatumumab) befinden sich aktuell in verschiedenen Entwicklungsstadien und werden zum Teil in speziellen Zentren für ausgewählte MS Fälle (off label) eingesetzt.

Die zur PPMS bisher durchgeführten Therapiestudien verliefen bis auf eine Studie mit Ocrelizumab nicht vielversprechend, bisweilen werden Versuche unternommen durch dreimonatliche Glukokortikoid-Stoßtherapien oder Mitoxantron (Grey Nee Cotte, Salmen Nee Stroet et al. 2015) die Progression aufzuhalten.

Neben der immunmodulatorischen und immunsuppressiven Therapie stellt die symptomatische einen wesentlichen Bestandteil dar. Sie stützt sich auf zwei weitere Säulen: zum einen die nicht medikamentöse mit Physio- und Ergotherapie, Logopädie, psychologische Therapie sowie multimodale Rehabilitation und zum anderen die medikamentöse Therapie von Spastik, Schmerzen, Kleinhirnsymptomatik, Blasen-, Mastdarm-, Sexualfunktions- und kognitiven Störungen, depressiven Symptomen oder Fatigue.

### 1.2.3 Fatigue und Multiple Sklerose

Die Fatigue-Symptomatik ist eine bei MS-Patienten häufige, sehr beeinträchtigende allgemeine Erschöpfbarkeit und Müdigkeit, die pathophysiologisch schlecht verstanden und therapeutisch schwer zu beeinflussen ist. Die Fatigue betrifft bis zu 80% der MS-Patienten (Nagaraj, Taly et al. 2013). Umstritten ist, welcher Subtyp der MS häufiger betroffen ist. (Kroencke, Lynch et al. 2000) zeigten, dass die Patienten mit einer sekundär- oder chronisch progredienten MS höhere Fatigue-Scores erzielten als die mit einem schubförmigen Verlauf. Andere Arbeiten legten nahe, dass nicht die MS-Patienten mit einer chronisch progredienten Verlaufsform häufiger betroffen waren, sondern vor allem diejenigen mit einer hochakuten MS (Tur 2016). Neuere Studien belegen zudem, dass es einen Zusammenhang zwischen globaler sowie fokaler Hirnatrophie und Fatigue geben soll (Bisecco, Caiazzo et al. 2016).

Die Fatigue kann in eine primäre und sekundäre Fatigue unterteilt werden. Bei der primären Form kommt sie ohne eine andere ersichtliche Ursache vor. Bei der sekundären Fatigue liegen andere auslösende Faktoren vor, diese können z.B. Schlafstörungen sein (Hourihan 2015). Wichtig ist zudem, dass die Fatigue nicht nur im Zusammenhang mit der kognitiven Dysfunktion, sondern auch mit der Depression gesehen wird.

Therapeutisch kommen das Psychostimulanz Modafinil sowie Amantadin, ein schwacher NMDA (N-Methyl-D-Aspartat)-Rezeptor-Antagonist, zum Einsatz. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass körperliche Aktivität und Teilnahme an einem Fatigue-Management-Programm bessere Ergebnisse brachten als die medikamentöse Therapie (Brenner and Piehl 2016).

### 1.3 Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse

Auf äußere Anforderungen reagiert der Organismus zunächst in einer akuten „Stresssituation“ mit der Aktivierung des autonomen Nervensystems. Hierbei wird durch die Ausschüttung von Noradrenalin der Sympathikus aktiviert und schließlich im Nebennierenmark Adrenalin ausgeschüttet. Durch anhaltende „Stressoren“ kommt es dann mittelfristig zu einer Aktivierung der HHN-Achse. Zunächst werden dabei die Neurone des paraventriculären Nucleus (PVN) des Hypothalamus stimuliert, so dass es zu einer Ausschüttung von Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) und Vasopressin (AVP) kommt. Über das portale Gefäßsystem erreicht CRH den Hypophysenvorderlappen, was die Freisetzung von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) bewirkt. Dieses stimuliert die Nebennierenrinde und führt zur Induktion der Synthese von Glukokortikoiden (Antoni 1986), (Aguilera 1994). Kortisol wiederum übt auf Hypothalamus und Hypophyse einen hemmenden Einfluss im Sinne einer negativen Rückkopplung aus.

Akuter oder chronischer Stress beeinflusst diese homöostatische Balance und darüberhinaus wahrscheinlich auch immunologische Abläufe. Beispielsweise wird psychologischer Stress schon lange als Trigger eines akuten Schubs bzw. einer klinischen Manifestation der MS angesehen (Mohr, Hart et al. 2004), (Pearce 2005).

Auf dieser Grundlage wurde die HHN-Achse klinisch und im tierexperimentellen Modell der MS, der experimentellen autoimmunen Encephalomyelitis (EAE), untersucht.

Frühe Daten aus diesen Tiermodellen zeigen, dass ein angeborener Defekt der HHN-

Achse zu einer erhöhten Anfälligkeit führt, eine EAE zu entwickeln (Mason, MacPhee et al. 1990). In Arbeiten von (Sternberg EM 1989), (Sternberg, Glowa et al. 1992) wurde dargestellt, dass Lewis-Ratten unter Stress einen eher hypoaktiven Hypothalamus mit geringer CRH Ausschüttung aufwiesen und gleichzeitig anfälliger für die Entwicklung einer EAE waren. Spätere Arbeiten konnten in unterschiedlichen Tiermodellen unterschiedliche HHN-Achsen-Aktivierungen und klinische Verläufe darstellen. In einer vergleichenden Studie entwickelte die Dark Agouti (DA)-Ratte, immunisiert mit dem Myelin Basic Protein (MBP), unter Stress eine EAE und die Brown Norway (BN)-Ratte unter denselben Stressbedingungen nicht. Beide wiesen eine sogenannte „starke“ HHN-Achse (vergleichsweise hohes ACTH und Kortisol) auf. Die Lewis-Ratten mit einer eher hypoaktiven HHN-Achse (niedriges ACTH und Kortisol) entwickelten ebenfalls eine EAE. Interessanterweise kam es in allen drei Gruppen nach einer Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (MOG)-Immunisierung, einem der menschlichen MS mit schubförmigem Verlauf sehr ähnlichem Modell, zu einer EAE. Vor allem entwickelten die BN-Ratten hierbei einen fulminanten und schließlich letalen Krankheitsverlauf, wohingegen die Lewis-Ratten nur milde Symptome zeigten (Steffler, Linington et al. 1999), so dass insgesamt davon Abstand genommen wurde, von einer HHN-Achsen-Antwort Schlüsse auf die jeweilige Anfälligkeit für eine EAE zu ziehen.

Klinische Studien zeigten im Hinblick auf die HHN-Achsen-Funktion zunächst widersprüchliche Ergebnisse.

So beschrieben (Wei and Lightman 1997) in einer kleinen Patientenkohorte (n=10) (zwei RRMS-, sechs SPMS- und zwei PPMS-Patienten) eine unveränderte HHN-Achse im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv. (Limone, Ferrero et al. 2002) konnten ebenfalls keine Veränderung von Kortisol in einer Gruppe von Patienten mit MS nachweisen und diskutierten dahingehend, dass die erhobenen Daten eines normalen Kortisolspiegels bei gleichzeitig erhöhter Zytokinkonzentration für eine gedämpfte Kortisolsekretion sprechen, da das basale Kortisol bei entzündlichen Erkrankungen und damit einhergehender gesteigerter Zytokinproduktion sonst erhöht ist.

(Grasser, Moller et al. 1996) beschrieben eine hyperaktive HHN-Achse, die als Mangel bzw. Funktionsstörung von Glukokortikoidrezeptoren bei der MS interpretiert wurde. Weiterführende Arbeiten bestätigten immer häufiger, dass Patienten mit einer MS, vor allem mit einem primär chronisch progredienten Verlauf, eine hyperaktive HHN-Achse mit erhöhtem basalem oder stimuliertem ACTH oder Kortisol aufwiesen (Then Bergh, Grasser

et al. 1999), (Heesen, Mohr et al. 2007). Diese Daten konnten durch Post-mortem-Studien, in denen sich vergrößerte Nebennieren zeigten (Reeder, Makowiec et al. 1994), nochmals unterstützt werden. Außerdem konnte bei MS-Patienten im Vergleich zu anderen Patienten, die unter einer chronischen Krankheit litten und unter ähnlichen Umständen verstorben waren, eine erhöhte Zahl an CRH sezernierenden Zellen sowie CRH-Aktivität nachgewiesen werden (Huitinga, Erkut et al. 2004), (Erkut, Hofman et al. 1995). (Fassbender, Schmidt et al. 1998) konnten die Ergebnisse zur HHN-Achsen-Hyperaktivität noch erweitern, indem sie eine Korrelation der Kortisolhyperaktivität und inflammatorischer Aktivität (Anzahl an Leukozyten im Liquor) darstellten. Diese Ergebnisse korrelierten ebenfalls mit aktiven, kontrastmittelaufnehmenden Läsionen, jedoch nicht mit dem EDSS (Expanded Disability Status Scale). In einer weiteren Studie von (Ysrraelit, Gaitan et al. 2008) konnten die Daten einer hyperaktiven HHN-Achse ebenfalls bei vier Patientengruppen (RRMS, RRMS mit akutem Schub, SPMS und PPMS) dargestellt werden. Es wird angenommen, dass in der Folge die chronische HHN-Achsen-Aktivierung zu einer Desensibilisierung des Glukokortikoidrezeptors führt und somit auch die immunsuppressive Funktion endogener Glukokortikoide unterdrückt wird.

In einer Studie an depressiven Patienten wurde gesehen, dass der Hyperkortisolismus zusätzlich zu einer Zunahme der neuronalen Apoptose führt und wahrscheinlich zu Atrophie und mikrostrukturellen Veränderungen im frontalen Kortex sowie Hippocampus beiträgt (Frodl and O'Keane 2013). Interessanterweise korrelierten in (Schumann, Kumpfel et al. 2002) dementsprechend die Ergebnisse der HHN-Achsen-Hyperaktivität mit einer globalen Atrophie im MRT.

Der Grund dieser endokrinen Dysfunktion bleibt weiterhin unklar. Es zeigt sich jedoch zumindest in der Gruppe der frühen RRMS eine gewisse Reversibilität der Hyperaktivität (Then Bergh, Kumpfel et al. 2001), (Then Bergh, Kumpfel et al. 2007), während man davon ausgeht, dass die Assoziation der Hirnatrophie mit HHN-Achsen-Aktivierung eher Resultat eines destruktiven und möglicherweise irreversiblen Prozesses im Rahmen einer langen Krankheitsdauer ist (Schumann, Kumpfel et al. 2002). In diese Richtung weist auch die Zunahme der HHN-Aktivierung im longitudinalen Verlauf (Kumpfel, Schwan et al. 2014), während die abnehmende ACTH-Kortisol-Ratio Ausdruck dessen sein dürfte, dass die (episodische oder chronische) Hyperaktivität mit einer Hyperplasie oder/und vermehrten Reaktivität der Nebennierenrinde einhergeht.

## 1.4 Das serotonerge System und die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse

Serotonin, 5-Hydroxytryptamin (5-HT), ist ein biogenes Amin und befindet sich in den Somata serotonerger Neurone in den caudalen Gruppen (N. raphe pallidus, N. raphe magnus, N. raphe obscurus, serotonerge Neurone in der ventralen und lateralen Medulla) sowie rostralen Gruppen (hier zugehörig z. B. der dorsale und mediane N. raphe) der Raphe-Kerne im Mittelhirn und Hirnstamm (Jacobs and Azmitia 1992).

Die Axone der caudalen Gruppe strahlen hauptsächlich in das Rückenmark und die der rostralen in Teile des Vorderhirns aus und beeinflussen diese in komplexen Mechanismen (Moore, Halaris et al. 1978). Außerdem gibt es das mesostriatale serotonerge System, welches vom dorsalen N. raphe zur Substantia nigra sowie zum N. caudatus und Putamen zieht (Imai, Steindler et al. 1986). In den beiden letztgenannten Hirnregionen führt hier z.B. eine gesteigerte Erregung oder ein Stressor, der eine schnelle motorische Handlung nach sich zieht, zu einer Ausschüttung von Serotonin (Rueter and Jacobs 1996).

Weiterhin gibt es das mesolimbocorticale serotonerge System, welches u. a. zur Amygdala, zum Hippocampus und Hypothalamus zieht und die HHN-Achse beeinflusst (z. B. inhibitorische Funktion des Hippocampus (Herman and Cullinan 1997)).

Zu den wichtigsten Funktionen dieses Neurotransmitters zählen die Regelung von Schlaf-Wach-Rhythmus, Körpertemperatur, Stimmung, Aggression, Schmerzwahrnehmung, Appetit, Sexualverhalten, Gewebserneuerung und gastrointestinaler Funktionen (Baganz and Blakely 2013).

Serotonin wird aus dem synaptischen Spalt aktiv durch den präsynaptisch exprimierten Serotonintransporter (SERT, auch 5-HT-Transporter (5-HTT)) wieder rückresorbiert. Der Abbau des Serotonins erfolgt über das Enzym Monoaminoxidase-A (MAO-A) und teilweise auch über MAO-B. Das entstandene 5-Hydroxy-Indolyl-Acetaldehyd wird von der Aldehyd-Dehydrogenase weiter zu 5-Hydroxyindolylessigsäure (5-HIAA) abgebaut und über den Urin ausgeschieden. Ein weiterer Stoffwechselweg des Serotonins ist die Bildung von Melatonin (Klein 2007).

Durch den Einsatz selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI) wird Serotonin aktiv im synaptischen Spalt gehalten und steht somit in höherer Konzentration zur Verfügung. Therapeutisch kommen SSRI vorwiegend im Rahmen psychiatrischer Erkrankungen zum Einsatz.

Nachdem 5-HT-Rezeptoren auf Leukozyten und 5-HT-Transporter auf Makrophagen sowie B-Zellen nachgewiesen wurden, geriet Serotonin in den Fokus auch ein wichtiger Mitspieler des Immunsystems zu sein (Hofstetter, Mossner et al. 2005).

Zudem scheint Serotonin modulierend in die Abläufe der HHN-Achse einzugreifen bzw. deren Funktion zu verändern. Die Analyse der funktionellen Neuroanatomie des serotonergen Systems wurde durch (Lowry 2002) ausführlich herausgearbeitet.

Wie eng Amygdala und HHN-Achse miteinander arbeiten, zeigt sich in tierexperimentellen Arbeiten an Ratten. Hier wurde die Amygdala entweder unterdrückt oder mittels des Neurotoxins 5,7-Dihydroxytryptamin eine selektive serotonerge Läsion herbeigeführt. In diesem Rahmen gesetzte Stressreize führten zu einer reduzierten HHN-Achsen-Antwort (Feldman and Weidenfeld 1998). Gleiche Effekte wurden bei Läsionen der lateralen Untereinheit des Nucleus striae terminalis (Feldman, Conforti et al. 1990) und im dorsomedialen Hypothalamus gesehen (DiMicco, Samuels et al. 2002).

Wie bereits erläutert, sind auch die Regionen des limbischen Vorder- und Mittelhirns (u. a. auch die mittleren Raphe-Kerne) involviert (Morgane, Galler et al. 2005). Dabei vermitteln Serotonin und Acetylcholin eine Ausschüttung von CRH und stimulieren noradrenerge Neurone des Sympathikus (Carrasco and Van de Kar 2003).

Zusätzlich scheint der PVN durch das hypothalamische GABAerge ( $\gamma$ -Aminobutyricacid) System mit den vom medianen Raphe-Kern kommenden serotonergen Fasern in enger Verbindung zu stehen. Serotonin bewirkt im Hypothalamus eine Aktivierung des zur GABA-Synthese notwendigen Enzyms Glutamat-Decarboxylase (GAD), wobei GABA einen inhibitorischen Effekt auf den PVN hat (Munaro, Morello et al. 1991). Ebenso wird den Projektionen des ventralen Subiculum ein dynamischer inhibitorischer Einfluss auf die HHN-Achse zugesprochen (Lowry 2002).

Weiterhin hat man serotonerge Projektionen gefunden, die die ultradiane und circadiane Ausschüttung von Glucocorticoiden beeinflussen. Hierbei ist der serotonerg innervierte Nucleus suprachiasmaticus (SCN) für die Ausschüttung von ACTH und Kortisol verantwortlich und soll einen inhibitorischen Effekt auf die HHN-Achse haben (Cascio, Shinsako et al. 1987).

Zuletzt wird auch angenommen, dass es im Hypothalamus Serotonin-synthetisierende Systeme geben könnte. Möglicherweise werden diese aber nur unter bestimmten physiologischen Bedingungen exprimiert; sie konnten z. B. in einer tierexperimentellen Studie an Ratten nur in der Gruppe visualisiert werden, die eine Woche lang keine

Nahrung erhielt (Kang, Park et al. 2001).

Einen weiteren Hinweis für die Beeinflussung der HHN-Achse durch Serotonin geben 5-HT<sub>1A</sub>-, 5-HT<sub>2A</sub>- und 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren, die sich auf der Ebene des PVN und der Hypophyse, sowie 5-HT<sub>1A</sub>- and 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren, die sich auf der Ebene der Nebennierenrinde finden (Chaouloff 1993), (Chaouloff 2000).

Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass eine Blockierung des 5-HT-Rezeptors zur Unterdrückung einer EAE führt (Bebo, Yong et al. 1996). Auf der anderen Seite wurde aber auch gezeigt, dass ein Blockieren des 5-HT-Transporters durch einen selektiven 5-HT-Wiederaufnahmehemmer, was bekannterweise zu einer erhöhten serotonergen Verfügbarkeit führt, ebenfalls eine EAE unterdrücken kann (Bengtsson, Zhu et al. 1992). Auch (Hofstetter, Mossner et al. 2005) konnten darstellen, dass vor allem weibliche 5-HTT-knock-out-Mäuse eine EAE mit reduzierter Klinik und weniger entzündlichen Infiltraten aufwiesen als Wild-Typ-Mäuse.

Klinische Pilot-Studien konnten diese Daten unterstützen, indem es unter der Therapie mit einem SSRI (Fluoxetin) zu einem geringeren Auftreten von kontrastmittelaufnehmenden Läsionen kam (Mostert, Admiraal-Behloul et al. 2008). Interessanterweise konnte auch das Risiko, einen stressinduzierten Schub zu erleiden, bei depressiven MS-Patientinnen, die mit Escitalopram behandelt wurden, reduziert werden (Mitsonis, Zervas et al. 2010).

Schließlich spekulierten (Gong, Xie et al. 2008), dass die erhöhte MS-Inzidenz in höheren Breitengraden dadurch miterklärt werden könnte, dass aufgrund der vermehrten Dunkelheit, des damit gesteigerten Melatoninumsatzes und somit höheren Serotoninverbrauchs, die 5-HT-Konzentration niedriger ist.

Zusammenfassend könnte man bei den aufgeführten Daten vermuten, dass das serotonerge System gewisse Pathomechanismen der MS beeinflusst, insbesondere auch die HHN-Achse; welche genauen Vorgänge sich dabei abspielen, bleibt jedoch unklar.

Besser erforscht ist hingegen der Zusammenhang einer hyperaktiven HHN-Achse mit dem serotonergen System im Rahmen affektiver Störungen, wie depressive Erkrankungen (Holsboer 2010), (Daban, Vieta et al. 2005), Angst- (Binder and Nemeroff 2010) oder Zwangsstörungen. Auf der Grundlage der Störung des serotonergen Systems (Serotonin-Hypothese, (Coppen 1967) könnten so die Hormone in die neuromodulatorischen Abläufe des Hirnstamms eingreifen und einen Baustein der hyperaktiven HHN-Achse darstellen (Fox 2013).

## 1.5 Aufgabenstellung

Die Arbeit untersucht die subklinische Hyperaktivität des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems, und zwar durch den Einsatz eines sensitiven Funktionstests, des Dexamethason-CRH-Tests: kombinierte unterschwellige Hemmung mit nachfolgender Stimulation. Während diese neuroendokrinologische Diagnostik gut validiert ist, fehlten bisher zuverlässige Methoden der Quantifizierung der monoaminergen bzw. serotonergen Transmission. Zur Darstellung einer möglichen Korrelation der HHN-Achsen-Hyperaktivität und einer reduzierten Verfügbarkeit des Serotonintransporters bei MS-Patienten steht nun die Methode einer Positronen-Emissions-Tomographie (PET)-Untersuchung mit einem hochselektiven [<sup>11</sup>C]DASB-(3-amino-4-(2-dimethylaminomethylphenylsulfanyl)-benzonitrile) Radiotracer zur Verfügung. Auf einer funktionell-anatomischen Grundlage definierten wir bestimmte Hirnregionen, in denen das serotonerge System eng mit der HHN-Achse interagiert. Über diesen pathophysiologisch orientierten Aspekt hinaus erwarteten wir uns von der Untersuchung des serotonergen Systems einen Beitrag zu Verständnis und Therapie der Fatigue-Symptomatik bei Patienten mit MS.

Diese Zielsetzung führte zu folgenden Fragestellungen:

### Primäre Ziele:

Lässt sich eine Störung der HHN-Achse bei den untersuchten MS-Patienten nachweisen und besteht eine Hyperaktivität? Liegt bei MS-Patienten eine reduzierte Verfügbarkeit des Serotonintransporters vor? Besteht eine Korrelation zwischen dem Grad der Aktivierung der HHN-Achse mit der Aktivität des serotonergen Systems in bestimmten Hirnregionen?

### Sekundäre Ziele:

Inwiefern bestehen Unterschiede hinsichtlich der HHN-Achsen-Aktivität bzw. des serotonergen Systems zwischen Patienten mit schubförmigem bzw. chronisch-progredientem Verlauf? Besteht eine Korrelation zwischen der Ausprägung des Fatigue-Syndroms und der HHN-Achsen-Dysregulation oder der Aktivität des serotonergen Systems?

Unsere Ausgangshypothese war, dass die Hyperaktivität im kombinierten Dexamethason-CRH-Test mit einer verringerten Verfügbarkeit des Serotonintransporters korreliert.

## 2. Materialien und Methoden

### 2.1 Durchführung

Die Studie wurde prospektiv an der Klinik und Poliklinik für Neurologie und der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität Leipzig durchgeführt. Die Studie wurde zunächst bei der Ethikkommission der Universität Leipzig sowie beim Bundesamt für Strahlenschutz eingereicht und genehmigt und gemäß der Helsinki-Deklaration durchgeführt (Vorgangsnummer: 034/07-ff).

Patienten wurden gemäß der weiter unten aufgeführten Ein- bzw. Ausschlusskriterien in der Ambulanz bzw. auf der Station der Klinik und Poliklinik für Neurologie des Universitätsklinikums Leipzig rekrutiert. Das gesunde Kontrollkollektiv wurde aus dem Familien- und Bekanntenkreis der an der Studie beteiligten Personen gewonnen. Patienten und Kontrollen wurden mündlich und schriftlich über die Studie aufgeklärt; Hintergrund, Ablauf und mögliche Risiken sowie Umfang der Erhebung und die Verwendung personenbezogener Daten, wurden erläutert. Nach dem mündlichen Aufklärungsgespräch durch den behandelnden Arzt, den Projektleiter bzw. einen von ihm dazu beauftragten Arzt und dem im Bereich des Strahlenschutzes fachkundigen nuklearmedizinischen Prüfarztes erfolgte die schriftliche Einwilligungserklärung der Patienten und Probanden. Jeder erhielt eine angemessene Bedenkzeit von mindestens 24 Stunden.

### 2.2 Einschlusskriterien

Um an der Studie teilnehmen zu können, mussten die Kontrollen sowie Patienten zwischen 18 und 55 Jahren alt sein.

Die Patienten litten unter einer klinisch definierten Multiplen Sklerose gemäß den Diagnosekriterien nach Poser (Poser 1983) oder McDonald (Polman, Reingold et al. 2005), mit einem entweder schubförmigen oder primär chronisch progredienten Verlauf (Lublin 1996 Apr). Patienten wurden bis zu einem maximalen EDSS (Kurtzke 1983) von 6.5 ("able to walk at least 20 meters without rest, using constant bilateral assistance" - „in der Lage mindestens 20 Meter ohne anzuhalten zu laufen und dabei beidseitige Gehhilfen

zu benutzen“) eingeschlossen. Die Patienten waren allesamt im Hinblick auf eine immunmodulatorische oder immunsuppressive Therapie unbehandelt, weil diese Patienten entweder keiner Therapie bedurften, die Indikationskriterien (evtl. noch) nicht erfüllt waren oder für den Verlaufstyp (primär chronisch progrediente MS) keine wirksame Therapie zur Verfügung stand. Zwischen der Teilnahme an der Studie und dem letzten Schub bzw. der letzten Glukokortikoidpulstherapie mussten mindestens acht Wochen liegen.

Gesunde Probanden wurden im Hinblick auf das Alter, das Geschlecht, den Body Mass Index (BMI), den Nikotinkonsum und den Geburtsmonat rekrutiert; auch was den Zeitpunkt der Untersuchung (Jahreszeiten) betrifft, wurde versucht, diesen den Patienten anzugleichen.

### 2.3 Ausschlusskriterien

Patienten oder Probanden wurden aus der Studie ausgeschlossen, falls a) sie bereits an anderen Therapiestudien teilnahmen; b) weitere neurologische Erkrankungen vorlagen; c) sie an anderen Autoimmunerkrankungen mit Ausnahme nicht-aktiver atopischer Diathesen (z.B. Heuschnupfen außerhalb der individuell sensiblen Jahreszeit) litten; d) es psychotische oder affektive (monopolare Depression, bipolar-affektive Störung, Angststörung) Erkrankungen in der eigenen Vorgeschichte oder in der Verwandtschaft ersten Grades (Eltern, Geschwister) gab; „reaktive“ depressive Episoden (Anpassungsstörungen) vor mehr als einem Jahr wurden hiervon ausgenommen und der aktuelle Beck-Depressions-Inventar musste unter 18 Punkten liegen; eine Behandlung mit Antidepressiva durfte in den vorausgegangenen vier Wochen überhaupt nicht und in den vorausgegangenen sechs Monaten für maximal eine Woche erfolgt sein; e) sie eine endokrinologische Erkrankung, abgesehen von einer euthyreoten Jodmangelstruma, hatten oder hormonell aktive Medikamente, außer L-Thyroxin-Substitution oder orale Kontrazeptiva, einnahmen; f) sie unter aktiven Infektionen, häufigen Harnwegsinfekten oder schweren internistischen Begleiterkrankungen litten; g) keine angemessene Kontrazeption vorlag (Implantate, Injektionen, intrauterine Verfahren – Spiralen etc., vasktomierter Partner), sie schwanger waren oder stillten.

## 2.4 Allgemeiner Ablauf

Die Durchführung des Dexamethason-CRH-Tests (Dex-CRH-Test) wurde als Beginn der Studie (Tag 0) definiert.

An den Tagen -5 bis 0 erfolgte die Screening-Visite, in der Ein- und Ausschlusskriterien nochmals überprüft sowie die neurologische Vorgeschichte bzw. Jetzt- und Eigenanamnese dokumentiert wurden. Alle Studienteilnehmer unterzogen sich einer allgemein körperlichen sowie neurologischen Untersuchung. Der Grad der neurologischen Behinderung wurde anhand des EDSS gemessen und der Fragebogen des Beck-Depressions-Inventars ausgefüllt.

Der Dex-CRH-Test, Fragebögen zur Selbstbeurteilung (Fatigue, Lebensqualität), die [<sup>11</sup>C]DASB-PET sowie die MRT wurden innerhalb von neun Tagen nach der Screeninguntersuchung durchgeführt.

Zur PET-Untersuchung wurde den Patienten und Kontrollen üblicherweise Blut zur Genotypisierung des Serotonintransporters entnommen.

Tabelle 1 (s. Ergebnisteil) zeigt die klinischen und demographischen Charakteristika der Studienpopulation, den SERT-Genotyp, die Krankheitsdauer sowie den EDSS.

## 2.5 Dexamethason-CRH-Test

Der Dex-CRH-Test ist die Kombination eines niedrig dosierten Dexamethason-Suppressionstests sowie einem CRH-Stimulationstest und erfolgte gemäß vorangegangener Veröffentlichungen (Then Bergh, Grasser et al. 1999). Um mögliche, durch Stress induzierte Störfaktoren (Beeinflussung der HHN-Achse) durch PET oder MRT zu vermeiden, wurde der Dex-CRH-Test für gewöhnlich fünf bis einen Tag vor der PET und MRT oder mindestens drei Tage nach den bildgebenden Verfahren durchgeführt.

Am Vorabend des Tests um 23:00 Uhr nahmen die Patienten bzw. Probanden eine Tablette mit 1,5 mg Dexamethason oral ein. Am Tag der Untersuchung wurde um 14:00 Uhr eine Unterarmvene mittels einer Venenverweilkanüle punktiert und die Kanüle mit einer Verlängerung und einem Dreivegehahn verbunden. Es wurde eine Infusion von 500 ml physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) angelegt, der 5.000 IE Heparin zugesetzt waren. Die Infusionsrate betrug 20 ml/h; während des gesamten Tests wurden 40ml

Volumen infundiert und 400 IE Heparin verabreicht. Während des Tests sollten die Patienten in einem ruhigen, separaten Raum liegen, jedoch nicht schlafen, um schlafabhängige Hormonschwankungen zu vermeiden.

Von 15:00 bis 16:15 Uhr erfolgte insgesamt fünfmal (um 15:00, 15:30, 15:45, 16:00, 16:15) über den Dreiwegehahn die Aspiration der in der Verlängerung befindlichen Infusionslösung, die Entnahme von 5 ml Blut zur Bestimmung von Serum-Kortisol und Plasma-ACTH über die liegende Venenverweilkanüle und Spülung mit 5 ml der NaCl-Infusion. Um 15:02 wurde synthetisches humanes Corticotropin-Releasing-Hormon (hCRH FERRING®, 100 µg, gelöst in 1 ml 0,9%iger NaCl, 10% Hydrogenchlorid (HCl) und Wasser, verdünnt mit 9 ml 0,9%iger NaCl) über den Dreiwegehahn injiziert, gefolgt von einer Spülung mit 5 ml der NaCl-Infusion.

Nach den jeweiligen Blutentnahmen wurde jede Probe sofort in einem Kühlschrank mit einer Temperatur von 10 °C zwischengelagert und nach Beendigung des Dex-CRH-Tests zentrifugiert. Serum und Plasma wurden dann abpipettiert und bei -20 °C bis zur Bestimmung von ACTH und Kortisol eingefroren. Kortisol wurde mittels eines ECLIA (Electrochemiluminescence-System, Cobas®, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) und ACTH mittels des CLIA (Chemiluminescence-System, Liaison®, DiaSorin, Saluggia, Italien) gemäß der Anweisungen der Hersteller und der standardisierten Abläufe des Instituts für Labormedizin des Universitätsklinikums Leipzig bestimmt.

## 2.6 Positronen-Emissions-Tomographie

Um die zentrale Verfügbarkeit des SERT zu untersuchen, erhielten alle Studienteilnehmer eine Positronen-Emissions-Tomographie mit dem SERT-selektiven Radiotracer [<sup>11</sup>C]DASB. Der genaue Ablauf einer [<sup>11</sup>C]DASB-PET, wie sie an der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität Leipzig standardisiert durchgeführt wird, ist zum Beispiel in (Hesse, Stengler et al. 2011) beschrieben.

Der Radiotracer wurde am Tag der Untersuchung in der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin entsprechend der von (Wilson, Ginovart et al. 2000) beschriebenen Synthese hergestellt.

Die PET des Gehirns erfolgte als dynamische Messung an einem ECAT EXACT HR+

Scanner (Siemens, Erlangen, Deutschland) im 2D-Modus (23 Frames mit 4 x 0.25, 4 x 1, 5 x 2, 5 x 5, 5 x 10 Minuten-Aufnahmen) über 90 Minuten nach einer intravenösen Injektion von  $419.6 \pm 116.0$  MBq [ $^{11}\text{C}$ ]DASB über 90 Sekunden, wie bei (Hesse, Moeller et al. 2014) beschrieben. Unmittelbar vor Gabe des Radiotracers wurde ein zehnmütiger Transmissions-Scan (mit radioaktiven Quellen) für eine spätere Schwächungskorrektur durchgeführt. Die gewonnenen Emissionsdaten wurden mittels gefilterter Rückprojektion (mit einer 128 x 128 Matrix und einer Voxel-Größe von 2,6 x 2,6 x 2,4 mm) mit einem Hann-Filter (cut-off 4,9 mm) rekonstruiert sowie mit einem 10 mm Gauß-Filter geglättet. Aus den rekonstruierten PET-Daten wurden anschließend parametrische Bilder der entsprechenden Verteilungsvolumina (Distribution Volume Ratios (DVR)) anhand eines multilinearen Referenzmodells (Ichise, Liow et al. 2003) generiert, in dem die graue Substanz des Kleinhirns als Referenzregion diente. Die regionalen Verteilungsvolumina entsprechen der Verfügbarkeit der Tracer-Bindungsstellen als Maß für die SERT-Verfügbarkeit in den jeweils bestimmten Regionen.

Diese parametrischen Bilddaten wurden mit den individuellen 3D-MRT-Daten an einer HERMES-Workstation (HERMES Medical Solutions, Stockholm, Sweden) mit der HERMES Multimodality-Software koregistriert und ausgewertet. Die Auswertung erfolgte anhand einer Volume-of-Interest (VOI)-Analyse mittels einer Atlas-basierten Vorlage (Barthel, Luthardt et al. 2011) für verschiedene kortikale und subkortikale Regionen. Insgesamt wurden 31 Hirnregionen (VOIs) (seitengetrennt; rechts (R) und links (L)) untersucht: dorsolateraler frontaler Kortex (DLF R/L), medialer frontaler Kortex (MFC R/L), orbitofrontaler Kortex (OFC R/L), Temporallappen (TEMP R/L), Insel (Insula R/L), Nucleus accumbens (Ncl. Acc R/L), Amygdala (Amygdala R/L), Hippocampus (HPP R/L), Nucleus caudatus (Caudate R/L), Putamen (Putamen R/L), Striatum (Striatum R/L), Thalamus (Thalamus R/L), sowie der anteriore cinguläre Kortex (ACC), der Okzipitallappen (OCC), Hypothalamus und Mittelhirn, wobei die rechte und linke Seite der grauen Substanz des Kleinhirns (CERR R/L) wie oben beschrieben als Referenzregion dienten.

## 2.7 Magnetresonanztomographie

Die zur anatomischen Zuordnung erforderliche kraniale Magnetresonanztomographie wurde nach klinischen Routineverfahren an einem 1.5 Tesla Scanner (Magnetom Symphony, Siemens, Erlangen, Deutschland) durchgeführt. Es wurden folgende Sequenzen herangezogen: axiale T1-gewichtete-, axiale T2-gewichtete- und axiale FLAIR-Aufnahmen. MS-Patienten erhielten ein in der Standarddosierung für MRT Untersuchungen (0,1 mmol/kg) verwendetes intravenös appliziertes gadoliniumhaltiges Kontrastmittel (Gadovist, Bayer Health Care, Zürich, Schweiz), danach erfolgten die T1-gewichteten axialen Aufnahmen mit mindestens fünf Minuten Abstand zur Kontrastmittelinjektion. Ergänzend wurde ein T1-3D-Datensatz akquiriert.

## 2.8 Genotypisierung

Der Genotyp der SERT-Linked (regulierenden)-Promotor-Region (SERT-LPR) (Lesch, Bengel et al. 1996) wurde anhand von 2 ml peripherem EDTA Blut wie beschrieben (Hesse, Stengler et al. 2011) analysiert und die drei Genotypen SS, SL und LL bestimmt. Entsprechend des jeweiligen Polymorphismus steht S (short) für das kurze Allel mit 14 Repetitionen und L (long) für das lange Allel mit 16 Repetitionen.

## 2.9 Fragebögen zu Depression, Fatigue und Lebensqualität

Um den Grad der Depression, Fatigue und Lebensqualität zu untersuchen, wurden folgende validierte Fragebögen eingesetzt (s. Anhang).

### 2.9.1 Beck–Depressions-Inventar

Bei dem Beck-Depressions-Inventar (BDI) (Beck, Ward et al. 1961) handelt es sich um ein Testverfahren, das die Schwere einer Depression einschätzt. Der Fragebogen setzt sich aus 21 Fragen zusammen, in denen die Patienten und Probanden eine emotionale

Evaluierung verschiedener Aussagesätze mit Hinblick auf ihre Gefühlslage in der letzten Woche durchführen. Dabei gibt es je vier Antwortmöglichkeiten, zu denen jeweils null bis drei Punkte vergeben werden können. Diese Punktzahl wird am Ende addiert und ergibt einen Gesamtscore (0 bis 63 Punkte). Werte ab 18 Punkten werden als klinisch relevant eingestuft.

### 2.9.2 Würzburger Erschöpfungsinventar bei der Multiplen Sklerose

Das Würzburger Erschöpfungsinventar bei der Multiplen Sklerose (WEIMuS) (Flachenecker, Muller et al. 2006) besteht aus 17 Fragen, in denen nach der Müdigkeit der letzten Woche gefragt wird.

Jede Aussage wird auf einer numerischen Bewertungsskala von „0“ (nie) bis „4“ (fast immer) eingetragen und aus der Summe der Gesamtscore errechnet (0 bis 68). Dabei wird der Test in zwei Subscores unterteilt: Teil eins, der die kognitive und Teil zwei, der die körperliche Fatigue reflektiert. Die kognitive Fatigue wird aus den Aussagen 2, 3, 5, 7, 9, 10, 13, 14 und 15 (0 bis 36) bestimmt und die körperliche aus den Aussagen 1, 4, 6, 8, 11, 12, 16 und 17 (0 bis 32).

Für die statistische Auswertung wurde zum einen der Gesamt-WEIMuS-Score erstellt, zum anderen aber auch WEIMuS 1 und WEIMuS 2 separat berechnet.

### 2.9.3 Europäischer Lebensqualitäts-Fragebogen

Der Europäische Lebensqualitäts-Fragebogen (European Quality of Life, EuroQoL) (Rabin and de Charro 2001) ist ein Verfahren, das die gesundheitsbezogene Lebensqualität beschreibt. Hierbei sollten die Patienten und Probanden Fragen bezüglich ihrer eigenen aktuellen gesundheitsbezogenen Lebensqualität beantworten und auf einer vertikalen Skala mit einem Wertebereich von 0 bis 100 einschätzen ( „0“ schlechtesten und „100“ best denkbaren Gesundheitszustand).

Ein Subtest ist die visuelle Analogskala (VAS), die aus einer horizontalen Skala besteht und den Grad der Müdigkeit in den letzten vier Wochen dokumentieren soll.

## 2.10 Statistische Datenanalyse

Alle Analysen erfolgten mit der SPSS Version 11 (SPSS Inc., Chicago).

Für die statistische Analyse der im Dex-CRH-Test bestimmten ACTH- und Kortisolwerte wurden folgende Kurvenparameter berechnet: maximale Konzentration von Kortisol (CMax) und ACTH (AMax) sowie die Differenz zwischen Basalwert und Maximalwert nach Stimulation (CDeltaMax und AdeltaMax).

Zudem wurde für beide Parameter die Fläche unter der Kurve (Area Under the Curve (AUC)) entsprechend CAUC und AAUC bestimmt sowie die mittlere Kurvenlage (Mean Curve Location (CMeloc, AMeloc)).

Weiterhin bestimmten wir die ACTH-Kortisol-Ratio für die Maximalwerte, mittlere Kurvenlage und Fläche unter der Kurve (ACMax, ACMeloc, ACAUC) (Then Bergh, Kumpfel et al. 2007).

Unterschiede zwischen MS-Patienten und Kontrollen bezüglich der Parameter des Dex-CRH-Tests, der SERT-Verfügbarkeit sowie der Fragebögen zu Fatigue, Depression und Lebensqualität wurden auf ihre statistische Signifikanz mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse (One-factorial Analysis of Variance, ANOVA) untersucht.

Wenn Signifikanzen im Vergleich mit den Kontrollen für RRMS und PPMS separat getestet wurden, wurde die Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) angewandt. Dabei wurden Alter, Geschlecht, Nikotinkonsum, Jahreszeit des Geburtsdatums, Jahreszeit der Untersuchung, SERT-LPR und BMI als Kovariaten eingesetzt.

Wenn in der MANOVA signifikante Unterschiede in den verschiedenen Testgruppen analysiert wurden, wurde nochmals mittels Contrast Tests untersucht, welche Gruppenunterschiede zu den signifikanten Unterschieden beigetragen haben. Gruppenunterschiede hinsichtlich kategorialer Daten wurden mittels Chi-Quadrat oder dem exakten Test nach Fisher ausgewertet.

Für die Untersuchung der signifikanten Unterschiede der serotonergen Verfügbarkeit (DVR) im Seitenvergleich von bilateralen Hirnstrukturen wurde der gepaarte Student's t-Test herangezogen. Eine Wichtung wurde eingesetzt, wo sie angemessen vertretbar war. Als signifikant galten p-Werte  $\leq 0,05$ . Die Daten wurden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (standard deviation, SD) angegebenen; Abweichungen davon wurden explizit gekennzeichnet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Klinische und demographische Daten

Insgesamt unterzogen sich gemäß den Einschlusskriterien der Studie 17 Patienten, davon acht Frauen (47 %) und neun Männer (52 %) sowie 13 gesunde Kontrollen, davon acht Frauen (61,5 %) und fünf Männer (38,5 %). Die durchschnittliche Krankheitsdauer belief sich auf  $10,08 \pm 2$  Jahre. 11 Patienten (65 %) hatten einen schubförmigen und sechs (35 %) einen primär chronisch progredienten Verlauf (s. Tabelle 1).

Patienten und Probanden unterschieden sich nicht hinsichtlich des Alters, des Geschlechts oder des BMI ( $p$  durchweg  $> 0,1$ ). Unterschiede zwischen der Jahreszeit des Geburtsdatums, des Untersuchungszeitraums und des Nikotinkonsums zeigten sich als nicht signifikant ( $p = 0,325$ ;  $0,074$  und  $0,145$ , Chi-Quadrat).

Die Patienten mit einer schubförmigen MS zeigten im EDSS mit einem Mittelwert von  $1,4 \pm 0,8$  eine lediglich geringe Behinderung, wohingegen die Patienten mit einem primär chronisch progredienten Verlauf im Mittel einen EDSS von  $4,0 \pm 1,4$  ( $p < 0,001$ ) aufwiesen. Die Patienten mit einer PPMS hatten im Vergleich mit der RRMS Gruppe einen nicht signifikant längeren Krankheitsverlauf ( $p = 0,094$ ).

Wie in Tabelle 1 gezeigt, fanden wir bei 11,8% der Patienten den SS-, 35,3 % den SL- und 52,9 % den LL-SERT-Genotyp. Die gesunden Kontrollen wiesen mit 23,1 % den SS-, 23,1 % den SL- und 53,8 % den LL-SERT-Genotyp auf. Diese Verteilungen unterschieden sich ebenfalls nicht signifikant ( $p = 0,627$ , Chi-Quadrat).

Tabelle 1

## Demographische und klinische Charakteristika der Studienpopulation

	Kontrollen	Patienten gesamt	Patienten RRMS	Patienten PPMS
n	13	17	11	6
Alter in Jahren	35,7 +/- 9,9	42,0 +/- 11,1	39,5 +/- 11,5	46,8 +/- 8,9
männlich : weiblich	8:5	8:9	6:5	2:4
Jahreszeit zur Geburt (Frühling: Sommer: Herbst: Winter)	6:3:1:3	3:6:4:4	2:3:4:2	1:3:0:2
Jahreszeit bei Studienteilnahme (Frühling: Sommer: Herbst: Winter)	5:6:1:1	5:2:5:5	4:0:4:3	1:2:1:2
Raucher (nie: gelegentlich: <3 Zigaretten pro Tag: regelmäßig)	9:1:2:1	9:0:1:7	5:0:1:5	4:0:0:2
SERT-LPR Genotyp (SS : SL : LL)	3:3:7	2:6:9	2:3:6	0:3:3
EDSS	n.a.	2,74 +/- 1,8	1,36 +/- 0,8	4,00 +/- 1,4
Krankheitsdauer in Monaten	n.a.	121,0 +/- 24,0	78,9 +/- 112,2	159,5 +/- 108,3
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	21,5 +/- 2,1	22,4 +/- 2,4	22,5 +/- 2,7	22,3 +/- 2,3

n = Anzahl der Kontrollen und Patienten, Patienten wurden in RRMS (Relapsing-remitting MS) und PPMS (Primary Progressive MS) unterteilt. Alter, EDSS (Expanded Disability Status Scale), Krankheitsdauer in Monaten und BMI (Body mass Index) wurden als Mittelwerte mit einer Standardabweichung (SD) +/- angegeben. Die Angabe der numerischen Verteilung erfolgt für Kontrollen und Patienten für die Jahreszeit des Geburtstages und des Untersuchungszeitraumes, den Nikotinkonsum, und den SERT-LPR Genotyp.

### 3.2 Dexamethason-CRH-Test

In der Patientengruppe fanden wir eine Aktivierung der HHN-Achse, die sich durch eine gesteigerte Ausschüttung von Kortisol kennzeichnete. Bezugnehmend auf die Kortisolwerte zeigten sich im Vergleich zu den Probanden für alle erhobenen Messwerte, wie dem Maximalwert (CMax:  $p = 0,03$ ), dem maximalen Anstieg (CDeltaMax:  $p = 0,019$ ), der Fläche unter der Kurve (CAUC:  $p = 0,02$ ) und der mittleren Kurvenlage (CMeloc:  $p = 0,049$ ) signifikante Unterschiede. Am ausschlaggebendsten war die Fläche unter der Kurve der Kortisol-Konzentration (CAUC), die im Patientenkollektiv doppelt so groß war wie bei den gesunden Probanden.

Die ACTH-Werte waren nicht statistisch signifikant unterschiedlich, wohingegen die ACTH-Kortisol-Ratio für den Maximalwert (ACMax:  $p = 0,005$ ), die Fläche unter der Kurve (ACAUC:  $p = 0,008$ ) und die mittlere Kurvenlage (ACMeloc:  $p = 0,027$ ) in der Patientengruppe signifikant niedriger waren als bei den Probanden.

In der Analyse der MS-Subgruppen zeigte sich, dass die Patienten mit PPMS eine deutlichere HHN-Achsen-Aktivierung aufwiesen als die mit RRMS (CMax:  $p = 0,023$ , CDeltaMax:  $p = 0,013$ , CAUC:  $p = 0,012$ , CMeloc:  $p = 0,037$ , ACMax:  $p = 0,012$  und ACAUC:  $p = 0,022$ ). In der Post-hoc (Bonferroni) Analyse ergab sich ein signifikanter Gruppenunterschied bei der PPMS im Vergleich mit den gesunden Probanden bei CMax, CDeltaMax, CAUC, CMeloc und bei der ACTH/ Kortisol-Ratio für ACMax und ACAUC.

Tabelle 2

## Ergebnisse des Dexamethason-CRH-Tests

Hormone	Kontrollen n=13	Patienten n=17	RRMS n=11	PPMS n=6	ANOVA (Pat. vs. Kon.)  p	ANOVA (RRMS vs PPMS vs Kon)  p	Signifi- kant verschie- dene Gruppen
<b>Kortisol</b> Max (nmol/l)	59,8 +/- 40,1	131,0 +/- 108,9	97,1 +/- 70,8	162,0 +/- 130,3	0,03	0,023	PPMS/Kon
Delta Max	38,4 +/- 42,8	112,2 +/-103,1	78,4 +/- 69,5	143,2 +/- 121,1	0,019	0,013	PPMS/Kon
AUC	151,0 +/- 76,2	381,6 +/-334,6	271,1 +/- 209,5	482,8 +/- 400,8	0,02	0,012	PPMS/kon
Mittlere Kurvenlage	25,8 +/- 11,5	47,6 +/- 37,1	36,5 +/-23,4	57,7 +/- 45,0	0,049	0,037	PPMS/Kon
<b>ACTH</b> Max (pmol/l)	3,06 +/- 2,48	2,94 +/- 2,25	2,55 +/- 1,25	3,31 +/- 2,9	n.s.		
Delta Max	1,51 +/- 0,97	2,11 +/- 1,89	1,63 +/- 1,14	2,56 +/- 2,35	n.s.		
AUC	9,76 +/- 9,41	8,64 +/- 7,04	7,22 +/- 3,48	9,93 +/- 9,18	n.s.		
Mittlere Kurvenlage	1,75 +/- 2,02	1,28 +/- 0,94	1,18 +/- 0,59	1,36 +/- 1,2	n.s.		
<b>ACTH/ Kortisol</b> Max (pmol/nmol)	0,069 +/- 0,059	0,029 +/- 0,018	0,038 +/- 0,024	0,02 +/- 0,01	0,005	0,012	PPMS/Kon
Delta Max	0,083 +/- 0,09	0,031 +/-0,02	0,04 +/- 0,03	0,02 +/- 0,01	0,008	0,022	PPMS/Kon
Mittlere Kurvenlage	0,088 +/- 0,109	0,034 +/- 0,026	0,04 +/- 0,02	0,03 +/- 0,01	0,027		

Die Erläuterungen zu den Abkürzungen sind im Methoden- und Ergebnisteil ausführlich aufgelistet; p-Werte wurden ab  $p < 0,1$ , die anderen mit n. s. (nicht signifikant) angegeben.

### 3.3 Verfügbarkeit des Serotonintransporters (mittlere Distribution Volume Ratios)

Verglichen mit den gesunden Probanden zeigten die MS-Patienten in fast allen der 31 definierten Hirnregionen eine niedrigere Verfügbarkeit des Serotonintransporters (Tabelle 3).

Während die Unterschiede in den meisten kortikalen Regionen sowie in den Basalganglien nicht signifikant waren, war die Verfügbarkeit des SERT bei den MS-Patienten signifikant niedriger im Hypothalamus ( $p=0,008$ ), im Raphe-Kern ( $p=0,015$ ) und im linken Hippocampus ( $p=0,035$ ). Außerdem fanden wir in der Patientengruppe signifikant reduzierte Verteilungsvolumina des Serotonintransporters im linken Thalamus ( $p=0,012$ ), in der linken Amygdala ( $p=0,037$ ) und im linken Temporallappen ( $p=0,042$ ).

Zusätzlich wurden Unterschiede zwischen den drei verschiedenen Gruppen (Kontrollen, RRMS, PPMS) analysiert. Hier zeigte sich, dass die Unterschiede hauptsächlich zwischen den Kontrollen und der PPMS-Gruppe (Thalamus links:  $p=0,037$ , Hypothalamus:  $p=0,014$  und Raphe:  $p=0,022$ ), teils auch zwischen den beiden Patientengruppen (OFC links:  $p=0,009$ ) signifikant waren.

Tabelle 3

Ergebnisse des [<sup>11</sup>C]DASB-PET

Hirnregionen	Kontrollen n=13	Patienten n=17	RRMS n=11	PPMS n=6	ANOVA (Pat vs Kon)  p	ANOVA (RRMS vs PPMS vs Kon)  p	Signifikant verschiedene Gruppen
DLF R	1,10 +/- 0,06	1,08 +/- 0,07	1,07 +/- 0,08	1,09 +/- 0,06	n.s.		
DLF L	1,10 +/- 0,07	1,07 +/- 0,06	1,06 +/- 0,07	1,08 +/- 0,05	n.s.		
MFC R	1,19 +/- 0,07	1,18 +/- 0,07	1,17 +/- 0,08	1,19 +/- 0,07	n.s.		
MFC L	1,19 +/- 0,08	1,18 +/- 0,06	1,15 +/- 0,06	1,20 +/- 0,06	n.s.		
OFC R	1,26 +/- 0,08	1,24 +/- 0,11	1,20 +/- 0,097	1,27 +/- 0,11	n.s.		
OFC L	1,25 +/- 0,1	1,26 +/- 0,11	1,19 +/- 0,08	1,32 +/- 0,099	n.s.	0,009	RRMS/PPMS
ACC	1,23 +/- 0,09	1,3 +/- 0,096	1,26 +/- 0,09	1,33 +/- 0,09	n.s.		
TEMP R	1,13 +/- 0,06	1,08 +/- 0,07	1,11 +/- 0,08	1,06 +/- 0,06	0,069		
TEMP L	1,18 +/- 0,16	1,1 +/- 0,07	1,12 +/- 0,08	1,09 +/- 0,05	0,042		
Ncl. Acc.R	2,26 +/- 0,22	2,09 +/- 0,29	2,05 +/- 0,37	2,11 +/- 0,19	0,069		
Ncl. Acc.L	2,15 +/- 0,18	2,08 +/- 0,34	2,06 +/- 0,44	2,10 +/- 0,24	n.s.		
Amygdala R	1,86 +/- 0,27	1,73 +/- 0,17	1,73 +/- 0,23	1,71 +/- 0,08	0,079		
Amygdala L	1,88 +/- 0,28	1,7 +/- 0,2	1,74 +/- 0,26	1,67 +/- 0,13	0,037		
HPP R	1,44 +/- 0,13	1,39 +/- 0,1	1,41 +/- 0,15	1,38 +/- 0,06	n.s.		
HPP L	1,52 +/- 0,17	1,41 +/- 0,12	1,4 +/- 0,13	1,39 +/- 0,12	0,035		
Occipital	1,13 +/- 0,09	1,1 +/- 0,09	1,10 +/- 0,11	1,11 +/- 0,07	n.s.		
Caudate R	2,12 +/- 0,16	1,98 +/- 0,34	1,96 +/- 0,42	2,0 +/- 0,26	n.s.		
Caudate L	2,04 +/- 0,17	1,94 +/- 0,32	1,91 +/- 0,42	1,96 +/- 0,17	n.s.		
Putamen R	2,07 +/- 0,14	1,94 +/- 0,25	1,86 +/- 0,32	2,02 +/- 0,14	n.s.		

Hirnregionen	Kontrollen n=13	Patienten n=17	RRMS n=11	PPMS n=6	ANOVA (Pat vs Kon)  p	ANOVA (RRMS vs PPMS vs Kon)  p	Signifikant verschiedene Gruppen
Putamen L	2,06 +/- 0,18	1,94 +/- 0,27	1,91 +/- 0,36	1,98 +/- 0,16	n.s.		
STR R	2,08 +/- 0,16	1,95 +/- 0,27	1,87 +/- 0,34	2,01 +/- 0,15	n.s.		
STR L	2,06 +/- 0,17	1,95 +/- 0,28	1,91 +/- 0,37	1,98 +/- 0,15	n.s.		
Insula R	1,56 +/- 0,14	1,47 +/- 0,13	1,48 +/- 0,19	1,46 +/- 0,04	0,065		
Insula L	1,5 +/- 0,15	1,41 +/- 0,13	1,44 +/- 0,15	1,4 +/- 0,10	0,077		
Thalamus R	2,26 +/- 0,2	2,08 +/- 0,29	2,13 +/- 0,34	2,05 +/- 0,23	0,057		
Thalamus L	2,33 +/- 0,2	2,1 +/- 0,28	2,13 +/- 0,32	2,06 +/- 0,25	0,012	0,037	PPMS/Con
Hypothalamus	2,49 +/- 0,3	2,12 +/- 0,42	2,22 +/- 0,48	2,02 +/- 0,35	0,008	0,014	PPMS/Con
Midbrain	2,75 +/- 0,38	2,47 +/- 0,45	2,54 +/- 0,6	2,41 +/- 0,27	0,075		
Raphe	2,25 +/- 0,42	1,92 +/- 0,34	2,02 +/- 0,45	1,81 +/- 0,16	0,015	0,022	PPMS/Con
CERR R	0,96 +/- 0,08	0,95 +/- 0,04	0,97 +/- 0,03	0,94 +/- 0,03	n.a.		
CERR L	0,98 +/- 0,07	0,98 +/- 0,05	0,99 +/- 0,02	0,97 +/- 0,06	n.a.		

Aufgeführt sind die mittleren Distribution Volume Ratios (DVRs, Verteilungsvolumina) des Serotonintransporter-Tracers [<sup>11</sup>C]DASB wie im Methodenteil beschrieben. Die angegebenen Abkürzungen der verschiedenen Hirnregionen sind ebenfalls im Methodenteil nachzulesen. P-Werte sind ab p <0,1 angegeben, die anderen als nicht signifikant (n.s.). Für die Referenzregion, dem Kleinhirn, wurden keine statistischen Analysen durchgeführt und sind demnach mit nicht anwendbar (n.a.) gekennzeichnet.

### 3.4 Lateralität des Serotonintransporters

Neben den Hirnregionen der Mittellinienstrukturen, die von der reduzierten Verfügbarkeit des Serotonintransporters im Patientenkollektiv betroffen waren, zeigten sich auch, wie oben beschrieben, signifikante Veränderungen in bilateralen Strukturen. Interessanterweise war hier ausschließlich die linke Hemisphäre betroffen. Aus diesem Grund wurden die DVRs der bilateralen Strukturen mit dem gepaarten t-Test für die Patienten- und Probandengruppe getrennt untersucht. Dabei ergab sich eine signifikante Seitendifferenz in sechs Hirnregionen bei den gesunden Kontrollen und lediglich in zwei Regionen bei der RRMS sowie einer bei der PPMS.

Tabelle 4

Hirnregionen mit signifikant asymmetrischer Serotonintransporter-Verfügbarkeit, entsprechend der verschiedenen untersuchten Gruppen

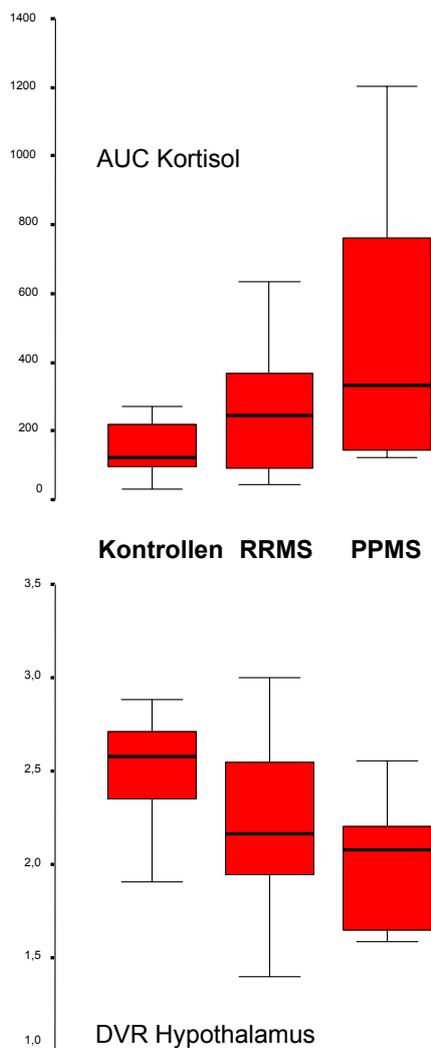
Kontrollen			RRMS			PPMS		
Region	Mittlere Differenz R vs L	p	Region	Mittlere Differenz R vs L	p	Region	Mittlere Differenz R vs L	p
Insula R>L	0,06 +/- 0,1	0,046	Insula R>L	0,04 +/- 0,06	0,047	Orbitofrontal L>R	- 0,05 +/- 0,04	0,021
N.acc R>L	0,1 +/- 0,11	0,007	CERR L>R	- 0,02 +/- 0,02	0,02			
Hippo-campus L>R	0,08 +/- 0,08	0,007						
N.caud. R>L	0,08 +/- 0,09	0,007						
Thalamus L>R	- 0,07 +/- 0,1	0,031						
CERR L>R	- 0,01 +/- 0,02	0,047						

Aufgeführt sind die PET Daten der mittleren Distribution Volume Ratios (DVRs, Verteilungsvolumina) des Serotonintransporter-Tracers für [<sup>11</sup>C]DASB wie im Methodenteil beschrieben. Die angegebenen Abkürzungen der verschiedenen Hirnregionen sind ebenfalls im Methodenteil nachzulesen. R = rechts, L = links. P-Werte sind ab p<0,05 angegeben.

### 3.5 Beziehung der neuroendokrinen Funktion zur Serotonintransporter-Verfügbarkeit

Die Analyse der neuroendokrinen Parameter in Relation mit der SERT-Verfügbarkeit ergab, dass die Patientengruppe mit der ausgeprägtesten HHN-Achsen-Aktivierung, die PPMS-Patienten (s. Tabelle 2), die niedrigsten DVR in mehreren Regionen aufwiesen. Die betroffenen Regionen, wie der Hypothalamus, Raphe-Kerne, Hippocampus und Amygdala (s. Tabelle 3), stehen alle in engem regulatorischem Zusammenhang mit der HHN-Achse. In der Abbildung 1 ist dieser Zusammenhang anhand der AUC für Kortisol und der SERT-DVR des Hypothalamus dargestellt. Eine statistisch signifikante Korrelation der entsprechenden neuroendokrinen Parameter und der SERT-DVR (s. Tabelle 2 und 3) konnte nicht gezeigt werden (durchweg  $p > 0,05$ ).

Abbildung 1 Zusammenhang der AUC-Kortisol und der hypothalamischen SERT-DVR



### 3.6 Fatigue und Depression

Die Auswertung der Fragebögen ergab, dass die Patienten in allen Erhebungen signifikante Unterschiede im Vergleich zu den Probanden zeigten.

Depressive Symptome wurden häufiger von Patienten als von Probanden angegeben, während eine klinisch relevante Depression bereits im Vorfeld ausgeschlossen wurde. Beim Würzburger Erschöpfungsinventar ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied für den Gesamt-Score wie auch für die beiden Unterteilungen, WEIMuS 1 (kognitive Fatigue) und WEIMuS 2 (körperliche Fatigue). Auch die Lebensqualität gaben die Patienten als signifikant schlechter an, gemessen mit einer visuellen Analogskala, dem EuroQol sowie der EuroQolScale. Im Hinblick auf die Gruppenunterschiede bei den Patienten zeigte sich, dass die PPMS-Patienten im Vergleich zu den RRMS-Patienten mehr von der körperlichen Fatigue und reduzierter Lebensqualität betroffen waren. Im Vergleich mit dem gesunden Kontrollkollektiv stellten sich die signifikanten Unterschiede hauptsächlich bei den PPMS-Patienten dar (Tabelle 5).

Tabelle 5

Ergebnisse der Fragebögen für Fatigue, Lebensqualität und Depression

	Kontrollen	Patienten gesamt	Patienten RRMS	Patienten PPMS	ANOVA (Pat vs Kon)  p	ANOVA (RRMS vs PPMS vs Kon)  p	Signifikant unter- schiedliche Gruppen
BDI	1,23 +/- 2,52	6,52 +/- 6,92	5,27 +/- 8,40	7,67 +/- 5,35	0,012	0,028	PPMS/Kon
WEIMuS	3,08 +/- 5,17	23,83 +/-18,2	16,18 +/- 20,8	30,83 +/- 12,6	<0,001	<0,001	PPMS/Kon
WEIMuS 1	1,69 +/- 2,9	9,57 +/- 8,40	8,00 +/- 10,4	11,00 +/- 6,12	0,003	0,007	PPMS/Kon
WEIMuS 2	1,38 +/- 2,53	14,3 +/- 10,5	8,18 +/- 10,5	19,8 +/- 6,94	<0,001	<0,001	RRMS/ PPMS PPMS/Kon
EuroQol	5,23 +/- 0,44	7,17 +/- 1,75	6,45 +/- 1,63	7,83 +/- 1,64	<0,001	<0,001	PPMS/Kon
EuroQol Scale	94,4 +/- 5,36	66,5 +/- 22,0	78,6 +/- 16,5	55,3 +/- 20,9	<0,001	<0,001	RRMS/ PPMS PPMS/Kon
VAS	1,408 +/- 1,64	3,28 +/- 2,21	3,24 +/- 2,69	3,33 +/- 1,77	0,011	0,043	

Abkürzungen s. Methodenteil; p-Werte sind ab  $p < 0.1$  angeben.

## 4. Diskussion

### 4.1 Dexamethason-CRH-Test und Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die HHN-Achse bei MS-Patienten zu untersuchen und einen möglichen Zusammenhang mit einer reduzierten Verfügbarkeit des Serotonintransporters herzustellen. Dabei wurde die HHN-Achse mittels des Dex-CRH-Tests und die SERT-Verfügbarkeit als annäherndes Äquivalent für die serotonerge synaptische Aktivität mittels einer [<sup>11</sup>C]DASB-PET untersucht.

Entsprechend bereits erhobener Daten (Then Bergh, Grasser et al. 1999), (Wei and Lightman 1997), (Gold, Raji et al. 2005) konnten wir in der Gruppe der MS-Patienten den Befund einer dysregulierten HHN-Achse reproduzieren. Diese Hyperaktivität war am auffälligsten bei der primär chronisch progredienten MS.

Wie eingehend (s. Einleitung 1.3.) beschrieben, ist bei der Multiplen Sklerose von einer dysregulierten HHN-Achse auszugehen. Welche Patienten und in welcher Ausprägung von einer Hypo- (z.B. (Wei and Lightman 1997), (Limone, Ferrero et al. 2002)) oder Hyperaktivierung (z.B. (Heesen, Gold et al. 2007)) betroffen sind, wurde in der Vergangenheit kritisch diskutiert; ein Großteil der Daten spricht jedoch für eine HHN-Achsen-Hyperaktivität.

Im Einklang mit den Ergebnissen unserer Studie konnten (Then Bergh, Grasser et al. 1999) — in Abhängigkeit vom Krankheitsverlauf, vor allem bei Patienten mit einem primär chronisch progredienten Verlauf — eine hyperaktive HHN-Achse mit erhöhtem basalem oder stimuliertem ACTH oder Kortisol nachweisen. Diese Ergebnisse wurden in einer späteren Arbeit von (Heesen, Gold et al. 2002) unterstützt, in der Patienten mit einem primär oder sekundär chronisch progredienten Verlauf eine gesteigerte HHN-Achse aufwiesen, wohingegen die Patientengruppe mit schubförmigem Verlauf davon nicht betroffen war.

In einer neueren Studie von (Ysraelit, Gaitan et al. 2008) wurde erneut die HHN-Achsen-Hyperaktivität bestätigt, indem Kortisol, ACTH, DHEAS und Kortisol im Urin gemessen wurden. Hier zeigten sich die höchsten Werte bei RRMS-Patienten im akuten Schub, gefolgt von PPMS-Patienten. Die Patienten mit SPMS und RRMS zeigten nur moderate Erhöhungen. 62% der untersuchten Patienten mit Multipler Sklerose wiesen im Dex-CRH-

Test abnorme Ergebnisse auf. Unterschiede in den jeweiligen Patientengruppen (RRMS, SPMS und PPMS) konnten jedoch nicht dargestellt werden. Die Autoren diskutierten, dass diese HHN-Achsen-Hyperaktivität durch eine verminderte Sensitivität im Glukokortikoidrezeptor hervorgerufen wurde.

Schon (Holsboer 2000) formulierte im Zusammenhang mit der Entwicklung einer Depression die „Kortikosteroid-Rezeptor-Hypothese der Depression“. Letztlich liegen hier wie bei den MS-Patienten wahrscheinlich teils überlappende pathophysiologische Vorgänge zugrunde. Dabei kann Kortisol den CRH-Anstieg im ZNS nicht mehr in seine Ausgangslage zurückregulieren. Ursächlich scheinen die Glukokortikoid-Rezeptoren im Rahmen des negativen Feedbacks nicht mehr in der Lage zu sein, der überschießenden Kortisolproduktion entgegenzuwirken bzw. liegt dadurch eine verminderte Sensitivität der Rezeptoren vor.

Studien, die im Längsschnitt den Verlauf der HHN-Achsen-Aktivierung untersuchen und somit eine Aussage über die Veränderung der HHN-Achse über die Zeit treffen könnten, sind rar. (Gold, Raji et al. 2005) konnten durch die Zunahme von mindestens einem Punkt im EDSS innerhalb von drei Jahren darstellen, dass die Hyperaktivität im Dex-CRH-Test eine Krankheitsprogression voraussagen kann.

(Kumpfel, Schwan et al. 2014) zeigten in ihrer Arbeit eine Zunahme der HHN-Achsen-Aktivierung bei unbehandelten Patienten und beschrieben eine im Verlauf stattfindende Verschiebung von einer zunächst hypothalamo-hypophysären Hyperaktivität zu einer adrenergen Aktivierung. Mit einer immunmodulatorischen Dauertherapie behandelte Patienten hatten eine stabile, nahezu unveränderte Situation der HHN-Achse.

(Gold, Raji et al. 2005) diskutierten auch, ob die Hyperreaktivität der HHN-Achse in frühen Krankheitsphasen (RRMS) einer akuten Entzündungsreaktion und später beim Übergang in eine SPMS eher neurodegenerativen Prozessen geschuldet ist. Dafür würde auch die Arbeit von (Huitinga, Erkut et al. 2004) sprechen, die neben der gesteigerten Aktivität/ Zahl CRH-produzierender Neurone auch eine Gruppe mit einer verminderten Zahl beschrieben hat, was mit der schlechtesten Prognose einherging. Die Arbeitsgruppe postulierte, dass es aufgrund der zahlreichen aktiven Hypothalmusläsionen zu einer Abnahme der Aktivität der CRH produzierenden Neurone gekommen war und im akuten MS-Schub eine inadäquate Kortisolantwort zur Folge hatte, die wiederum zu einem schlechten Krankheitsverlauf beitrug.

Auf der anderen Seite zeigte sich bei den Patienten mit einer HHN-Achsen-Hyperaktivität eine niedrigere Anzahl kontrastmittelaufnehmender Läsionen, was für eine Protektion gegenüber akuten inflammatorischen Läsionen sprechen könnte (Schumann, Kumpfel et al. 2002).

Zusammenfassend scheint eine negative Korrelation hinsichtlich der HHN-Achsen-Hyperaktivität und kontrastmittelaufnehmender Läsionen vorzuliegen.

In unserer Studie wurden jedoch weder Patienten mit einer SPMS noch mit einem schweren Krankheitsverlauf oder kontrastmittelaufnehmenden Läsionen eingeschlossen, so dass über diese Gruppen bezüglich der HHN-Achse keine Aussage getroffen werden kann.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es vielmehr, die Patienten der schubförmigen mit der primär chronisch progredienten MS zu vergleichen und Unterschiede in der HHN-Achsen-Aktivierung herauszuarbeiten. Folglich konnten wir zeigen, dass die Gruppe der PPMS am stärksten auf den Dex-CRH-Test reagiert hat; inwiefern die PPMS-Patienten gegebenenfalls auch von einer stärkeren Neurodegeneration betroffen waren, kann abschließend nicht geklärt werden. Naheliegend wäre, dass aufgrund des längeren Krankheitsverlaufs und höheren EDSS bei diesen Patienten ausgeprägtere neuronale Schädigungen eingetreten sind und in der Folge auch die Fasern betreffen könnten, die an neuroendokrinen Regulationsmechanismen beteiligt sind (Kumpfel, Schwan et al. 2014).

Letztlich muss man zu dem Schluss kommen, dass anhand der aktuellen Datenlage der Grund und die möglichen Veränderungen dieser endokrinen Dysfunktion über die Zeit weiterhin unklar bleiben. Ein Baustein könnte jedoch das im folgenden Absatz beschriebene serotonerge System darstellen.

## 4.2 Das serotonerge System

Ähnlich wie bei der Multiplen Sklerose findet sich, wie oben beschrieben, auch bei der unipolaren Depression und bei Zwangsstörungen eine HHN-Achsen-Aktivierung (Posener, DeBattista et al. 2000), (Strohle and Holsboer 2003), (Vreeburg, Hoogendijk et al. 2009). In einer großen Metaanalyse zeigte sich vor allem in manischen Phasen unter Patienten mit einer bipolaren Störung eine HHN-Achsen-Hyperaktivität (Belvederi Murri, Prestia et al.

2016).

Veränderungen des serotonergen Systems sind bei diesen psychiatrischen Erkrankungen oft beschrieben worden und vermutlich pathogenetisch maßgeblich beteiligt (zusammengefasst in (Jack R. Cooper 2003)).

Durch diverse PET-Studien (Hesse, Muller et al. 2005), (Parsey, Oquendo et al. 2006), (Reimold, Smolka et al. 2007), (Reimold, Batra et al. 2008) ließ sich eine verminderte SERT-Verfügbarkeit bei diesen Krankheiten auch bestätigen. Eine in jüngerer Vergangenheit veröffentlichte Studie fand bei Patienten mit unipolarer Depression oder Zwangsstörung eine Assoziation zwischen einer reduzierten SERT-Verfügbarkeit im Thalamus und einer erhöhten Kortisolantwort im Dex-CRH-Test (Reimold, Knobel et al. 2011). In einer Studie mit gesunden Probanden ergab sich, dass präfrontales Serotonin die morgendliche Ausschüttung (cortisol awakening response (CAR)) unterdrückt (Frokjaer, Erritzoe et al. 2013).

Die MS-Patienten unserer Studie hatten vor allem in Hirnregionen, die an regulatorischen Prozessen der HHN-Achse beteiligt sind, eine verminderte Verfügbarkeit des präsynaptischen Serotonintransporters, insbesondere im Hypothalamus, Raphe-Kernen und Hippocampus. Diese Verminderung war in der Gruppe der primär chronisch progredienten MS ausgeprägter als bei den Patienten mit schubförmig verlaufender MS. Auch wenn die weiter oben aufgeführten Studien eher die SERT-Verfügbarkeit im Thalamus und in präfrontalen Hirnregionen beschreiben, und weniger im Hypothalamus, stimmen unsere Ergebnisse mit diesen in den Grundzügen überein und könnten einen Zusammenhang mit der HHN-Achsen-Aktivierung und erniedrigtem SERT herstellen.

Die neuronale Kontrolle der HHN-Achse hängt von mindestens drei Afferenzen, die jeweils unterschiedliche Funktionen inne haben, ab: zum einen von den noradrenergen Neuronen, die von der Medulla oblongata und dem Locus coeruleus zum Hypothalamus ziehen und die Aktivierung der HHN-Achse als Antwort auf eine systemische Entzündungsreaktion vermitteln, zum anderen vom dopaminergen System, das eine adaptive Funktion mit negativer Rückkopplung besitzt, um während einer Stresssituation eine exzessive HHN-Achsen-Aktivierung zu verhindern (Sullivan and Dufresne 2006), und schließlich vom serotonergen System, das unter physiologischen Bedingungen die Aktivität der HHN-Achse eher abschwächt (Chaouloff 1993), (Lowry 2002).

Eine enge anatomische Verbindung besteht zum Nucleus paraventricularis, der für die Ausschüttung von CRH verantwortlich ist und durch Afferenzen vom limbischen System

(Hippocampus und Amygdala) aktiviert wird, die wiederum durch serotonerge und noradrenerge Neurone innerviert werden.

Da Serotonin im Hypothalamus zur GABA-Synthese beiträgt und GABA wiederum einen inhibitorischen Effekt auf den PVN hat (Munaro, Morello et al. 1991), könnte eine verminderte serotonerge Aktivität somit zu einer HHN-Achsen-Hyperaktivität beitragen. Ebenso verhält es sich mit den Projektionen des ventralen Subiculum, denen ein dynamischer inhibitorischer Einfluss auf die HHN-Achse zugesprochen (Lowry 2002) wird sowie mit dem serotonerg innervierten Nucleus suprachiasmaticus (SCN), der für die Ausschüttung von ACTH und Cortisol verantwortlich ist (Cascio, Shinsako et al. 1987). Obwohl in der durch uns durchgeführten klinischen Querschnittsstudie keine signifikante Korrelation der HHN-Achse bzw. des SERT erhoben werden konnte, könnte sich im Rahmen dieser Abläufe doch ein negativ modulierender Effekt durch serotonerge Afferenzen auf die HHN-Achse auswirken. Ein möglicher Pathomechanismus könnte sein, dass durch eine verminderte serotonerge Aktivität die auf die HHN-Achse wirkenden inhibitorischen Effekte des Serotonins verloren gehen oder abgeschwächt werden und es somit zur HHN-Achsen-Aktivierung kommt.

Die Tatsache, dass sich reduzierte Serotonintransporter hauptsächlich in Mittellinienstrukturen fanden, einer Region mit hoher Dichte an serotonergen Fasern, die zum Hypothalamus ziehen, und weniger in anderen, z. B. kortikalen Regionen, bestärkt uns in unseren Ergebnissen, dass ein direkter Einfluss des serotonergen Systems auf die HHN-Achse vorliegt.

Besonders interessant für das serotonerge System und mögliche Interaktionen mit der HHN-Achse ist außerdem die Innervierung der Raphe-Kerne, hier insbesondere des Nucleus raphe dorsalis (dRN). Zum einen finden sich auf dessen Oberfläche CRH-Rezeptoren und zum anderen ziehen in diese Strukturen CRH-immunreaktive Fasern. Diese CRH-afferenten Fasern sind in allen rostrocaudalen Bereichen des N. raphe dorsalis nachweisbar, wo die präsynaptischen Enden auf die Dendriten von GABAergen und serotonergen Neuronen treffen ((Waselus, Nazzaro et al. 2009) und darin enthaltene Referenzen).

Auf der Oberfläche des dRN befindliche CRH-Rezeptoren müssen nochmals in CRH1- und -2-Rezeptoren unterteilt werden. Die Aktivierung des CRH1-Rezeptors führt zu einer Unterdrückung von serotonergen Neuronen durch GABAerge Afferenzen (Kirby, Rice et al. 2000), wohingegen CRH2-Rezeptoren serotonerge Neurone stimulieren und zu einer

Ausschüttung von Serotonin führen. Im Gegensatz zu unserem pathophysiologischen Ansatz zeigen die beiden letztgenannten Arbeiten, dass niedrige CRH-Konzentrationen hauptsächlich den CRH1-Rezeptor aktivieren und zu einer Inhibierung des sezernierten Serotonins führen. Dabei bindet CRH mit einer deutlich höheren Affinität an CRH1-Rezeptoren als an CRH2-Rezeptoren, die an der Oberfläche um das 15fache erniedrigt sind (Gerhard Gründer 2012). Dementsprechend aktivieren erst höhere Konzentrationen von CRH den CRH2-Rezeptor und führen zu einer verstärkten Ausschüttung von Serotonin (Lukkes, Forster et al. 2008).

Pathophysiologisch wurden durch (Waselus, Nazzaro et al. 2009) folgende Abläufe beschrieben: Im Tierversuch mit Ratten hatten die ungestressten Tiere im Vergleich mehr CRH1-Rezeptoren auf der Plasmamembran des dRN als CRH2-Rezeptoren, welche sich hauptsächlich im Zytosol finden. Bei akutem Stress bindet CRH so zunächst an die CRH1-Rezeptoren, was zur o.g. Unterdrückung des Serotonin-dRN-Systems führt. Ein länger anhaltender oder stärkerer Stressor, mit höheren CRH-Konzentrationen einhergehend, könnte die wenigen an der Zelloberfläche präsentierten CRH2-Rezeptoren ansprechen (Hammack, Schmid et al. 2003) und zu einer Verschiebung der vornehmlich im Zytosol befindlichen CRH2-Rezeptoren an die Zelloberfläche führen und folglich das Serotonin-dRN-System aktivieren.

Auch wenn dieser Mechanismus auf den ersten Blick nicht mit unserer Hypothese vereinbar scheint, könnten langanhaltende Veränderungen des CRH-Systems oben beschriebene Abläufe jedoch auch modulieren und z. B. durch adaptive Prozesse zu einer abnormen Funktion der serotonergen Neurotransmission führen. Hierbei könnte z. B. das durch die chronische Aktivierung der HHN-Achse ausgeschüttete CRH nicht mehr ausreichen die CRH2-Rezeptoren zu aktivieren und somit durch eine Bindung an CRH-1 Rezeptoren eine anhaltende serotonerge Inhibierung herbeiführen.

Unterstützt wird diese Hypothese im weiteren Sinne durch eine Arbeit von (Linthorst, Flachskamm et al. 1997), bei der Ratten, die einer längeren CRH-Aktivierung ausgesetzt waren, im Rahmen eines akuten Stresserlebnisses eine signifikant verminderte hippocampale Ausschüttung von Serotonin aufwiesen. Dieser Pathomechanismus wurde als mögliche Desensibilisierung des CRH-Rezeptors aufgrund der lang anhaltenden Erhöhung von CRH gewertet. Erst eine ausgeprägtere HHN-Aktivierung, z.B. im akuten MS-Schub, könnte dann womöglich die CRH2-Rezeptoren ansprechen und eine „adäquate“ serotonerge Reaktion zur Folge haben.

Zusammengefasst deuten die neuroanatomischen Studien deutlich darauf hin, dass das CRH-System nicht nur in der Lage ist, die HHN-Achse zu kontrollieren, sondern auch die serotonerge Neurotransmission zu modulieren. Aufgrund der heterogenen Systeme und der ausgeprägten Komplexität kann aus den von uns erhobenen Daten jedoch (noch) keine definitive Aussage über den Ursprung sowie die genauen Gründe der HHN-Achsen-Hyperaktivierung, der verminderten Verfügbarkeit des Serotonintransporters und möglicherweise auch Vernetzungen mit anderen Systemen getroffen werden.

### 4.3 Fatigue

Unsere Studie gibt darüber hinaus Hinweise, dass eine reduzierte serotonerge Aktivität bei Patienten mit MS nicht nur mit der Aktivität der HHN-Achse in Beziehung steht, sondern auch mit dem mit MS in Verbindung stehenden Fatigue-Syndrom.

Alle in unserer Arbeit erhobenen Fatigue-Scores erbrachten signifikante Unterschiede bei den MS-Patienten im Vergleich mit den gesunden Kontrollen. Ähnlich wie beim Dex-CRH-Test und der reduzierten serotonergen Aktivität, war die Fatigue in der Gruppe der chronisch progredienten MS am ausgeprägtesten.

Ein Zusammenhang mit der Verlaufsform und einer stärker ausgeprägten Fatigue wurde bereits in der Vergangenheit kritisch diskutiert. So zeigten sich Patienten mit chronischen Verlaufsformen stärker betroffen (Kroencke, Lynch et al. 2000); in anderen Studien wiederum wiesen die Patienten mit einer hochakuten Verlaufsform höhere Fatigue-Scores auf (Tur 2016).

Zusammenfassend kann jedoch sicher bestätigt werden, dass die Fatigue mit dem Grad der Behinderung zunimmt. Ob dabei neurodegenerative Prozesse oder eine Dysfunktion neuronaler Schaltkreise die entscheidende Rolle spielen, ist nach wie vor nicht ausreichend geklärt.

Die HHN-Achse stellt dabei einen ebenso kontrovers diskutierten möglichen Pathomechanismus dar. Interessanterweise beschrieben (Heesen, Gold et al. 2002), (Heesen, Nawrath et al. 2006) eine hohe Korrelation zwischen der HHN-Achse und kognitiver Dysfunktion, fanden jedoch in ihrer letzten Studie an einer heterogenen Gruppe von MS-Patienten keine Korrelation der Fatigue-Scores mit den Ergebnissen des Dex-

CRH-Tests. Eine Studie von (Gottschalk, Kumpfel et al. 2005) hingegen zeigte, dass die Hyperaktivität im Dex-CRH-Test mit der Fatigue bei RRMS-Patienten korreliert.

Bezüglich des serotonergen Systems und der Fatigue bei MS gibt es (noch) keine ausreichende Studienlage. In PET-Untersuchungen wurde bei Parkinson-Patienten ein direkter Zusammenhang zwischen serotonerger Defizit und der Entstehung von Fatigue dargestellt (Pavese, Metta et al. 2010). Hierbei zeigten die Patienten mit Fatigue im N. caudatus, Putamen, ventralen Striatum und Thalamus eine signifikant niedrigere SERT-Verfügbarkeit als die Patienten ohne Fatigue.

Eine Korrelation bezüglich der HHN-Achse und des serotonergen Systems mit der Fatigue konnten wir in unserer Arbeit ebenfalls nicht darstellen.

Die Behandlung von Fatigue kann neben den gängigen in der Einleitung erwähnten Medikamenten durch den Einsatz eines selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmers sehr erfolgreich sein (Bould, Wiles et al. 2012), wobei manche Patienten auch nach einer langen Behandlung mit einem SSRI anhaltende Symptome einer Fatigue aufweisen (Fava 2003). In weiterführenden Studien wurden die Effekte der Therapie mit einem SSRI untersucht. Trotz nicht eindeutiger Wirkung der Antidepressiva auf die MS-bedingte Fatigue (Romani, Bergamaschi et al. 2004), (Ehde, Kraft et al. 2008), werden SSRIs gemeinhin als therapeutische Option empfohlen (Mohr, Hart et al. 2003). Mittlerweile gibt es auch Daten, dass beispielsweise Glatirameracetat (Meca-Lallana, Hernandez et al. 2016) oder Natalizumab (Iaffaldano, Viterbo et al. 2012) einen positiven Effekt auf die Fatigue haben können.

Zusammenfassend gibt es Hinweise, die die HHN-Achsen-Aktivierung und Fatigue mit einer reduzierten Aktivität des serotonergen Systems verbinden, kausale Zusammenhänge konnten jedoch nicht hergestellt werden.

#### 4.4 Lateralität

Eher zufällig fanden wir in unserer statistischen Auswertung einen signifikanten Unterschied der SERT-Verfügbarkeit in der rechten gegenüber der linken Hirnhälfte des gesunden Gehirns (siehe Tabelle 4). Diese Lateralität scheint bei den MS-Patienten verloren zu gehen. Da dies am auffälligsten beim primär chronisch progredienten Verlauf

auftrat, wäre es naheliegend, dass die körperliche Behinderung und Verlust der Lateralität miteinander in Verbindung stehen.

Dass bestimmte Fähigkeiten bevorzugt in einer Hemisphäre repräsentiert sind, ist schon länger bekannt und wird im Bezug auf Sprache und Händigkeit besonders deutlich. Hier liegt die Dominanz der linken Hemisphäre bei 95% der Rechtshänder und bei 70% der Linkshänder. Jeweils 15% der Linkshänder haben die Sprache beidseitig oder rechts lokalisiert (Springer SP 1993). Auch im Bezug auf die räumliche Orientierung, emotionale (RJ Davidson 1989), (Tomarken, Davidson et al. 1992), (Watanabe, Fitting et al. 2015) oder kognitive Prozesse sowie geschlechterspezifische Unterschiede (Burton and Levy 1989) hat sich die Lateralität in der klinischen Forschung etabliert und ist weiter Grundlage vieler Diskussionen. So gibt es zum Beispiel die Hypothese, dass positiv besetzte Emotionen zur linken und negativ besetzte zur rechten Hemisphäre lateralisiert werden (Davidson 1992), jedoch offenbar mit relevanten regionalen Unterschieden (Beraha, Eggers et al. 2012).

Obwohl die meisten Autoren in aktuellen [<sup>11</sup>C]DASB-PET-Studien symmetrische Transporterbindungen gemessen bzw. dazu keine Angaben gemacht haben, wurde bereits bei gesunden Probanden eine Lateralität der SERT-Verteilung erhoben. Hierbei zeigten sich signifikante Unterschiede im Hippocampus (L>R), posterioren Inselbereich (R>L) und im Nucleus caudatus (R>L) (Kranz, Hahn et al. 2014). Im Bezug auf spezifische Funktionen erhoben die Autoren (Rhodes, Murthy et al. 2007) in einer Studie an gesunden Probanden mittels einer [<sup>11</sup>C]DASB-PET und einer fMRT (emotion recognition task) eine reduzierte SERT-Verfügbarkeit in der linken Amygdala sowie eine gesteigerte Aktivierung in der fMRT.

Weitere hemisphärielle Unterschiede konnten bei Patienten mit depressiven Erkrankungen mittels somatosensorisch evozierten Potentialen (SSEP) erhoben werden. Hier stellten die Autoren frontocentral eine Lateralisierung nach rechts dar (Biondi, Parise et al. 1993).

Im Tierversuch mit aggressiven Ratten, welche über einen längeren Zeitraum sozial isoliert wurden, zeigte sich ein erhöhtes Serotonin im rechten Hippocampus, welches nach (behavioral aggressionsreduzierender) Gabe von Oxytocin auf beiden Seiten nahezu gleich verteilt messbar war (Karpova, Mikheev et al. 2016).

Ein Einfluss der Lateralisierung durch die Behandlung depressiver Patienten mit einem SSRI wird ebenfalls diskutiert (Walsh, McDowall et al. 2010). In dieser Studie zeigten Patienten mit erfolgreicher SSRI-Behandlung im Rahmen der Verarbeitung emotionaler

Worte eine Lateralisierung zu linken Hemisphäre vergleichbar mit gesunden Kontrollen, wohingegen die therapierefraktären Patienten einen Shift zur rechten Seite aufwiesen. Die Bedeutung der Hemisphärenunterschiede in unserer Studie kann an dieser Stelle keineswegs vollständig erörtert werden, gibt jedoch einen ersten Eindruck und es scheint durchaus naheliegend, dass sie bei der Untersuchung anderer Neurotransmitter-Tracer oder mit anderen Techniken ebenfalls auffällig wäre. Zumindest sollte die Lateralität in künftigen Studien mit ausgewertet werden, um herauszufinden, ob der Verlust der Lateralität bei PPMS-Patienten reproduzierbar ist, und ob er auch bei anderen neurologischen Erkrankungen nachgewiesen werden kann.

#### 4.5 Methodenkritik

Limitiert ist die vorliegende Arbeit durch die geringe Gruppengröße, vor allem durch die weitere Aufteilung der Patientengruppe in die jeweiligen Verlaufsformen der MS. Während eine größere Teilnehmerzahl wünschenswert gewesen wäre, wie auch eine umfassende Erhebung aller Verlaufsformen, muss schon die Verwendung der PET begrenzt werden. Auch die Untersuchung von Patienten, die mit einer immunmodulatorischen Dauertherapie behandelt werden, würde eine große Stichprobe erfordern, weil unterschiedliche Dauertherapien verschieden wirken und möglicherweise auch die HHN-Achse oder das serotonerge System unterschiedlich beeinflussen.

Eine weitere Kritik liegt in der Anfälligkeit des Dex-CRH-Tests. Obwohl die Patienten und Probanden angehalten wurden, sich in der Zeit vor dem Test möglichst wenigen „Stressoren“ auszusetzen, können gewisse Umstände (plötzlicher Stress bei der Arbeit, im Straßenverkehr, besondere familiäre Umstände, unerwartete Umstände während der Testung oder Manipulieren an der Verweilkanüle etc.) zum Teil nicht vermieden werden und so die Hormonausschüttung beeinflussen.

Des Weiteren ist der Aufwand der Testung ziemlich groß (mindestens zwei halbe Tage mit langem Liegen), der einige Patienten und Probanden von einer Teilnahme abhielt, so dass hier ein gewisser Selektionsfehler entstanden sein könnte. Die Etablierung zeitlich weniger aufwändiger Tests könnte es erleichtern, eine größere Teilnehmerzahl zu akquirieren. Während z.B. die Messung des Kortisols im Speichel möglich ist und die so genannte Cortisol Awakening Response, also der Zeitverlauf des Speichelkortisols innerhalb der

ersten Stunde nach dem Erwachen, als Surrogat der HHN-Achse diskutiert wird, ist bisher nicht untersucht, wie gut diese Surrogate korrelieren.

Eine Longitudinalstudie könnte einen besseren Einblick in die Dynamik des neuroendokrinen sowie serotonergen Systems geben. Hierbei besteht allerdings die Schwierigkeit, dass eine zweite PET-Untersuchung genehmigt werden müsste, wiederum verbunden mit einer zusätzlichen Strahlenbelastung.

Hinsichtlich der Lateralität könnte auch ein technischer Fehler z. B. des Scanners vorliegen. Dies ist allerdings unwahrscheinlich, weil die Seitendifferenzen nicht das gesamte Gehirn betrafen, sondern verschiedene, anatomisch voneinander getrennte Regionen.

#### 4.6 Therapeutischer Ausblick

Neben dem Einblick in die Pathophysiologie der MS ergeben sich aus der Studie auch therapeutische Aspekte.

Insbesondere könnte durch den Einsatz von SSRI die serotonerge Verfügbarkeit erhöht und die HHN-Achsen-Aktivierung normalisiert werden. Dass dies prinzipiell möglich ist, zeigt eine Studie (Then Bergh, Kumpf et al. 2001), in der zwei Patientengruppen mit RRMS verglichen wurden. Die eine Gruppe erhielt zusätzlich zum klinisch indizierten Fluocortolon (einem oral einzunehmendem Glukokortikoid) Placebo, die andere Gruppe zum Fluocortolon den MAO-B-Inhibitor Moclobemid. In der ersten Gruppe kam es zu keiner relevanten Änderung, in der zweiten mit Moclobemid behandelten Gruppe zu einer Normalisierung der HHN-Achse. Der Mechanismus, der diesem Effekt am wahrscheinlichsten zugrunde liegt, ist, dass es durch die Kombinationstherapie zu einem Anstieg der Glukokortikoidrezeptoren (GR) kommt, die das negative Feedback an der HHN-Achse wiederherstellt und diese somit normalisiert.

Dies konnte auch in einem Tiermodell dargestellt werden, in dem gesunden Ratten Amitriptylin gegeben wurde, was zu einem Anstieg an Glukokortikoidreceptor-RNA führte (Okugawa, Omori et al. 1999).

Auch eine Reduktion der CRH-Genexpression kann durch den Einsatz eines Antidepressivums erzielt werden (Stout, Owens et al. 2002).

Die Behandlung mit einem Benzodiazepin stellt ebenfalls einen interessanten Mechanismus dar: hierbei kommt es zu einer Reduktion der CRH1-Rezeptoren und Hochregulation der CRH2-Rezeptoren, was unter anderem die HHN-Achse normalisiert (Skelton, Nemeroff et al. 2000) und nach dem weiter oben beschriebenen Mechanismus zu einer vermehrten Ausschüttung von Serotonin führen müsste. Fraglich ist hier natürlich eine längerfristige Behandlung mit Benzodiazepinen, die in der Praxis so nicht umsetzbar ist.

Weiterhin werden im Rahmen der Behandlung depressiver Patienten den CRH1-Rezeptorantagonisten eine größere Bedeutung zugeschrieben. Hierbei konnten (Keck, Welt et al. 2001) zeigen, dass die Therapie mit Pyrazolamidpyrimidin R121919 im Vergleich mit Paroxetin in einem vergleichbaren Maße zur Abnahme von depressiven Symptomen und Angst führte. Ähnliche Studien wiederum kamen zu dem Schluss, dass gegenüber Antidepressiva keine Wirksamkeit zu verzeichnen ist, jedoch argumentierten (Holsboer and Ising 2010), (Holsboer 2014) dabei, dass nicht alle Patienten mit Depressionen auch eine erhöhte HHN-Achse aufweisen und somit nur diejenigen mit einer hyperaktiven HHN-Achse in die Therapiestudien aufgenommen werden sollten. Dieser Fakt sollte auch bei MS-Patienten bedacht und ein Einsatz des Medikaments möglicherweise nur bei Patienten mit deutlicher HHN-Achsen-Aktivierung geprüft werden. Aufgrund der beschriebenen Zunahme der neuronalen Apoptose sowie der mikrostrukturellen Veränderungen durch Hyperkortisolismus (Frodl and O'Keane 2013), käme dem Einsatz eines SSRI somit auch eine protektive Wirkung zugute.

Obwohl vom Ansatz her etwas verschieden, gibt es mittlerweile mehrere Studien, die den Einsatz von SSRI als zusätzliche Therapie aus anderer Perspektive als sinnvoll erachten. In einer Arbeit von (Mitsonis, Zervas et al. 2010) wurde der Zusammenhang zwischen stressbelasteten Lebensumständen und dem erhöhten Risiko, einen MS Schub zu erleiden, herangezogen und in einer klinischen Studie die Effekte von Escitalopram bei 48 an MS erkrankten Frauen untersucht. Hier zeigte sich eine deutliche Abnahme der durch Stress ausgelösten Schübe.

Aktuell wird im Rahmen der Studie FLUOX-PMS Fluoxetin, ein SSRI, an einer Gruppe von Patienten mit primär chronisch progredienter MS eingesetzt (Cambron, Mostert et al. 2014). Hierbei soll getestet werden, ob das Medikament die Krankheitsprogression durch eine reduzierte axonale Degeneration verlangsamen kann. Es wird davon ausgegangen, dass Fluoxetin einen neuroprotektiven Effekt hat, weil es die Produktion des

Wachstumsfaktors (BDNF Brain-derived Neurotrophic Factor) sowie den Metabolismus durch eine gesteigerte Glycogenolyse stimulieren soll und zur Erweiterung der zerebralen Arteriolen beiträgt.

Auch Studien am Tiermodell der MS (EAE) ergaben, dass der Einsatz von SSRI einen zusätzlichen Nutzen bringen könnte (Hofstetter, Mossner et al. 2005), (Vollmar, Nessler et al. 2009), (Yuan, Qiu et al. 2012). Der letztgenannte Autor zeigte, dass Fluoxetin die Remission günstig beeinflusste. Histologisch konnte eine Abnahme inflammatorischer Foci sowie der spinalen Demyelinisierung dargestellt werden.

Nicht abschließend geklärt ist, ob der HHN-Achsen-Hyperaktivität auch ein protektiver Effekt zugeschrieben werden kann. In der bereits erwähnten Studie von (Schumann, Kumpfel et al. 2002) konnte gezeigt werden, dass die HHN-Achsen-Aktivierung mit einer geringeren Anzahl an kontrastmittelaufnehmenden Läsionen in Verbindung stand. Eine naheliegende Erklärung wäre, dass durch die HHN-Achsen-Hyperaktivität eine immunologische Überreaktion verhindert wird.

Letztlich könnte unsere Studie einen ähnlich therapeutischen Ausblick gewähren, indem man im Rahmen einer Langzeitstudie untersucht, ob eine Kombinationstherapie mit einem SSRI zur HHN-Achsen-Normalisierung und evtl. Schubreduzierung bzw. Verlangsamung der Progression beitragen könnte. Schwierig erscheint hier jedoch das Studiendesign, da über einen langen Zeitraum alle anderen die Krankheit beeinflussenden Medikamente unverändert bleiben und ein sehr großes Patientenkollektiv untersucht werden müsste, da nur so die unterschiedlichen Therapiegruppen statistisch adäquat ausgewertet werden könnten. Man könnte jedoch die Auswirkungen einer SSRI-Therapie im Rahmen einer empirischen Erhebung mit Fragebögen, klinischen Untersuchungen, Dex-CRH-Tests und ggf. SERT-PET untersuchen.

## **5. Zusammenfassung der Arbeit**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

Beziehung des serotonergen Systems zur Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse bei Patienten mit Multipler Sklerose

eingereicht von Franziska Möller

angefertigt an der Universität Leipzig, Klinik für Neurologie

betreut von Prof. Dr. Florian Then Bergh

September 2017

Die Hyperaktivität der HHN-Achse ist bei der Multiplen Sklerose umfassend untersucht und mehrfach bestätigt; der genaue Pathomechanismus bleibt jedoch ungeklärt. Das serotonerge System ist eng mit der HHN-Achse verbunden und besitzt die Eigenschaft, die HHN-Achse herabzuregulieren. Daraus ergab sich im Umkehrschluss, dass die HHN-Achsen-Hyperaktivierung bei Patienten mit Multipler Sklerose im Zusammenhang mit einer

reduzierten serotonergen Verfügbarkeit stehen könnte.

Um die HHN-Achse und das serotonerge System zu untersuchen, schlossen wir 17 Patienten mit Multipler Sklerose und 13 gesunde Kontrollpersonen ein. Die HHN-Achse wurde mittels des Dex-CRH-Tests untersucht und die zentrale Verfügbarkeit des präsynaptischen Serotonintransporters mittels einer [<sup>11</sup>C]DASB-PET in 31 Hirnregionen gemessen.

Die Patientengruppe hatte insgesamt höhere Kortisolwerte, dementsprechend erniedrigt war die ACTH-Kortisol-Ratio, so dass wir das Vorliegen einer HHN-Achsen-Hyperaktivität bestätigen konnten. Am ausgeprägtesten waren die Unterschiede in der Gruppe der primär chronisch progredienten MS.

Eine signifikant reduzierte Verfügbarkeit des Serotonintransporters fand sich im Hypothalamus, den Raphe-Kernen, limbischen Strukturen, dem linken Temporallappen und Thalamus, auch hier war die Gruppe der PPMS am stärksten betroffen.

Zusätzlich erhobene Fragebögen hinsichtlich Depression, Fatigue und Lebensqualität (BDI, WEIMuS, WEIMuS 1, WEIMuS 2, EuroQol, EuroQolScale und VAS) zeigten durchgängig signifikant unterschiedliche Ergebnisse bei den Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Zusammenfassend, konnten wir darstellen, dass die HHN-Achsen-Aktivierung bei der Multiplen Sklerose in enger Verbindung mit der serotonergen Aktivität steht, eine direkte Korrelation fand sich jedoch nicht. Dennoch kann davon ausgegangen werden, dass die serotonergen Neurone durch ihre enge anatomische Verbindung zu einer negativen Modulation der HHN-Achse beitragen.

Der Einsatz von SSRI könnte therapeutisches Potential bieten, indem die herabregulierte serotonerge Aktivität sowie HHN-Achse wieder normalisiert werden könnten.

## 6. Literaturverzeichnis

Aguilera, G. (1994). "Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress." Front Neuroendocrinol **15**(4): 321-350.

Antoni, F. A. (1986). "Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor." Endocr Rev **7**(4): 351-378.

Baganz, N. L. and R. D. Blakely (2013). "A dialogue between the immune system and brain, spoken in the language of serotonin." ACS Chem Neurosci **4**(1): 48-63.

Baranzini, S. E., J. Wang, R. A. Gibson, N. Galwey, Y. Naegelin, F. Barkhof, E. W. Radue, R. L. Lindberg, B. M. Uitdehaag, M. R. Johnson, A. Angelakopoulou, L. Hall, J. C. Richardson, R. K. Prinjha, A. Gass, J. J. Geurts, J. Kragt, M. Sombekke, H. Vrenken, P. Qualley, R. R. Lincoln, R. Gomez, S. J. Caillier, M. F. George, H. Mousavi, R. Guerrero, D. T. Okuda, B. A. Cree, A. J. Green, E. Waubant, D. S. Goodin, D. Pelletier, P. M. Matthews, S. L. Hauser, L. Kappos, C. H. Polman and J. R. Oksenberg (2009). "Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis." Hum Mol Genet **18**(4): 767-778.

Barthel, H., J. Luthardt, G. Becker, M. Patt, E. Hammerstein, K. Hartwig, B. Eggers, B. Sattler, A. Schildan, S. Hesse, P. M. Meyer, H. Wolf, T. Zimmermann, J. Reischl, B. Rohde, H. J. Gertz, C. Reininger and O. Sabri (2011). "Individualized quantification of brain beta-amyloid burden: results of a proof of mechanism phase 0 florbetaben PET trial in patients with Alzheimer's disease and healthy controls." Eur J Nucl Med Mol Imaging **38**(9): 1702-1714.

Bebo, B. F., Jr., T. Yong, E. L. Orr and D. S. Linthicum (1996). "Hypothesis: a possible role for mast cells and their inflammatory mediators in the pathogenesis of autoimmune encephalomyelitis." J Neurosci Res **45**(4): 340-348.

Beck, A. T., C. H. Ward, M. Mendelson, J. Mock and J. Erbaugh (1961). "An inventory for measuring depression." Arch Gen Psychiatry **4**: 561-571.

Belvederi Murri, M., D. Prestia, V. Mondelli, C. Pariante, S. Patti, B. Olivieri, C. Arzani, M. Masotti, M. Respino, M. Antonioli, L. Vassallo, G. Serafini, G. Perna, M. Pompili and M. Amore (2016). "The HPA axis in bipolar disorder: Systematic review and meta-analysis." Psychoneuroendocrinology **63**: 327-342.

Bengtsson, B. O., J. Zhu, L. H. Thorell, T. Olsson, H. Link and J. Walinder (1992). "Effects of zimeldine and its metabolites, clomipramine, imipramine and maprotiline in experimental allergic neuritis in Lewis rats." J Neuroimmunol **39**(1-2): 109-122.

- Beraha, E., J. Eggers, C. Hindi Attar, S. Gutwinski, F. Schlagenhaut, M. Stoy, P. Sterzer, T. Kienast, A. Heinz and F. Bempohl (2012). "Hemispheric asymmetry for affective stimulus processing in healthy subjects--a fMRI study." PLoS One **7**(10): e46931.
- Binder, E. B. and C. B. Nemeroff (2010). "The CRF system, stress, depression and anxiety-insights from human genetic studies." Mol Psychiatry **15**(6): 574-588.
- Biondi, M., P. Parise, P. Venturi, L. Riccio, G. Brunetti and P. Pancheri (1993). "Frontal hemisphere lateralization and depressive personality traits." Percept Mot Skills **77**(3 Pt 1): 1035-1042.
- Biseco, A., G. Caiazzo, A. d'Ambrosio, R. Sacco, S. Bonavita, R. Docimo, M. Cirillo, E. Pagani, M. Filippi, F. Esposito, G. Tedeschi and A. Gallo (2016). "Fatigue in multiple sclerosis: The contribution of occult white matter damage." Mult Scler **22**(13): 1676-1684.
- Bitsch, A., J. Schuchardt, S. Bunkowski, T. Kuhlmann and W. Bruck (2000). "Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation." Brain **123** ( Pt 6): 1174-1183.
- Bould, H., N. Wiles, J. Potokar, P. Cowen, D. J. Nutt, T. J. Peters and G. Lewis (2012). "Does baseline fatigue influence treatment response to reboxetine or citalopram in depression? An open label randomized controlled trial." J Psychopharmacol **26**(5): 663-669.
- Brenner, P. and F. Piehl (2016). "Fatigue and depression in multiple sclerosis: pharmacological and non-pharmacological interventions." Acta Neurol Scand **134 Suppl 200**: 47-54.
- Briggs, F. B., B. A. Goldstein, J. L. McCauley, R. L. Zuvich, P. L. De Jager, J. D. Rioux, A. J. Iverson, A. Compston, D. A. Hafler, S. L. Hauser, J. R. Oksenberg, S. J. Sawcer, M. A. Pericak-Vance, J. L. Haines, L. F. Barcellos and C. International Multiple Sclerosis Genetics (2010). "Variation within DNA repair pathway genes and risk of multiple sclerosis." Am J Epidemiol **172**(2): 217-224.
- Bruck, W., P. Porada, S. Poser, P. Rieckmann, F. Hanefeld, H. A. Kretschmar and H. Lassmann (1995). "Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions." Ann Neurol **38**(5): 788-796.
- Burton, L. A. and J. Levy (1989). "Sex differences in the lateralized processing of facial emotion." Brain Cogn **11**(2): 210-228.
- Cambron, M., J. Mostert, P. Haentjens, M. D'Hooghe, G. Nagels, B. Willekens, D. Heersema, J. Debruyne, W. Van Hecke, L. Algoed, N. De Klippel, E. Fosselle, G. Laureys, H. Merckx, B. Van Wijmeersch, L. Vanopdenbosch, W. Verhagen, R. Hupperts, G. Hengstman, V. Michiels, A. Van Merhaegen-Wieleman and J. De Keyser (2014).

- "Fluoxetine in progressive multiple sclerosis (FLUOX-PMS): study protocol for a randomized controlled trial." Trials **15**: 37.
- Carrasco, G. A. and L. D. Van de Kar (2003). "Neuroendocrine pharmacology of stress." Eur J Pharmacol **463**(1-3): 235-272.
- Cascio, C. S., J. Shinsako and M. F. Dallman (1987). "The suprachiasmatic nuclei stimulate evening ACTH secretion in the rat." Brain Res **423**(1-2): 173-178.
- Chaouloff, F. (1993). "Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems." Brain Res Brain Res Rev **18**(1): 1-32.
- Chaouloff, F. (2000). "Serotonin, stress and corticoids." J Psychopharmacol **14**(2): 139-151.
- Confavreux, A. C. I. M. J. N. H. L. D. M. K. S. H. W. C. (2005). McAlpine's Multiple Sclerosis, Elsevier.
- Coppen, A. (1967). "The biochemistry of affective disorders." Br J Psychiatry **113**(504): 1237-1264.
- Correale, J. and M. I. Gaitan (2015). "Multiple sclerosis and environmental factors: the role of vitamin D, parasites, and Epstein-Barr virus infection." Acta Neurol Scand **132**(199): 46-55.
- Cortese, M., T. Riise, K. Bjornevik, K. M. Myhr and G. Multiple Sclerosis Conscript Service Database Study (2017). "Body size and physical exercise, and the risk of multiple sclerosis." Mult Scler: 1352458517699289.
- Cottrell, D. A., M. Kremenchutzky, G. P. Rice, W. J. Koopman, W. Hader, J. Baskerville and G. C. Ebers (1999). "The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 5. The clinical features and natural history of primary progressive multiple sclerosis." Brain **122 ( Pt 4)**: 625-639.
- Daban, C., E. Vieta, P. Mackin and A. H. Young (2005). "Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and bipolar disorder." Psychiatr Clin North Am **28**(2): 469-480.
- Dale, R. C., F. Brilot and B. Banwell (2009). "Pediatric central nervous system inflammatory demyelination: acute disseminated encephalomyelitis, clinically isolated syndromes, neuromyelitis optica, and multiple sclerosis." Curr Opin Neurol **22**(3): 233-240.
- Davidson, R. J. (1992). "Anterior cerebral asymmetry and the nature of emotion." Brain Cogn **20**(1): 125-151.

- Di Pauli, F., M. Reindl, R. Ehling, F. Schautzer, C. Gneiss, A. Lutterotti, E. O'Reilly, K. Munger, F. Deisenhammer, A. Ascherio and T. Berger (2008). "Smoking is a risk factor for early conversion to clinically definite multiple sclerosis." Mult Scler **14**(8): 1026-1030.
- Diener, H. C. W., C.; Berlit, P.; et al.: (2012). Diagnose und Therapie der Multiplen Sklerose. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. H. v. d. K. L. d. D. G. f. N. (DGN), Georg Thieme Verlag Stuttgart – New York. **5**: 430-475.
- DiMicco, J. A., B. C. Samuels, M. V. Zaretskaia and D. V. Zaretsky (2002). "The dorsomedial hypothalamus and the response to stress: part renaissance, part revolution." Pharmacol Biochem Behav **71**(3): 469-480.
- DMSG-Register. (2016). from [www.dmsg.de/msregister](http://www.dmsg.de/msregister).
- Ehde, D. M., G. H. Kraft, L. Chwastiak, M. D. Sullivan, L. E. Gibbons, C. H. Bombardier and R. Wadhvani (2008). "Efficacy of paroxetine in treating major depressive disorder in persons with multiple sclerosis." Gen Hosp Psychiatry **30**(1): 40-48.
- Ellison, G. W., L. W. Myers, B. D. Leake, M. R. Mickey, D. Ke, K. Sydulko and W. W. Tourtellotte (1994). "Design strategies in multiple sclerosis clinical trials. The Cyclosporine Multiple Sclerosis Study Group." Ann Neurol **36 Suppl**: S108-112.
- Erkut, Z. A., M. A. Hofman, R. Ravid and D. F. Swaab (1995). "Increased activity of hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurons in multiple sclerosis." J Neuroimmunol **62**(1): 27-33.
- Fassbender, K., R. Schmidt, R. Mossner, U. Kischka, J. Kuhnen, A. Schwartz and M. Hennerici (1998). "Mood disorders and dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis: association with cerebral inflammation." Arch Neurol **55**(1): 66-72.
- Fava, M. (2003). "Symptoms of fatigue and cognitive/executive dysfunction in major depressive disorder before and after antidepressant treatment." J Clin Psychiatry **64 Suppl 14**: 30-34.
- Feldman, S., N. Conforti and D. Saphier (1990). "The preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis are involved in the effects of the amygdala on adrenocortical secretion." Neuroscience **37**(3): 775-779.
- Feldman, S. and J. Weidenfeld (1998). "The excitatory effects of the amygdala on hypothalamo-pituitary-adrenocortical responses are mediated by hypothalamic norepinephrine, serotonin, and CRF-41." Brain Res Bull **45**(4): 389-393.
- Ferguson, B., M. K. Matyszak, M. M. Esiri and V. H. Perry (1997). "Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions." Brain **120 ( Pt 3)**: 393-399.

- Flachenecker, P. and H. P. Hartung (1996). "[Course of illness and prognosis of multiple sclerosis. 1: The natural illness course]." Nervenarzt **67**(6): 435-443.
- Flachenecker, P., G. Muller, H. König, H. Meissner, K. V. Toyka and P. Rieckmann (2006). "[Fatigue" in multiple sclerosis. Development and validation of the "Wurzbürger Fatigue Inventory for MS"]." Nervenarzt **77**(2): 165-166, 168-170, 172-164.
- Fox, J. H. L., C.A. (2013). "Corticotropin-releasing factor-related peptides, serotonergic systems, and emotional behavior." Front Neurosci. **7:169**.
- Frodl, T. and V. O'Keane (2013). "How does the brain deal with cumulative stress? A review with focus on developmental stress, HPA axis function and hippocampal structure in humans." Neurobiol Dis **52**: 24-37.
- Frokjaer, V. G., D. Erritzoe, K. K. Holst, P. S. Jensen, P. M. Rasmussen, P. M. Fisher, W. Baare, K. S. Madsen, J. Madsen, C. Svarer and G. M. Knudsen (2013). "Prefrontal serotonin transporter availability is positively associated with the cortisol awakening response." Eur Neuropsychopharmacol **23**(4): 285-294.
- Gerhard Gründer, O. B. (2012). Kortikotropin-Releasing-Hormon und CRH-Familie. Handbuch der Psychopharmakotherapie, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. **2**: 205-206.
- Gianfrancesco, M. A., B. Acuna, L. Shen, F. B. Briggs, H. Quach, K. H. Bellesis, A. Bernstein, A. K. Hedstrom, I. Kockum, L. Alfredsson, T. Olsson, C. Schaefer and L. F. Barcellos (2014). "Obesity during childhood and adolescence increases susceptibility to multiple sclerosis after accounting for established genetic and environmental risk factors." Obes Res Clin Pract **8**(5): e435-447.
- Gold, S. M., A. Raji, I. Huitinga, K. Wiedemann, K. H. Schulz and C. Heesen (2005). "Hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity predicts disease progression in multiple sclerosis." J Neuroimmunol **165**(1-2): 186-191.
- Goldschmidt T, A. J., König FB, Brück W, Kuhlmann T (2009). "Remyelination capacity of the MS brain decreases with disease chronicity." Neurology **72**(22): 1914-1921.
- Gong, X., Z. Xie and H. Zuo (2008). "A new track for understanding the pathogenesis of multiple sclerosis: from the perspective of early developmental deficit caused by the potential 5-HT deficiency in individuals in high-latitude areas." Med Hypotheses **71**(4): 580-583.
- Gottschalk, M., T. Kumpfel, P. Flachenecker, M. Uhr, C. Trenkwalder, F. Holsboer and F. Weber (2005). "Fatigue and regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis." Arch Neurol **62**(2): 277-280.
- Grasser, A., A. Moller, H. Backmund, A. Yassouridis and F. Holsboer (1996). "Heterogeneity of hypothalamic-pituitary-adrenal system response to a combined

dexamethasone-CRH test in multiple sclerosis." Exp Clin Endocrinol Diabetes **104**(1): 31-37.

Grey Nee Cotte, S., A. Salmen Nee Stroet, N. von Ahsen, M. Starck, A. Winkelmann, U. K. Zettl, M. Comabella, X. Montalban, F. Zipp, V. Fleischer, N. Kruse, R. Gold and A. Chan (2015). "Lack of efficacy of mitoxantrone in primary progressive Multiple Sclerosis irrespective of pharmacogenetic factors: a multi-center, retrospective analysis." J Neuroimmunol **278**: 277-279.

Hammack, S. E., M. J. Schmid, M. L. LoPresti, A. Der-Avakian, M. A. Pellymounter, A. C. Foster, L. R. Watkins and S. F. Maier (2003). "Corticotropin releasing hormone type 2 receptors in the dorsal raphe nucleus mediate the behavioral consequences of uncontrollable stress." J Neurosci **23**(3): 1019-1025.

Hansen, T., A. Skytthe, E. Stenager, H. C. Petersen, K. O. Kyvik and H. Bronnum-Hansen (2005). "Risk for multiple sclerosis in dizygotic and monozygotic twins." Mult Scler **11**(5): 500-503.

Hedstrom, A. K., E. Sundqvist, M. Baarnhielm, N. Nordin, J. Hillert, I. Kockum, T. Olsson and L. Alfredsson (2011). "Smoking and two human leukocyte antigen genes interact to increase the risk for multiple sclerosis." Brain **134**(Pt 3): 653-664.

Heesen, C., S. M. Gold, I. Huitinga and J. M. Reul (2007). "Stress and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis - a review." Psychoneuroendocrinology **32**(6): 604-618.

Heesen, C., S. M. Gold, A. Raji, K. Wiedemann and K. H. Schulz (2002). "Cognitive impairment correlates with hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysregulation in multiple sclerosis." Psychoneuroendocrinology **27**(4): 505-517.

Heesen, C., D. C. Mohr, I. Huitinga, F. T. Bergh, J. Gaab, C. Otte and S. M. Gold (2007). "Stress regulation in multiple sclerosis: current issues and concepts." Mult Scler **13**(2): 143-148.

Heesen, C., L. Nawrath, C. Reich, N. Bauer, K. H. Schulz and S. M. Gold (2006). "Fatigue in multiple sclerosis: an example of cytokine mediated sickness behaviour?" J Neurol Neurosurg Psychiatry **77**(1): 34-39.

Hein, T. and W. Hopfenmuller (2000). "[Projection of the number of multiple sclerosis patients in Germany]." Nervenarzt **71**(4): 288-294.

Herman, J. P. and W. E. Cullinan (1997). "Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis." Trends Neurosci **20**(2): 78-84.

Hernan, M. A., S. S. Jick, G. Logroscino, M. J. Olek, A. Ascherio and H. Jick (2005). "Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis." Brain **128**(Pt 6): 1461-1465.

- Hernan, M. A., M. J. Olek and A. Ascherio (2001). "Cigarette smoking and incidence of multiple sclerosis." Am J Epidemiol **154**(1): 69-74.
- Hesse, S., F. Moeller, D. Petroff, D. Lobsien, J. Luthardt, R. Regenthal, G. A. Becker, M. Patt, E. Thomae, A. Seese, P. M. Meyer, F. T. Bergh and O. Sabri (2014). "Altered serotonin transporter availability in patients with multiple sclerosis." Eur J Nucl Med Mol Imaging **41**(5): 827-835.
- Hesse, S., U. Muller, T. Lincke, H. Barthel, T. Villmann, M. C. Angermeyer, O. Sabri and K. Stengler-Wenzke (2005). "Serotonin and dopamine transporter imaging in patients with obsessive-compulsive disorder." Psychiatry Res **140**(1): 63-72.
- Hesse, S., K. Stengler, R. Regenthal, M. Patt, G. A. Becker, A. Franke, H. Knupfer, P. M. Meyer, J. Luthardt, I. Jahn, D. Lobsien, W. Heinke, P. Brust, U. Hegerl and O. Sabri (2011). "The serotonin transporter availability in untreated early-onset and late-onset patients with obsessive-compulsive disorder." Int J Neuropsychopharmacol **14**(5): 606-617.
- Hofstetter, H. H., R. Mossner, K. P. Lesch, R. A. Linker, K. V. Toyka and R. Gold (2005). "Absence of reuptake of serotonin influences susceptibility to clinical autoimmune disease and neuroantigen-specific interferon-gamma production in mouse EAE." Clin Exp Immunol **142**(1): 39-44.
- Holsboer, F. (2000). "The corticosteroid receptor hypothesis of depression." Neuropsychopharmacology **23**(5): 477-501.
- Holsboer, F. (2010). "[The future of depression research]." Nervenarzt **81**(11): 1306, 1308, 1309-1312, Passim.
- Holsboer, F. (2014). from [http://www.hmnc.de/fileadmin/user\\_upload/PDF/201404\\_Schweiz\\_Angst\\_und\\_Depression\\_\\_WebsiteHMNC.pdf](http://www.hmnc.de/fileadmin/user_upload/PDF/201404_Schweiz_Angst_und_Depression__WebsiteHMNC.pdf).
- Holsboer, F. and M. Ising (2010). "Stress hormone regulation: biological role and translation into therapy." Annu Rev Psychol **61**: 81-109, C101-111.
- Houriha, S. J. (2015). "Managing fatigue in adults with multiple sclerosis." Nurs Stand **29**(43): 51-58.
- Huitinga, I., Z. A. Erkut, D. van Beurden and D. F. Swaab (2004). "Impaired hypothalamus-pituitary-adrenal axis activity and more severe multiple sclerosis with hypothalamic lesions." Ann Neurol **55**(1): 37-45.
- Iaffaldano, P., R. G. Viterbo, D. Paolicelli, G. Lucchese, E. Portaccio, B. Goretti, V. D'Onghia, S. Zoccollella, M. P. Amato and M. Trojano (2012). "Impact of natalizumab on cognitive performances and fatigue in relapsing multiple sclerosis: a prospective, open-label, two years observational study." PLoS One **7**(4): e35843.

Ichise, M., J. S. Liow, J. Q. Lu, A. Takano, K. Model, H. Toyama, T. Suhara, K. Suzuki, R. B. Innis and R. E. Carson (2003). "Linearized reference tissue parametric imaging methods: application to [<sup>11</sup>C]DASB positron emission tomography studies of the serotonin transporter in human brain." *J Cereb Blood Flow Metab* **23**(9): 1096-1112.

Imai, H., D. A. Steindler and S. T. Kitai (1986). "The organization of divergent axonal projections from the midbrain raphe nuclei in the rat." *J Comp Neurol* **243**(3): 363-380.

International Multiple Sclerosis Genetics, C., A. H. Beecham, N. A. Patsopoulos, D. K. Xifara, M. F. Davis, A. Kempainen, C. Cotsapas, T. S. Shah, C. Spencer, D. Booth, A. Goris, A. Oturai, J. Saarela, B. Fontaine, B. Hemmer, C. Martin, F. Zipp, S. D'Alfonso, F. Martinelli-Boneschi, B. Taylor, H. F. Harbo, I. Kockum, J. Hillert, T. Olsson, M. Ban, J. R. Oksenberg, R. Hintzen, L. F. Barcellos, C. Wellcome Trust Case Control, I. B. D. G. C. International, C. Agliardi, L. Alfredsson, M. Alizadeh, C. Anderson, R. Andrews, H. B. Sondergaard, A. Baker, G. Band, S. E. Baranzini, N. Barizzone, J. Barrett, C. Bellenguez, L. Bergamaschi, L. Bernardinelli, A. Berthele, V. Biberacher, T. M. Binder, H. Blackburn, I. L. Bomfim, P. Brambilla, S. Broadley, B. Brochet, L. Brundin, D. Buck, H. Butzkueven, S. J. Caillier, W. Camu, W. Carpentier, P. Cavalla, E. G. Celius, I. Coman, G. Comi, L. Corrado, L. Cosemans, I. Cournu-Rebeix, B. A. Cree, D. Cusi, V. Damotte, G. Defer, S. R. Delgado, P. Deloukas, A. di Sapio, A. T. Dilthey, P. Donnelly, B. Dubois, M. Duddy, S. Eddins, I. Elovaara, F. Esposito, N. Evangelou, B. Fiddes, J. Field, A. Franke, C. Freeman, I. Y. Frohlich, D. Galimberti, C. Gieger, P. A. Gourraud, C. Graetz, A. Graham, V. Grummel, C. Guaschino, A. Hadjixenofontos, H. Hakonarson, C. Halfpenny, G. Hall, P. Hall, A. Hamsten, J. Harley, T. Harrower, C. Hawkins, G. Hellenthal, C. Hillier, J. Hobart, M. Hoshi, S. E. Hunt, M. Jagodic, I. Jelcic, A. Jochim, B. Kendall, A. Kermodé, T. Kilpatrick, K. Koivisto, I. Konidari, T. Korn, H. Kronsbein, C. Langford, M. Larsson, M. Lathrop, C. Lebrun-Frenay, J. Lechner-Scott, M. H. Lee, M. A. Leone, V. Leppa, G. Liberatore, B. A. Lie, C. M. Lill, M. Linden, J. Link, F. Luessi, J. Lycke, F. Macciardi, S. Mannisto, C. P. Manrique, R. Martin, V. Martinelli, D. Mason, G. Mazibrada, C. McCabe, I. L. Mero, J. Mescheriakova, L. Moutsianas, K. M. Myhr, G. Nagels, R. Nicholas, P. Nilsson, F. Piehl, M. Pirinen, S. E. Price, H. Quach, M. Reunanen, W. Robberecht, N. P. Robertson, M. Rodegher, D. Rog, M. Salvetti, N. C. Schnetz-Boutaud, F. Sellebjerg, R. C. Selter, C. Schaefer, S. Shaunak, L. Shen, S. Shields, V. Siffrin, M. Slee, P. S. Sorensen, M. Sorosina, M. Sospedra, A. Spurkland, A. Strange, E. Sundqvist, V. Thijs, J. Thorpe, A. Ticca, P. Tienari, C. van Duijn, E. M. Visser, S. Vucic, H. Westerlind, J. S. Wiley, A. Wilkins, J. F. Wilson, J. Winkelmann, J. Zajicek, E. Zindler, J. L. Haines, M. A. Pericak-Vance, A. J. Ivinson, G. Stewart, D. Hafler, S. L. Hauser, A. Compston, G. McVean, P. De Jager, S. J. Sawcer and J. L. McCauley (2013). "Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis." *Nat Genet* **45**(11): 1353-1360.

International Multiple Sclerosis Genetics, C., D. A. Hafler, A. Compston, S. Sawcer, E. S. Lander, M. J. Daly, P. L. De Jager, P. I. de Bakker, S. B. Gabriel, D. B. Mirel, A. J. Ivinson,

M. A. Pericak-Vance, S. G. Gregory, J. D. Rioux, J. L. McCauley, J. L. Haines, L. F. Barcellos, B. Cree, J. R. Oksenberg and S. L. Hauser (2007). "Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study." *N Engl J Med* **357**(9): 851-862.

International Multiple Sclerosis Genetics, C., C. Wellcome Trust Case Control, S. Sawcer, G. Hellenthal, M. Pirinen, C. C. Spencer, N. A. Patsopoulos, L. Moutsianas, A. Dilthey, Z. Su, C. Freeman, S. E. Hunt, S. Edkins, E. Gray, D. R. Booth, S. C. Potter, A. Goris, G. Band, A. B. Oturai, A. Strange, J. Saarela, C. Bellenguez, B. Fontaine, M. Gillman, B. Hemmer, R. Gwilliam, F. Zipp, A. Jayakumar, R. Martin, S. Leslie, S. Hawkins, E. Giannoulatou, S. D'Alfonso, H. Blackburn, F. Martinelli Boneschi, J. Liddle, H. F. Harbo, M. L. Perez, A. Spurkland, M. J. Waller, M. P. Mycko, M. Ricketts, M. Comabella, N. Hammond, I. Kockum, O. T. McCann, M. Ban, P. Whittaker, A. Kempainen, P. Weston, C. Hawkins, S. Widaa, J. Zajicek, S. Dronov, N. Robertson, S. J. Bumpstead, L. F. Barcellos, R. Ravindrarajah, R. Abraham, L. Alfredsson, K. Ardlie, C. Aubin, A. Baker, K. Baker, S. E. Baranzini, L. Bergamaschi, R. Bergamaschi, A. Bernstein, A. Berthele, M. Boggild, J. P. Bradfield, D. Brassat, S. A. Broadley, D. Buck, H. Butzkueven, R. Capra, W. M. Carroll, P. Cavalla, E. G. Celius, S. Cepok, R. Chiavacci, F. Clerget-Darpoux, K. Clysters, G. Comi, M. Cossburn, I. Cournu-Rebeix, M. B. Cox, W. Cozen, B. A. Cree, A. H. Cross, D. Cusi, M. J. Daly, E. Davis, P. I. de Bakker, M. Debouverie, B. D'Hooghe M, K. Dixon, R. Dobosi, B. Dubois, D. Ellinghaus, I. Elovaara, F. Esposito, C. Fontenille, S. Foote, A. Franke, D. Galimberti, A. Ghezzi, J. Glessner, R. Gomez, O. Gout, C. Graham, S. F. Grant, F. R. Guerini, H. Hakonarson, P. Hall, A. Hamsten, H. P. Hartung, R. N. Heard, S. Heath, J. Hobart, M. Hoshi, C. Infante-Duarte, G. Ingram, W. Ingram, T. Islam, M. Jagodic, M. Kabesch, A. G. Kermode, T. J. Kilpatrick, C. Kim, N. Klopp, K. Koivisto, M. Larsson, M. Lathrop, J. S. Lechner-Scott, M. A. Leone, V. Leppa, U. Liljedahl, I. L. Bomfim, R. R. Lincoln, J. Link, J. Liu, A. R. Lorentzen, S. Lupoli, F. Macciardi, T. Mack, M. Marriott, V. Martinelli, D. Mason, J. L. McCauley, F. Mentch, I. L. Mero, T. Mihalova, X. Montalban, J. Mottershead, K. M. Myhr, P. Naldi, W. Ollier, A. Page, A. Palotie, J. Pelletier, L. Piccio, T. Pickersgill, F. Piehl, S. Pobywajlo, H. L. Quach, P. P. Ramsay, M. Reunanen, R. Reynolds, J. D. Rioux, M. Rodegher, S. Roesner, J. P. Rubio, I. M. Ruckert, M. Salvetti, E. Salvi, A. Santaniello, C. A. Schaefer, S. Schreiber, C. Schulze, R. J. Scott, F. Sellebjerg, K. W. Selmaj, D. Sexton, L. Shen, B. Simms-Acuna, S. Skidmore, P. M. Sleiman, C. Smestad, P. S. Sorensen, H. B. Sondergaard, J. Stankovich, R. C. Strange, A. M. Sulonen, E. Sundqvist, A. C. Syvanen, F. Taddeo, B. Taylor, J. M. Blackwell, P. Tienari, E. Bramon, A. Tourbah, M. A. Brown, E. Tronczynska, J. P. Casas, N. Tubridy, A. Corvin, J. Vickery, J. Jankowski, P. Villoslada, H. S. Markus, K. Wang, C. G. Mathew, J. Wason, C. N. Palmer, H. E. Wichmann, R. Plomin, E. Willoughby, A. Rautanen, J. Winkelmann, M. Wittig, R. C. Trembath, J. Yaouanq, A. C. Viswanathan, H. Zhang, N. W. Wood, R. Zuvich, P. Deloukas, C. Langford, A. Duncanson, J. R. Oksenberg, M. A. Pericak-Vance, J. L. Haines, T. Olsson, J. Hillert, A. J. Ivinson, P. L. De Jager, L. Peltonen, G. J. Stewart, D. A. Hafler, S. L. Hauser, G. McVean, P. Donnelly and A. Compston (2011). "Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis." *Nature* **476**(7359): 214-219.

- Jack R. Cooper, F. E. B., Robert H. Roth (2003). The Biochemical Basis of Neuropharmacology. New York, USA, Oxford University Press, Inc.
- Jacobs, B. L. and E. C. Azmitia (1992). "Structure and function of the brain serotonin system." Physiol Rev **72**(1): 165-229.
- Kahana, E. (2000). "Epidemiologic studies of multiple sclerosis: a review." Biomed Pharmacother **54**(2): 100-102.
- Kallmann, B. A., S. Fackelmann, K. V. Toyka, P. Rieckmann and K. Reiners (2006). "Early abnormalities of evoked potentials and future disability in patients with multiple sclerosis." Mult Scler **12**(1): 58-65.
- Kang, M., C. Park, H. Ahn and Y. Huh (2001). "Ectopic expression of serotonin-positive neurons in the hypothalamus associated with a significant serotonin decrease in the midbrain of food restricted rats." Neurosci Lett **314**(1-2): 25-28.
- Kanneganti, T. D. and V. D. Dixit (2012). "Immunological complications of obesity." Nat Immunol **13**(8): 707-712.
- Kantarci, O., A. Siva, M. Eraksoy, R. Karabudak, N. Sutlas, J. Agaoglu, F. Turan, M. Ozmenoglu, E. Togrul and M. Demirkiran (1998). "Survival and predictors of disability in Turkish MS patients. Turkish Multiple Sclerosis Study Group (TUMSSG)." Neurology **51**(3): 765-772.
- Karpova, I. V., V. V. Mikheev, V. V. Marysheva, E. R. Bychkov and S. N. Proshin (2016). "Oxytocin-Induced Changes in Monoamine Level in Symmetric Brain Structures of Isolated Aggressive C57Bl/6 Mice." Bull Exp Biol Med **160**(5): 605-609.
- Keck, M. E., T. Welt, A. Wigger, U. Renner, M. Engelmann, F. Holsboer and R. Landgraf (2001). "The anxiolytic effect of the CRH(1) receptor antagonist R121919 depends on innate emotionality in rats." Eur J Neurosci **13**(2): 373-380.
- Kirby, L. G., K. C. Rice and R. J. Valentino (2000). "Effects of corticotropin-releasing factor on neuronal activity in the serotonergic dorsal raphe nucleus." Neuropsychopharmacology **22**(2): 148-162.
- Klein, D. C. (2007). "Arylalkylamine N-acetyltransferase: "the Timezyme"." J Biol Chem **282**(7): 4233-4237.
- Koch, M. W., L. M. Metz, S. M. Agrawal and V. W. Yong (2013). "Environmental factors and their regulation of immunity in multiple sclerosis." J Neurol Sci **324**(1-2): 10-16.
- Koch-Henriksen, N. and P. S. Sorensen (2010). "The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology." Lancet Neurol **9**(5): 520-532.

- Kranz, G. S., A. Hahn, P. Baldinger, D. Haeusler, C. Philippe, U. Kaufmann, W. Wadsak, M. Savli, A. Hoeflich, C. Kraus, T. Vanicek, M. Mitterhauser, S. Kasper and R. Lanzenberger (2014). "Cerebral serotonin transporter asymmetry in females, males and male-to-female transsexuals measured by PET in vivo." Brain Struct Funct **219**(1): 171-183.
- Kroencke, D. C., S. G. Lynch and D. R. Denney (2000). "Fatigue in multiple sclerosis: relationship to depression, disability, and disease pattern." Mult Scler **6**(2): 131-136.
- Kumpfel, T., M. Schwan, F. Weber, F. Holsboer, C. Trenkwalder and F. Then Bergh (2014). "Hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity evolves differentially in untreated versus treated multiple sclerosis." Psychoneuroendocrinology **45**: 87-95.
- Kurtzke, J. F. (1975). "A reassessment of the distribution of multiple sclerosis." Acta Neurol Scand **51**(2): 137-157.
- Kurtzke, J. F. (1983). "Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS)." Neurology **33**(11): 1444-1452.
- Kurtzke, J. F. (1993). "Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infection." Clin Microbiol Rev **6**(4): 382-427.
- Kurtzke, J. F. (2000). "Multiple sclerosis in time and space--geographic clues to cause." J Neurovirol **6 Suppl 2**: S134-140.
- Kutzelnigg, A., J. C. Faber-Rod, J. Bauer, C. F. Lucchinetti, P. S. Sorensen, H. Laursen, C. Stadelmann, W. Bruck, H. Rauschka, M. Schmidbauer and H. Lassmann (2007). "Widespread demyelination in the cerebellar cortex in multiple sclerosis." Brain Pathol **17**(1): 38-44.
- Lesch, K. P., D. Bengel, A. Heils, S. Z. Sabol, B. D. Greenberg, S. Petri, J. Benjamin, C. R. Muller, D. H. Hamer and D. L. Murphy (1996). "Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region." Science **274**(5292): 1527-1531.
- Limone, P., B. Ferrero, P. Calvelli, P. Del Rizzo, E. Rota, C. Berardi, A. M. Barberis, G. C. Isaia and L. Durelli (2002). "Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and cytokine production in multiple sclerosis with or without interferon-beta treatment." Acta Neurol Scand **105**(5): 372-377.
- Linthorst, A. C., C. Flachskamm, S. J. Hopkins, M. E. Hoadley, M. S. Labeur, F. Holsboer and J. M. Reul (1997). "Long-term intracerebroventricular infusion of corticotropin-releasing hormone alters neuroendocrine, neurochemical, autonomic, behavioral, and cytokine responses to a systemic inflammatory challenge." J Neurosci **17**(11): 4448-4460.

- Lobentanz, I. S., S. Asenbaum, K. Vass, C. Sauter, G. Klosch, H. Kollegger, W. Kristoferitsch and J. Zeitlhofer (2004). "Factors influencing quality of life in multiple sclerosis patients: disability, depressive mood, fatigue and sleep quality." Acta Neurol Scand **110**(1): 6-13.
- Lock, C., G. Hermans, R. Pedotti, A. Brendolan, E. Schadt, H. Garren, A. Langer-Gould, S. Strober, B. Cannella, J. Allard, P. Klonowski, A. Austin, N. Lad, N. Kaminski, S. J. Galli, J. R. Oksenberg, C. S. Raine, R. Heller and L. Steinman (2002). "Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis." Nat Med **8**(5): 500-508.
- Lowry, C. A. (2002). "Functional subsets of serotonergic neurones: implications for control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis." J Neuroendocrinol **14**(11): 911-923.
- Lublin, F. D. R., S.C. (1996 Apr). "Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis." Neurology **46**(4):907-11.
- Lukkes, J.L., G. L. Forster, K. J. Renner and C. H. Summers (2008). "Corticotropin-releasing factor 1 and 2 receptors in the dorsal raphe differentially affect serotonin release in the nucleus accumbens." Eur J Pharmacol **578**(2-3): 185-193.
- Mason, D., I. MacPhee and F. Antoni (1990). "The role of the neuroendocrine system in determining genetic susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis in the rat." Immunology **70**(1): 1-5.
- Meca-Lallana, J., L. Hernandez, A. B. Caminero, J. M. Giron, A. Cano-Orgaz, M. Carcelen-Gadea, D. Munoz, E. Duran-Ferreras, J. Martin-Hernandez, R. Sanchez-de la Rosa and F. S. Group (2016). "Fatigue Improvement after Switching Multiple Sclerosis Treatment from Interferon-beta to Glatiramer Acetate in Clinical Practice." Eur Neurol **76**(1-2): 40-47.
- Miller, J. R. (2004). "The importance of early diagnosis of multiple sclerosis." J Manag Care Pharm **10**(3 Suppl B): S4-11.
- Mitsonis, C. I., I. M. Zervas, C. M. Potagas, P. A. Mitropoulos, N. P. Dimopoulos, C. A. Sfagos, G. N. Papadimitriou and D. C. Vassilopoulos (2010). "Effects of escitalopram on stress-related relapses in women with multiple sclerosis: an open-label, randomized, controlled, one-year follow-up study." Eur Neuropsychopharmacol **20**(2): 123-131.
- Mohr, D. C., S. L. Hart and A. Goldberg (2003). "Effects of treatment for depression on fatigue in multiple sclerosis." Psychosom Med **65**(4): 542-547.
- Mohr, D. C., S. L. Hart, L. Julian, D. Cox and D. Pelletier (2004). "Association between stressful life events and exacerbation in multiple sclerosis: a meta-analysis." BMJ **328**(7442): 731.

- Moore, R. Y., A. E. Halaris and B. E. Jones (1978). "Serotonin neurons of the midbrain raphe: ascending projections." J Comp Neurol **180**(3): 417-438.
- Morgane, P. J., J. R. Galler and D. J. Mokler (2005). "A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain." Prog Neurobiol **75**(2): 143-160.
- Mostert, J. P., F. Admiraal-Behloul, J. M. Hoogduin, J. Luyendijk, D. J. Heersema, M. A. van Buchem and J. De Keyser (2008). "Effects of fluoxetine on disease activity in relapsing multiple sclerosis: a double-blind, placebo-controlled, exploratory study." J Neurol Neurosurg Psychiatry **79**(9): 1027-1031.
- Munaro, N. I., H. Morello and S. Taleisnik (1991). "Glutamic acid decarboxylase activity of the preoptic area and hypothalamus is influenced by the serotonergic system." J Neurochem **57**(4): 1302-1306.
- Munger, K. L., L. I. Levin, B. W. Hollis, N. S. Howard and A. Ascherio (2006). "Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis." JAMA **296**(23): 2832-2838.
- Murray, T. J. (1985). "Amantadine therapy for fatigue in multiple sclerosis." Can J Neurol Sci **12**(3): 251-254.
- Nagaraj, K., A. B. Taly, A. Gupta, C. Prasad and R. Christopher (2013). "Prevalence of fatigue in patients with multiple sclerosis and its effect on the quality of life." J Neurosci Rural Pract **4**(3): 278-282.
- National-Multiple-Sclerosis-Society. (2016). Retrieved 21.08.2016, from [www.nationalmssociety.org](http://www.nationalmssociety.org).
- Oksenberg, J. R. and L. F. Barcellos (2005). "Multiple sclerosis genetics: leaving no stone unturned." Genes Immun **6**(5): 375-387.
- Okuda, D. T., E. M. Mowry, A. Beheshtian, E. Waubant, S. E. Baranzini, D. S. Goodin, S. L. Hauser and D. Pelletier (2009). "Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome." Neurology **72**(9): 800-805.
- Okugawa, G., K. Omori, J. Suzukawa, Y. Fujiseki, T. Kinoshita and C. Inagaki (1999). "Long-term treatment with antidepressants increases glucocorticoid receptor binding and gene expression in cultured rat hippocampal neurones." J Neuroendocrinol **11**(11): 887-895.
- Owens, G. P. and J. L. Bennett (2012). "Trigger, pathogen, or bystander: the complex nexus linking Epstein-Barr virus and multiple sclerosis." Mult Scler **18**(9): 1204-1208.
- Parsey, R. V., M. A. Oquendo, R. T. Ogden, D. M. Olvet, N. Simpson, Y. Y. Huang, R. L. Van Heertum, V. Arango and J. J. Mann (2006). "Altered serotonin 1A binding in major

depression: a [carbonyl-C-11]WAY100635 positron emission tomography study." Biol Psychiatry **59**(2): 106-113.

Patsopoulos, N. A., M. S. G. W. G. Bayer Pharma, I.-b. Steering Committees of Studies Evaluating, C. C. R. A. a, A. N. Consortium, GeneMsa, C. International Multiple Sclerosis Genetics, F. Esposito, J. Reischl, S. Lehr, D. Bauer, J. Heubach, R. Sandbrink, C. Pohl, G. Edan, L. Kappos, D. Miller, J. Montalban, C. H. Polman, M. S. Freedman, H. P. Hartung, B. G. Arnason, G. Comi, S. Cook, M. Filippi, D. S. Goodin, D. Jeffery, P. O'Connor, G. C. Ebers, D. Langdon, A. T. Reder, A. Traboulsee, F. Zipp, S. Schimrigk, J. Hillert, M. Bahlo, D. R. Booth, S. Broadley, M. A. Brown, B. L. Browning, S. R. Browning, H. Butzkueven, W. M. Carroll, C. Chapman, S. J. Foote, L. Griffiths, A. G. Kermode, T. J. Kilpatrick, J. Lechner-Scott, M. Marriott, D. Mason, P. Moscato, R. N. Heard, M. P. Pender, V. M. Perreau, D. Perera, J. P. Rubio, R. J. Scott, M. Slee, J. Stankovich, G. J. Stewart, B. V. Taylor, N. Tubridy, E. Willoughby, J. Wiley, P. Matthews, F. M. Boneschi, A. Compston, J. Haines, S. L. Hauser, J. McCauley, A. Ivinson, J. R. Oksenberg, M. Pericak-Vance, S. J. Sawcer, P. L. De Jager, D. A. Hafler and P. I. de Bakker (2011). "Genome-wide meta-analysis identifies novel multiple sclerosis susceptibility loci." Ann Neurol **70**(6): 897-912.

Pavese, N., V. Metta, S. K. Bose, K. R. Chaudhuri and D. J. Brooks (2010). "Fatigue in Parkinson's disease is linked to striatal and limbic serotonergic dysfunction." Brain **133**(11): 3434-3443.

Pearce, J. M. (2005). "Historical descriptions of multiple sclerosis." Eur Neurol **54**(1): 49-53.

Pierrot-Deseilligny, C. (2009). "Clinical implications of a possible role of vitamin D in multiple sclerosis." J Neurol **256**(9): 1468-1479.

Plumb, J., S. McQuaid, M. Mirakhur and J. Kirk (2002). "Abnormal endothelial tight junctions in active lesions and normal-appearing white matter in multiple sclerosis." Brain Pathol **12**(2): 154-169.

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

Polman, C. H., S. C. Reingold, G. Edan, M. Filippi, H. P. Hartung, L. Kappos, F. D. Lublin, L. M. Metz, H. F. McFarland, P. W. O'Connor, M. Sandberg-Wollheim, A. J. Thompson, B. G. Weinshenker and J. S. Wolinsky (2005). "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria"." Ann Neurol **58**(6): 840-846.

Posener, J. A., C. DeBattista, G. H. Williams, H. Chmura Kraemer, B. M. Kalehzan and A. F. Schatzberg (2000). "24-Hour monitoring of cortisol and corticotropin secretion in psychotic and nonpsychotic major depression." Arch Gen Psychiatry **57**(8): 755-760.

Poser, C. M. (1980). "Diagnostic techniques in multiple sclerosis." Surv Ophthalmol **25**(2): 91-101.

Poser, C. M., Paty, D. W., Scheinberg, L., McDonald, W. I., Davis, F. A., Ebers, G. C., Johnson, K. P., Sibley, W. A., Silberberg, D. H. and Tourtellotte, W. W. (1983). "New diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines for research protocols." Ann Neurol **13**: **227-231**.

Prineas, J. W., E. E. Kwon, E. S. Cho, L. R. Sharer, M. H. Barnett, E. L. Oleszak, B. Hoffman and B. P. Morgan (2001). "Immunopathology of secondary-progressive multiple sclerosis." Ann Neurol **50**(5): 646-657.

Rabin, R. and F. de Charro (2001). "EQ-5D: a measure of health status from the EuroQol Group." Ann Med **33**(5): 337-343.

Reder, A. T., R. L. Makowiec and M. T. Lowy (1994). "Adrenal size is increased in multiple sclerosis." Arch Neurol **51**(2): 151-154.

Reich, D., N. Patterson, P. L. De Jager, G. J. McDonald, A. Waliszewska, A. Tandon, R. R. Lincoln, C. DeLoa, S. A. Fruhan, P. Cabre, O. Bera, G. Semana, M. A. Kelly, D. A. Francis, K. Ardlie, O. Khan, B. A. Cree, S. L. Hauser, J. R. Oksenberg and D. A. Hafler (2005). "A whole-genome admixture scan finds a candidate locus for multiple sclerosis susceptibility." Nat Genet **37**(10): 1113-1118.

Reimold, M., A. Batra, A. Knobel, M. N. Smolka, A. Zimmer, K. Mann, C. Solbach, G. Reischl, F. Schwarzler, G. Grunder, H. J. Machulla, R. Bares and A. Heinz (2008). "Anxiety is associated with reduced central serotonin transporter availability in unmedicated patients with unipolar major depression: a [11C]DASB PET study." Mol Psychiatry **13**(6): 606-613, 557.

Reimold, M., A. Knobel, M. A. Rapp, A. Batra, K. Wiedemann, A. Strohle, A. Zimmer, P. Schonknecht, M. N. Smolka, D. R. Weinberger, D. Goldman, H. J. Machulla, R. Bares and A. Heinz (2011). "Central serotonin transporter levels are associated with stress hormone response and anxiety." Psychopharmacology (Berl) **213**(2-3): 563-572.

Reimold, M., M. N. Smolka, A. Zimmer, A. Batra, A. Knobel, C. Solbach, A. Mundt, H. U. Smolczyk, D. Goldman, K. Mann, G. Reischl, H. J. Machulla, R. Bares and A. Heinz (2007). "Reduced availability of serotonin transporters in obsessive-compulsive disorder correlates with symptom severity - a [11C]DASB PET study." J Neural Transm (Vienna) **114**(12): 1603-1609.

Rhodes, R. A., N. V. Murthy, M. A. Dresner, S. Selvaraj, N. Stavrakakis, S. Babar, P. J. Cowen and P. M. Grasby (2007). "Human 5-HT transporter availability predicts amygdala reactivity in vivo." J Neurosci **27**(34): 9233-9237.

RJ Davidson, A. T. (1989). Laterality and emotion: An electrophysiological approach. Handbook of Neuropsychology. J. G. F. Boller, Elsevier Science Publishers (B.D.). **3**.

Romani, A., R. Bergamaschi, E. Candeloro, E. Alfonsi, R. Callieco and V. Cosi (2004). "Fatigue in multiple sclerosis: multidimensional assessment and response to symptomatic treatment." Mult Scler **10**(4): 462-468.

Rosati, G. (1994). "Descriptive epidemiology of multiple sclerosis in Europe in the 1980s: a critical overview." Ann Neurol **36 Suppl 2**: S164-174.

Rosche, B., B. Kieseier, H. P. Hartung and B. Hemmer (2003). "[New understanding of the immunopathogenesis of multiple sclerosis]." Nervenarzt **74**(8): 654-663.

Rueter, L. E. and B. L. Jacobs (1996). "Changes in forebrain serotonin at the light-dark transition: correlation with behaviour." Neuroreport **7**(5): 1107-1111.

Salzer, J., G. Hallmans, M. Nystrom, H. Stenlund, G. Wadell and P. Sundstrom (2012). "Vitamin D as a protective factor in multiple sclerosis." Neurology **79**(21): 2140-2145.

Schumann, E. M., T. Kumpfel, F. Then Bergh, C. Trenkwalder, F. Holsboer and D. P. Auer (2002). "Activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis: correlations with gadolinium-enhancing lesions and ventricular volume." Ann Neurol **51**(6): 763-767.

Simon, K. C., I. A. van der Mei, K. L. Munger, A. Ponsonby, J. Dickinson, T. Dwyer, P. Sundstrom and A. Ascherio (2010). "Combined effects of smoking, anti-EBNA antibodies, and HLA-DRB1\*1501 on multiple sclerosis risk." Neurology **74**(17): 1365-1371.

Singh, S., I. Metz, S. Amor, P. van der Valk, C. Stadelmann and W. Bruck (2013). "Microglial nodules in early multiple sclerosis white matter are associated with degenerating axons." Acta Neuropathol **125**(4): 595-608.

Skelton, K. H., C. B. Nemeroff, D. L. Knight and M. J. Owens (2000). "Chronic administration of the triazolobenzodiazepine alprazolam produces opposite effects on corticotropin-releasing factor and urocortin neuronal systems." J Neurosci **20**(3): 1240-1248.

Soilu-Hanninen, M., M. Laaksonen, I. Laitinen, J. P. Eralinna, E. M. Lilius and I. Mononen (2008). "A longitudinal study of serum 25-hydroxyvitamin D and intact parathyroid hormone levels indicate the importance of vitamin D and calcium homeostasis regulation in multiple sclerosis." J Neurol Neurosurg Psychiatry **79**(2): 152-157.

Springer SP, D. G. (1993). Left brain, right brain. New York, Freeman.

Stefflerl, A., C. Linington, F. Holsboer and J. M. Reul (1999). "Susceptibility and resistance to experimental allergic encephalomyelitis: relationship with hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responsiveness in the rat." Endocrinology **140**(11): 4932-4938.

Sternberg, E. M., J. R. Glowa, M. A. Smith, A. E. Calogero, S. J. Listwak, S. Aksentijevich, G. P. Chrousos, R. L. Wilder and P. W. Gold (1992). "Corticotropin releasing hormone related behavioral and neuroendocrine responses to stress in Lewis and Fischer rats." Brain Res **570**(1-2): 54-60.

Sternberg EM, H. J., Chrousos GP, Kamilaris T, Listwak SJ, Gold PW, Wilder RL. (1989). "Inflammatory mediator-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation is defective in streptococcal cell wall arthritis-susceptible Lewis rats." Proc Natl Acad Sci U S A(86(7): 2374-8).

Stout, S. C., M. J. Owens and C. B. Nemeroff (2002). "Regulation of corticotropin-releasing factor neuronal systems and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity by stress and chronic antidepressant treatment." J Pharmacol Exp Ther **300**(3): 1085-1092.

Strohle, A. and F. Holsboer (2003). "Stress responsive neurohormones in depression and anxiety." Pharmacopsychiatry **36 Suppl 3**: S207-214.

Stuke, K., Flachenecker, P., Zettl, U.K. et al. (2009). "Symptomatology of MS: results from the German MS Registry." J Neurol **256**: 1932.

Sullivan, R. M. and M. M. Dufresne (2006). "Mesocortical dopamine and HPA axis regulation: role of laterality and early environment." Brain Res **1076**(1): 49-59.

Then Bergh, F., A. Grasser, C. Trenkwalder, H. Backmund, F. Holsboer and R. Rupprecht (1999). "Binding characteristics of the glucocorticoid receptor in peripheral blood lymphocytes in multiple sclerosis." J Neurol **246**(4): 292-298.

Then Bergh, F., T. Kumpfel, A. Grasser, R. Rupprecht, F. Holsboer and C. Trenkwalder (2001). "Combined treatment with corticosteroids and moclobemide favors normalization of hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysregulation in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized, double blind trial." J Clin Endocrinol Metab **86**(4): 1610-1615.

Then Bergh, F., T. Kumpfel, A. Yassouridis, C. Lechner, F. Holsboer and C. Trenkwalder (2007). "Acute and chronic neuroendocrine effects of interferon-beta 1a in multiple sclerosis." Clin Endocrinol (Oxf) **66**(2): 295-303.

Thompson, A. J., X. Montalban, F. Barkhof, B. Brochet, M. Filippi, D. H. Miller, C. H. Polman, V. L. Stevenson and W. I. McDonald (2000). "Diagnostic criteria for primary progressive multiple sclerosis: a position paper." Ann Neurol **47**(6): 831-835.

Tintore, M., A. Rovira, J. Rio, S. Otero-Romero, G. Arrambide, C. Tur, M. Comabella, C. Nos, M. J. Arevalo, L. Negrotto, I. Galan, A. Vidal-Jordana, J. Castillo, F. Palavra, E.

- Simon, R. Mitjana, C. Auger, J. Sastre-Garriga and X. Montalban (2015). "Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis." Brain **138**(Pt 7): 1863-1874.
- Tomarken, A. J., R. J. Davidson, R. E. Wheeler and R. C. Doss (1992). "Individual differences in anterior brain asymmetry and fundamental dimensions of emotion." J Pers Soc Psychol **62**(4): 676-687.
- Tremlett, H., Y. Zhao, J. Joseph, V. Devonshire and U. C. Neurologists (2008). "Relapses in multiple sclerosis are age- and time-dependent." J Neurol Neurosurg Psychiatry **79**(12): 1368-1374.
- Tschochner, M., S. Leary, D. Cooper, K. Strautins, A. Chopra, H. Clark, L. Choo, D. Dunn, I. James, W. M. Carroll, A. G. Kermode and D. Nolan (2016). "Identifying Patient-Specific Epstein-Barr Nuclear Antigen-1 Genetic Variation and Potential Autoreactive Targets Relevant to Multiple Sclerosis Pathogenesis." PLoS One **11**(2): e0147567.
- Tur, C. (2016). "Fatigue Management in Multiple Sclerosis." Curr Treat Options Neurol **18**(6): 26.
- Ueda, P., F. Rafatnia, M. Baarnhielm, R. Frobom, G. Korzunowicz, R. Lonnerbro, A. K. Hedstrom, D. Eyles, T. Olsson and L. Alfredsson (2014). "Neonatal vitamin D status and risk of multiple sclerosis." Ann Neurol **76**(3): 338-346.
- Vollmar, P., S. Nessler, S. R. Kalluri, H. P. Hartung and B. Hemmer (2009). "The antidepressant venlafaxine ameliorates murine experimental autoimmune encephalomyelitis by suppression of pro-inflammatory cytokines." Int J Neuropsychopharmacol **12**(4): 525-536.
- Vreeburg, S. A., W. J. Hoogendijk, J. van Pelt, R. H. Derijk, J. C. Verhagen, R. van Dyck, J. H. Smit, F. G. Zitman and B. W. Penninx (2009). "Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study." Arch Gen Psychiatry **66**(6): 617-626.
- Wade, B. J. (2014). "Spatial analysis of global prevalence of multiple sclerosis suggests need for an updated prevalence scale." Mult Scler Int **2014**: 124578.
- Walsh, A., J. McDowall and G. M. Grimshaw (2010). "Hemispheric specialization for emotional word processing is a function of SSRI responsiveness." Brain Cogn **74**(3): 332-340.
- Waselus, M., C. Nazzaro, R. J. Valentino and E. J. Van Bockstaele (2009). "Stress-induced redistribution of corticotropin-releasing factor receptor subtypes in the dorsal raphe nucleus." Biol Psychiatry **66**(1): 76-83.

- Watanabe, H., S. Fitting, M. Z. Hussain, O. Kononenko, A. Iatsyshyna, T. Yoshitake, J. Kehr, K. Alkass, H. Druid, H. Wadensten, P. E. Andren, I. Nylander, D. H. Wedell, O. Krishtal, K. F. Hauser, F. Nyberg, V. M. Karpyak, T. Yakovleva and G. Bakalkin (2015). "Asymmetry of the endogenous opioid system in the human anterior cingulate: a putative molecular basis for lateralization of emotions and pain." Cereb Cortex **25**(1): 97-108.
- Wei, T. and S. L. Lightman (1997). "The neuroendocrine axis in patients with multiple sclerosis." Brain **120** ( Pt 6): 1067-1076.
- Weinshenker, B. G. (1998). "The natural history of multiple sclerosis: update 1998." Semin Neurol **18**(3): 301-307.
- Willer, C. J., D. A. Dyment, A. D. Sadovnick, P. M. Rothwell, T. J. Murray, G. C. Ebers and G. Canadian Collaborative Study (2005). "Timing of birth and risk of multiple sclerosis: population based study." BMJ **330**(7483): 120.
- Wilson, A. A., N. Ginovart, M. Schmidt, J. H. Meyer, P. G. Threlkeld and S. Houle (2000). "Novel radiotracers for imaging the serotonin transporter by positron emission tomography: synthesis, radiosynthesis, and in vitro and ex vivo evaluation of (11)C-labeled 2-(phenylthio)araalkylamines." J Med Chem **43**(16): 3103-3110.
- Ysraelit, M. C., M. I. Gaitan, A. S. Lopez and J. Correale (2008). "Impaired hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in patients with multiple sclerosis." Neurology **71**(24): 1948-1954.
- Yuan, X. Q., G. Qiu, X. J. Liu, S. Liu, Y. Wu, X. Wang and T. Lu (2012). "Fluoxetine promotes remission in acute experimental autoimmune encephalomyelitis in rats." Neuroimmunomodulation **19**(4): 201-208.
- Zhang, P., R. Wang, Z. Li, Y. Wang, C. Gao, X. Lv, Y. Song and B. Li (2016). "The risk of smoking on multiple sclerosis: a meta-analysis based on 20,626 cases from case-control and cohort studies." PeerJ **4**: e1797.

## 7. Thematisch assoziierte Publikation als Zweitautorin

Die nachfolgende Publikation berichtet über die nuklearmedizinischen Daten einer weitgehend überlappenden Gruppe von Patienten und Probanden. Die vorliegende Dissertation geht mit der zusätzlichen Analyse der neuroendokrिनologischen Funktion über diese Publikation hinaus.

Hesse S1, **Moeller F**, Petroff D, Lobsien D, Luthardt J, Regenthal R, Becker GA, Patt M, Thomae E, Seese A, Meyer PM, Bergh FT, Sabri O. Altered serotonin transporter availability in patients with multiple sclerosis. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2014 May; 41(5):827-35. doi: 10.1007/s00259-013-2636-z. Epub 2014 Feb 22.

## Altered serotonin transporter availability in patients with multiple sclerosis

Swen Hesse · Franziska Moeller · David Petroff · Donald Lobsien · Julia Luthardt · Ralf Regenthal · Georg-Alexander Becker · Marianne Patt · Eva Thomae · Anita Seese · Philipp M. Meyer · Florian Then Bergh · Osama Sabri

Received: 19 July 2013 / Accepted: 6 November 2013 / Published online: 22 February 2014  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

### Abstract

**Purpose** Modulation of the immune system by the CNS may involve serotonergic regulation via the brain serotonin transporters (SERT). This regulation may be disturbed in patients with CNS disorders including multiple sclerosis (MS). Central serotonergic mechanisms have not been investigated in MS by in vivo imaging. The objective of the study was to assess the availability of SERT in antidepressant-naïve patients with MS by means of PET.

**Methods** Included in this study were 23 patients with MS and 22 matched healthy volunteers who were investigated with PET and the SERT-selective marker [<sup>11</sup>C]DASB, and distribution volume ratios were determined. Clinical assessment of

the patients included the expanded disability status scale, the MS fatigue scale *Würzburger Erschöpfungsinventar bei MS* (WEIMuS) and the Beck Depression Inventory (BDI). The PET data were analysed with both volume-of-interest and voxel-based analyses to determine regional SERT availability. **Results** Patients had lower SERT availability in the cingulate cortex, the thalamus and the insula, and increased availability in the orbitofrontal cortex. Patients with relapsing/remitting MS tended to have lower SERT in the hippocampus, whereas patients with primary progressive disease showed increased SERT availability in prefrontal regions. There was a positive correlation between SERT availability in the insula and both depression and fatigue scores ( $r=0.56$  vs. BDI,  $p=0.02$ ;  $r=0.49$  vs. WEIMuS,  $p=0.05$ ).

**Conclusion** Serotonergic neurotransmission in MS patients is altered in limbic and paralimbic regions as well as in the frontal cortex that this appears to contribute to psychiatric symptoms of MS.

Florian Then Bergh and Osama Sabri contributed equally to this work.

S. Hesse (✉) · J. Luthardt · G.-A. Becker · M. Patt · A. Seese · P. M. Meyer · O. Sabri  
Department of Nuclear Medicine, University of Leipzig,  
Liebigstraße 18, 04103 Leipzig, Germany  
e-mail: swen.hesse@medizin.uni-leipzig.de

F. Moeller · E. Thomae · F. T. Bergh  
Department of Neurology, University of Leipzig, Leipzig, Germany

D. Petroff  
Coordinating Centre for Clinical Studies, University of Leipzig,  
Leipzig, Germany

D. Lobsien  
Department of Neuroradiology, University of Leipzig, Leipzig,  
Germany

R. Regenthal  
Clinical Pharmacology, Rudolf-Boehm-Institute of Pharmacology  
and Toxicology, University of Leipzig, Härtelstraße 16-18,  
04107 Leipzig, Germany

S. Hesse · O. Sabri  
Integrated Research and Treatment Center (IFB) Adiposity Diseases,  
University of Leipzig, Liebigstraße 21, 04103 Leipzig, Germany

**Keywords** Serotonin · Serotonin transporter · Positron emission tomography · PET · Multiple sclerosis · Depression · Fatigue · Limbic system

### Introduction

Multiple sclerosis (MS) is a chronic disease of the central nervous system (CNS) that is characterized by inflammation, demyelination and axonal injury. Although the aetiology of and susceptibility to MS remain incompletely understood, abundant research indicates a crucial role for immune mechanisms in the pathogenesis of the disease [1]. The brain serotonergic system is involved in modulating the interactions between the nervous and immune systems. For example, in an experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model, knocking out the serotonin transporters (SERT) has been shown to influence susceptibility to inflammatory infiltrate

[2]. The SERT inhibitors fluoxetine and sertraline promote remission in acute EAE [3, 4] and have been reported to exert neuroprotective effects in MS. This is supported by clinical data showing reduced frequency of Gd-positive lesions after administration of fluoxetine, which influences antigen presentation by astrocytes and improves neuronal energy homeostasis [5]. Finally, depression and fatigue are frequent in MS and are influenced by serotonergic mechanisms [6, 7]. In a study of the effects of escitalopram on stress-related relapse in women with MS, the risk of relapse related to stressful life events was significantly lower in patients receiving escitalopram than in those continuing their usual treatment [8], linking depression, the serotonergic system and inflammatory activity of MS in a clinical intervention study. Taken together, these findings suggest a potential role of the central serotonergic system in the autoimmune process and mental manifestations of MS.

So far, in vivo imaging of the brain serotonergic system has not been studied in MS patients. The aim of our study was to investigate SERT availability, as a surrogate for serotonergic activity, using PET and the SERT-selective tracer [ $^{11}\text{C}$ ]DASB in antidepressant-naïve patients with MS, and to relate it to the degree of depression and fatigue. We hypothesized that SERT availability (i) is altered in MS patients when compared with healthy controls of similar age and gender, and (ii) is related to depression or fatigue.

## Materials and methods

### Subjects and clinical evaluation

Included in this study were 21 patients (12 women, 9 men; Table 1) with clinically definite MS (according to the criteria of Poser et al. [9], and the revised criteria of McDonald [10]), including 15 patients with relapsing/remitting MS (RRMS) and 6 with primary progressive MS (PPMS). Also included were 2 additional patients with a clinically isolated syndrome (CIS; Table 1) and imaging criteria indicating dissemination in space (but not in time). The time since resolution of the most recent relapse had to be at least 8 weeks, but was at least 3 months in most patients. Additionally, all patients showed active (Gd-enhanced) lesions on MRI performed prior PET imaging. No patient had ever received psychopharmacotherapy or other drugs known to affect brain neurotransmitters. Use of illegal drugs and alcohol abuse were excluded by interview. Severity of disease was assessed using the expanded disability status scale (EDSS) [11]. Fatigue and depression were rated using the MS fatigue scale *Würzburger Erschöpfungsinventar bei MS* (WEIMuS) [12] and the Beck Depression Inventory (BDI) [13], respectively (Table 2). Smoking habits were graded as 0 (nonsmoker) to 3 (heavy smoker; >20 cigarettes per day).

The control subjects included 22 healthy volunteers, selected to match the patients with respect to age and gender

(Table 2). They had no psychiatric or neurologic illness, had no family history of psychiatric disorder and were not taking medication.

The study was approved by the ethics committee of the Medical Faculty of the University of Leipzig (registration number 228-2002) and by the regulatory authorities in Germany (*Bundesamt für Strahlenschutz* Z-5-22461/2 2004-035, *Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte* 61-3900-4022972). The study was performed in accordance with the ICH Guideline for Good Clinical Practice (June 1996 and September 1997) and the declaration of Helsinki. All patients and healthy control subjects gave their written informed consent.

### PET imaging

The preparation of [ $^{11}\text{C}$ ]DASB and the scanning procedure were as recently described [14]. Briefly, dynamic PET was performed after intravenous bolus injection of a mean of 425.6 MBq [ $^{11}\text{C}$ ]DASB using an ECAT EXACT HR+ scanner (Siemens, Erlangen, Germany) in two-dimensional acquisition mode in all subjects. The emission scan duration was 90 min acquiring 23 frames. Prior to the emission scan, a 10-min transmission scan (from three  $^{68}\text{Ge}$  sources) was performed for attenuation correction and filtered back-projection with a Hann filter for image reconstruction. After numerical smoothing of reconstructed images (10 mm isotropic Gaussian filter), parametric images of SERT distribution volume ratios (DVR) were generated from the PET data by the multilinear reference tissue model with two parameters (MRTM2) [15] using the cerebellar grey matter as the reference tissue. Regional (volume-of-interest, VOI) analyses of DVRs was performed after coregistration with 3-D MRI data (T1-weighted MPRAGE, obtained on a 1.5-T Magnetom Symphony®; Siemens, Erlangen, Germany) using MultiModality software (HERMES Medical Solutions, Stockholm, Sweden) for realignment and stereotactic normalization (according to the anterior commissure–posterior commissure line) [14].

Statistical parametric mapping (SPM2; Wellcome Department of Cognitive Neurology, UK) was used to compare PET datasets from MS patients (sub)group(s) with those from the 22 healthy controls. For this purpose, mean images (70–90 min after injection) were spatially normalized onto the SPM2 integrated PET template and smoothed with 12 mm full-width at half-maximum on a Gaussian filter. Thresholds were set at  $p < 0.005$ , uncorrected, with a minimum of 30 voxels.

### SERT genotyping

SERT genotype variation functionally related to states potentially affecting phenotype was assessed. Therefore, DNA was isolated from 2 mL peripheral blood, and polymerase chain reaction and visualizations of both the SERT length polymorphism in the promoter region (SERT-LPR) and the variable

**Table 1** Patient demographics and clinical characteristics (individual values)

No.	Age (years)	Disease duration (years)	Gender	Diagnosis	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Smoking <sup>a</sup>	Disease-modifying treatment	Disease severity (EDSS score)	Fatigue (WEIMuS score)	Depression (BDI score)	SERT-LPR	STin2-VNTR (bp)
1	45	1.0	Female	RRMS	27	0	None	1.5	55	11	LL	296, 263
2	40	7.0	Female	PPMS	21		None	3.0	28	2	LL	296, 263
3	47	0.4	Female	RRMS	22	2	None	1.5	11	0	SS	296
4	41	0.7	Male	RRMS	23	0	None	1.5	0	1	LL	263
5	24	1.8	Female	RRMS	21	3	None	0	34	6	LS	296
6	47	14.2	Female	RRMS	25	0	Glatiramer acetate	3.0	44	12	LS	296, 263
7	47	26.8	Male	RRMS	26	3	None	2.0	7	1	LL	263
8	39	4.2	Female	RRMS	23		Glatiramer acetate	0	33	5	LS	263
9	40	0.7	Male	RRMS	21	0	None	0	0	0	SS	296
10	45	18.3	Female	PPMS	19	2	None	3.0	30	15	LL	296, 263
11	61	7.5	Male	PPMS	26	0	None	3.0	21	6	LS	296
12	40	7.6	Male	PPMS	22	0	None	4.0	39	12	LL	296, 263
13	56	30.0	Male	PPMS	23	0	None	7.0	52	10	LS	296, 263
14	24	1.0	Male	RRMS	40	0	None	0	7	2	LL	296, 263
15	50	6.4	Female	RRMS	20	3	None	1.5	52	28	LL	296, 246
16	40	11.1	Male	RRMS	23	3	None	1.5	0	0	LS	296, 246
17	38	8.2	Male	PPMS	23	2	None	3.5	15	1	LS	296, 263
18	34	7.1	Female	RRMS	21	0	Glatiramer acetate	1.0	22	4	LS	296, 263
19	19	0.3	Male	CIS	19	3	none	2.0	9	3	LL	296, 263
20	49	7.9	Female	RRMS	22	3	Glatiramer acetate	5.0	36	9	LL	296, 263
21	54	0.5	Female	RRMS	25	0	none	2.5	11	8	LS	296, 263
22	21	0.9	Male	RRMS	22	2	none	1.5	1	1	LL	296, 263
23	26		Female	CIS	23	0	none	0	19	10	LL	296, 263

<sup>a</sup>Smoking graded as: 0 (nonsmoker) to 3 (heavy smoker; >20 cigarettes per day)

RRMS Relapsing/remitting MS, PPMS primary progressive MS, CIS clinically isolated syndrome, SERT-LPR polymorphism in the promoter region of the serotonin-transporter coding gene in SLC6A4, STin2-VNTR variable number of tandem repeats in the second intron of SLC6A4

tandem repeat polymorphism in intron 2 (STin2-VNTR) were performed as recently described [14].

#### Statistical analysis

Statistical analyses were performed with PASW 18 for Windows (IBM SPSS; Somers, NY) and R version 2.14.0 [16]. For the VOI analyses, repeated measures analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate differences in the means between the study groups for given regions of the brain, where the within-subject effects compared left and right hemispheres. For anatomical structures that are centrally located, a 'simple' ANOVA was performed (i.e. a *t* test). Pearson correlations were determined to reveal associations between DVRs and clinical variables in MS patients. An alpha adjustment with respect to multiple testing was not performed due to the primarily exploratory character of the study. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

#### Results

The SPM analysis performed for the entire group revealed that MS patients had lower activity than controls in many subcortical and some cortical areas, as indicated in Fig. 1a. When analysing clinically defined subgroups, MS patients with either RRMS or PPMS showed reduced activity in the cingulate cortex. However, differential patterns were also apparent, as shown in Fig. 1b, c.

Both RRMS and PPMS patients had lower activity in areas close to the midline, more pronounced in PPMS patients. In contrast, only the PPMS patients showed markedly increased activity in the frontal and especially the orbitofrontal cortex. Direct comparison of these groups confirmed that the decrease in subcortical areas, the hippocampus and the midbrain were more pronounced in PPMS patients, and that higher SERT availability in the frontal areas characterized PPMS patients

**Table 2** Patient demographic and clinical characteristics (comparison with healthy controls) with injected dose, and genetic and seasonal data

	MS ( <i>n</i> =23)	Healthy controls ( <i>n</i> =22)	<i>p</i> value
Gender (M/F)	11/12	10/12	0.9 (n.s.), $\chi^2$ test
Age (years), mean $\pm$ SD	40.2 $\pm$ 11.3	36.6 $\pm$ 9.5	0.2 (n.s.), <i>t</i> test
Tracer activity administered (MBq), mean $\pm$ SD	453.8 $\pm$ 164.6	396.0 $\pm$ 131.0	0.2 (n.s.), <i>t</i> test
BMI (kg/m <sup>2</sup> ), mean $\pm$ SD	23.4 $\pm$ 4.2	22.9 $\pm$ 3.5	0.7 (n.s.), <i>t</i> test
Smoking habits, no. with score 0/1/2/3 <sup>a</sup>	11/0/4/6	14/4/2/2	0.08 (n.s.), Fisher's test
EDSS, median [IQR]	1.5 [1.25, 3.0]	n.a.	n.a.
WEIMuS, median [IQR]	21 [8, 35]	0 [0.5, 5.5]	<0.001***, <i>t</i> test
BDI, median [IQR]	5 [1, 10]	0 [0, 1.75]	0.002**, <i>t</i> test
Sunshine (h), median [IQR]	4.3 [0.6, 7.8]	4.6 [1.5, 9.6]	0.9 (n.s.), <i>t</i> test
Day length (h), mean $\pm$ SD	11.4 $\pm$ 2.7	14.0 $\pm$ 2.1	0.001**, <i>t</i> test
SERT-LPR: SS/SL/LL	2/9/12	4/10/8	0.5, Fisher's test
STin2-VNTR (bp): 263/296+263/296+246/296	3/16/4/0	5/8/6/3	0.1, Fisher's test

n.s. nonsignificant, n.a. not applicable, IQR interquartile range

<sup>a</sup> Obtained in 21 of the 23 MS patients

not only versus healthy controls but even compared to other MS patients (Fig. 1d).

Using a different approach to assess regional differences and interhemispheric asymmetries, VOI analysis of SERT availability showed that the DVR of the hippocampus in MS patients did not differ significantly between left and right ( $p=0.3$ ) whereas the values on the left in the healthy controls were much higher than on the right ( $p=0.001$ ). As a result (see also Fig. 2), there was a significant interaction term for left/right and group ( $p=0.007$ ). In the thalamus and hypothalamus, the MS group had significantly reduced values ( $p=0.01$  and  $p=0.02$ , respectively) with very small difference between left and right ( $p=0.05$ ) for the thalamus. Also, insular DVR showed significant differences between MS patients and healthy controls ( $p=0.03$ ) with higher values on the right ( $p=0.0006$ ). In the other brain regions analysed, no significant group effects were present and the  $p$  values ranged from 0.2 to 0.6.

When analysing SERT availability in relation to clinical variables, DVR in the insular region was positively correlated with the degree of depression (BDI;  $r=0.53$ ,  $p=0.01$ ) and fatigue (WEIMuS;  $r=0.43$ ,  $p=0.04$ ) when including all MS patients (Fig. 3). Excluding one outlier each, the correlations for the insular DVR was no longer significant (BDI,  $p=0.3$ ; WEIMuS,  $p=0.2$ ). EDSS was not significantly correlated with DVR in any brain region, nor was BDI or WEIMuS for other brain regions.

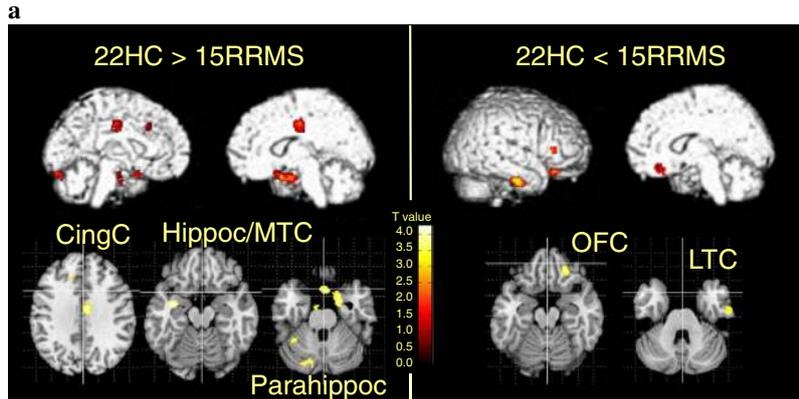
## Discussion

In the present study, the first to directly investigate SERT availability in MS in vivo, patients with MS had abnormally low SERT availability in cortical and subcortical brain areas.

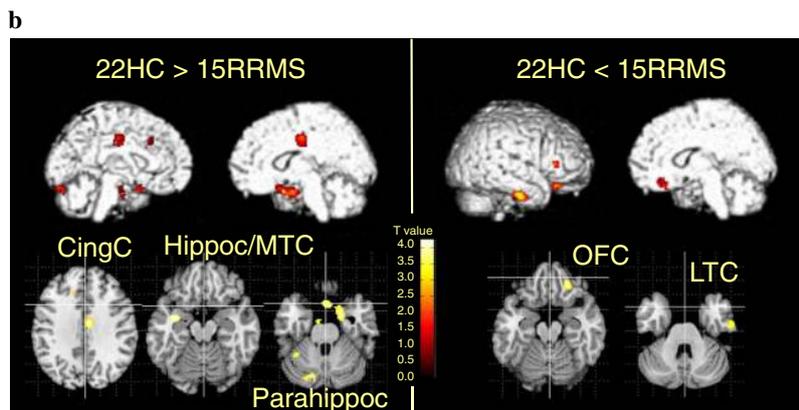
These abnormalities involved limbic and paralimbic regions such as the cingulate cortex, and were seen across MS subtypes. Lower hippocampal/parahippocampal SERT availability was found in patients with RRMS, while higher SERT availability in the orbitofrontal cortex was found particularly in patients with PPMS. Insular SERT availability was related to depression and fatigue.

These findings corroborate recent PET findings of diminished SERT availability in the anterior cingulate cortex and decreased 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in patients with chronic fatigue syndrome [17, 18] indicating that 5-HT neurotransmission plays a role in the pathophysiology of fatigue, either as a primary feature of fatigue or a finding secondary to other processes such as depression or neurodegeneration. Hence, these changes may occur because (i) synaptic serotonin is maintained by SERT or (ii) the central serotonin system exerts a homeostatic function. Such regionally distinct differences in SERT availability then reflect a network pattern necessary to modulate behaviour, acting on disturbed brain homeostasis, thus determining the phenotype. A change in such a network might represent the neural substrate for altered emotion processing and an impaired affective state [19]. Functional

**Fig. 1** Statistical mapping correlation of changes (at a significance level of  $p \leq 0.005$ , uncorrected, with a minimum of 30 voxels per cluster and a  $T$  value  $>3$ ) in SERT availability versus healthy controls (HC) **a** in the entire MS group, **b** in patients with relapsing/remitting multiple sclerosis (RRMS), **c** in patients with primary progressive MS (PPMS), and **d** in patients with RRMS compared to patients with PPMS; *upper rows* midsagittal projections, *lower rows* transaxial views of selected brain slices; *CingC* cingulate cortex, *Hippoc* hippocampus, *Parahippoc* parahippocampal area, *OFC* orbitofrontal cortex, *LTC* lateral temporal cortex, *MTC* medial temporal cortex, *Midbr* midbrain, *Precu* precuneus, *Hypothal* hypothalamus, *FC* frontal cortex, *DLPFC* dorsolateral prefrontal cortex



Talairach coordinates (x y z)	T value	Brain region
<b>22 HC &gt; 23 MS, p ≤ 0.005, min. 30 voxel / cluster</b>		
6 -14 36	4.33	Cingular Cortex R
18 - 8 26	3.89	Parahippocampal Area R
22 -26 10	3.43	Hippocampus R
-44 - 4 -16	3.15	Temporal Cortex L
- 6 30 12	3.11	Anterior Cingular Cortex L
<b>22 HC &lt; 23 MS, p ≤ 0.005, min. 30 voxel / cluster</b>		
24 32 -18	4.80	Orbitofrontal Cortex R
60 -16 -30	4.61	Lateral Temporal Cortex R
-58 -24 -24	3.35	Lateral Temporal Cortex L



Talairach coordinates (x y z)	T value	Brain region
<b>22 HC &gt; 15 RRMS, p ≤ 0.005, min. 30 voxel / cluster</b>		
6 -16 38	4.24	Cingular Cortex R
-12 24 36	2.93	Cingular Cortex L
20 - 6 26	3.82	Parahippocampal Area R
-34 -10 -12	3.15	Hippocampus/ Medial Temporal Cortex L
<b>22 HC &lt; 15 RRMS, p ≤ 0.005, min. 30 voxel / cluster</b>		
22 34 -16	3.97	Orbitofrontal Cortex R
58 -12 -32	3.96	Lateral Temporal Cortex R

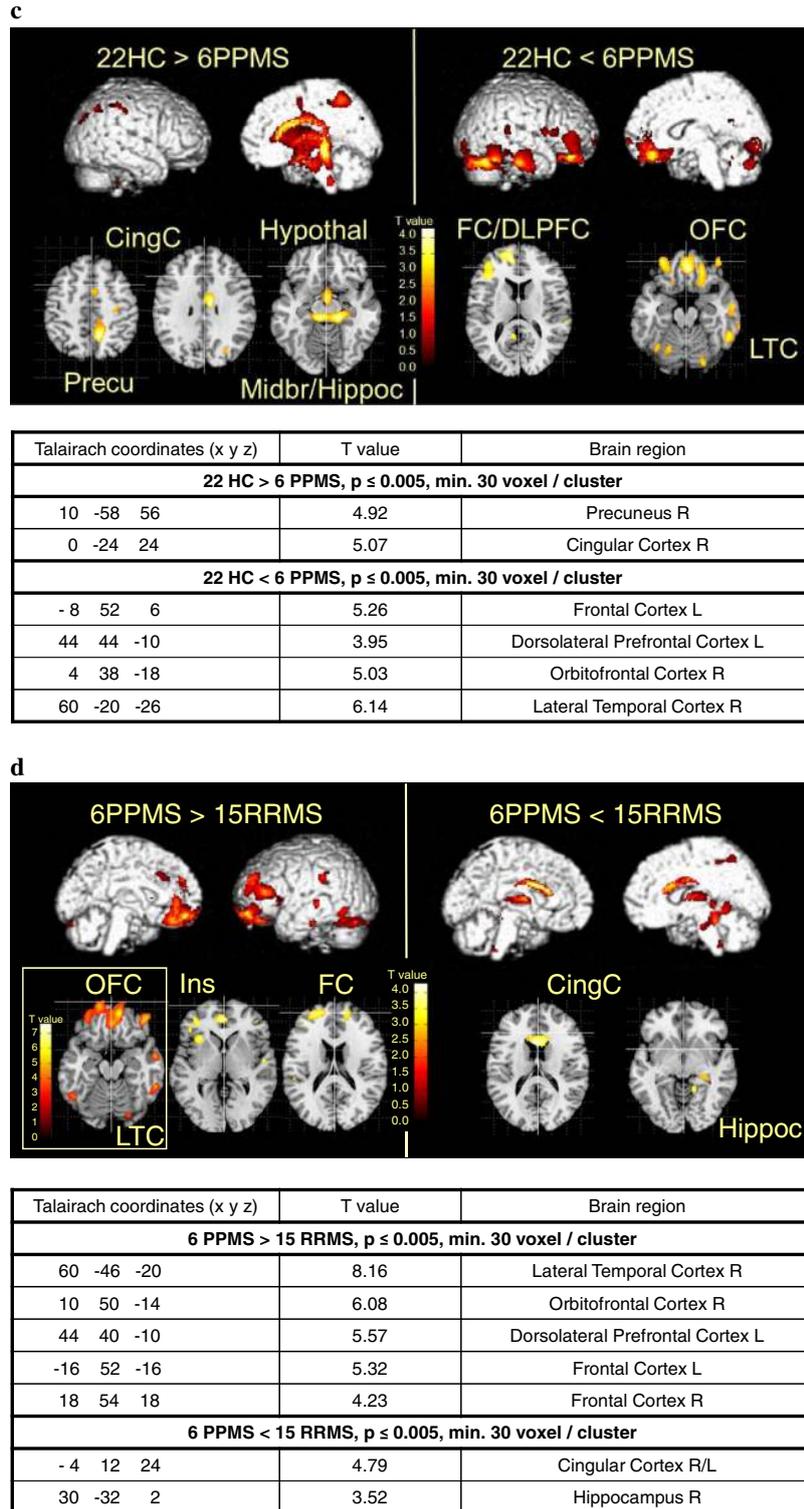
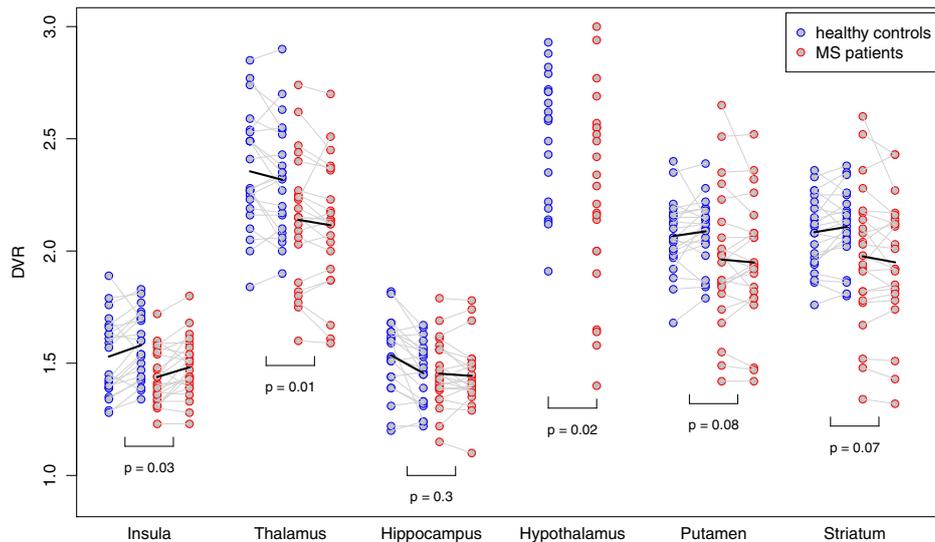


Fig. 1 (continued)



**Fig. 2** Regional DVRs in brain regions that showed either a significant difference ( $p < 0.05$ ) or a trend for difference ( $p = 0.05 - 0.1$ ) between MS patients and healthy controls. For pairs of values, those for the left hemisphere of the brain are plotted on the left. The  $p$  values in the plot refer to the group effect (at the between-subject level). The *black lines*

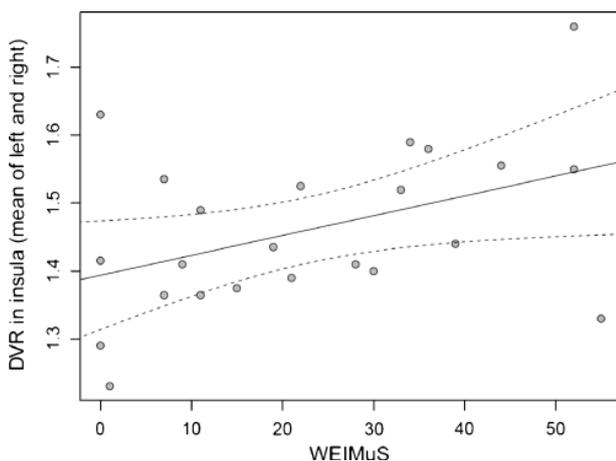
connect the within-subject means in the ANOVA model for left and right. Thus the significant difference for the interaction term in the hippocampus between left and right and between MS patients and healthy controls is a result of the large difference between the two slopes in this region there ( $p = 0.007$ , not shown in the plot)

adaptation can be assumed for the hippocampus–cingulate system, which is crucial for memory processing and sensitive to cognitive intervention, and also in patients with MS [20, 21]. According to our data, alterations in serotonergic tone might underlie these changes and are in line with other findings that have demonstrated the effects of fluoxetine on neuroplasticity [5] and limbic abnormalities using magnetization transfer ratio imaging [22]. Furthermore, a quantitative neuroimaging study using 3-T MRI including diffusion tensor imaging and 3-D T1-weighted volume acquisition has shown structural and ultrastructural alterations in subcortical limbic components even beyond the hippocampus, related to the

performance of episodic recall in MS patients with mild memory dysfunction [23].

Such cognitive tests were not performed in our study. We did not find a correlation between SERT availability and EDSS, and this raises the question as to whether SERT changes reflect stage-dependent functional alterations as dying-back effects in either white or grey matter pathology. Hence, one might speculate that changes at the neurotransmitter level (together with inflammatory forms [24]) reflect a secondary reaction to non-inflammatory progressive MS; if this were true, patients with CIS or even presymptomatic MS would not show the same effects, since in patients with early MS, brain plasticity can be preserved despite a high burden of cerebral pathology [25]. Recovery-oriented treatment strategies should therefore be started at an early disease stage, given that the described network alterations have already been found in patients with CIS at presentation [26, 27]. Similarly, a recent study of functional connectivity patterns has indicated such a type of brain reserve (within the default mode network) in patients with early MS showing strong and diffuse reductions in white matter integrity [28]. Differential changes in RRMS and PPMS may alternatively indicate that separate networks, both employing serotonergic transmission, are dysregulated and may serve different purposes in MS or, more generally, CNS disorders.

Our findings also suggest that the levels of depressive symptoms or fatigue, which were both present in our MS patients, are related to SERT binding in the insular cortex: patients with more severe depression or fatigue had higher SERT availability due to relatively reduced serotonergic neurotransmission, probably as a result of insufficient compensation of the adaptive system. The nonrobust nature of these



**Fig. 3** Correlation between SERT DVRs in the left insula region and the WEIMuS fatigue score. The fit lines represent mean of values and 95 % confidence intervals

findings implies that further research should be performed to test this hypothesis, especially since other authors have reported lower SERT availability (in the basal ganglia and limbic circuits) related to fatigue and to a disrupted integrity or damage to serotonergic fibres in Parkinson's disease [29].

The interpretation of the results of our pilot study is hampered by the size and heterogeneity of the sample despite the fact that we found SERT changes across the subtypes of MS investigated in this study. For example, when testing the data from the few patients with glatimer acetate in relation to the data from the RRMS patients who did not receive this immune-modulatory treatment, the regions of altered SERT availability were the same, but the degree of reduction differed with less involvement in the patients treated with glatimer acetate. This preliminary finding suggests an influence of immune-modulatory treatment on SERT availability as a homeostatic marker at the interface between adaptive brain and the immune system, probably in terms of a rebalance or reconstitution of the altered anterior limbic network. This is in line with a compensatory mechanism as mentioned above, and needs further prospective comparative investigations in order to disentangle the causal association between immune pathogenesis and the brain serotonin system. Furthermore, we did not account for the volume and distribution of demyelinating lesions, or correct for disease duration. When stratified for lesion load, asymmetries of SERT availability, which have been found in other samples of healthy patients [30] and patients with temporal lobe epilepsy [31], might be explained, but not the involvement of the demonstrated network. For the assessment of susceptibility it is also of interest as to whether there is an effect of the less functional active genotypes (e.g. homozygote carriers of SS and 296/STin.12) on SERT availability in disease versus healthy controls.

## Conclusion

In summary, serotonergic neurotransmission is altered in MS and appears to contribute to the pathophysiology of depression and fatigue. There may be further effects on adaptive coping or resistance mechanisms.

**Acknowledgment** We are grateful to Bärbel Schellenberg for helping us with genotype analysis.

**Conflicts of interest** None.

## References

- Hemmer B, Nessler S, Zhou D, Kieseier B, Hartung HP. Immunopathogenesis and immunotherapy of multiple sclerosis. *Nat Clin Pract Neurol*. 2006;2:201–11.
- Hofstetter HH, Mössner R, Lesch KP, Linker RA, Toyka KV, Gold R. Absence of reuptake of serotonin influences susceptibility to clinical autoimmune disease and neuroantigen-specific interferon-gamma production in mouse EAE. *Clin Exp Immunol*. 2005;142:39–44.
- Taler M, Gil-Ad I, Korob I, Weizman A. The immunomodulatory effect of the antidepressant sertraline in an experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model of multiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation*. 2011;18:117–22.
- Yuan XQ, Qiu G, Liu XJ, Liu S, Wu Y, Wang X, et al. Fluoxetine promotes remission in acute experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. *Neuroimmunomodulation*. 2012;19:201–8.
- Mostert JP, Admiraal-Behloul F, Hoogduin JM, Luyendijk J, Heerema DJ, van Buchem MA, et al. Effects of fluoxetine on disease activity in relapsing multiple sclerosis: a double-blind, placebo-controlled, exploratory study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79:1027–31.
- Krupp LB, Serafin DJ, Christodoulou C. Multiple sclerosis-associated fatigue. *Expert Rev Neurother*. 2010;10:1437–47.
- Solaro C, Bergamaschi R, Rezzani C, Mueller M, Trabucco E, Bargiggia V, et al. Duloxetine is effective in treating depression in multiple sclerosis patients: an open-label multicenter study. *Clin Neuropharmacol*. 2013;36:114–6. doi:10.1097/WNF.0b013e3182996400.
- Mitsonis CI, Zervas IM, Potagas CM, Mitropoulos PA, Dimopoulos NP, Sfagos CA, et al. Effects of escitalopram on stress-related relapses in women with multiple sclerosis: an open-label, randomized, controlled, one-year follow-up study. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2010;20:123–31.
- Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*. 1983;13:227–31.
- Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol*. 2005;58:840–6.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale. *Neurology*. 1983;33:1444–52.
- Flachenecker P, Müller G, König H, Meissner H, Toyka KV, Rieckmann P. Fatigue in multiple sclerosis. Development and validation of the Würzburger Fatigue Inventory for MS. *Nervenarzt*. 2006;77:165–6. 168–170, 172–4.
- Hautzinger M. The Beck Depression Inventory in clinical practice. *Nervenarzt*. 1991;62:689–96.
- Hesse S, Stengler K, Regenthal R, Patt M, Becker GA, Franke A, et al. The serotonin transporter availability in untreated early-onset and late-onset patients with obsessive-compulsive disorder. *Int J Neuropsychopharm*. 2011;14:606–17.
- Ichise M, Liow JS, Lu JQ, Takano A, Model K, Toyama H, et al. Linearized reference tissue parametric imaging methods: application to [<sup>11</sup>C]DASB positron emission tomography studies of the serotonin transporter in human brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2003;23:1096–112.
- R Development Core Team (2011) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Cleare AJ, Messa C, Rabiner EA, Grasby PM. Brain 5-HT1A receptor binding in chronic fatigue syndrome measured using positron emission tomography and [<sup>11</sup>C]WAY-100635. *Biol Psychiatry*. 2005;57:239–46.
- Yamamoto S, Ouchi Y, Onoe H, Yoshikawa E, Tsukada H, Takahashi H, et al. Reduction of serotonin transporters of patients with chronic fatigue syndrome. *Neuroreport*. 2004;15:2571–4.
- Groenewold NA, Opmeer EM, de Jonge P, Aleman A, Costafreda SG. Emotional valence modulates brain functional abnormalities in depression: evidence from a meta-analysis of fMRI studies. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37:152–63.

20. Hulst HE, Schoonheim MM, Roosendaal SD, Popescu V, Schwersen LJ, van der Werf YD, et al. Functional adaptive changes within the hippocampal memory system of patients with multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp.* 2012;33:2268–80.
21. Parisi L, Rocca MA, Valsasina P, Panicari L, Mattioli F, Filippi M. Cognitive rehabilitation correlates with the functional connectivity of the anterior cingulate cortex in patients with multiple sclerosis. *Brain Imaging Behav.* 2012. doi:10.1007/s11682-012-9160-9.
22. Crespy L, Zaaraoui W, Lemaire M, Rico A, Faivre A, Reuter F, et al. Prevalence of grey matter pathology in early multiple sclerosis assessed by magnetization transfer ratio imaging. *PLOS One.* 2011;6:e24969.
23. Dineen RA, Bradshaw CM, Constantinescu CS, Auer DP. Extra-hippocampal subcortical limbic involvement predicts episodic recall performance in multiple sclerosis. *PLOS One.* 2012;7:e4494.
24. Stys PK, Zamponi GW, van Minnen J, Geurts JJ. Will the real multiple sclerosis please stand up? *Nat Rev Neurosci.* 2012;13:507–14.
25. Tomassini V, Johansen-Berg H, Jbabdi S, Wise RG, Pozzilli C, Palace J, et al. Relating brain damage to brain plasticity in patients with multiple sclerosis. *Neurorehabil Neural Repair.* 2012;26:581–93.
26. Forn C, Rocca MA, Boscá I, Casanova B, Sanjuan A, Filippi M. Analysis of “task-positive” and “task-negative” functional networks during the performance of the Symbol Digit Modalities Test in patients at presentation with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Exp Brain Res.* 2013;225:399–407. doi:10.1007/s00221-012-3380-5.
27. Liu Y, Duan Y, Liang P, Jia X, Yu C, Ye J, et al. Baseline brain activity changes in patients with clinically isolated syndrome revealed by resting-state functional MRI. *Acta Radiol.* 2012;53:1073–8.
28. Hawellek DJ, Hipp JF, Lewis CM, Corbetta M, Engel AK. Increased functional connectivity indicates the severity of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108:19066–71.
29. Pavese N, Metta V, Bose SK, Chaudhuri KR, Brooks DJ. Fatigue in Parkinson’s disease is linked to striatal and limbic serotonergic dysfunction. *Brain.* 2010;133:3434–43.
30. Kranz GS, Hahn A, Baldinger P, Haeusler D, Philippe C, Kaufmann U, et al. Cerebral serotonin transporter asymmetry in females, males and male-to-female transsexuals measured by PET in vivo. *Brain Struct Funct.* 2012. doi:10.1007/s00429-012-0492-4.
31. Martinez A, Finegersh A, Cannon DM, Dustin I, Nugent A, Herscovitch P, et al. The 5-HT<sub>1A</sub> receptor and 5-HT transporter in temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 2013;80:1465–71.

## 8. Anlagen

### 8.1 Fragebögen

Name, Vorname \_\_\_\_\_

Geburtsdatum \_\_\_\_\_  
Ausfuelldatum \_\_\_\_\_

#### **Beck Depressions-Inventar**

Dieser Fragebogen enthält 21 Gruppen von je vier Aussagen. Wählen Sie bitte jeweils diejenige Aussage aus, die am besten beschreibt, wie Sie sich **in dieser Woche** einschließlich heute gefühlt haben. Bitte markieren Sie die Zahl neben dieser Aussage durch Umkreisen. Bitte lesen Sie alle Aussagen einer Gruppe durch, bevor Sie Ihre Wahl treffen!

<p>A</p> <p><b>0</b> Ich bin nicht traurig. <b>1</b> Ich bin traurig. <b>2</b> Ich bin die ganze Zeit traurig und komme nicht davon los. <b>3</b> Ich bin so traurig oder unglücklich, dass ich es kaum noch ertrage.</p>	<p>G</p> <p><b>0</b> Ich bin nicht von mir enttäuscht. <b>1</b> Ich bin von mir enttäuscht. <b>2</b> Ich finde mich fürchterlich. <b>3</b> Ich hasse mich.</p>
<p>B</p> <p><b>0</b> Ich sehe nicht besonders mutlos in die Zukunft. <b>1</b> Ich sehe mutlos in die Zukunft. <b>2</b> Ich habe nichts, worauf ich mich freuen kann. <b>3</b> Ich habe das Gefühl, dass die Zukunft hoffnungslos ist, und dass die Situation nicht besser werden kann.</p>	<p>H</p> <p><b>0</b> Ich habe nicht das Gefühl, schlechter zu sein als alle anderen. <b>1</b> Ich kritisiere mich wegen meiner Fehler und Schwächen. <b>2</b> Ich mache mir die ganze Zeit Vorwürfe wegen meiner Mängel. <b>3</b> Ich gebe mir für alles die Schuld, was schief geht.</p>
<p>C</p> <p><b>0</b> Ich fühle mich nicht als Versager. <b>1</b> Ich habe das Gefühl, öfter versagt zu haben als der Durchschnitt. <b>2</b> Wenn ich auf mein Leben zurückblicke, sehe ich bloß eine Menge Fehlschläge. <b>3</b> Ich habe das Gefühl, als Mensch ein völliger Versager zu sein.</p>	<p>I</p> <p><b>0</b> Ich denke nicht daran, mir etwas anzutun. <b>1</b> Ich denke manchmal an Selbstmord, aber ich würde es nicht tun. <b>2</b> Ich möchte mich am liebsten umbringen. <b>3</b> Ich würde mich umbringen, wenn ich die Gelegenheit dazu hätte.</p>
<p>D</p> <p><b>0</b> Ich kann die Dinge genauso genießen wie früher. <b>1</b> Ich kann die Dinge nicht mehr so genießen wie früher. <b>2</b> Ich kann aus nichts mehr eine echte Befriedigung ziehen. <b>3</b> Ich bin mit allem unzufrieden oder gelangweilt.</p>	<p>J</p> <p><b>0</b> Ich weine nicht öfter als früher. <b>1</b> Ich weine jetzt mehr als früher. <b>2</b> Ich weine jetzt die ganze Zeit. <b>3</b> Früher konnte ich weinen, aber jetzt kann ich es nicht mehr, obwohl ich es möchte.</p>
<p>E</p> <p><b>0</b> Ich habe keine Schuldgefühle. <b>1</b> Ich habe häufig Schuldgefühle. <b>2</b> Ich habe fast immer Schuldgefühle. <b>3</b> Ich habe immer Schuldgefühle.</p>	<p>K</p> <p><b>0</b> Ich bin nicht reizbarer als sonst. <b>1</b> Ich bin jetzt leichter verärgert oder gereizt als früher. <b>2</b> Ich fühle mich dauernd gereizt. <b>3</b> Die Dinge, die mich früher geärgert haben, berühren mich nicht mehr.</p>
<p>F</p> <p><b>0</b> Ich habe nicht das Gefühl, gestraft zu sein. <b>1</b> Ich habe das Gefühl, vielleicht gestraft zu sein. <b>2</b> Ich erwarte, bestraft zu werden. <b>3</b> Ich habe das Gefühl, bestraft zu werden.</p>	<p>Summe Seite 1: _____</p>

L	<p><b>0</b> Ich habe nicht das Interesse an Menschen verloren.</p> <p><b>1</b> Ich interessiere mich jetzt weniger für Menschen als früher.</p> <p><b>2</b> Ich habe mein Interesse an anderen Menschen zum größten Teil verloren.</p> <p><b>3</b> Ich habe mein ganzes Interesse an anderen Menschen verloren.</p>	Q	<p><b>0</b> Ich ermüde nicht stärker als sonst.</p> <p><b>1</b> Ich ermüde schneller als früher.</p> <p><b>2</b> Fast alles ermüdet mich.</p> <p><b>3</b> Ich bin zu müde, um etwas zu tun.</p>
M	<p><b>0</b> Ich bin so entschlossen wie immer.</p> <p><b>1</b> Ich schiebe Entscheidungen jetzt öfter auf als früher.</p> <p><b>2</b> Es fällt mir jetzt schwerer, Entscheidungen zu treffen.</p> <p><b>3</b> Ich kann überhaupt keine Entscheidungen mehr treffen.</p>	R	<p><b>0</b> Mein Appetit ist nicht schlechter als sonst.</p> <p><b>1</b> Mein Appetit ist nicht mehr so gut wie früher.</p> <p><b>2</b> Mein Appetit hat stark nachgelassen.</p> <p><b>3</b> Ich habe überhaupt keinen Appetit mehr.</p>
N	<p><b>0</b> Ich habe nicht das Gefühl, schlechter auszusehen als früher.</p> <p><b>1</b> Ich mache mir Sorgen, dass ich alt oder unattraktiv aussehe.</p> <p><b>2</b> Ich habe das Gefühl, dass Veränderungen in meinem Aussehen eintreten, die mich hässlich machen.</p> <p><b>3</b> Ich finde mich hässlich.</p>	S	<p><b>0</b> Ich habe in letzter Zeit kaum abgenommen.</p> <p><b>1</b> Ich habe mehr als 2 Kilo abgenommen.</p> <p><b>2</b> Ich habe mehr als 5 Kilo abgenommen.</p> <p><b>3</b> Ich habe mehr als 8 Kilo abgenommen.</p> <p>Ich esse absichtlich weniger, um abzunehmen: ___ Ja      ___ Nein</p>
O	<p><b>0</b> Ich kann so gut arbeiten wie früher.</p> <p><b>1</b> Ich muss mir einen Ruck geben, bevor ich eine Tätigkeit in Angriff nehme.</p> <p><b>2</b> Ich muss mich zu jeder Tätigkeit zwingen.</p> <p><b>3</b> Ich bin unfähig zu arbeiten.</p>	T	<p><b>0</b> Ich mache mir keine größeren Sorgen um meine Gesundheit als sonst.</p> <p><b>1</b> Ich mache mir Sorgen über körperliche Probleme, wie Schmerzen, Magenbeschwerden oder Verstopfung.</p> <p><b>2</b> Ich mache mir so große Sorgen über gesundheitliche Probleme, dass es mir schwer fällt, an etwas anderes zu denken.</p> <p><b>3</b> Ich mache mir so große Sorgen über gesundheitliche Probleme, dass ich an nichts anderes mehr denken kann.</p>
P	<p><b>0</b> Ich schlafe so gut wie sonst.</p> <p><b>1</b> Ich schlafe nicht mehr so gut wie früher.</p> <p><b>2</b> Ich wache 1-2 Stunden früher auf als sonst, und es fällt mir schwer, wieder einzuschlafen.</p> <p><b>3</b> Ich wache mehrere Stunden früher auf als sonst und kann nicht mehr einschlafen.</p>	U	<p><b>0</b> Ich habe in letzter Zeit keine Veränderung meines Interesses an Sex bemerkt.</p> <p><b>1</b> Ich interessiere mich weniger für Sex als früher.</p> <p><b>2</b> Ich interessiere mich jetzt viel weniger für Sex.</p> <p><b>3</b> Ich habe das Interesse an Sex völlig verloren.</p>

	Uebertrag Summe Seite 1 _____
	Summe Seite 2 _____
	<b>Gesamtsumme BDI</b> _____



... war ich aufgrund meiner Erschöpfung weniger aufmerksam

... war aufgrund meiner Erschöpfung mein Denken verlangsamt

... hatte ich aufgrund meiner Erschöpfung Schwierigkeiten, über längere Zeit Dinge zu verfolgen

... beeinflusste die Erschöpfung meine körperliche Belastbarkeit

... war ich schnell erschöpft


Auswertung

WEIMuS S1 \_\_\_\_\_

WEIMuS S2 \_\_\_\_\_

WEIMuS \_\_\_\_\_

(Flachenecker et al, Nervenarzt 2006)

Dieses zweite Blatt dient der Auswertung und wird NICHT dem Patienten übergeben

**Bitte kreuzen Sie für jede Aussage nur ein Kästchen an!**

Zu  
or  
d Während der letzten 14 Tage ...  
nu  
n  
g

	Ni e	S e l t e n	M a n c h m al	H ä u f i g	F a s t i m m er
	0	1	2	3	4
S2 ... gehört die Erschöpfung zu den drei mich am meisten behindernden Beschwerden					
S1 ... war ich aufgrund meiner Erschöpfung nicht in der Lage klar zu denken					
S1 ... hatte ich aufgrund meiner Erschöpfung Schwierigkeiten, meine Gedanken zu Hause oder bei der Arbeit zusammenzuhalten					
S2 ... behinderte die Erschöpfung körperliche Betätigung					
S1 ... hatte ich aufgrund meiner Erschöpfung Schwierigkeiten, mich zu konzentrieren					
S2 ... führte körperliche Betätigung zu vermehrter Erschöpfung					
S1 ... war ich aufgrund meiner Erschöpfung vergesslich					

- S2 ... hinderte mich die Erschöpfung bei der Ausführung bestimmter Aufgaben und Pflichten
- S1 ... hatte ich aufgrund meiner Erschöpfung Schwierigkeiten, Sachen zu beenden, bei denen ich mich konzentrieren musste
- S1 ... war ich aufgrund meiner Erschöpfung wenig motiviert, Sachen zu tun, bei denen ich mich konzentrieren musste
- S2 ... hatte die Erschöpfung Einfluss auf meine Arbeit oder meine Familie oder mein soziales Leben
- S2 ... verursachte die Erschöpfung häufig Probleme für mich
- S1 ... war ich aufgrund meiner Erschöpfung weniger aufmerksam
- S1 ... war aufgrund meiner Erschöpfung mein Denken verlangsamt
- S1 ... hatte ich aufgrund meiner Erschöpfung Schwierigkeiten, über längere Zeit Dinge zu verfolgen
- S2 ... beeinflusste die Erschöpfung meine körperliche Belastbarkeit
- S2 ... war ich schnell erschöpft


Auswertung bitte getrennt dokumentieren: S1 entspr. geistiger, S2 physischer Fatigue  
 WEIMuS S1 \_\_\_\_\_ WEIMuS S2 \_\_\_\_\_ WEIMuS \_\_\_\_\_  
 (Flachenecker et al, Nervenarzt 2006)

## EURO QUALITY OF LIFE SCALE (Euro QoL)

Bitte geben Sie an, welche Aussagen Ihren heutigen Gesundheitszustand am besten beschreiben, indem Sie ein Kreuz (X) in ein Kästchen jeder Gruppe machen!

### **Beweglichkeit/ Mobilität**

- Ich habe keine Probleme herumzugehen
- Ich habe einige Probleme herumzugehen
- Ich bin ans Bett gebunden

### **Für sich selbst sorgen**

- Ich habe keine Probleme, für mich selbst zu sorgen
- Ich habe einige Probleme, mich selbst zu waschen oder mich anzuziehen
- Ich bin nicht in der Lage, mich selbst zu waschen oder mich anzuziehen

### **Allgemeine Tätigkeiten** (z.B. Arbeit, Studium, Hausarbeit, Familien- oder Freizeitaktivitäten)

- Ich habe keine Probleme, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen
- Ich habe einige Probleme, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen
- Ich bin nicht in der Lage, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen

### **Schmerzen/ Körperliche Beschwerden**

- Ich habe keine Schmerzen oder Beschwerden
- Ich habe mäßige Schmerzen oder Beschwerden
- Ich habe extreme Schmerzen oder Beschwerden

### **Angst/ Niedergeschlagenheit**

- Ich bin nicht ängstlich oder deprimiert
- Ich bin mäßig ängstlich oder deprimiert
- Ich bin extrem ängstlich oder deprimiert

## EURO QUALITY OF LIFE SCALE (Euro QoL) (S. 2 von 2)

Um Sie bei der Einschätzung, wie gut oder wie schlecht Ihr Gesundheitszustand ist, zu unterstützen, haben wir eine Skala gezeichnet, ähnlich einem Thermometer. Der best denkbare Gesundheitszustand ist mit „100“ gekennzeichnet, der schlechteste mit „0“.

Wir möchten Sie nun bitten, auf dieser Skala zu kennzeichnen, wie gut oder wie schlecht Ihrer Ansicht nach Ihr persönlicher Gesundheitszustand heute ist. **Bitte verbinden Sie dazu den untenstehenden Kasten mit dem Punkt auf der Skala, der Ihren heutigen Gesundheitszustand am besten wiedergibt.**

Ihr  
heutiger  
Gesundheitszustand

Best denkbarer  
Gesundheitszustand



Schlechtest denkbarer  
Gesundheitszustand

## VISUAL ANALOG SCALE (VAS)

Bitte markieren Sie mit einem senkrechten Strich den Punkt auf dieser Linie, der ihrem Grad der Müdigkeit während der letzten 4 Wochen bis heute entspricht!

**Bitte beachten Sie, dass nicht ein Tageseindruck dokumentiert werden soll, sondern ein mittlerer Gesamteindruck der letzten vier Wochen.**

keine Müdigkeit

stärkste Müdigkeit



## 8.2 Selbständigkeitserklärung

### Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

Datum

Unterschrift

### 8.3 Danksagung

Mein Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. Florian Then Bergh für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas und für die Möglichkeit diese Arbeit in der neuroimmunologischen Arbeitsgruppe der Klinik für Neurologie an der Universität Leipzig durchzuführen.

Ganz besonders danken möchte ich ihm auch für seine zurückhaltende, aber immer zielgerichtete Betreuung meiner Arbeit. Seine wertvollen Diskussionen, konstruktiven Anregungen und Ratschläge habe ich immer geschätzt und stets als Motivation empfunden.

Prof. Dr. Swen Hesse danke ich für die professionelle, angenehme und unkomplizierte, Kooperation mit der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin.

Ebenso danke ich den Instituten für Neuroradiologie, Labormedizin und Klinischer Pharmakologie für ihre Zusammenarbeit an dem Projekt.

Allen Studienteilnehmern bin ich zu großem Dank verpflichtet, ohne die es nie möglich gewesen wäre, diese Studie überhaupt durchzuführen.

Dr. Derek Ott, Andreas Hachulla und Mathias Heydenbluth danke ich für ihre kritische Auseinandersetzung mit meinem Thema, für die Durchsicht meiner Arbeit, die vielen Ratschläge und hilfreichen Diskussionen.

Insbesondere meinen Eltern möchte ich danken; sie haben mir diese Universitätsausbildung ermöglicht, mich fortwährend ermuntert und mir jederzeit und in jeder Hinsicht zur Seite gestanden.

Meinem Partner, Robert Seelmann, danke ich von ganzem Herzen für seine Unterstützung, unermüdliche Geduld und Motivation diese Doktorarbeit fertigzustellen.