

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Therapie-Monitoring und Sicherheitsprofil immunmodulierender Therapien der
Multiplen Sklerose

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Maria Protopapa
aus Göttingen

Mainz, 2023

Tag der Promotion:

21. April 2023

Inhaltverzeichnis

<i>Inhaltverzeichnis</i>	3
<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	5
<i>Tabelleverzeichnis</i>	7
<i>Abbildungsverzeichnis</i>	8
1. Einleitung und Ziel	9
2. Literaturdiskussion	11
2.1 Definition und historischer Hintergrund	11
2.2 Epidemiologie und Ätiopathogenese.....	13
2.3 Krankheitsverlauf und Klinik.....	15
2.4 Diagnostik und Diagnosekriterien: McDonald Kriterien	17
2.5 Monitoring.....	19
2.6 Biomarker	20
2.7 Therapie	23
2.8 Interferon Präparate	25
2.9 Sicherheit unter Immunmodulation	26
3 Patienten, Material und Methoden	27
3.1 Erstellung einer Biobank.....	27
3.2 Leukopenie unter Interferon- Präparate.....	28
3.3 Statistische Analyse.....	32
3.4 Literatursuche	32
4 Ergebnisse	33
4.1 Erstellung der Biobank.....	33
4.2 Vergleich von Patienten mit Rebif® und mit Plegridy®	34
4.3 Vergleich der gesamten Kohorte mit und ohne induzierte Leukopenie.....	37
4.4 Vergleich von Plegridy® Patienten mit und ohne induzierte Leukopenie	40
4.5 Vergleich von Rebif® Patienten mit und ohne induzierte Leukopenie.....	43
4.6 Vergleich der gesamten Kohorte mit und ohne induzierte Neutropenie	46
4.7 Vergleich von Plegridy® Patienten mit und ohne induzierte Neutropenie.....	49
4.8 Vergleich von Rebif® Patienten mit und ohne induzierte Neutropenie	52
4.9 Kaplan-Meier-Risiko Analyse für das Auftreten von Leukopenie und Neutropenie unter Plegridy® vs. Rebif®	55

4.10	ROC-Analyse: Risikofaktoren für Leukopenie und Neutropenie unter Interferonen.....	56
4.11	Kaplan-Meier-Risiko-Analyse: Der prognostische Wert der Leukozytenanzahl bei Therapiebeginn für die Entstehung von Leukopenie und Neutropenie	58
4.12	Multivariable Analyse: Risikofaktoren für eine Leukopenie unter IFN Therapie	59
4.13	Multivariable Analyse: Risikofaktoren für eine Neutropenie unter IFN Therapie	61
5	<i>Diskussion</i>	63
5.1	Erstellung einer Biobank zum Monitoring von MS-Patienten unter immunmodulierender Therapie	63
5.2	Sicherheit unter immunmodulierender Therapie bei MS	65
6	<i>Zusammenfassung</i>	72
	<i>Anhang</i>	74
	<i>Danksagung</i>	77
	<i>Lebenslauf</i>	78

Abkürzungsverzeichnis

AUC:	Area under the curve
BHS:	Blut Hirn Schranke
BMI:	Body Mass Index
CD:	Cluster of differentiation
CI:	Confidence interval
CT:	Computertomographie
EBV:	Epstein Barr Virus
EDSS:	Expanded Disability Status Scale
FS:	Funktionelle Systeme
Gd:	Gadolinium
HLA:	Human Leukocyte Antigen
HR:	Hazard Ratio
IFN:	Interferon
Ig:	Immunglobuline
JCV:	John Cunningham Virus
KIS:	Klinisch Isoliertes Syndrom
KKNMS:	Krankheitsbezogenes Kompetenznetz Multiple Sklerose
KM:	Kontrastmittel
MHC:	Major histocompatibility complex
Mo:	Monate
MRT:	Magnetresonanztomographie
MS:	Multiple Sklerose
MTX:	Methotrexat
NEDA:	No evidence of disease activity
OKB:	oligoklonalen Banden
OR:	Odds Ratio
PBMC:	Peripheral blood mononuclear cells
PML:	progressive multifokale Leukoenzephalopathie
PPMS	Primär Progrediente Multiple Sklerose
RIS:	Radiologisches isoliertes Syndrom
ROC:	receiver operating characteristic
RRMS:	Remittierende Schubförmige Multiple Sklerose
PSMS:	Progredient Schubförmige Multiple Sklerose
sNfL:	serum Neurofilament light chain
SOP:	Standard operating procedures

SPMS: Sekundäre Progrediente Multiple Sklerose
UAW: Unerwünschten Arzneimittelwirkungen
VCAM-1: Vascular cell adhesion molecule -1
VLA-4: Very late Antigen 4
ZNS: Zentrales Nervensystem

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mac Donald Kriterien zur Diagnosestellung der Multiplen Sklerose	18
Tabelle 2: Biobank:.....	27
Tabelle 3: IFN Kohorte:.....	31
Tabelle 4: Plegridy® vs. Rebif ®:	36
Tabelle 5: Leukopenie vs. Keine Leukopenie:	39
Tabelle 6: Plegridy® mit vs. ohne induzierte Leukopenie	42
Tabelle 7: Rebif® mit vs. ohne induzierte Leukopenie.....	45
Tabelle 8: Neutropenie vs. keine Neutropenie.....	48
Tabelle 9: Plegridy® mit vs. ohne induzierte Neutropenie	51
Tabelle 10: Rebif ® mit vs. ohne induzierte Leukopenie.....	54
Tabelle 11: Cox-Regressionsanalyse mit Leukopenie als abhängige Variable.....	60
Tabelle 12: Cox-Regressionsanalyse mit Neutropenie als abhängige Variable	62

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: MS Subtypen:	16
Abbildung 2: Interferone:	25
Abbildung 3: Studien Design: Leukopenie unter IFN:	29
Abbildung 4: Biobank- BIOTS:.....	33
Abbildung 5: Leukozytenzahl unter IFN:.....	36
Abbildung 6: Kaplan Meier- Risiko Analyse	55
Abbildung 7: ROC Kurve:	57
Abbildung 8: Kaplan Meier- Risiko- Analyse:.....	58
Abbildung 9: Multivariable Analyse mit dem Auftreten einer Leukopenie als abhängige Variable.....	59
Abbildung 10: Multivariable Analyse mit dem Auftreten einer Leukopenie als abhängige Variable.....	61
Abbildung 11: Laborchemisches Monitoring unter Interferon- β	71

1. Einleitung und Ziel

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronische, immunvermittelte demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Neben traumatischen Erkrankungen ist sie eine der häufigsten Erkrankungen, die zu neurologischen Defiziten im frühen Erwachsenenalter führen kann [1-3]. Weltweit nehmen die Inzidenz und Prävalenz der Erkrankung stetig zu [4, 5]. Bekannt als die Krankheit der tausend Gesichter, kann sich die Multiple Sklerose klinisch mannigfaltig präsentieren.

Das junge Alter der Patienten und die Variabilität der Erscheinungsform sowie die drastischen Fortschritte in den Therapiemöglichkeiten [6] und der Forschung weckten mein Interesse. Die Möglichkeit einen Biomarker zu entwickeln, der nicht nur die Erkrankung identifizieren, sondern auch ein mögliches Therapieansprechen widerspiegeln kann, wäre ein wichtiges Hilfsmittel im klinischen Alltag sowie für die Diagnose und das Monitoring der Erkrankung [7, 8].

Dennoch müssen MS- Patienten meistens langjährig mit immunmodulierenden Medikamenten behandelt werden. Aus diesem Grund spielen die Kenntnis und die Früherkennung von möglichen Nebenwirkungen eine wesentliche Rolle im klinischen Management von MS Patienten.

Die Therapie der Multiple Sklerose hat sich in den letzten Jahrzehnten drastisch weiterentwickelt. Die erste immunmodulierende Therapie für die schubförmige MS waren Interferonpräparate (IFN), die zum ersten Mal im Jahre 1993 zur Verfügung standen. Seitdem sind IFN-Präparate weiterhin die Basistherapie bei erstdiagnostizierten MS-Patienten mit niedriger Krankheitsaktivität [9]. In der klinischen Anwendung stellen IFN-Präparate eine Therapie dar, bei der die wenigsten laborchemischen und klinischen Nachuntersuchungen notwendig sind. Darüber hinaus bietet sie den Patienten eine große Selbständigkeit, da sie die subkutane oder intramuskuläre Injektion selbst durchführen können.

Nach näherer Betrachtung einiger Patienten, die in unserer Ambulanz für chronisch-entzündliche Erkrankungen des Nervensystems behandelt werden, zeigte sich eine vermehrte Leukopenie nach Injektion eines pegylierten Interferon-Präparates (Plegridy®). Diese Beobachtung weckte unsere Aufmerksamkeit und führte zu der Fragestellung, ob sich diese klinische Beobachtung in einer größeren Patientenkohorte bestätigen lässt und eine intensiviertere laborchemische und klinische Kontrolle in dieser Patientengruppe notwendig ist.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden folgenden Fragestellungen bearbeitet und näher betrachtet:

1. Gibt es Biomarker, die die Krankheitsaktivität von MS-Patienten anzeigen können und somit als Marker für das Ansprechen auf eine Immunmodulation dienen können?
2. Welche Sicherheitsaspekte sich bei MS-Patienten unter den unterschiedlichen immunmodulierenden Therapien zu bedenken?

3. Treten Leukopenien bei Patienten unter pegylierten Interferon-Präparaten (Plegridy®) häufiger auf als bei Patienten unter nicht-pegylierten Interferon-Präparaten (Rebif®)? Welche klinische Relevanz hat eine Leukopenie unter Interferon-Präparaten? Treten bei Patienten mit Leukopenien unter Interferon-Präparaten häufiger Infektionen auf?
4. Erfordert Plegridy® (pegyliertes Interferon) eine häufigere laborchemische und klinische Nachkontrolle im Vergleich zu Rebif® (nicht-pegyliertes Interferon)?

2 Literaturdiskussion

2.1 Definition und historischer Hintergrund

Die Multiple Sklerose ist eine chronische immunvermittelte demyelinisierende Erkrankung des ZNS. In der Literatur führt die erste Beschreibung von Multiple Sklerose auf das 14. Jahrhundert zurück [10]. Als zweiter Fall die Beschreibung von Augustus d'Estee (1794-1848), der seit seinem 28. Lebensjahr ein Tagebuch mit ausführlicher Beschreibung der Symptome führte. Er beschrieb als Erstsymptomatik eine remittierende Sehinderung. In den weiteren Jahren litt er unter Sensibilitätsstörungen, Doppelbildern sowie Gleichgewichtsstörungen. Am Ende seines Lebens beschrieb er eine zunehmende Spastik der Beine, welche es ihm nicht erlaubte lange Strecke zu laufen. Er verstarb im Alter von 54 Jahren [11].

Für Jahrzehnte wurde jeder Fall, der durch progressive neurologische Ausfälle mit motorischer Beeinträchtigung gekennzeichnet war als „Paraplegia“ definiert. Im Jahr 1838 erfolgte die erste Beschreibung von disseminierten Plaques im Nervensystem von Robert Carswell, jedoch ohne Nachweis eines zusammengehörenden klinischen Krankheitsbildes [10]. Im selben Zeitraum beschrieb der Franzose Jean Cruveilhier eine ähnliche Beobachtung bei einer Frau mit progressiven Paresen, Schluckstörungen sowie Visusminderung [12].

In den darauffolgenden Jahren wurden immer mehr Fälle beschrieben, bei denen ein Zusammenhang zwischen neurologischen Ausfällen und histopathologisch nachweisbaren demyelinisierenden Herden hergestellt wurde. Im Jahr 1849 beschrieb der deutsche Pathologe Friedrich von Frerichs ein Krankheitsbild mit dem Namen „Hirnsklerose“. Er definierte diese Erkrankung anhand des klinischen Bildes von motorischen und visuellen Störungen, die durch sklerosierende Läsionen im Nervensystem verursacht werden [13].

Obwohl die Beschreibung von Frerichs der heutigen Definition der Multiplen Sklerose sehr ähnelt, gilt nicht er, sondern Charcot als der Entdecker der Multiplen Sklerose. Jean-Martin Charcot fasste im Jahr 1868 die zuvor beschriebenen Fälle zusammen und definierte sie als „sclérose en plaques“ [14]. Er brachte die beschriebenen Symptome mit der Läsionslokalisation in Zusammenhang. Dies führte dazu, dass die Multiple Sklerose erstmals als eigenständige Krankheit beschrieben und angesehen wurde [15].

Ende des 19. Jahrhunderts sowie Anfang des 20. Jahrhunderts wurden die geographisch unterschiedliche Prävalenz der MS sowie die hereditäre Komponente der Krankheit beschrieben. Die familiäre Häufung wird durch eine Forschungsgruppe aus Kanada im Jahr 1980 bestätigt [16].

Im Jahr 1981 setzte Ian Young zum ersten Mal das bildgebende Verfahren der Magnetresonanztomographie (MRT) zur Darstellung der entzündlichen Läsionen (MS-Plaques) ein [17]. Bis zu diesem Zeitpunkt gaben Leitungsverzögerungen bei evozierten

Potenzialen indirekte Hinweise auf das Vorliegen von demyelinisierenden Herden im ZNS. Ebenfalls wurde die Computertomographie (CT) eingesetzt, wobei die demyelinisierenden Herde hier nur bei ausgeprägten Befunden dargestellt werden konnten und viele subklinische Läsionen nicht nachweisbar waren. Heute ist die MRT das bildgebende Verfahren der Wahl, sowohl im Hinblick auf Diagnostik als auch zum Monitoring der Erkrankung [17, 18].

2.2 Epidemiologie und Ätiopathogenese

Die Multiple Sklerose zählt zu den häufigsten immunvermittelten Erkrankungen im jungen Erwachsenenalter und betrifft zurzeit über 2,5 Millionen Menschen weltweit [5]. Frauen sind dreimal häufiger betroffen als Männer [3, 19]. Der Häufigkeitssgipfel befindet sich im Alter zwischen 20 und 40 Jahren. Dennoch kann sich MS auch außerhalb dieses Zeitfensters manifestieren, z.B. im Kindesalter [20] sowie bei über 60-Jährigen [21].

Das Vorkommen der Krankheit variiert geographisch. Zu Gebieten mit niedrigem Erkrankungsrisiko zählen der größte Teil Afrikas und Ostasiens, während in Nord- und Zentraleuropa sowie dem Nordosten Australiens ein hohes Erkrankungsrisiko beobachtet wird. Studien haben gezeigt, dass Eingewanderte die Prävalenz der heimischen Bevölkerung aufweisen, wenn die Einwanderung, bis zum Jugendalter stattfindet [22].

Zu den wichtigsten Faktoren bei der Entstehung der Multiplen Sklerose zählen unter anderem Umweltfaktoren, Genetik sowie epigenetische Faktoren. Zu den wichtigsten Umwelt-Risikofaktoren gehören ein Vitamin D Mangel, Rauchen sowie Adipositas im Kindesalter [23]. Außerdem zeigt sich ein Zusammenhang mit einer Epstein-Bar-Virus (EBV) Infektion im jungen Erwachsenenalter [24].

Das Auftreten der Krankheit bei mehreren Mitgliedern innerhalb einer Familie führte zur Erforschung des genetischen Hintergrunds von MS. Metaanalysen zeigten einen Zusammenhang von über 200 Genen, welche mit der Entstehung der Erkrankung in Verbindung stehen. Davon sind 32 mit major histocompatibility complex (MHC), eins mit dem X-Chromosom und 200 mit autosomalen, nicht-MHC Genomen assoziiert. Einer der wichtigsten Vertreter ist das Human Leukocyte Antigen (HLA) DRB1 * 15:01 Allel [25, 26].

Außerdem zeigt sich eine Interaktion zwischen Umweltfaktoren und genetischen Risiko Loci wie zum Beispiel Rauchen und HLA. Diese Faktoren führen letztendlich zu einem erhöhten Risiko an MS zu erkranken [24].

Die exakte Pathogenese der Multiplen Sklerose ist weiterhin unklar. Dennoch scheinen B- und T- Zellen des erworbenen Immunsystems eine Hauptrolle bei der Entstehung der Erkrankung zu spielen [24].

Die Aktivierung von peripheren autoreaktiven T- Zellen erfolgt über Myelin und andere ZNS – Antigene. In einem nächsten Schritt kommt es zu einer Migration von Myelin-reaktiven T-Zellen über die Blut-Hirn-Schranke (BHS). Dabei sind das Very late Antigen 4 (VLA-4) auf der Oberfläche von T-Zellen sowie das vascular cell adhesion molecule -1 (VCAM-1), exprimiert auf Endothelzellen von Kapillaren, beteiligt. Befinden sich die T- Zellen im ZNS kommt es zu einer Reaktivierung über autoantigene Peptide des Gehirnparenchyms. Dies führt zu einer entzündlichen Reaktion mit Freisetzung von Zytokinen / Chemokinen, welche zu einer weiteren Aktivierung und Migration von T-Zellen, B-Zellen, aktivierter Mikroglia und

Makrophagen führen. Diese Mechanismen lösen eine lokale Entzündung und Demyelinisierung aus. Das zerstörte Myelin führt zu einer weiteren Aktivierung von T-Zellen [27].

Eine weitere Hypothese besagt, dass Cluster of Differentiation (CD) 8+ T Zellen zu einer direkten axonalen Schädigung führen können [27, 28]. Ferner zeigte sich, dass B- Zellen eine entscheidende Rolle in der autoimmunen Pathogenese von MS spielen, da B- Zellen an der Antigenpräsentation sowie der Freisetzung von Zytokinen beteiligt sind [29].

2.3 Krankheitsverlauf und Klinik

Die Subtypen der Multiplen Sklerose wurden im Jahr 1996 zum ersten Mal definiert. Die vier erstbeschriebenen klinischen Krankheitsverläufe sind: remittierend schubförmig (RS), sekundär progredient (SP), primär progredient (PP) und progredient schubförmig (PS). Die heutzutage noch verwendeten Formen sind die schubförmige-, sekundär progrediente- und primäre progrediente MS (siehe Abbildung 1) [30].

Im Jahr 2013 wurde auch das klinische isolierte Syndrom (KIS) als Subtyp der MS beschrieben. Unter KIS versteht man die erste klinische Manifestation der Erkrankung, wobei die Diagnosekriterien einer Multiplen Sklerose, insbesondere das Kriterium der zeitlichen Dissemination, noch nicht erfüllt werden [31]. Anhand der McDonald-Kriterien bezeichnet das klinisch isolierte Syndrom eine monophasische klinische Episode bei Patienten ohne bekannte MS. Dabei können die beschriebenen Symptome sowie die klinische Untersuchung auf ein fokales oder multifokales demyelinisierendes Ereignis im ZNS hinweisen. Genau wie bei einem akuten Schub im Rahmen einer bekannten MS müssen die Symptome mindestens über 24 Stunden andauern und in keinem Zusammenhang mit einem fieberhaften Infekt oder einer anderweitigen Erhöhung der Körpertemperatur stehen. Typische Manifestationen eines KIS sind unter anderem eine einseitige Optikusneuritis, ein fokales supratentoriales Syndrom sowie ein fokales Hirnstamm- oder Kleinhirnsyndrom [32].

Die häufigste Erscheinungsform ist die remittierende schubförmige (RRMS). Hauptcharakteristikum dieser Verlaufsform sind episodentartige Symptome, die sogenannten Schübe. Die Symptome können sich nach einem Schub inkomplett, komplett oder gar nicht zurückbilden. Zwischen zwei Schüben besteht keine Krankheitsprogression. Im Verlauf kann eine RRMS in eine SPMS übergehen. Dabei ist eine progrediente Verschlechterung der neurologischen Defizite unabhängig von Schubereignissen zu beobachten [33].

Als sekundäre progrediente MS bezeichnet man die progressive Verschlechterung im Rahmen einer schubförmigen Erscheinung der Erkrankung ohne Remission [31]. Die SPMS zählt zu der zweithäufigsten Form der MS. Der Übergang von RSMS in eine SPMS kann anhand der vorhandenen Diagnosekriterien nur retrospektiv erfolgen und erfolgt zudem häufiger mit einer Verzögerung von mehreren Jahren [33].

Etwa 15% der MS-Patienten haben von Beginn der Erkrankung an eine progressive Verlaufsform, die sogenannte Primäre Progressive MS. Patienten mit dieser Unterform erleiden eine progrediente Verschlechterung, welche häufig mit Einschränkungen der Motorik im Rahmen einer Myelopathie, einer progressiven Hemiparese, Ataxie, Visusstörungen oder kognitiven Störungen einhergeht. Ein weiteres Merkmal dieses Patientenkollektivs ist das Erkrankungsalter von durchschnittlich 40-50 Jahren. Die Geschlechtsverteilung der PPMS im Vergleich zur RSMS ist gleich [34, 35].

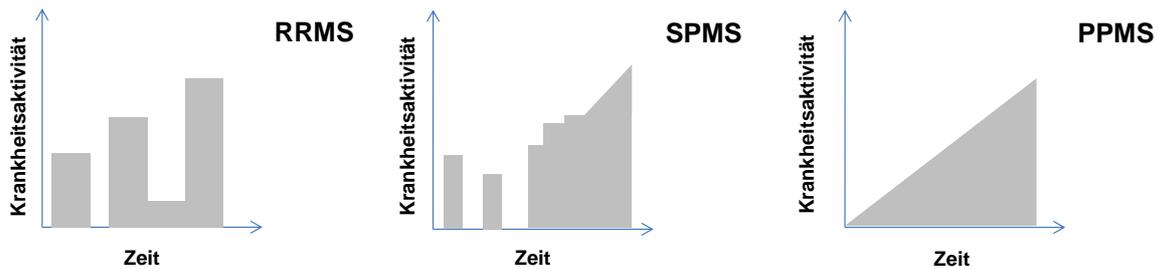


Abbildung 1: MS Subtypen: *Abgebildet sind die drei Verlaufsformen der Multiple Sklerose (MS), remittierend schubförmig (RR); sekundär progredient (SP); primär progredient (PP) sowie deren Merkmalen bei Krankheitsaktivität, Geschlechtsverteilung, Alter bei Krankheitsbeginn und klinische Manifestation.*

Demgegenüber wird das Auftreten von MS-typischen MRT Befunden bei einem Patienten ohne neurologische klinische Manifestation als radiologisch isoliertes Syndrom (RIS) bezeichnet. RIS zählt weiterhin nicht zu den Subtypen von MS. Trotzdem wird empfohlen, den klinischen Verlauf zu beobachten und regelmäßige kernspintomographische Kontrollen durchzuführen [32]. In Einzelfällen kann zudem bereits in diesem Stadium leitliniengemäß eine Off-Label-Immuntherapie erwogen werden.

Die Symptomatik von MS zeigt eine starke Variation. Zu den typischen klinischen Symptomen zählen unter anderem die Optikusneuritis. Dabei kommt es zu einer akuten oder subakuten meist einseitigen Sehinderung, die von Schmerzen bei Augenbewegung begleitet wird. Weiterhin kann es zu Sensibilitätsstörungen, Para- oder Tetraparesen kommen. Weitere typische klinische Symptome sind Hirnstamm-/Kleinhirnläsionen, Ataxie, schmerzlose Diplopien, Gesichtssensibilitätsstörungen oder neuralgische Schmerzen im Sinne einer Trigeminusneuralgie, und Miktionsstörungen. Im Allgemeinen sollte die Symptomatik über mehr als 24 Stunden andauern und ohne Bewusstseinsstörungen auftreten. Bei 85 % der MS-Patienten tritt eine solche Symptomatik wie bereits oben beschrieben im Rahmen eines Schubes auf. Dabei sollte ein Schub ein Abstandsintervall von 30 Tagen zur letzten klinischen Manifestation aufweisen [36].

2.4 Diagnostik und Diagnosekriterien: McDonald Kriterien

Abhängig von der Lokalisation der entzündlichen Läsionen im ZNS variiert das klinische Erscheinungsbild der Patienten. Zur Diagnosestellung einer Multiplen Sklerose ist sowohl die Vorgeschichte, die klinisch neurologische Untersuchung, die Laboruntersuchung und bildgebende Diagnostik von Bedeutung [37, 38].

Zunächst müssen zur Diagnosestellung andere Differenzialdiagnosen (Autoimmunerkrankungen wie z.B. die Sarkoidose, Erkrankungen aus dem rheumatoiden Formenkreis, infektiologische Erkrankungen u.a.) ausgeschlossen werden. Seit 2001 werden international die McDonald Kriterien zur Diagnosestellung angewandt. Die Diagnose „Multiple Sklerose“ kann nur gestellt werden, wenn sowohl eine zeitliche als auch eine örtliche Dissemination von ZNS Läsionen in der kernspintomographischen Bilgebung vorliegen. Eine örtliche Dissemination liegt vor, wenn mehr als eine MS-typische Läsion in mehr als zwei typischen Regionen des ZNS (periventrikulär, kortikal/juxtakortikal, infratentoriell, spinal) nachgewiesen werden können [32].

Für das Kriterium der zeitlichen Dissemination müssen gleichzeitig mindestens eine Gadolinium (Gd) aufnehmende Läsion und eine nicht Gd aufnehmende Läsion nachweisbar sein. Dieses Kriterium ist zudem bei neuen entzündlichen Läsionen in den bilgebenden Verlaufskontrollen oder auch bei zwei klinisch gut abgrenzbaren Schubereignissen erfüllt. Zuletzt wurden die McDonald Kriterien 2017 revidiert (s. Tabelle 1) [32, 39]. In den aktualisierten McDonald Kriterien von 2017 wurde zum ersten Mal der Nachweis von oligoklonalen Banden (OKB) im Liquor mitaufgenommen. Diese können nun ebenfalls das Kriterium der zeitlichen Dissemination ersetzen [32].

Bei Patienten mit seit mindestens einem Jahr fortschreitender Behinderung im Rahmen rezidivierender Schübe kann die Diagnose einer PPMS anhand folgender Kriterien gestellt werden:

- Vorhandensein von einer oder mehreren T2 – hyperintensiven, MS-typischen Läsionen in mindestens einer der folgenden Lokalisationen (periventrikulär, cortical/juxtakortikal, infratentorial).
- Vorhandensein von zwei oder mehreren T2 hyperintensiver Läsionen in der spinalen MRT.
- Vorhandensein von positiven OKBs im Liquor [32].

1 Schub + 1 Läsion mit objektivierbarem klinischem Ereignis:	
+ Nachweis räumlicher Dissemination	<ul style="list-style-type: none"> • Zusätzliches klinisches Ereignis, das einer anderen Lokalisation entspricht <p><i>oder</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • MR- tomographisch: ≥ 1 MS typische Läsionen in mehr als 2 typischen Regionen des ZNS (periventrikulär, koritkal/juxtakortikal, infratentoriell, spinal)
+ Nachweis zeitlicher Dissemination	<ul style="list-style-type: none"> • Erneutes klinisches Ereignis <p><i>oder</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • MR tomographisch: gleichzeitiger Nachweis von Läsionen mit und ohne Schrankenstörung ((Gd Aufnahme) oder neue entzündliche Läsion im Verlauf) <p><i>oder</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Positive OKB im Liquor
1 Schub + ≥ 2 Läsionen mit objektivierbarem klinischem Ereignis:	
+ Nachweis zeitlicher Dissemination	<ul style="list-style-type: none"> • Erneutes klinisches Ereignis <p><i>oder</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • MR tomographisch: gleichzeitiger Nachweis von Läsionen mit und ohne Schrankenstörung ((Gd Aufnahme) oder neue entzündliche Läsion im Verlauf) <p><i>oder</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Positive OKB im Liquor
2 Schübe + 1 Läsion mit objektivierbarem klinischem Ereignis:	
+ Nachweis räumlicher Dissemination	<ul style="list-style-type: none"> • Zusätzliches klinisches Ereignis, das einer anderen Lokalisation entspricht <p><i>oder</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • MR- tomographisch: ≥ 1 MS typische Läsionen in mehr als 2 typischen Regionen des ZNS (periventrikulär, koritkal/juxtakortikal, infratentoriell, spinal)
2 Schübe + 1 Läsion mit objektivierbarem klinischem Ereignis und anamnestisch klar abgrenzbares früheres Schubereignis, das einer anderen Lokalisation entspricht	
2 Schübe + ≥ 2 Läsionen mit objektivierbarem klinischem Ereignis	

Tabelle 1: Die 2017 revidierte McDonald Kriterien zur Diagnosestellung der Multiple Sklerose [32, 39]. OKB, Oligoklonalen Banden; MS, Multiple Sklerose; Gd, Gadolinium; ZNS, zentrales Nervensystem.

2.5 Monitoring

Für das Monitoring der klinischen Krankheitsaktivität sowie für das Therapieansprechen spielt der Expanded Disability Status Scale (EDSS) Score von Kurtzke seit 1983 eine Hauptrolle [40]. Dabei werden 8 funktionelle Systeme (FS) des ZNS (visuell, Hirnstamm, pyramidal, zerebellär, Sensibilität, Blasen- und Sphinkterfunktion und Behinderung) untersucht. Die Auswertung ergibt einen Score zwischen 0 (physiologischer neurologischer Status) und 10 (Tod aufgrund von MS) [41].

Neben der klinischen Untersuchung spielen bildgebende Verfahren (Kernspintomographie, MRT) die Hauptrolle sowohl zur Diagnosestellung als auch zur Beurteilung der Krankheitsaktivität unter immunmodulierender Therapie. Aus diesem Grund wird das MRT seit 2001 in die Diagnosestellung mit einbezogen [42]. Einerseits zeigen fast alle MS-Patienten MRT Auffälligkeiten (entzündliche Läsionen, Plaques), andererseits können dabei weitere Pathologien und Diagnosen ausgeschlossen werden. Typische MRT Befunde für MS-Patienten sind multifokale T2- hyperintense Läsionen der weißen Substanz in MS-typischen Lokalisationen (periventrikulär, juxtakortikal und infratentorial). Die Mehrheit der Patienten hat zusätzlich spinale Myelonläsionen, die häufig zervikal lokalisiert sind. In der T1-Wichtung können hypointense Läsionen dargestellt werden, die Ausdruck des irreversiblen Neuronen-Untergangs sind. Bei kürzlich zurückliegender entzündlicher Krankheitsaktivität nehmen die entzündlichen T2-Läsionen nach intravenöser Applikation von Kontrastmittel (KM) auf und zeigen damit eine Störung der Bluthirnschranke an [38].

2.6 Biomarker

Definitionsgemäß ist ein Biomarker ein Indikator, der Hinweise auf die Krankheitsaktivität oder auf das Therapieansprechen geben kann [43]. Idealerweise kommt ein Biomarker nur bei kranken Menschen vor und nicht bei Gesunden. Darüberhinaus sollte ein Biomarker mit nicht invasiven Methoden einfach zu gewinnen, einfach zu analysieren und kosten-effektiv sein [8]. Eine objektivierbare Messung, die die Krankheitsprogression sowie das Therapieansprechen abbildet, könnte das bildgebende Verfahren des MRT und die klinische Untersuchung (EDSS, Schübe) beim Monitoring der individuellen Krankheitsaktivität und der Beurteilung der Wirksamkeit der aktuell durchgeführten Immunmodulation unterstützen. Obwohl Liquor das wichtigste Biomaterial zum Nachweis von ZNS-Prozessen ist, ist seine Rolle in der Verlaufsbeurteilung durch die Notwendigkeit der Lumbalpunktion eingeschränkt. Diese invasive Methode verhindert die einfache Gewinnung von Biomarkern zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Aus diesem Grund wird die Nutzung von Blutproben bevorzugt [8]. Biomarker können Informationen über die Diagnose, die Prognose, das Therapieansprechen sowie über das Sicherheitsprofil bei MS liefern.

- **Biomarker als Diagnosemittel:**

Ein Biomarker, der nicht bei gesunden Menschen vorkommt, hat eine entscheidende Rolle für die Diagnose einer Erkrankung. Ein Beispiel hierzu sind die OKB im Liquor zur Diagnose der Multiplen Sklerose. Bereits 1983 wurde die Bedeutung der Liquoranalyse zur Diagnose von MS beschrieben und zählt damit zum ersten Biomarker bei MS [8]. Immunglobuline (Ig) G und IgM Antikörper werden von Plasmazellen im ZNS produziert [44, 45]. Das Vorhandensein von OKB im Liquor aber nicht im Serum, spricht für eine intrathekale Synthese und ist bei fast 95% der MS-Patienten nachweisbar [46]. Seit 2017 sind OKBs wieder Teil der Diagnosekriterien und gelten als Kriterium der zeitlichen Dissemination [47].

Weitere diagnostische Biomarker sind der IgG- Index sowie die Masern- Röteln- Varizella zoster- Reaktion (MRZ-Reaktion) im Liquor [48]. Der IgG Index ist ein Marker für die intrathekale Synthese und ist bei 70% der MS-Patienten positiv [49]. Allerdings ist die MRZ-Reaktion weniger sensitiv als der Nachweis von OKB. Insbesondere bei Patienten mit fehlendem Nachweis von OKB kann eine positive MRZ-Reaktion in der Diagnosestellung der MS hilfreich sein [8].

- **Biomarker der MS- Prognose:**

Als prognostische Marker zählen Biomarker, die Informationen über die zukünftige Krankheitsaktivität oder den Übergang von schubförmigen zu progredienten Verlaufsformen liefern können. Hier sei zum Beispiel der Übergang von KIS zu RSMS oder RSMS zu KIS genannt. Dabei spielen weiterhin oligoklonale Banden im Liquor eine große Rolle. Der Nachweis von OKBs erhöht das Risiko für einen Übergang von KIS zu RSMS [50]. Weiterhin scheinen Chitinase 3-like 1 und GFAP eine Rolle in der Prognoseabschätzung bei progressiven Formen der MS zu spielen, jedoch finden diese Biomarker bislang keine Anwendung im klinischen Alltag [51, 52].

- **Biomarker für Therapie- Nebenwirkungen:**

Zuletzt können molekulare Biomarker wesentliche Informationen für potenzielle Nebenwirkungen unter immunmodulierende Therapien voraussagen. Als bekannteste Beispiel sind hierbei Antikörper gegen John Cunningham Virus (JCV) in Serum oder Plasma zu nennen. Bei erhöhtem Titer steigt die Wahrscheinlichkeit, eine progressive multifokale Leukoenzephalopathie zu entwickeln (PML) [53]. Im klinischen Alltag werden Anti-JCV-Antikörper routinemäßig kontrolliert, besonders bei Patienten unter Natalizumab, um im Anschluss eine Risikostratifizierung bezüglich der Entwicklung einer PML unter Therapie mit Natalizumab durchzuführen und über ein Fortführen der Therapie zu entscheiden [54].

- **Serum Neurofilament light chain (sNfL):**

Zusätzlich zu den oben genannten Biomarkern zeigte sich in den letzten Jahren, dass Neurofilament-Leichtketten sehr vielversprechend für die Krankheitsdiagnose, -prognose und für das Therapieansprechen sind. Aktuell zählt es zu den am weitesten verbreiteten Biomarkern im Bereich der neuroimmunologischen Forschung [7, 55].

Das Protein Neurofilament besteht aus leichten, mittelschweren und schweren Ketten sowie aus alpha-Internexin und Peripherin. Es ist Teil des neuronalen Zytoskelettes und wird im Rahmen unterschiedlicher neurologischer Erkrankungen während des axonalen Untergangs in den Liquor freigesetzt. Dies erfolgt beispielsweise bei neurodegenerativen Erkrankungen, beim Schlaganfall als auch bei MS. Eine geringere Konzentration kann im peripheren Blut mittels sogenannter digitaler Immunoassays (z.B. high sensitive single molecule assays (SimoA)) gemessen werden [56-58].

Mehrere Studien haben gezeigt, dass die NfL Konzentration im Liquor und Serum mit steigender Schubanzahl, mit progredienter Behinderung sowie radiologischer Krankheitsaktivität und Minderung des Gehirnvolumens korreliert [58, 59]. Darüber hinaus

steigt die NfL Konzentration mit zunehmender Anzahl von kontrastmittelaufnehmenden Läsionen an [56].

Der Nachweis von erhöhten sNfL Werten auch bei KIS-Patienten oder bei Kindern mit MS bekräftigt die Hypothese, dass sNfL einen sehr vielversprechenden diagnostischen Marker darstellt [58].

Die NfL Konzentration ist bei Patienten erhöht, die in den letzten 3 Monaten ein Schubereignis erlitten haben [56, 60, 61]. Darüber hinaus sinkt die NfL Konzentration nach Beginn einer immunmodulierenden Therapie oder nach Eskalation der Immunmodulation [62].

2.7 Therapie

In den letzten 20 Jahren konnten in der Therapie der MS rasante Fortschritte erzielt werden. Mit über 15 immunmodulierenden Medikamenten, gibt es heute eine große Auswahl an Medikamenten, die eine Patienten-individuelle Einleitung einer Immunmodulation ermöglichen. Dabei müssen nicht nur die positiven Effekte, sondern auch die Nebenwirkungen der Präparate berücksichtigt werden. Die immunmodulierenden Therapien zielen auf eine Reduktion der Schubrate sowie die Verlangsamung der Krankheitsprogression ab [63, 64].

Neben der immunmodulierenden Therapie zur Verlangsamung der Krankheitsprogression und Reduktion der entzündlichen Aktivität spielen zwei weitere Säulen eine sehr wichtige Rolle im Management der Erkrankung. Diese stellen erstens die akute Schubtherapie und zweitens die symptomatische Therapie dar. Nach der Erkennung eines klinischen Schubereignisses ist das Ziel die schnellstmögliche Behandlung, die funktionelle Erholung von neurologischen Defiziten, die Linderung des Schubes sowie das Unterbinden von potenziellen Residuen. Dies erfolgt durch eine hochdosierte, meist intravenöse hochdosierte Gabe von Corticosteroiden (1000 mg über 3-5 Tage) oder bei schwerwiegenden Fällen durch Plasmapherese oder Immunadsorption [65].

Außer den neurologischen Defiziten treten bei MS-Patienten auch weitere unterschiedliche Symptome auf, welche zu einer Verschlechterung der Lebensqualität führen können, auf. Hierzu zählen Fatigue, kognitive Störungen, Sehinderung, Blasenfunktionsstörungen sowie Spastik. Die Bewältigung der oben genannten Symptome durch medikamentöse und nicht-medikamentöse Therapien können im sozialen Leben und bei der Alltagsbewältigung helfen [65].

Die wachsende Anzahl immunmodulierender Medikamente hat zu einer individualisierten Therapieeinstellung mit Berücksichtigung von Vortherapien und Vorerkrankungen beigetragen. Allerdings verursachen die Heterogenität der Erkrankung sowie die Veränderung der diagnostischen Kriterien im zeitlichen Verlauf Schwierigkeiten bei der Therapieentscheidung im klinischen Alltag [66]. Zur Verhinderung der Krankheitsprogression ist der frühzeitige Beginn einer immunmodulierenden Therapie von großer Bedeutung. Eine Verwendung von hoch wirksamen Medikamenten, gerade zu Erkrankungsbeginn, konnte eine Erniedrigung der Schubrate sowie eine Verlangsamung der Krankheitsprogredienz nachweisen. Aus diesem Grund werden hochwirksame Medikamente zunehmend bereits als Erstlinien-Therapie eingesetzt [67]. Bei diesem Therapieregime ist zu bedenken, dass Medikamente mit höherer Aktivität auch ein größeres Spektrum an Nebenwirkungen aufweisen. Aus diesem Grund entscheidet man sich im klinischen Alltag häufig für die Strategie der Eskalationstherapie [68]. Ziel der immunmodulierenden Therapie bleibt weiterhin die optimale Kontrolle der Erkrankung. Hierzu wird der Begriff „No evidence of disease activity“

(NEDA) benutzt. NEDA wird definiert durch das Fehlen von klinischen Schubereignissen, MR-Aktivität und Krankheitsprogression. Aktuell wird in klinischen Studien der NEDA-4 Status angestrebt. Dieser ist definiert durch die Abwesenheit von objektivierbaren klinischen Schubereignissen, fehlender MRT-Aktivität im Sinne von neuen oder vergrößerten entzündlichen T2 Läsionen oder Gd-aufnehmenden Läsionen, fehlender Verschlechterung des EDSS-Score sowie fehlender Verminderung des Gehirnvolumens [69].

Zu den niedrig aktiven Basis-Medikamenten („Plattform-Therapien“) zählen die unterschiedlichen Interferonpräparate sowie Glatiramacetat, bei welchen die Applikation subkutan oder intramuskulär erfolgt. Zu der Gruppe der mittelaktiven Substanzen gehören Dimethylfumarat (DMF) und Teriflunomid, welche beide oral verabreicht werden. Als hoch aktive Präparate bezeichnet man Fingolimod, Siponimod sowie die Antikörper Natalizumab, Alemtuzumab und Ocrelizumab [64].

Der humanisierte monoklonale Antikörper Ocrelizumab wurde im Jahr 2018 als erstes Medikament für die Behandlung der PPMS zugelassen. Seit 2020 ergibt sich mit Siponimod eine weitere mögliche Option für Patienten mit SPMS [70]. Zusätzlich steht Ozanimod aus der Substanzklasse der Sphingosin-1-Phosphat (S1P)-Rezeptor-Modulatoren zur Behandlung der aktiven RSMS zur Verfügung [71]. Seit 2021 kann in Deutschland auch Ofatumumab zur Behandlung der aktiven schubförmig verlaufenden MS eingesetzt werden. Es handelt sich wie bei Ocrelizumab um einen humanisierten monoklonalen Antikörper gegen das B-Lymphozytenantigen CD20. Die Gabe erfolgt als subkutane Injektion und kann nach der initialen Eindosierung in monatlichen Abständen durch den Patienten eigenständig verabreicht werden [72].

2.8 Interferon Präparate

Interferon- β (IFN- β) Präparate sind die ersten Medikamente, die gegen Multiple Sklerose zugelassen wurden und gelten immer noch als Medikamente der ersten Wahl bei Patienten mit leichter Krankheitsaktivität sowie bei KIS-Patienten. Obwohl der Wirkungsmechanismus nicht vollständig geklärt ist, geht man davon aus, dass IFN- β pleiotrope Effekte auf das Immunsystem ausübt und unter anderem durch Stabilisierung der Blut- Hirn- Schranke die Migration von T- Zellen in das ZNS verhindert [65]. Die zwei Formen stellen zum einen das subcutan injizierte IFN- β -1b und zum anderen das IFN- β -1a dar, das sowohl intramuskulär als auch subkutan injiziert werden kann. IFN- β -1a hat die gleiche Aminosäuresequenz wie humanes IFN- β und ist glykosyliert. IFN- β -1b wiederum unterscheidet sich in der Aminosäuresequenz und ist nicht glykosyliert[9].

Zu den Interferonen (IFN) β -1a zählt unter anderem auch das pegylierte PEG-IFN β -1a (siehe Abbildung 2). Die Pegylierung erfolgt durch den Zusatz eines nicht toxischen Polymers an die α -Aminogruppe des N- Terminus von IFN- β 1, das sogenannte methoxy-PEG-O2-methylpropionaldehyd. Dies führt zu einer Vergrößerung des Biomoleküls und zur Veränderung der glomerulären Filtrationsrate, was eine verlängerte Halbwertszeit zur Folge hat. Diese führt zu einer niedrigeren Dosierungsfrequenz und erlaubt eine subkutane Injektion einer Dosis von 124 μ g in einem Abstand von 2 Wochen [73].

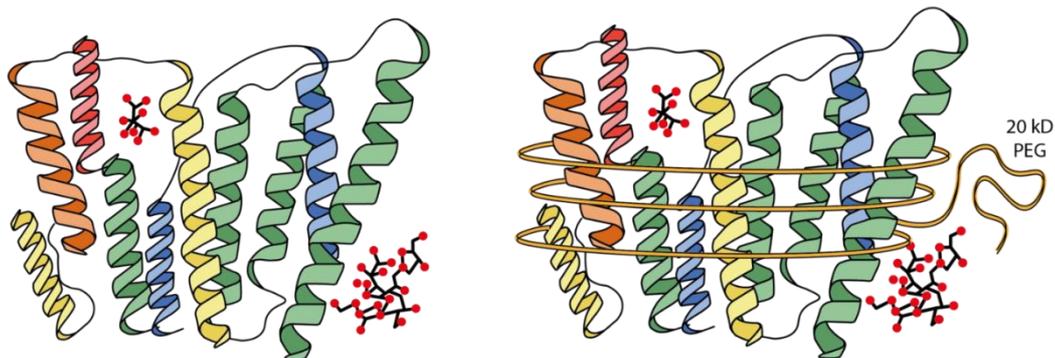


Abbildung 2: Interferone: Die biochemische Struktur von Rebif® (i) und Plegridy® (ii). Der Unterschied entsteht durch den Zusatz eines nicht toxischen Polymers an die α -Aminogruppe des N- Terminus von IFN- β 1, das sogenannte methoxy-PEG-O2-methylpropionaldehyd.

2.9 Sicherheit unter Immunmodulation

Nicht zu vernachlässigen sind die Nebenwirkungen, die unter einer Immunmodulation auftreten können. Beispielsweise treten bei Patienten unter Immunmodulation mit Fingolimod häufig vorübergehende Bradykardien, Makulaödeme, Lymphopenien, eine Erhöhung der Leberenzyme sowie kutane Neoplasien auf. Patienten unter Immunmodulation mit Dimethylfumarat zeigen Lymphopenien, Flush und gastrointestinale Nebenwirkungen. Das höchste Risiko für die Entwicklung eines PML besteht bei Patienten unter Immunmodulation mit Natalizumab. Ocrelizumab erhöht das Risiko für opportunistische Infektionen und Malignome. Weiterhin treten bei Patienten oft Neutropenien auf [74].

Bei Interferon Präparaten zählen zu den häufigsten Nebenwirkungen grippeähnliche Symptome, lokale Reaktionen an der Einstichstelle sowie Kopfschmerzen. Die Therapieoptionen zur Immunmodulation bei Multipler Sklerose nehmen stetig zu, ein kritischer Punkt bleibt jedoch, das Gleichgewicht zwischen Wirksamkeit und Sicherheit im Auge zu behalten [75].

3 Patienten, Material und Methoden

3.1 Erstellung einer Biobank

Das erste Ziel der vorliegenden Arbeit war die Erstellung einer Datenbank zur Erfassung des Sicherheitsprofils unterschiedlicher immunmodulierender Therapien zur Behandlung der Multiplen Sklerose und die Identifizierung von Biomarkern für das Therapie-Monitoring unter Immunmodulation bei MS. Dabei wurden Patienten eingeschlossen, welche mit IFN-Präparaten, Dimethylfumarat, Fingolimod, Natalizumab, Ocrelizumab oder Siponimod behandelt wurden.

Die erste Blutentnahme erfolgte vor Therapiebeginn, dabei wurden JC-Virus Titer, sNfL, DNA und Immunzellen des peripheren Blutes (CD3+/CD4+, CD3+/CD8, CD19, CD3-/CD56+) bestimmt. Weitere Kontrollblutentnahmen fanden nach 6, 12 und 24 Monaten (Mo.) statt (s. Tabelle 1). Zusätzliche Kontrollen erfolgten bei klinischem Schubereignis oder bei subklinischer Krankheitsaktivität (Nachweis von neuen T2-Läsionen oder KM-Aufnahme im MRT). Zu jeder Kontrolle wurden zusätzlich weitere klinische Daten, wie zum Beispiel die Krankheitsprogression (EDSS-Verschlechterung) sowie weitere Laborparameter betrachtet.

	Baseline	6 Mo.	12 Mo.	24 Mo.	36 Mo.	Krankheitsaktivität
PBMC	✓	✓	✓	✓	✓	✓
DNA	✓				✓	
Serum(sNfL)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Differential Blutbild	✓	✓	✓	✓	✓	✓
JC-Virus	✓				✓	

Tabelle 2: Biobank: Zur Erstellung der Biobank erfolgte die Blutentnahme an den obengenannten Zeitpunkten. PBMC: Peripheral blood mononuclear cells; JC-Virus: John Cunningham Virus; Mo: Monate; sNfL: Serum Neurofilament Light Chain.

3.2 Leukopenie unter Interferon- Präparate

Zweites Ziel der Arbeit war der Vergleich von Plegridy®- und Rebif®-Patienten in Bezug auf die Leukozytenzahl. Hierfür wurde über einen Zeitraum von 9 Jahren das Blutbild von 128 Patienten unter Plegridy® (n = 68) oder Rebif® (n = 65) retrospektiv beobachtet (siehe Abbildung 3 und Tabelle 2). Das Patientenkollektiv wurde zusätzlich in die Gruppen „Leukopenie“ und „Keine Leukopenie“ sowie „Neutropenie“ und „Keine Neutropenie“ eingeteilt (Leukopenie: Leukozyten < 3,5/nL und Neutropenie: Neutrophile Leukozyten < 33% bzw. 1500/L). Zusätzlich wurde das Patientenkollektiv nach Auswertung der vorliegenden Arztbriefe und der Klinikdokumentationen näher charakterisiert. Diese beinhaltete Vortherapien, Zeitpunkt der Erstdiagnose, die klinische Krankheitsaktivität (EDSS- Veränderungen und Schub-Rate), die MRT- Aktivität sowie das Differentialblutbild. Außerdem nahmen fast alle Patienten an einem telefonischen Fragebogen teil, welcher die klinische Relevanz (wie z.B. grippale Infekte) der Leukopenie sowie unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) der Medikation (wie z.B. lokale Hautreaktionen) erfasst (siehe Anhang 1).

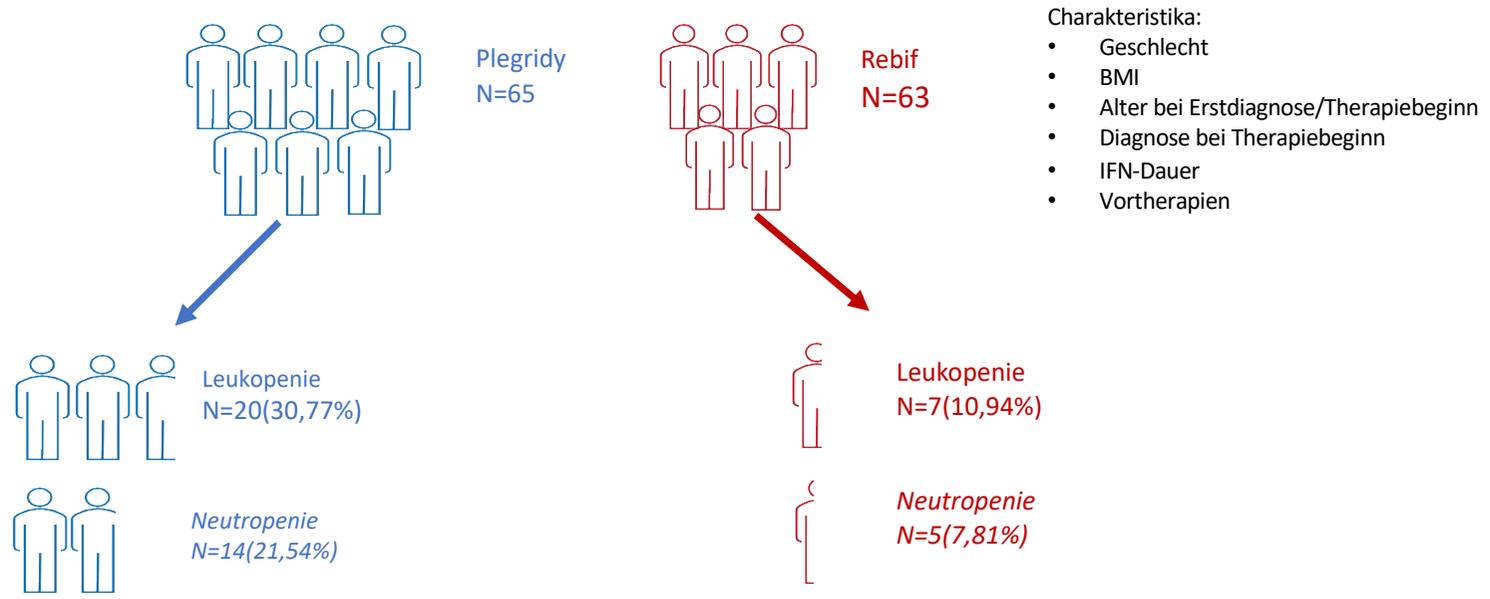
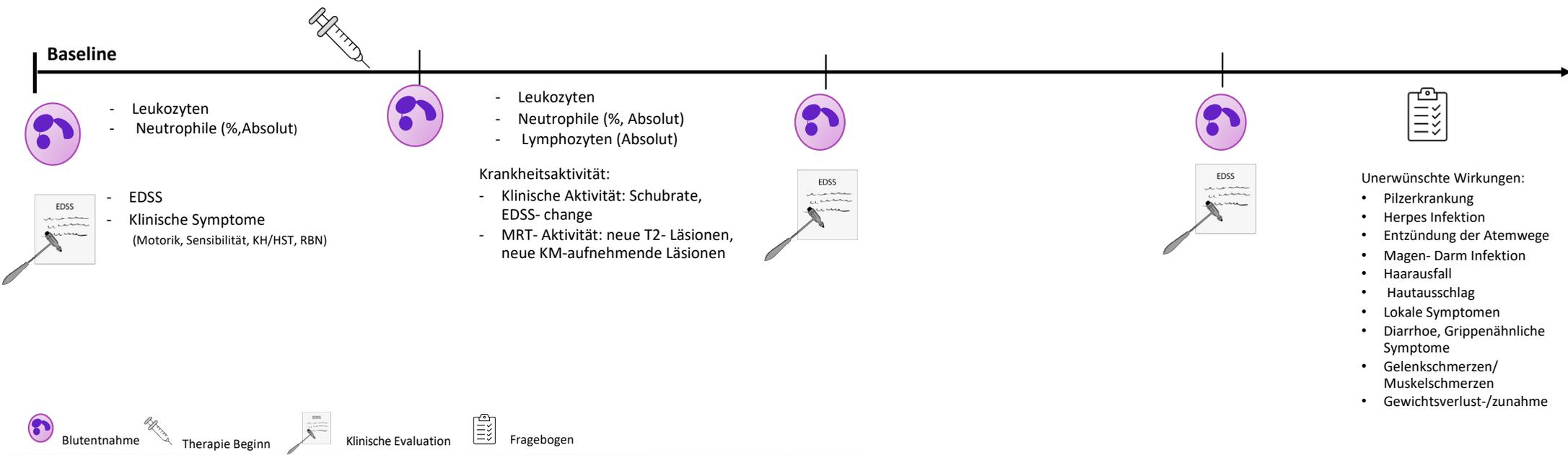


Abbildung 3: Studie Design: Leukopenie unter IFN: Über einen Zeitraum von 9 Jahre erfolgte die retrospektive Beobachtung des Blutbildes bei Patienten unter Rebif® und unter Plegridy®. Zusätzlich erfolgte die Charakterisierung bzgl. der individuellen Krankheitsaktivität. Am Ende führten wir eine Umfrage bezüglich den unerwünschten Arzneimittelwirkungen durch. Bei der Analyse nahmen 128 Patienten teil (65 unter Plegridy® und 63 unter Rebif). •**Leukopenie (Leukozyten <3.5/nL)** • **Neutropenie (Neutrophile <43%, 1500/L)**

N	128
Geschlecht (weiblich)	106 (82,8%)
Body Mass Index (BMI) (kg/m²)	25 (±4,9)
Alter bei Therapiebeginn (Jahre)	33,7 (±11,2)
Alter bei Erstdiagnose (Jahre)	31,25 (±10,4)
Diagnose bei Therapie Beginn	
- KIS, n (%)	27 (21,1%)
- RSMS, n (%)	101 (78,9%)
Plegridy®, n(%)	65 (50,8%)
Rebif®, n(%)	63 (49,2%)
IFN-Dauer (Monate)	23,12 (±18,7)
Vortherapien, n (%)	24 (18,75%)
- Rebif®, n (%)	11 (8,6%)
- Avonex®, n (%)	1 (0,8%)
- Betaferon®, n (%)	2 (1,6%)
- Fingolimod, n (%)	2 (1,6%)
- Dimethylfumarat (DMF), n (%)	3 (2,3%)
- Glatirameracetat, n (%)	8 (6,3%)
- Methotrexat (MTX), n (%)	2 (1,6%)
EDSS bei Therapie Beginn	1,082 (±1,2)
Klinische Symptome bei Therapie Beginn	
- Motorik, n (%)	14 (10,9%)
- Sensibilität, n (%)	44 (34,4%)
- Kleinhirn/ Hirnstamm, n (%)	17 (13,3%)
- Retrobulbärneuritis, n (%)	18 (14,1%)
EDSS bei Therapie Ende	1,2 (±1,4)
EDSS Veränderung*	0,1 (±0,98)
Krankheitsaktivität	
- Schubereignis, n (%)	49 (38,3%)
- Schubrate**	0,6 (±1,6)
- MRT-Aktivität, n (%)	57/107 (53,3%)
- Subklinische Aktivität***, n (%)	44/107 (41,1%)
- Neue T2-Läsionen, n (%)	57/107 (53,3%)
- KM-Aufnahme, n (%)	23/107 (21,5%)

Labor	
Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	7,1 (±1,9)
Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	5,3 (±1,6)
Lymphozyten unter Therapie (Zellen/μL)	1505,9 (±478,8)
Neutrophile Baseline (Zellen/μL)	4213,3 (±1597,1)
Neutrophile Baseline (%)	61,5 (±12,3%)
Neutrophile unter Therapie (Zellen/μL)	3115,3 (±1285)
Neutrophile unter Therapie (%)	57,3 (±9,5)
Leukopenie (n(%))	27 (21,1%)
Neutropenie (n(%))	19 (14,8%)
Neutropenie_Zellzahl(n(%))	24 (18,75%)
Unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW)	
Pilzkrankung, n (%)	3/87 (3,4%)
Herpes Infektion, n (%)	4/87 (4,6%)
Entzündung der Atemwege, n (%)	10/87 (11,5%)
Magen- Darm- Infektion, n (%)	4/87 (4,6%)
Haarausfall, n (%)	17/87 (19,5%)
Hautausschlag, n (%)	11/87 (12,6%)
Lokale Symptome, n (%)	58/87 (66,7%)
Diarrhoe, n (%)	4/87 (4,6%)

Tabelle 3: IFN Kohorte: *Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende- EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$. *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen) die klinisch asymptomatisch verläuft.

3.3 Statistische Analyse

Zur Auswertung der Ergebnisse wurden die Daten der zweiten Fragestellung zunächst in eine Tabelle in das Programm Microsoft Excel® 2017 eingetragen. Im Weiteren wurde mittels des Statistikprogramms „SPSS 23“ die deskriptive und explorative Statistik vorgenommen. Als statistisches Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt.

Die Prüfung auf statistische Normalverteilung erfolgte mittels Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk-Test. Bei normalverteilten Daten wurde ein T-Test durchgeführt, bei nicht normalverteilten Stichproben der Mann-Whitney-U-Test.

Des Weiteren erfolgte eine Kaplan-Meier-Analyse für die Leukopenie- bzw. Neutropenie Inzidenz der zwei Gruppen. Um prognostische Faktoren zu identifizieren, welche für das Vorkommen einer Leukopenie oder Neutropenie eine signifikante Rolle spielen, führten wir eine receiver operating characteristic (ROC)-Analyse durch. Untersucht wurden beispielsweise die Leukozytenzahl bei Therapiebeginn, Therapiedauer oder Alter bei Therapiebeginn.

Darüber hinaus führten wir multivariable binäre logistische Regressionsanalysen und Cox- Regressionsanalysen mit Leukopenie bzw. Neutropenie als abhängige Variable durch. Als unabhängige Variablen wurden sowohl die Faktoren verwendet, die zuvor einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ohne multiple Adjustierung ($p < 0.05$) zeigten, als auch weitere Faktoren mit einer klinischen Relevanz (verwendetes IFN-Präparat, Therapiedauer, Alter bei Therapiebeginn, Anzahl der vorherigen Therapien sowie Leukozytenzahl bei Therapiebeginn).

3.4 Literatursuche

Anschließend wurden die Datenbanken *PubMed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), und *OMIM* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) nach „Multiple Sclerosis“, „Disease modifying treatment“, „Interferon“, „Plegridy“, „Rebif®“, „Biobank“, „Biomarker“, „light chain serum Neurofilament“, „Safety“ durchgesucht, um den aktuellen Wissenstand zu erfassen.

4 Ergebnisse

4.1 Erstellung der Biobank

Über einen Zeitraum von 3 Jahren (2017-2020) wurden Proben von insgesamt 142 Patienten gesammelt. Dabei erhielten 6 Patienten eine Therapie mit Interferonpräparaten, 33 Patienten mit Dimethylfumarat, 12 Patienten mit Fingolimod und 17 Patienten eine Therapie mit Natalizumab. Erfreulicherweise erfolgte in diesem Zeitraum die Zulassung von zwei neuen immunmodulierenden Medikamenten: 1.) Ocrelizumab, unter dessen Therapie wir 53 Patienten rekrutieren konnten und 2.) Siponimod, welches 12 Patienten erhielten. Bei 59 Patienten erfolgte ein erstes Follow-Up nach 9 Monaten, bei 26 Patienten ein zweites Follow-Up nach 13 Monaten und bei 9 ein drittes Follow-up nach 20 Monaten (Abbildung 4).

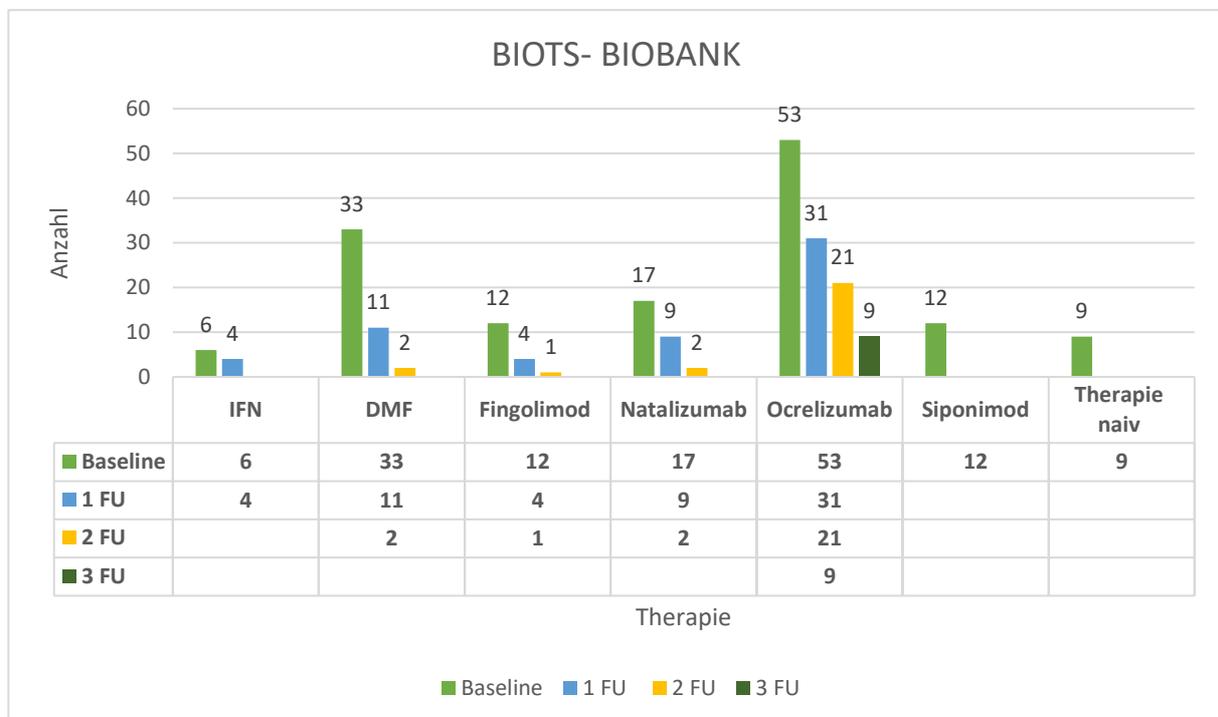


Abbildung 4: Biobank- BIOTS: Probensammlung von 142 Patienten in einem Zeitraum von 3 Jahren (2017-2020). BIOTS: Biomarker for Treatment Decision and Safety in MS; FU: Follow up; IFN: Interferone; DMF: Dimethylfumarat

4.2 Vergleich von Patienten mit Rebif® und mit Plegridy®

Wie bereits oben beschrieben erfolgte im zweiten Teil dieser Arbeit die retrospektive Analyse von Patienten unter Plegridy® und Rebif®. Tabelle 2 zeigt klinische Charakteristika der eingeschlossenen Patienten und Ergebnisse laborchemischer Untersuchungen, die unter Einnahme der zwei Medikamente beobachtet wurden. Die durchgeführte statistische Analyse ergab einen signifikanten Unterschied der Leukozytenzahl unter der Therapie. Unter Therapie mit Plegridy® wurde im Vergleich zu Rebif® eine niedrigere Leukozytenzahl beobachtet ($p = 0,046$). Außerdem zeigten die Patienten unter Plegridy® ein signifikant häufigeres Auftreten sowohl von Leukopenie als auch von Neutropenie ($p = 0,006$ und $p = 0,03$) (siehe Abbildung 5). Zusätzlich traten in der Plegridy® Gruppe häufiger folgende unerwünschte Arzneimittelwirkungen auf: Herpes Infektionen ($p = 0,043$), lokale Symptome an der Injektionsstelle ($p = 0,002$), grippeähnliche Symptome und Gelenkschmerzen/ Muskelschmerzen ($p < 0,001$). In den zwei Kohorten (Plegridy® vs. Rebif®) zeigten sich keine Unterschiede in Bezug auf Geschlecht, Alter, Diagnose, Therapiedauer, EDSS, Symptomatik bei Therapiebeginn und Krankheitsaktivität (siehe Tabelle 4).

	Plegridy®	Rebif®	P-Wert
N	65 (50,8%)	63 (49,2%)	
Geschlecht (weiblich)	55 (84,6%)	51 (80,95%)	0,583
BMI (kg/m²)	26,1 (±5.7)	24,28 (±4)	0,186
Alter bei Therapiebeginn (Jahre)	33,5 (±10,8)	33,87 (±11,6)	0,849
Alter bei Erstdiagnose (Jahre)	31,3 (±10)	31,17 (±10,9)	0,862
Diagnose bei Therapie Beginn			
KIS	14 (21,5%)	13 (20,6%)	0,900
RSMS	51 (78,5%)	50 (79,4%)	0,760
IFN-Dauer (Monate)	18,9 (±13,4)	26,30 (±21,7)	0,080
Vorthérapien			
- Rebif®	11 (16,9%)	0	0,001
- Avonex®	1 (1,5%)	0	0,323
- Betaferon®	1 (1,3%)	1 (1,6%)	0,982
- Fingolimod	1 (1,5%)	1 (1,6%)	0,982
- DMF	3 (4,6%)	0	0,084

– Glatirameracetat	8 (12,3%)	0	0,004
– MTX	2 (3,1%)	0	0,161
EDSS bei Therapie Beginn	1,15 (±1,25)	1, (±1,1)	0,574
Klinische Symptome bei Therapie Beginn			
– Motorik	8 (12,3%)	6 (9,5%)	0,614
– Sensibilität	26 (40%)	18 (28,6%)	0,174
– Kleinhirn/ Hirnstamm	8 (12,3%)	9 (14,3%)	0,742
– Retrobulbärneuritis	12 (18,5%)	6 (9,5%)	0,146
EDSS bei Therapie Ende	1,2 (±1,5)	1,2 (±1,25)	0,835
EDSS Veränderung*	0,08 (±0,9)	0,15 (±1,1)	0,342
Krankheitsaktivität			
– Schubereignis	22 (33,85%)	27 (42,9%)	0,294
– Schubrate **	0,7 (±1,9)	0,48 (±1,1)	0,578
– MRT-Aktivität	26/51 (51%)	31/56 (55,4%)	0,650
– Subklinische Aktivität***	23/51 (45,1%)	21/56 (37,5%)	0,375
– Neue T2-Läsionen	26/51 (51%)	31/56 (55,4%)	0,650
– KM-Aufnahme	9/51 (17,65%)	14/56 (25%)	0,356
Labor			
– Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	7,1 (±1,7)	7,2 (±2,2)	0,709
– Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	5,1 (±1,8)	5,7 (±1,7)	0,046
– Lymphozyten unter Therapie (Zellen/µL)	1577,3 (±474,5)	1421 (±475)	0,054
– Neutrophile Baseline (Zellen/µL)	4295,3 (±1573,4)	4077,8 (±1662,1)	0,305
– Neutrophile Baseline(%)	60,7 (±12,4)	62,73 (±12,4)	0,935
– Neutrophile unter Therapie (Zellen/µL)	2879,2 (±1245,8)	3373,65 (±1289,1)	0,095
– Neutrophile unter Therapie(%)	54,8 (±8,5)	60,12 (±9,9)	0,003
– Leukopenie (N(%))	20 (30,8%)	7 (11,1%)	0,006
– Neutropenie (N(%))	14 (21,5%)	5 (7,9%)	0,030

– Neutropenie (N(%)Zellzahl)	16 (24,6%)	8 (12,7%)	0,084
UAW			
– Fragebogen Teilnahme (N)	44 (67,7%)	43 (68,25%)	0,950
– Pilzerkrankung	2 (4,5%)	1 (2,3%)	0,570
– Herpes Infektion	4 (9,1%)	0	0,043
– Entzündung der Atemwege	5 (11,4%)	5 (11,6%)	0,969
– Haarausfall	11 (25%)	6 (13,9%)	0,194
– Hautausschlag	6 (13,6%)	5 (11,6%)	0,778
– Lokale Symptome	36 (81,8%)	22 (51,2%)	0,002
– Diarrhoe	2 (4,5%)	2(4,65%)	0,981
– Grippeähnliche Symptome	38 (86,4%)	22 (51,2%)	<0,001
– Gelenkschmerzen/Muskelschmerzen	31 (70,45%)	14 (32,6%)	<0,001
– Gewichtsverlust/- zunahme	8 (18,2%)	6 (13,95%)	0,592

Tabelle 4: Plegridy® vs. Rebif®: Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende- EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$ *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen), die klinisch asymptomatisch verläuft.

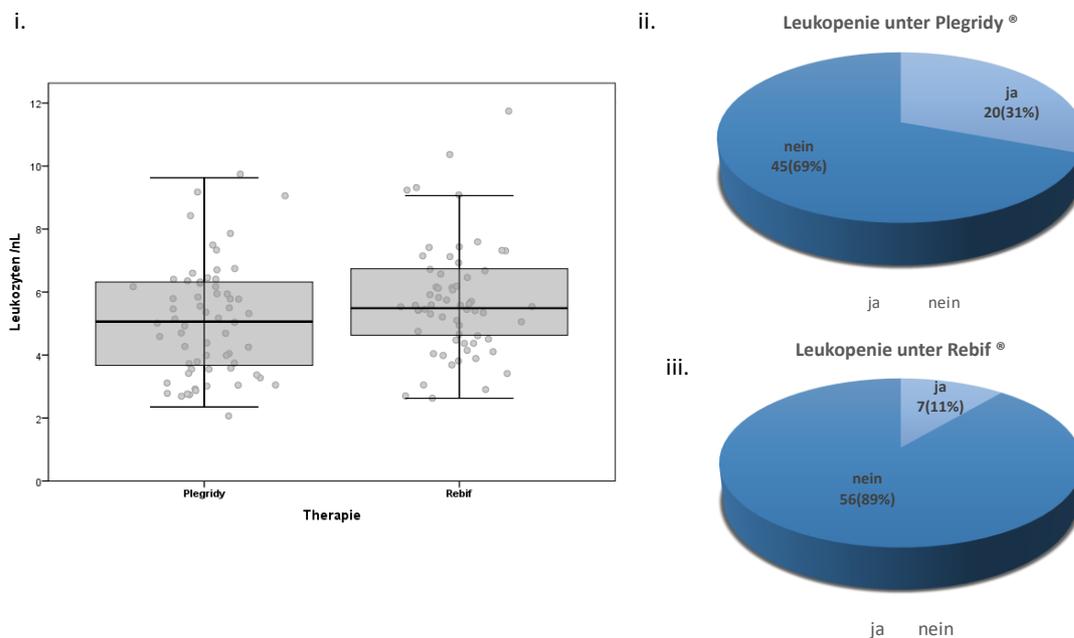


Abbildung 5: Leukozytenzahl unter IFN : (i.) Signifikanter Unterschied der Leukozytenzahl unter Therapie mit Plegridy® (links) im Vergleich zur Rebif® (rechts) ($p = 0,046$).; (ii) Leukopenie bei Patienten unter Plegridy® im Vergleich zu Patienten unter Rebif® ($p = 0,006$)

4.3 Vergleich der gesamten Kohorte mit und ohne induzierte Leukopenie

Im Anschluss wurden die zwei Gruppen „Leukopenie“ und „Keine Leukopenie“ (bezogen auf alle Patienten) miteinander verglichen. Eine Leukopenie wurde häufiger unter Therapie mit Plegridy® im Vergleich zu Rebif® beobachtet ($p = 0,006$). Diese trat nach sieben Monaten (Median) (Mittelwert 9,4) auf. Darüber hinaus unterscheiden sich die zwei Gruppen (Leukopenie vs. keine Leukopenie) im Hinblick auf die Leukozytenzahl und die Neutrophilenzahl vor Therapiebeginn mit Interferonpräparaten (siehe Tabelle 5). Dabei war die reduzierte Leukozytenzahl nicht nur eine laborchemische Beobachtung, vielmehr zeigte sich in dieser Patientengruppe auch ein vermehrtes Auftreten von Pilzkrankungen. Bei 3 Patienten (14%) mit einer Leukopenie wurde eine Pilzinfektion beschrieben ($p = 0,002$), während diese bei Patienten ohne Leukopenie nicht beobachtet wurde. Außerdem zeigten sich bei 77% der Patienten mit Leukopenie Gelenk- und Muskelschmerzen im Vergleich zu 44% ohne Leukopenie ($p = 0,033$).

Leukopenie			
	Ja	Nein	p-Wert
N	27 (21,1%)	101 (78,9%)	
Geschlecht (weiblich)	21 (77,8%)	85 (84,2%)	0,435
BMI_(kg/m²)	24,7 ($\pm 3,4$)	25,2 ($\pm 5,1$)	0,966
Alter bei Therapiebeginn (Jahre)	32,4 ($\pm 8,55$)	34,1 ($\pm 11,8$)	0,678
Alter bei Erstdiagnose (Jahre)	31,2 ($\pm 7,5$)	31,3 ($\pm 1,1$)	0,658
Diagnose bei Therapie Beginn			
KIS	4 (14,2%)	23 (22,8%)	0,368
RSMS	23 (85,2%)	78 (77,2%)	0,412
Therapie (Plegridy) (N(%))	20 (74,1%)	45 (44,5%)	0,006
IFN-Dauer (Monate)	26,6 ($\pm 19,4$)	22,19 ($\pm 18,6$)	0,162
Vorthérapien			
- Rebif®	2 (7,4%)	9 (8,9%)	0,804
- Avonex®	0	1 (1%)	0,604
- Betaferon®	0	2 (2%)	0,461
- Fingolimod	0	2 (2%)	0,461
- DMF	2 (7,4%)	1 (1%)	0,050

- Glatirameracetat	2 (7,4%)	6 (5,9%)	0,780
- MTX	0	2 (2%)	0,461
EDSS bei Therapie Beginn	1 (\pm 1,3)	1,1 (\pm 1,2)	0,655
Klinische Symptome bei Therapie Beginn			
- Motorik	3 (11,1%)	11 (10,9%)	0,974
- Sensibilität	8 (29,6%)	36 (35,6%)	0,559
- Kleinhirn/ Hirnstamm	1 (3,7%)	16 (15,8%)	0,099
- Retrobulbärneuritis	4 (14,8%)	14 (13,9%)	0,899
EDSS bei Therapie-Ende	1,2 (\pm 1,7)	1,19 (\pm 1,2)	0,482
EDSS Veränderung*	0,2 (\pm 1)	0,1 (\pm 1)	0,787
Krankheitsaktivität			
- Schubereignis	14 (51,85%)	35 (34,65%)	0,102
- Schubrate **	1 (\pm 2,5)	0,5 (\pm 1,2)	0,144
- MRT-Aktivität	15/23 (65,2%)	42/84 (50%)	0,195
- Subklinische Aktivität***	8/23 (34,8%)	36/84 (42,9%)	0,582
- Neue T2-Läsionen	15/23 (65,2%)	42/84 (50%)	0,195
- KM-Aufnahme	5/23 (21,7%)	18/84 (21,4%)	0,983
Labor			
- Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	5,9 (\pm 1,4)	7,5 (\pm 1,9)	<0,001
- Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	3,27 (\pm 0,5)	5,95 (\pm 1,4)	<0,001
- Lymphozyten unter Therapie (Zellen/ μ L)	1188,2 (\pm 256,3)	1586,9 (\pm 492,)	<0,001
- Neutrophile Baseline (Zellen/ μ L)	3417,9 (\pm 1530,1)	4428,7 (\pm 1560,85)	0,038
- Neutrophile Baseline(%)	56,15 (\pm 16)	62,90 (\pm 10,9)	0,0161
- Neutrophile unter Therapie (Zellen/ μ L)	1569,6 (\pm 425,4)	3564,6 (\pm 1085,8)	<0,001
- Neutrophile unter Therapie(%)	47,7 (\pm 6,5)	60,1 (\pm 8,4)	<0,001
- Neutropenie (N(%))	13 (28,15%)	6 (5,9%)	<0,001
- Neutropenie(N(%))_Zellzahl	22 (81,5%)	2 (2%)	<0,001

UAW			
- Fragebogen Teilnahme (N)	21 (77,8%)	65 (64,4%)	0,168
- Pilzerkrankung	3 (14,3%)	0	0,002
- Herpes Infektion	2 (9,5%)	1 (1,5%)	0,083
- Entzündung der Atemwege	2 (9,5%)	7 (10,8%)	0,871
- Magen-Darm Infektion	2 (9,5%)	2 (3,1%)	0,223
- Haarausfall	3 (14,3%)	14 (21,5%)	0,468
- Hautausschlag	4 (19%)	7 (10,8%)	0,323
- Lokale Symptome	16 (76,2%)	41 (63,1%)	0,269
- Diarrhoe	1 (4,8%)	3 (4,6%)	0,978
- Grippeähnliche Symptome	18 (85,7%)	41 (63,1%)	0,052
- Gelenk-/Muskelschmerzen	15 (71,4%)	29 (44,6%)	0,033
- Gewichtsverlust/-zunahme	3 (14,3%)	11 (16,9%)	0,776

Tabelle 5: Leukopenie vs. keine Leukopenie: *Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende- EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$. *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen) die klinisch asymptomatisch verläuft.

4.4 Vergleich von Plegridy®-Patienten mit und ohne induzierte Leukopenie

Eine Leukopenie trat häufiger unter Therapie mit Plegridy® im Vergleich zu Rebif® auf. In einem nächsten Schritt möchten wir untersuchen, ob spezifische Patientencharakteristika die Entwicklung einer Leukopenie unter Therapie mit Plegridy® vorhersagen können. Plegridy® Patienten mit „Leukopenie“ und ohne „Leukopenie“ zeigen keine relevanten Unterschiede in den Patientencharakteristika. Allerdings zeigen solche Plegridy® Patienten, welche im Verlauf unter der Therapie eine Leukopenie entwickeln, bereits bei Therapiebeginn eine reduzierte Leukozytenzahl ($p < 0,001$) und eine reduzierte Neutrophilenzahl ($p = 0,048$). Darüber hinaus zeigen Plegridy® Patienten mit Leukopenie im Vergleich zu Plegridy® Patienten ohne Leukopenie eine reduzierte Leukozyten-, Lymphozyten- und Neutrophilenzahl unter der Behandlung mit Plegridy® (siehe Tabelle 6).

Plegridy®			
N	65		
<u>Leukopenie</u>	Ja	Nein	p-Wert
N	20 (30,8%)	45 (69,2%)	
Geschlecht (weiblich) (N)	17 (85%)	38 (84,4%)	0,954
BMI (kg/m²)	25,3 (±3,95)	26,3 (±6,2)	0,885
Alter bei Therapiebeginn	32,7 (±8,9)	33,9 (±11,6)	0,932
Alter bei Erstdiagnose	31,3 (±7,4)	31,3 (±11)	0,670
Diagnose bei Therapie Beginn			
KIS	4 (20%)	10 (22,2%)	0,841
RSMS	16 (80%)	35 (77,7%)	0,841
IFN-Dauer (Monate)	21,2 (±12,3)	17,8 (±13,9)	0,208
Vorthapien			
- Rebif®	2 (10%)	9 (13,85%)	0,321
- Avonex®	0	1 (2,2%)	0,502
- Betaferon®	0	1 (2,2%)	0,502
- Fingolimod	0	1 (2,2%)	0,502
- DMF	2 (10%)	1 (2,2%)	0,168
- Glatirameracetat	2 (10%)	6 (13,3%)	0,706
- MTX	0	2 (4,4%)	0,338
EDSS bei Therapie Beginn	1,2 (±1,4)	1,1 (±1,2)	0,900

Klinische Symptome bei Therapie Beginn			
- Motorik	3 (15%)	5 (11,11%)	0,660
- Sensibilität	8 (40%)	18 (45%)	1
- Kleinhirn/ Hirnstamm	1 (5%)	7(15,5%)	0,232
- Retrobulbärneuritis	4 (20%)	8 (17,8%)	0,831
EDSS bei Therapie Ende	1,4 (\pm 1,9)	1,15 (\pm 1,3)	0,958
EDSS Veränderung*	0,15 (\pm 1,1)	0,04 (\pm 0,8)	0,736
Krankheitsaktivität			
- Schubereignis	8 (40%)	14 (31,1%)	0,171
- Schubrate **	1,15 (\pm 2,9)	0,5 (\pm 1,3)	0,448
- MRT-Aktivität	9/16 (56,25%)	17/35 (18,6%)	0,661
- Subklinische Aktivität***	7/16 (43,75%)	16/35 (45,7%)	0,951
- Neue T2-Läsionen	9/16 (56,25%)	17/35 (48,6%)	0,611
- KM-Aufnahme	3/16 (18,75%)	6/35 (17,1%)	0,925
Labor			
- Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	6,05 (\pm 1,45)	7,5 (\pm 1,6)	0,001
- Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	3,2 (\pm 0,5)	6 (\pm 1,4)	<0,001
- Lymphozyten unter Therapie (Zellen/μL)	1224,7 (\pm 275,5)	1732,1 (\pm 462,25)	<0,001
- Neutrophile Baseline (Zellen/μL)	3535,9 (\pm 1629,5)	4604,6 (\pm 1469,15)	0,048
- Neutrophile Baseline (%)	55,95 (\pm 17,5)	58,3 (\pm 6,9)	0,260
- Neutrophile unter Therapie (Zellen/μL)	1508,2 (\pm 356,3)	4604,6 (\pm 1469,15)	<0,001
- Neutrophile unter Therapie(%)	46,9 (\pm 6,1)	58,3 (\pm 6,9)	<0,001
- Neutropenie (N(%))	10 (50%)	4 (8,9%)	<0,001
- Neutropenie (N(%))_Absolutzahl	16 (80%)	0	<0,001
UAW			
- Fragebogen Teilnahme (N)	16 (80%)	27 (60%)	0,116
- Pilzkrankung	2 (12,5%)	0	0,060
- Herpes Infektion	2 (12,5%)	1 (3,7%)	0,274

- Entzündung der Atemwege	2 (12,5%)	2 (7,4%)	0,578
- Magen-Darm Infektion	1 (6,25%)	0	0,189
- Haarausfall	3 (18,75%)	8 (29,6%)	0,429
- Hautausschlag	2 (12,5%)	4 (14,8%)	0,832
- Lokale Symptome	13 (81,25%)	22 (81,5%)	0,985
- Diarrhoe	1 (6,25%)	1 (3,7%)	0,702
- Grippeähnliche Symptome	15 (93,75%)	22 (81,5%)	0,262
- Gelenkschmerzen/Muskelschmerzen	13 (81,25%)	17 (63%)	0,207
- Gewichtsverlust/- zunahme	3 (18,75%)	5 (18,5%)	0,985

Tabelle 6: Plegridy® mit vs. ohne induzierte Leukopenie: *Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende- EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$. *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen) die klinisch nicht bemerkbar ist

4.5 Vergleich von Rebif®-Patienten mit und ohne induzierte Leukopenie

Eine Leukopenie war auch in 7 Patienten unter einer Therapie mit Rebif® zu beobachten. Patienten mit einer Leukopenie unter Therapie mit Rebif® zeigten im Vergleich zu Patienten ohne Leukopenie unter Therapie mit Rebif® häufiger eine klinische Krankheitsaktivität ($p = 0,015$), wobei sich kein Unterschied in der Schubrate nachweisen ließ. Des Weiteren bestanden ebenfalls Unterschiede in den Laborparametern vor Therapiebeginn und unter der Therapie (siehe Tabelle 7). Im Hinblick auf das Auftreten von Nebenwirkungen zeigten Rebif® Patienten mit einer Leukopenie häufiger Hautausschlag ($p = 0,0035$) und Pilzkrankungen ($p = 0,005$).

Rebif®			
N	63		
Leukopenie	Ja	Nein	p-Wert
N	7 (11,1%)	56 (88,9%)	
Geschlecht (weiblich)	4 (57,1%)	47 (83,9%)	0,089
BMI (kg/m²)	23,8 (±4,3)	24,35 (±4,05)	0,923
Alter bei Therapiebeginn	31,6 (±7,95)	34,2 (±12)	0,661
Alter bei Erstdiagnose	30,9 (±8,4)	31,2 (±11,2)	0,889
Diagnose bei Therapie Beginn			
KIS	0	13 (23,2%)	0,152
RSMS	7 (11,1%)	43 (76,8%)	0,169
IFN-Dauer (Monate)	42 (±27,8)	25,7 (±21,1)	0,09
Vortheraipien			
- Rebif®	0	0	
- Avonex®	0	0	
- Betaferon®	0	1 (1,8%)	0,722
- Fingolimod	0	1 (1,8%)	0,722
- DMF	0	0	
- Glatirameracetat	0	0	
- MTX	0	0	
EDSS bei Therapie Beginn	0,4 (±0,5)	1,1 (±1,2)	0,222
Klinische Symptome bei Therapie Beginn			
- Motorik	0	6 (10,7%)	0,363
- Sensibilität	0	18 (32,1%)	0,076

- Kleinhirn/ Hirnstamm	0	9 (16,1%)	0,252
- Retrobulbärneuritis	0	6 (10,7%)	0,363
EDSS bei Therapie Ende	0,6 (±0,85)	1,2 (±1,3)	0,286
EDSS Veränderung*	0,2 (±0,8)	0,1 (±1,1)	0,923
Krankheitsaktivität			
- Schubereignis	6 (85,7%)	21 (57,5%)	0,015
- Schubrate **	0,5 (±0,7)	0,5 (±1,2)	0,109
- MRT-Aktivität	6/7 (85,7%)	25/49 (51%)	0,084
- Subklinische Aktivität***	1/7 (14,3%)	20/49 (40,8%)	0,175
- Neue T2-Läsionen	6/7 (85,7%)	25/49 (51%)	0,084
- KM-Aufnahme	2/7 (28,6%)	12/49 (24,5%)	0,839
Labor			
- Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	5,5 (±1,3)	7,45 (±2,2)	0,014
- Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	3,3 (±0,5)	5,9 (±1,4)	<0,001
- Lymphozyten unter Therapie (Zellen/µL)	1094,2 (±182,5)	1465,5 (±487,6)	0,027
- Neutrophile Baseline (Zellen/µL)	2768,8 (±739,2)	4202,5 (±1680,4)	0,285
- Neutrophile Baseline(%)	57,2 (±2,3)	63,3 (±12,85)	0,332
- Neutrophile unter Therapie (Zellen/µL)	1727,5 (±569,1)	3700 (±1402,5)	<0,001
- Neutrophile unter Therapie(%)	49,9 (±7,5)	61,8 (±9,5)	0,004
- Neutropenie (N(%))	3 (42,85%)	2 (3,6%)	<0,001
- Neuropenie (N(%))_Absolutzahl	6 (85,7%)	2 (3,6%)	<0,001
UAW			
- Fragebogen Teilnahme (N)	5 (71,4%)	38 (67,9%)	0,800
- Pilzerkrankung	1(20%)	0	0,005
- Herpes Infektion	0	0	
- Entzündung der Atemwege	0	5 (13,2%)	0,388
- Magen-Darm Infektion	1 (20%)	2 (5,3%)	0,224
- Haarausfall	0	6 (15,8%)	0,338
- Hautausschlag	2 (40%)	3 (7,9%)	0,035
- Lokale Symptome	3 (60%)	19 (50%)	0,674
- Diarrhoe	0	2 (5,3%)	0,599

- Grippeähnliche Symptome	3 (60%)	19 (50%)	0,674
- Gelenkschmerzen/Muskelschmerzen	2 (40%)	12 (31,6%)	0,706
- Gewichtsverlust/- zunahme	0	6 (15,8%)	0,338

Tabelle 7: Rebif® mit vs. ohne induzierte Leukopenie: *Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende-EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$. *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen) die klinisch nicht bemerkbar ist.

4.6 Vergleich der gesamten Kohorte mit und ohne induzierte Neutropenie

In der gesamten Patientenkohorte (Rebif® und Plegridy®) wurde bei 19 Patienten (14,84%) eine Neutropenie beobachtet. Patienten bei denen eine Neutropenie auftrat wurden häufiger mit Plegridy® im Vergleich zu Rebif® behandelt ($p = 0,030$), waren unabhängig vom Präparat über einen längeren Zeitraum mit Interferon-Präparaten behandelt ($p = 0,17$) und wiesen eine niedrige Leukozytenzahl bei Therapiestart auf ($p = 0,032$, siehe Tabelle 8). Im Hinblick auf das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen zeigten sich bei Patienten mit dem Auftreten von Neutropenien häufiger Gelenk- und Muskelschmerzen ($p = 0,018$).

<u>Neutropenie</u>	Ja	Nein	p-Wert
N	19 (14,8%)	109 (85,2%)	
BMI (kg/m²)	23,2 ($\pm 3,4$)	25,3 (± 5)	0,273
Geschlecht (weiblich)	14 (73,3%)	92 (71,85%)	0,253
Alter bei Therapiebeginn	32,6 ($\pm 10,7$)	33,9 ($\pm 11,3$)	0,639
Alter bei Erstdiagnose	30,2 ($\pm 7,7$)	31,4 ($\pm 10,8$)	0,847
Diagnose bei Therapiebeginn			
KIS	3 (15,8%)	24 (22%)	0,539
RSMS	16 (84,2%)	85 (78%)	0,583
Therapie Plegridy®, n (%)	14 (73,7%)	51 (46,8%)	0,030
IFN-Dauer (Monate)	29,8 ($\pm 16,65$)	21,9 ($\pm 18,9$)	0,017
Vortherapien			
- Rebif®	1 (5,3%)	10 (9,2%)	0,575
- Avonex®	0	1 (0,9%)	0,675
- Betaferon®	0	2 (1,8%)	0,552
- Fingolimod	0	2 (1,8%)	0,552
- DMF	0	3 (2,75%)	0,464
- Glatirameracetat	1 (5,3%)	7 (6,4%)	0,847
- MTX	1 (5,3%)	1 (0,9%)	0,159
EDSS bei Therapie Beginn	0,8 ($\pm 1,5$)	1,1 ($\pm 1,1$)	0,130

Klinische Symptome bei Therapie Beginn			
- Motorik	1 (5,3%)	13 (11,9%)	0,390
- Sensibilität	3 (15,8%)	41 (37,6%)	0,065
- Kleinhirn/ Hirnstamm	2 (10,5%)	15 (13,8%)	0,701
- Retrobulbärneuritis	1 (5,3%)	17 (15,6%)	0,232
EDSS bei Therapie Ende	0,9 (\pm 1,6)	1,25 (\pm 1,35)	0,104
EDSS Veränderung*	0,05 (\pm 0,6)	0,12 (\pm 1)	0,747
Krankheitsaktivität			
- Schubereignis	8 (42,1%)	41 (37,6%)	0,710
- Schubrate **	0,3 (\pm 0,6)	0,6 (\pm 1,7)	0,972
- MRT-Aktivität	10/19 (52,6%)	47/90 (52,2%)	0,951
- Subklinische Aktivität***	7/19 (36,8%)	37/90 (41,1%)	0,804
- Neue T2-Läsionen	10/19 (52,6%)	47/90 (52,2%)	0,951
- KM-Aufnahme	4/19 (21,05%)	19/90 (21,1%)	0,921
Labor			
- Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	6,3 (\pm 1,3)	7,3 (\pm 2)	0,032
- Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	3,9 (\pm 0,9)	5,6 (\pm 1,6)	<0,001
- Lymphozyten unter Therapie (Zellen/ μ L)	1505,05 (\pm 426,85)	1499,3 (\pm 491,5)	0,946
- Neutrophile Baseline (Zellen/ μ L)	3965,15 (\pm 1111,15)	4261,9 (\pm 1680,5)	0,613
- Neutrophile Baseline (%)	62,1 (\pm 6,6)	61,35 (\pm 13,2)	0,969
- Neutrophile unter Therapie (Zellen/ μ L)	1813,4 (\pm 614,7)	3384,1 (\pm 122,5)	<0,001
- Neutrophile unter Therapie (%)	45,2 (\pm 5,8)	59,85 (\pm 8,1)	<0,001
Unerwünschte Arzneimittelwirkung			
- Fragebogen Teilnahme (N)	12 (63,2%)	75 (68,8%)	0,706
- Pilzkrankung	1 (8,3%)	2 (1,8%)	0,318
- Herpes Infektion	1 (8,3%)	3 (4%)	0,506
- Entzündung der Atemwege	1 (8,3%)	9 (12%)	0,712
- Magen-Darm Infektion	0	4 (5,3%)	0,413
- Haarausfall	3 (25%)	14 (18,6%)	0,607
- Hautausschlag	1 (8,3%)	10 (13,3%)	0,628
- Lokale Symptome	9 (75%)	49 (65,3%)	0,510

- Diarrhoe	0	4 (5,3%)	0,413
- Grippeähnliche Symptome	10 (83,3%)	50 (66,6%)	0,247
- Gelenkschmerzen/Muskelschmerzen	10 (83,3%)	35 (46,6%)	0,018
- Gewichtsverlust/- zunahme	1 (8,3%)	13 (17,3%)	0,431

Tabelle 8: Neutropenie vs. keine Neutropenie: *Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende- EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$. *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen) die klinisch asymptomatisch verläuft.

4.7 Vergleich von Plegridy®-Patienten mit und ohne induzierte Neutropenie

Neutropenien traten häufiger unter Plegridy® im Vergleich zu Rebif® auf. Hinsichtlich der Patientencharakteristika ergaben sich bei Patienten unter Therapie mit Plegridy® keine Unterschiede zwischen den Patienten, die im Verlauf eine Neutropenie entwickelten, im Vergleich zu denen ohne Neutropenie. Allerdings zeigten sich bei den Patienten, die im Verlauf eine Neutropenie unter Therapie mit Plegridy® entwickelten signifikant niedrigere Leukozytenwerte vor Therapiestart im Vergleich zu Plegridy® Patienten ohne Entwicklung einer Neutropenie. Ein Unterschied in der absoluten Neutrophilenzahl vor Therapiestart war bei Patienten mit und ohne Neutropenie unter Therapie mit Plegridy® nicht zu beobachten (siehe Tabelle 9).

Plegridy®			
N	65 (50,8%)		
<u>Neutropenie</u>	Ja	Nein	p-Wert
N	14 (21,5%)	51 (78,5%)	
Geschlecht(weiblich) (N)	10 (71,4%)	45 (88,2%)	0,123
BMI (kg/m²)	21,6 (±2,5)	26,9 (±5,8)	0,019
Alter bei Therapiebeginn	32,6 (±11,6)	33,8 (±10,7)	0,582
Alter bei Erstdiagnose	29,4 (±7,4)	31,9 (±10,6)	0,580
Diagnose bei Therapie Beginn			
KIS	2 (14,3%)	12 (23,5%)	0,456
RSMS	12 (85,7%)	39 (76,5%)	0,456
IFN-Dauer (Monate)	28,4 (±10,5)	16,3 (±13)	0,001
Vortheraipien			
- Rebif®	1 (7,1%)	10 (19,6%)	0,271
- Avonex®	0	1 (2%)	0,597
- Betaferon®	0	1 (2%)	0,597
- Fingolimod	0	1 (2%)	0,597
- DMF	0	3 (5,9%)	0,353
- Glatirameracetat	1 (7,1%)	7 (13,7%)	0,507
- MTX	1 (7,1%)	1 (2%)	0,320

EDSS bei Therapie Beginn	1 ($\pm 1,7$)	1,2 ($\pm 1,1$)	0,225
Klinische Symptome bei Therapie Beginn			
- Motorik	1 (7,1%)	7 (13,7%)	0,507
- Sensibilität	3 (21,43%)	23 (45,1%)	0,109
- Kleinhirn/ Hirnstamm	2 (14,3%)	6 (11,8%)	0,799
- Retrobulbärneuritis	1 (7,4%)	11 (21,6%)	0,218
EDSS bei Therapie Ende	1 ($\pm 1,8$)	1,3 ($\pm 1,4$)	0,206
EDSS Veränderung*	0 ($\pm 0,7$)	1 ($\pm 0,9$)	0,642
Krankheitsaktivität			
- Schubereignis	5 (35,7%)	17 (33,3%)	0,868
- Schubrate **	0,2 ($\pm 0,4$)	0,8 ($\pm 2,15$)	0,677
- MRT-Aktivität	7/14 (50%)	19/37 (51,35%)	0,931
- Subklinische Aktivität***	6/14 (42,9%)	17/37 (45,95%)	0,990
- Neue T2-Läsionen	7/14 (50%)	19/37 (51,35%)	0,931
- KM-Aufnahme	3/14 (24,4%)	6/37 (16,2%)	0,694
Labor			
- Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	6,1 ($\pm 1,4$)	7,3 ($\pm 1,7$)	0,014
- Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	3,7 ($\pm 0,8$)	5,5 ($\pm 1,8$)	0,001
- Lymphozyten unter Therapie (Zellen/μL)	1520,5 ($\pm 327,6$)	1594,95 ($\pm 513,5$)	0,682
- Neutrophile Baseline (Zellen/μL)	3927,6 (± 1177)	4393,3 ($\pm 1666,4$)	0,352
- Neutrophile Baseline (%)	62,05 ($\pm 6,7$)	60,3 ($\pm 13,6$)	0,943
- Neutrophile unter Therapie (Zellen/μL)	1697,6 ($\pm 599,7$)	3255,1 ($\pm 1161,7$)	<0,001
- Neutrophile unter Therapie (%)	43,9 (± 5)	58,3 ($\pm 6,1$)	<0,001
UAW			
- Fragebogen Teilnahme (N)	9 (64,3%)	35 (58,6%)	0,831
- Pilzerkrankung	1 (11,1%)	1 (2,9%)	0,289
- Herpes Infektion	1 (11,1%)	3 (8,6%)	0,813
- Entzündung der Atemwege	1 (11,1%)	4 (11,4%)	0,979
- Magen-Darm Infektion	0	1 (2,9%)	0,608
- Haarausfall	3 (33,3%)	8 (22,9%)	0,517

- Hautausschlag	0	6 (17,1%)	0,181
- Lokale Symptome	6 (66,7%)	30 (85,7%)	0,186
- Diarrhoe	0	2 (5,7%)	0,463
- Grippeähnliche Symptome	8 (88,9%)	30 (85,7%)	0,805
- Gelenkschmerzen/Muskelschmerzen	8 (88,9%)	23 (65,7%)	0,174
- Gewichtsverlust/- zunahme	1 (11,1%)	7 (20%)	0,537

Tabelle 9: Plegridy® mit vs. ohne induzierte Neutropenie: Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende- EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$ *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen) die klinisch asymptomatisch verläuft.

4.8 Vergleich von Rebif®-Patienten mit und ohne induzierte Neutropenie

Eine Neutropenie war ebenfalls in einer geringen Anzahl von Patienten unter Therapie mit Rebif® zu beobachten. Rebif® Patienten, die im Verlauf eine Neutropenie unter der Therapie entwickelten, zeigten vor Therapiebeginn keinen Unterschied in der absoluten Zahl von Leukozyten und Neutrophilen. Allerdings zeigten Rebif® Patienten mit Neutropenie signifikant niedrigere absolute Anzahl an Leukozyten und Neutrophilen unter der Rebif® Therapie (siehe Tabelle 10). Unterschiede im Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen waren zwischen den Gruppen nicht zu beobachten.

Rebif®			
N	63 (49,2%)		
Neutropenie	Ja	Nein	p-Wert
N	5 (7,9%)	58 (92,1%)	
Geschlecht (weiblich)	4 (80%)	47 (81%)	0,955
BMI (kg/m²)	25,9 (±3,2)	24,15 (±4,1)	0,399
Alter bei Therapiebeginn	32,6 (±8,6)	34 (±11,9)	0,873
Alter bei Erstdiagnose	32,2 (±9,15)	31,1 (±11,1)	0,739
Diagnose bei Therapie Beginn			
KIS	1 (20%)	12 (20,7%)	0,971
RSMS	4 (80%)	46 (79,3)	0,970
IFN-Dauer (Monate)	34 (±29,3)	26,9 (±21,8)	0,648
Vorthapien			
- Rebif®	0	0	
- Avonex®	0	0	
- Betaferon®	0	1 (1,7%)	0,767
- Fingolimod	0	1 (1,7%)	0,767
- DMF	0	0	
- Glatirameracetat	0	0	
- MTX	0	0	
EDSS bei Therapie Beginn	0,4 (±0,5)	1,1 (±1,2)	0,242
Klinische Symptome bei Therapie Beginn			
- Motorik	0	6 (10,3%)	0,450
- Sensibilität	0	18 (31,1%)	0,141
- Kleinhirn/ Hirnstamm	0	9 (15,5%)	0,341

- Retrobulbärneuritis	0	6 (10,3%)	0,450
EDSS bei Therapie Ende	1,2 (\pm 1,3)	0,6 (\pm 0,9)	0,293
EDSS Veränderung*	0,2 (\pm 0,45)	0,15 (\pm 1,1)	0,858
Krankheitsaktivität			
- Schubereignis	3 (60%)	24 (41,4%)	0,419
- Schubrate **	0,6 (\pm 0,9)	0,5 (\pm 1,15)	0,496
- MRT-Aktivität	3/5 (60%)	28/50 (56%)	0,827
- Subklinische Aktivität***	1/5 (20%)	20/50 (40%)	0,397
- Neue T2-Läsionen	3/5 (60%)	28/50 (56%)	0,827
- KM-Aufnahme	1/5 (20%)	13/50 (26%)	0,769
Labor			
- Leukozyten Baseline (Zellen/nL)	6,75 (\pm 0,6)	7,3 (\pm 2,3)	0,621
- Leukozyten unter Therapie (Zellen/nL)	4,3 (\pm 1,2)	5,8 (\pm 1,5)	0,038
- Lymphozyten unter Therapie (Zellen/ μ L)	1461,7 (\pm 684,1)	1414,9 (\pm 459,9)	0,759
- Neutrophile Baseline (Zellen/ μ L)	4115,4 (\pm 1165,1)	4074,2 (\pm 1723,6)	0,743
- Neutrophile Baseline(%)	62,1 (\pm 9,2)	62,8 (\pm 12,8)	0,913
- Neutrophile unter Therapie (Zellen/ μ L)	2137,7 (\pm 594,15)	3502,4 (\pm 1276,3)	0,010
- Neutrophile unter Therapie(%)	48,9 (\pm 6,7)	61,3 (\pm 9,5)	0,006
UAW			
- Fragebogen Teilnahme (N)	3 (60%)	40 (69%)	0,721
- Pilzkrankung	0	1 (2,5%)	0,782
- Herpes Infektion	0	0	
- Entzündung der Atemwege	0	5 (12,5%)	0,515
- Magen-Darm Infektion	0	3 (7,5%)	0,623
- Haarausfall	0	6 (15%)	0,470
- Hautausschlag	1 (33,3%)	4 (10%)	0,224
- Lokale Symptome	3 (100%)	19 (47,5%)	0,079
- Diarrhoe	0	2 (5%)	0,692
- Grippeähnliche Symptome	2 (66,6%)	20 (50%)	0,578

- Gelenkschmerzen/Muskelschmerzen	2(66,66%)	12(30%)	0,191
- Gewichtsverlust/- zunahme	0	6(15%)	0,470

Tabelle 10: Rebif® mit vs. ohne induzierte Leukopenie: *Als EDSS Veränderung wird EDSS- bei Therapie Ende- EDSS bei Therapie Beginn bezeichnet. **Schubrate ist definiert als $\frac{\text{Schübeanzahl}}{\text{Jahre}}$. *** Eine subklinische Krankheitsaktivität ist gekennzeichnet durch eine MRT- Aktivität (neue T2 Läsionen oder KM aufnehmende Läsionen) die klinisch nicht bemerkbar ist.

4.9 Kaplan-Meier-Risiko Analyse für das Auftreten von Leukopenie und Neutropenie unter Plegridy® vs. Rebif®

Um das Risiko einer Leukopenie bzw. Neutropenie unter der Therapie mit Plegridy® bzw. Rebif® näher einzuordnen, wurden die Patienten anhand ihrer verlaufsmodifizierenden Therapie in zwei Gruppen eingeteilt, Plegridy® (n = 65) und Rebif® (n = 63). Es erfolgte eine Kaplan Meier - Risiko Analyse, um die zwei Interferon-Therapien hinsichtlich des Auftretens einer Leuko- bzw. Neutropenie miteinander zu vergleichen. Patienten unter Therapie mit Plegridy® zeigten ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von Leukopenien und Neutropenien im Vergleich zu Patienten unter Therapie mit Rebif® (Long- Rank- Test für Leukopenie ($p = 0,003$) und für Neutropenie ($p = 0,013$, siehe Abbildung 6)).

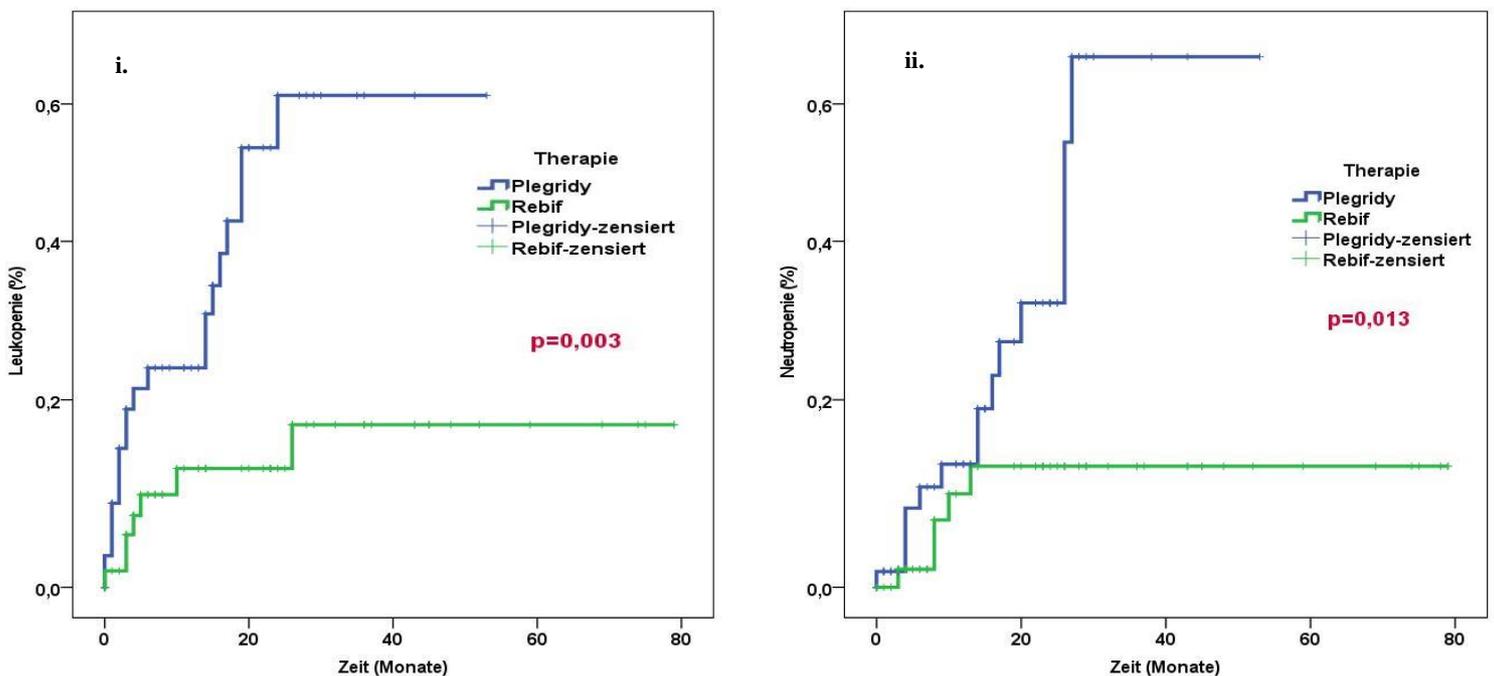


Abbildung 6: Kaplan Meier- Risiko Analyse: für das Auftreten von (i) Leukopenie und (ii) Neutropenie unter Therapie mit Plegridy® (n = 65, blau) und Rebif® (n = 63, grün). Im Long- Rank- Test zeigte sich $p = 0,003$ für das Auftreten einer Leukopenie und $p = 0,013$ für das Auftreten einer Neutropenie.

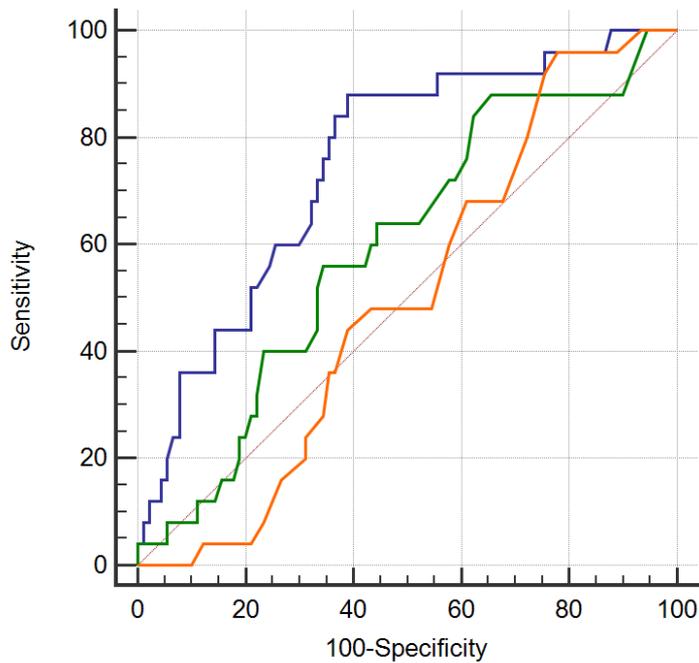
4.10 ROC-Analyse: Risikofaktoren für Leukopenie und Neutropenie unter Interferonen

Bei der Betrachtung der gesamten Kohorte (Plegridy® und Rebif®) stellte sich eine reduzierte Leukozytenzahl bei Therapiebeginn als Risikofaktor für das Auftreten einer Leukopenie unter Interferon-Therapie heraus. Eine reduzierte Leukozytenanzahl bei Therapiebeginn und die Dauer der Interferontherapie stellen Risikofaktoren für das Auftreten einer Neutropenie unter Interferon-Therapie dar.

Um das Risiko einer Leuko- und Neutropenie näher einordnen zu können führten wir eine ROC Analyse zur Identifizierung möglicher Risikofaktoren durch. Hinsichtlich der Leukopenie zeigten Leukozyten bei Therapiebeginn eine AUC von 0,751 (95% CI: 0,648-0,854, $p < 0,001$) mit einem Cutt-off-Wert von 6,99 Leukozyten/nL (Youden-Index). Als weitere Risikofaktoren wurden Therapiedauer und Alter bei Therapiebeginn mittels ROC-Analyse untersucht, wobei sich hier kein signifikanter Unterschied bezüglich der Korrelation mit einer Leukopenie nachweisen ließ (siehe Abbildung 7a).

In Bezug auf das Auftreten einer Neutropenie unter Interferon-Therapie zeigte die absolute Leukozytenzahl bei Therapiebeginn eine AUC von 0,644 (95% CI: 0,540-0,787, p -Wert: 0,032) mit einem Cutt-off-Wert von 6,55 Leukozyten/nL (Youden-Index). Die Therapiedauer konnte mittels ROC-Analyse mit einer AUC von 0,312 (95% CI: 0,199-0,425, p -Wert 0,013) ebenfalls Patienten identifizieren, die unter Interferon-Therapie eine Neutropenie entwickeln. Eine Therapiedauer von über 27 Monaten konnte als Cut-off-Wert anhand des Youden-Index der ROC-Kurve identifiziert werden. Insgesamt weisen Patienten mit einer längeren Therapiedauer ein höheres Risiko für die Entwicklung einer Neutropenie auf. Als weiterer Risikofaktor für die Entwicklung einer Neutropenie wurde das Alter bei Therapiebeginn untersucht, das in der ROC-Analyse keinen prädiktiven Nutzen zeigen konnte (siehe Abbildung 7b).

i.



Leukozyten Baseline

AUC: 0,751

P-Wert : < 0,001

95% CI: 0.648-0.854

Youden-Index $\leq 6,99$ Leukozyten/nL

Therapie Dauer

AUC: 0,588

P-Wert : 0,149

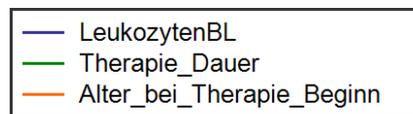
95% CI: 0.497-0.674

Alter bei Therapiebeginn

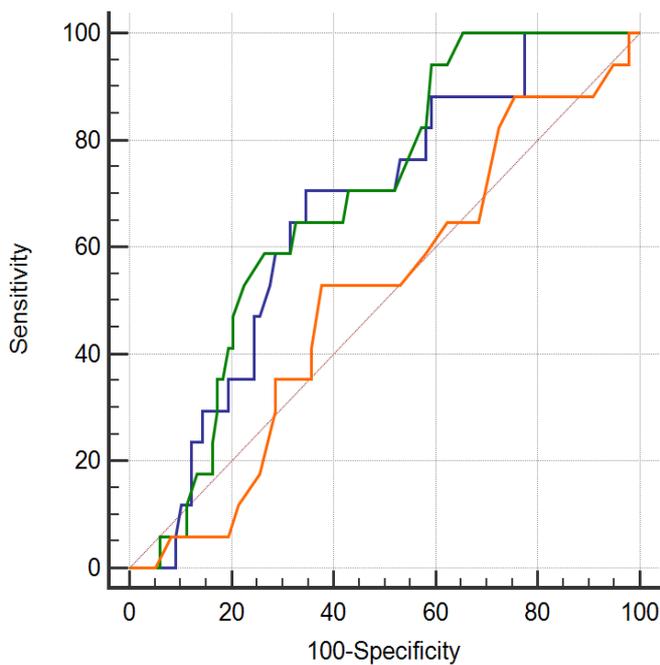
AUC: 0,500

P-Wert : 0,997

95% CI: 0.388-0.612



ii.



Leukozyten Baseline

AUC: 0,664

P-Wert : 0,032

95% CI: 0.540-0.787

Youden-Index $\leq 6,55$ Leukozyten/nL

Therapiedauer

AUC: 0,312

P-Wert : 0,013

95% CI: 0.199-0.425)

Youden-Index > 27 Monate

Alter bei Therapiebeginn

AUC: 0,509

P-Wert : 0,903

95% CI: 0.369-0.649



Abbildung 7 ROC Kurve – Vorhersage des Auftretens einer Leukopenie und einer Neutropenie: (i.) für Leukopenie (ii.) für Neutropenie. Area under the curve (AUC); receiver operating characteristic (ROC) ; 95% confidence interval (95%CI).

4.11 Kaplan-Meier-Risiko-Analyse: Der prognostische Wert der Leukozytenanzahl bei Therapiebeginn für die Entstehung von Leukopenie und Neutropenie

Um den prognostischen Wert der Leukozytenanzahl bei Therapiebeginn zu erläutern, führten wir anhand des zuvor bestimmten Cut-offs (Youden-Index der ROC-Analyse) eine Kaplan-Meier-Risiko Analyse durch. Dabei zeigte sich, dass Patienten mit einer Leukozytenzahl von $\leq 6,99/nL$ bei Therapiebeginn mit einem Interferon-Präparat ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer Leukopenie ($p < 0,001$) aufweisen. Außerdem stellten wir fest, dass Patienten mit einer Leukozytenzahl von $\leq 6,55/nL$ bei Therapiebeginn mit einem Interferon-Präparat ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer Neutropenie ($p = 0,007$) zeigen.

i.

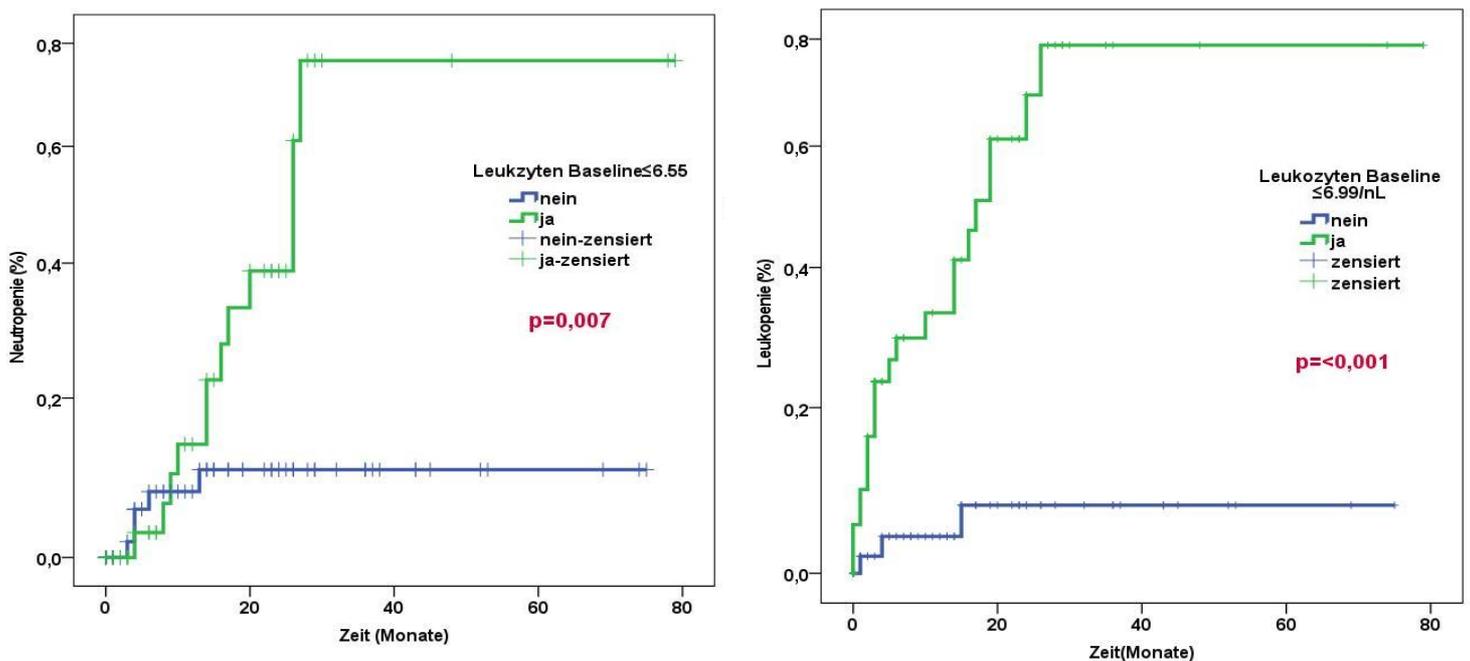


Abbildung 8: Kaplan Meier- Risiko- Analyse: für das Auftreten von (i) Leukopenie bei Patienten mit einer Leukozytenzahl vor Therapiebeginn $\leq 6,99/nL$ (grün) im Vergleich zu Patienten mit einer Leukozytenzahl vor Therapiebeginn $> 6,99/nL$ (blau); (ii) Neutropenie bei Patienten mit einer Leukozytenzahl vor Therapiebeginn $\leq 6,55/nL$ (grün) im Vergleich zu Patienten mit einer Leukozytenzahl vor Therapiebeginn $> 6,55/nL$ (blau).

4.12 Multivariable Analyse: Risikofaktoren für eine Leukopenie unter IFN Therapie

Um den Einfluss etwaiger Störfaktoren bei der Entstehung einer Leukopenie unter Therapie mit Interferon-Präparaten zu ermitteln, ergänzten wir die vorherigen Analysen um multivariable Modelle. Nach Adjustierung für die verschiedenen Einflussfaktoren mithilfe einer binären logistischen Regressionsanalyse waren lediglich die Verwendung von Plegridy® (im Vergleich zu Rebif®) sowie die absolute Leukozytenzahl vor Therapiestart signifikant mit der abhängigen Variable Leukopenie assoziiert (Odds ratio (OR) 7,746, CI 2,165-27,637, $p = 0,002$; bzw. OR 0,506, 95%-Konfidenzintervall (CI) 0,346-0,739, $p < 0,001$). Therapiedauer, Alter bei Therapiebeginn sowie Anzahl der vorherigen Therapien zeigten hingegen in diesem multivariablen Modell keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung einer Leukopenie (Abbildung 9). Auch in der Cox-Regressions-Analyse als Ergänzung zur ROC-Analyse verblieb Plegridy® (Hazard Ratio (HR) 0,256, CI 0,096-0,681, $p = 0,001$) neben der Leukozytenanzahl zu Studienbeginn (HR 0,580, CI 0,428-0,784, $p = < 0,001$) als unabhängiger Prädiktor für das Auftreten einer Leukopenie unter Therapie mit Interferon-Präparaten auch nach Adjustierung (Therapiedauer, Alter bei Therapiebeginn, Anzahl der Vortherapien) bestehen (s. Tabelle 11).

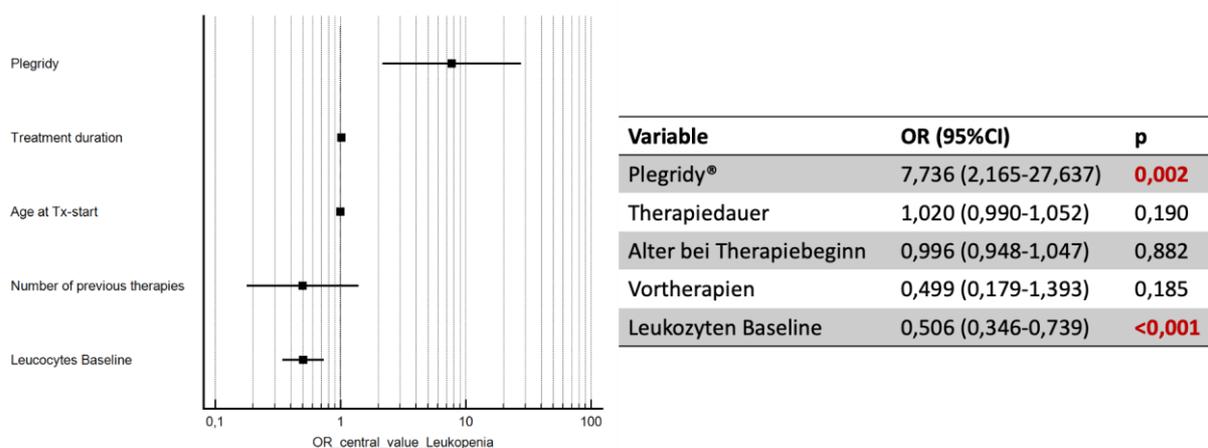


Abbildung 9: Multivariable Analyse mit dem Auftreten einer Leukopenie als abhängige Variable: Links: Forest-Plot zur Darstellung der ermittelten Odds Ratio (OR, Punkt) inkl 95% Konfidenzintervall (schwarze Linie). Rechts: Detaillierte Auflistung der Einflussfaktoren. Das binäre logistische Regressions-Modell ergab „Verwendung von Plegridy®“ (im Vergleich zu Rebif®) und „Leukozytenzahl bei Baseline“ als signifikante Prädiktoren für die abhängige Variable „Auftreten einer Leukopenie“ unter IFN Therapie. OR: Odds Ratio; CI: 95% confidence interval; Tx: medikamentöse Behandlung.

Variable	HR (95%CI)	P
Plegridy® vs. Rebif®	0,256 (0,096-0,681)	0,006
Therapiedauer	0,993 (0,964-1,022)	0,619
Alter bei Therapiebeginn	0,998 (0,961-1,037)	0,934
Vorthérapien (Anzahl)	0,649 (0,300-1,403)	0,272
Leukozyten Baseline	0,580 (0,428-0,784)	<0,001

Tabelle 11: Cox-Regressionsanalyse mit Leukopenie als abhängige Variabel. HR: Hazard Ratio; CI: 95% confidence interval

4.13 Multivariable Analyse: Risikofaktoren für eine Neutropenie unter IFN Therapie

Die durchgeführte multivariable Analyse ergab, dass sowohl die Behandlung mit Plegridy® (OR 7,231, 95%CI 1,721-30,391, $p = 0,007$) als auch die Anzahl der Leukozyten bei Studienbeginn (OR 0,0686, 95%CI 0,473-0,997, $p = 0,048$) unabhängige Prädiktoren für das Auftreten einer Neutropenie darstellen. Um das zeitabhängige Auftreten von Neutropenien unter dem jeweiligen Interferon-Präparat zu modellieren, führten wir zusätzlich eine Cox-Regressionsanalyse durch, die Plegridy® (HR 0,264, 95% CI 0,078-0,889, $p = 0,032$) und die Leukozytenanzahl zu Studienbeginn (HR 0,712, 95% CI 0,506-1,002, $p = 0,051$) als unabhängige Prädiktoren für das Auftreten einer Neutropenie bestätigen konnte (Tabelle 12).

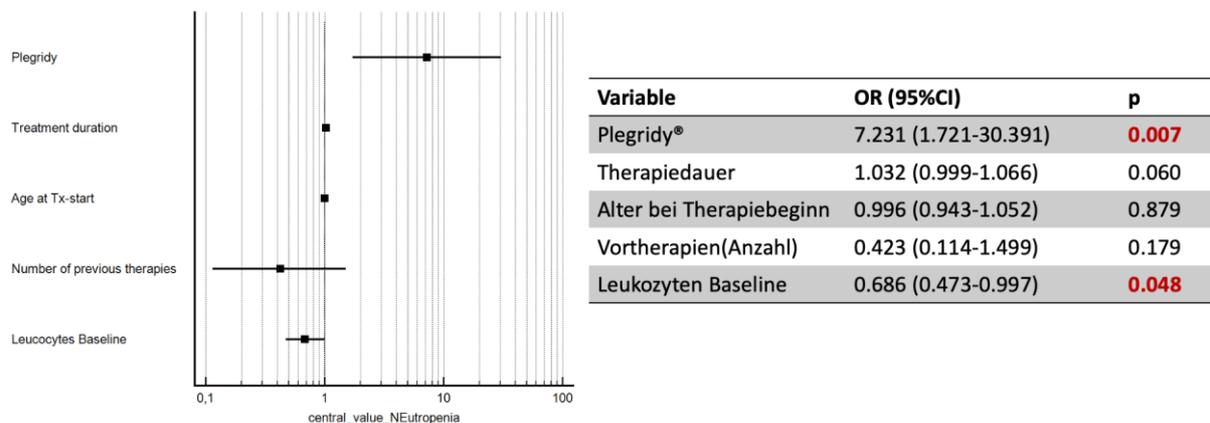


Abbildung 10: Multivariable Analyse mit dem Auftreten einer Leukopenie als abhängige Variable. Links: Forest-Plot zur Darstellung der ermittelten OR. Rechts: Detaillierte Auflistung der Einflussfaktoren. Das binäre logistische Regressions-Modell ergab „Verwendung von Plegridy®“ und „Leukozytenzahl bei Baseline“ als signifikante Prädiktoren für die abhängige Variable „Auftreten einer Neutropenie“ unter IFN Therapie. OR: Odds Ratio; CI: 95%-Konfidenzintervall; Tx: medikamentöse Behandlung.

Variable	HR (95%CI)	p
Plegridy® vs. Rebif®	0,256 (0,096-0,681)	0,006
Therapiedauer	0,993 (0,964-1,022)	0,619
Alter bei Therapiebeginn	0,998 (0,961-1,037)	0,934
Vorthérapien (Anzahl)	0,649 (0,300-1,403)	0,272
Leukozyten Baseline	0,580 (0,428-0,784)	<0,001

Tabelle 12: Cox-Regressionsanalyse mit Neutropenie als abhängige Variable HR: Hazard Ratio; CI: 95%-Konfidenzintervall.

5 Diskussion

5.1 Erstellung einer Biobank zum Monitoring von MS-Patienten unter immunmodulierender Therapie

Das erste Ziel dieser Arbeit war die Erstellung einer Biobank zur Erfassung des Sicherheitsprofils unterschiedlicher immunmodulierender Therapien zur Behandlung der Multiplen Sklerose sowie die Identifizierung von Biomarkern für das Therapie-Monitoring.

Unter Biobank versteht man zusammengefasst die professionelle Ablage von biologischen Proben kombiniert mit klinischen und epidemiologischen Daten [76]. Die Entwicklung von Biobanken hat sich in den letzten Jahrzehnten drastisch entwickelt. Aus einer Sammlung von wenigen Proben für bestimmte Projekte in einzelnen Universitäten hat sich heute eine weltweit vernetzte Struktur mit komplexen Techniken und hoch automatisiertem Management u.a. durch das Internet entwickelt [77]. Standard operating procedures (SOP) gewährleisten eine standardisierte Präanalytik in verschiedenen Zentren. Dazu zählen beispielsweise Anonymisierung, Proben-Erstellung, -Transport und -Vorbereitung [76, 78]. Unter anderem durch die nun bestehende Vergleichbarkeit auch im Multi-Center-Setting sind Biobanken heute ein sehr attraktives Tool für diverse Forschungsanliegen.

Es gibt bevölkerungsbasierte, krankheitsorientierte und Gewebe-Biobanken. Als Krankheitsorientiert gilt eine Biobank durch die Festsetzung von Inklusions- und Exklusionkriterien [76]. Die Entwicklung von Biobanken liefert einen wichtigen Beitrag zur Forschung in Bezug auf Pathogenese, Krankheitsverlauf und Therapien [79]. Insbesondere können wichtige Informationen über die Aktivität einer Erkrankung gesammelt werden, was darüber hinaus das Monitoring bestimmter Therapien ermöglicht.

Unser Ziel war eine krankheitsorientierte Biobank zu etablieren. Das wichtigste Inklusionskriterium war eine diagnostisch gesicherte MS. Eine neue immunmodulierende Therapie war ein zweites Einschlusskriterium. Als biologisches Material wurde den Patienten Blut abgenommen, das nach SOP verarbeitet und gelagert wurde. Ziel war es aus diesem Biomaterial einerseits einen etwaigen Biomarker der Erkrankung MS zu ermitteln und andererseits anhand diverser Laborparameter die Sicherheit der Immunmodulation zu analysieren. Außerdem wurde die Krankheitsaktivität sowohl klinisch in Form von geplanten Visiten, als auch subklinisch anhand von MRT-Aufnahmen zeitnah zur Probenentnahme untersucht und dokumentiert.

Im klinischen Alltag besteht das Monitoring von MS-Patienten aus i) der Anamnese mit ii) der klinischen Untersuchung, iii) aus dem subjektiven Patientenempfinden sowie iv) aus regelmäßigen MRT Kontrollen. Häufig ist das bildgebende Verfahren von der Art der Therapie

und dem Krankheitsverlauf abhängig. Ein Therapieansprechen wird in der Regel durch das Fehlen von klinischen Schubereignis, der radiologischen (MRT) Bildgebung und klinischen Untersuchungen definiert. Da eine MRT-Bildgebung zeitaufwendig und kostenintensiv ist, wird diese bei klinisch stabilen Patienten verständlicherweise mit einem gewissen Zeitabstand durchgeführt. Im Intervall zwischen diesen Untersuchungen besteht daher weiterhin das Risiko eine subklinische Krankheitsaktivität zu verpassen.

In den letzten Jahren haben sich die Therapiemöglichkeiten für Patienten mit MS enorm entwickelt. Nicht jeder Patient spricht im selben Umfang auf die jeweilige Therapie an. Anders als vor 20 Jahren gibt es nun jedoch eine Vielzahl von Medikamenten mit ähnlicher Effektivität, sodass im Falle eines Therapieversagens eine Umstellung des Therapeutikums individuell an den Patienten angepasst möglich ist. Um ein Ansprechen auf die Therapie regelmäßig in kurzen Intervallen überprüfen zu können, ist die Entwicklung eines kostengünstigen und einfach zu erhebenden Biomarkers notwendig. Dies gilt insbesondere auch zur zuverlässigen Detektion eines subklinischen Krankheitsprogresses. Ein solcher Biomarker ist entscheidend für die Erstellung von individuellen Therapiestrategien und stellt somit eine Grundlage für die personalisierte Versorgung von MS-Patienten dar [80].

Aktuell stellt NfL den der am meisten erforschten Biomarker dar, welcher über ein großes Potential zur Unterstützung des klinischen und radiologischen Monitorings bei Patienten mit MS verfügt. Obwohl mehrere Studien zeigen konnten, dass sNfL mit Krankheitsaktivität und -progression korreliert, wird diese Methode weiterhin noch nicht flächendeckend im klinischen Alltag eingesetzt [7, 81].

In unserer Biobank wurden 142 MS-Patienten eingeschlossen, die von 2017 bis 2020 mit einer neuen immunmodulierenden Therapie begonnen haben. Dabei waren unter anderem 53 Patienten unter der Therapie mit Ocrelizumab, 17 mit Natalizumab, 12 mit Fingolimod, 12 mit Siponimod und 6 mit Interferonen.

Patienten, welche eine intravenöse Therapie beispielsweise mit Natalizumab und Ocrelizumab erhalten, kommen in regelmäßigen Abständen für die Infusionstherapie in das behandelnde Zentrum. Die klinischen Vorteile einer Interferon- oder Fingolimodtherapie, welche in der Selbstständigkeit bei der Medikamenten-Applikation und einer geringen Anzahl notwendiger Kontrolluntersuchungen bestehen, erweisen sich beim Aufbau einer Biobank als nachteilig. Bei Medikamenten mit peroraler Einnahme ist die Anzahl der Kontakte zwischen Patient und Behandler deutlich geringer, was ein regelmäßiges Monitoring mit klinischer Untersuchung und Blutentnahme deutlich erschwert.

Auch die Probensammlung bei Patienten mit akuter Krankheitsaktivität hat sich als kompliziert erwiesen. Im Studienprotokoll war ursprünglich die Probeentnahme für sNfL-Messungen sowie die klinische Evaluation während eines neu aufgetretenen Schubes geplant. Viele Patienten waren während des akuten Ereignisses jedoch nicht bei uns im Zentrum vorstellig,

sodass die strukturierte Probenentnahme und klinische Untersuchung gemäß des Protokolls erst beim nächsten geplanten Termin möglich war. Nach aktueller Studienlage bleibt der sNFL Spiegel jedoch bis zu 90 Tage nach Schub erhöht [56], sodass wir Proben innerhalb dieses Zeitraumes als mit einem akuten Ereignis assoziiert gewertet haben.

5.2 Sicherheit unter immunmodulierender Therapie bei MS

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit und der Biobank war die Erfassung der Sicherheit von Patienten unter immunmodulierender Therapie.

Die Erweiterung der verfügbaren Therapieoptionen bei MS ermöglicht die Personalisierung und Anpassung der Behandlung im klinischen Alltag. Durch Risiko–Nutzen–Abwägung erfolgt die Patienten-individualisierte Auswahl der Therapie [82] .

Interferon- β Präparate werden häufig bei Patienten mit erstmaligem demyelinisierendem Ereignis oder bei Patienten mit mild-verlaufender schubförmiger MS eingesetzt. Drei Interferon Präparate, Betaferon®, Rebif® und Extavia®, sind formell auch bei SPMS zugelassen. Bereits 1993 zeigte sich bei Patienten unter IFN-Therapie eine Reduktion der Schubrate sowie eine Verlangsamung der Krankheitsprogression [83].

Der Einsatz von Plegridy® seit 2014 zeigte auch eine Wirksamkeit im Hinblick auf Schubrate und Behinderungsprogression [84]. Somit gilt eine Interferontherapie weiterhin als Grundlage der Therapie von KIS und milden RSMS Formen. Der langjährige Einsatz von mittlerweile über 25 Jahren gibt sowohl den Patienten als auch den Behandlern eine gewisse Sicherheit hinsichtlich möglichen UAW, insbesondere auch unter langjähriger Interferon-Therapie [85]. Außerdem ermöglicht die Applikationsform eine gewisse Selbständigkeit für die Patienten. Dies bedeutet jedoch auch, dass die Notwendigkeit einer Vorstellung des Patienten in der Klinik in diesem Patientenkollektiv seltener ist als bei anderen Präparaten.

Bei den bisher durchgeführten Sicherheitsprofilanalysen der Medikation mit Interferon- β -Präparaten mit über 16 Jahren Follow-up zeigten sich neben den bisher bereits bekannten UAW keine neuen Komplikationen. Die Patienten sind aufzuklären über grippeähnliche Symptome, Kopfschmerzen, lokale Symptome an der Applikationsstelle sowie Müdigkeit und Depression. Nichtsdestotrotz sind diese UAW meistens reversibel und kontrollierbar [74, 86]. Außerdem zeigen Studien, dass es bei Patienten mit vorbekannter Depression zu einer Verstärkung der depressiven Symptomatik kommen kann [87]. Laborchemisch zeigte sich eine Reduktion von Neutrophilen, Thrombozyten und seltener von Lymphozyten sowie eine Erhöhung der Transaminasen. Allerdings zeigen systematische Metaanalysen, dass nicht ein Therapieversagen, sondern Nebenwirkungen der Hauptgrund für das Absetzen der Therapie mit Interferon innerhalb der ersten zwei Jahre sind [88].

Das Plegridy Observational Program (POP) ist eine laufende Phase IV real world Studie über die Sicherheit und Effektivität von subkutan appliziertem Peginterferon β -1a bei RRMS-Patienten. Die vorläufigen Ergebnisse zeigten bis jetzt ein ähnliches Nebenwirkungsprofil wie in den Zulassungstudien ADVANCE/ATTAIN berichtet [84, 89]. Die am häufigsten gemeldeten UAWs waren die bereits bekannten grippeähnlichen Symptome sowie lokale und muskuloskeletale Schmerzen. Das Vorkommen von grippeähnlichen Beschwerden und lokalen Symptomen an der Applikationsstelle führten statistisch signifikant zu einem frühzeitigen Abbruch der Therapie im Vergleich zu Patienten ohne diesen Beschwerdekomples [90].

Die ADVANCE Studie zeigte, dass es im Vergleich zu der Placebo-Gruppe in der Verum-Gruppe bei einer großen Anzahl von Patienten zu einer Reduktion hämatologischer Parameter kam. Diese wurden jedoch als nicht klinisch relevant beschrieben. Eine Reduktion der Leukozyten unter $3 \times 10^9/L$ zeigte sich bei 7% der Patienten mit zweiwöchiger Plegridy-Applikation und lediglich bei 4% der Patienten mit 4-wöchigem Therapie-Intervall [84].

Bei zwei weiteren Phase I Studien wurde bei gesunden Probanden die Sicherheit von unterschiedlichen Dosen und Applikationswegen von PEG-IFN β 1a untersucht. In beiden Studien zeigten sich keine schweren UAW oder Todesfälle. Laborchemisch wurde hier ein transients Abfall der Neutrophilen und Leukozyten beobachtet. Eine Leukopenie trat im Vergleich zur Therapie mit IFN β -1a häufiger unter PEG-IFN β -1a auf. Auch hier war die Frequenz von Blutbildveränderungen vom Therapie-Intervall abhängig. So trat eine Neutropenie von <1500 Zellen/ mm^3 vermehrt bei zweiwöchiger im Vergleich zu vierwöchiger Applikation von PEG-IFN β -1a auf. Ein Grund für das Auftreten von Leukopenien unter IFN-Therapie könnte die Hochregulation von Chemokinen seien, die zu einer Einwanderung der Lymphozyten in sekundäre Lymphorgane führt [73].

Interferon β gehört gemeinsam mit Interferon α zu den Typ I Interferonen. Dieser Typ von Interferonen ist im Körper bekannt für die antivirale Aktivität, die Suppression der Tumorzellproliferation und die Modulation des angeborenen und erworbenen Immunsystems. Diese Funktion führte zu der Entwicklung therapeutischer IFN-Substanzen. Neben den bereits erwähnten IFN- β Präparaten, die für die Therapie von RRMS zugelassen sind, wird IFN- α in anderen Fachdisziplinen beispielsweise für die Therapie der chronischen Hepatitis C eingesetzt. Die Unterschiede zwischen diesen zwei Subtypen sind eher quantitativer als qualitativer Natur [91].

Im Vergleich zur Studienlage und Analyse des Nebenwirkungsprofils von Leukopenien unter IFN β bei Patienten mit MS ist die Studienlage von Leukopenie und Neutropenie unter IFN- α bei Hepatitis C deutlich umfangreicher.

Zur Therapie der chronischen Hepatitis C wird unter anderem PEG-IFN α und Ribavirin eingesetzt [92]. Allerdings beträgt die Dosierung hier 180 μ g einmal die Woche, während die

Dosierung von Plegridy® bei RRMS lediglich bei 125µg alle 2 Wochen liegt. Häufige hämatologische Veränderungen wie Anämie, Neutropenie und Thrombozytopenie führen auch bei der Hepatitis-Behandlung zu einer Dosisreduktion respektive dem Absetzen der Therapie. Die Therapie mit Interferon ist verantwortlich für das Absinken von Leukozyten (Neutrophilen und Lymphozyten) und die pegylierte Form führt zu einer drastischeren Neutropenie im Vergleich zu der nicht pegylierten Form [93, 94]. Der Hauptmechanismus für das Auftreten einer Leukopenie oder Thrombozytopenie scheint die Knochenmarksuppression durch die Inhibition der Proliferation von Vorläuferzellen im Knochenmark zu sein [95]. Höhere Dosen von Interferonen zeigen eine erhöhte Inzidenz einer Panzytopenie. Das Absinken findet meistens bereits in den ersten zwei Wochen statt und normalisiert sich nach Absetzen der Therapie [96]. Eine Kombinationstherapie von Peg-IFN α -2a/b und Ribavirin für über 48 Wochen führt bei 4-12% der Patienten zu einer schweren Neutropenie, definiert als eine absolute Neutrophilen-Anzahl von $<0,5 \times 10^9$ Zellen/L. Eine derart schwere Neutropenie hat u.a. ein erhöhtes Infektionsrisiko zur Folge. Aus diesem Grund wurde der Zusammenhang von Neutropenie und Infektionen bei einer PEG-IFN basierten Therapie umfangreich untersucht. Bei der IDEAL Studie kam es bei 35,6% der Patienten, die eine kombinierte Therapie mit PEG-IFN und Ribavirin für 48 Wochen bekommen haben, zu einer Infektion. Die meisten Betroffenen zeigten eine milde (46,8%) bis moderate (47,6%) Infektion. Die am häufigsten identifizierten pathogenen Keime waren Influenza-Viren, Herpes-Viren, Staphylokokken und Candida. Eine niedrigere Dosis von PEG-IFN zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied bezogen auf das Auftreten moderater, schwerer oder lebensbedrohlicher Infektionen. In dieser Studie zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Infektion und Neutropenie. Allerdings zeigte sich ein Zusammenhang zwischen Therapie-induzierter Lymphozytopenie und dem Auftreten von Infektionen, sodass eine Lymphozytopenie ein wichtiger Marker für ein erhöhtes Risiko für moderate, schwere oder lebensbedrohliche Infektionen zu sein scheint [94].

Zusammengefasst deutet die Literatur auf eine interferoninduzierte Leukopenie bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis C hin. Zudem wurde beobachtet, dass das Auftreten einer Leukopenie vermehrt zu Infektionen führen kann. Allerdings sind ca. 95% der Infektionen einem leichten bis moderaten Schweregrad zu zuordnen. Nichtsdestotrotz sind diese Daten für eine Interferon-induzierte Leukopenie bei HCV-Infektion nicht analog auf MS Patienten übertragbar. Die Leber spielt eine wichtige Rolle bei der Apoptose von Neutrophilen [95]. Somit könnte eine Leberfunktionsstörung bei HCV-Infektion hier einen möglichen Confounder darstellen. Darüber hinaus unterscheiden sich die Therapie-Schemata der Typ I- und insbesondere der PEG-Interferone hinsichtlich ihrer Dosierung.

In der vorliegenden Arbeit konnten wir zeigen, dass Patienten unter einer Therapie mit Interferon- β und insbesondere unter Plegridy® eine erhöhte Inzidenz von Leukopenien

aufwiesen. Das führte uns zu weitergehenden retrospektiven Analysen und dem Vergleich von Patienten unter Rebif® und Patienten unter Plegridy®. Ziel war es zu ermitteln, ob Patienten unter Plegridy® ein erhöhtes Risiko für das Vorkommen einer Leukopenie haben. Darüber hinaus stellte sich die Frage, ob eine aufgetretene Leukopenie einen Einfluss auf die Krankheitsaktivität hat. Zuletzt erfolgte telefonisch die Durchführung eines Fragebogens zur Feststellung, ob eine bestehende Leukopenie klinische Relevanz hat indem etwaig aufgetretene UAW unter der Therapie telefonisch abgefragt wurden.

Zusammengefasst zeigt sich unter der Therapie mit Plegridy® eine signifikant reduzierte Leukozytenzahl ($p = 0,046$), sowie ein vermehrtes Auftreten sowohl von Leukopenien (30,8%; $p = 0,006$) als auch von Neutropenien (21,5%; $p = 0,03$).

Des Weiteren zeigen unsere Ergebnisse, dass eine mögliche Leukopenie keinen Effekt auf die Krankheitsprogression hat. Hier zeigte sich weder ein Unterschied im EDSS-Verlauf im Beobachtungszeitraum noch bei der subklinischen Krankheitsaktivität und Schubrate.

In der POP- Studie zeigten sich bei 45% der Patienten grippeähnliche Symptome und somit deutlich seltener als in der in dieser Arbeit untersuchten Kohorte (86,3%). Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine Erinnerungsverzerrung (Recall- Bias) aufgrund des retrospektiven Studiendesigns sein. Die Reduktion der Leukozyten bei 30,7% der Patienten unter pegylierter Interferon-Therapie mit Plegridy® stellt eine häufigere Frequenz als in der ADVANCE-Studie dar (hier 7% der Patienten mit zweiwöchiger Plegridy-Applikation und bei 4% der Patienten mit 4-wöchigem Therapie-Interval). Allerdings wurde bei der ADVANCE-Studie eine Leukopenie als eine absolute Leukozytenzahl unter $3 \times 10^9/L$ definiert (In der vorliegenden Arbeit wurden absolute Leukozytenwerte $< 3,5 \times 10^9/L$ als Leukopenie eingeordnet).

Die Ursache der erhöhten Frequenz von Leukopenien und insbesondere der Abfall der Neutrophilen nach Applikation von Plegridy® bleibt weiterhin unklar. Die Ergänzung eines polyethylen glycol Molekül an IFN β -1a führt zu einer Vergrößerung des Moleküls. Das führt weiterhin zu einem Abfall der glomerulären Filtrationsrate des Moleküls sowie zu einer verlängerten Halbwertszeit. Diese Mechanismen ermöglichen das zweiwöchige Applikationsschema von Plegridy® [73, 84]. Unsere Vermutung ist, dass die verlängerte Verweildauer im Körper eine längere Interaktion von Immunsystem bzw. Leukozyten und Medikament zur Folge hat. Dies führt dazu, dass mehr Leukozyten bzw. Neutrophile zu Grunde gehen. Zur genaueren Klärung der Ätiologie der vermehrten Leukopenien bei Patienten unter Plegridy® im Vergleich zu Patienten unter Rebif® wäre eine prospektive Analyse mit unterschiedlichen Applikationsintervallen nötig.

Unsere telefonische Erfragung von UAW oder Zeichen von Immunschwäche ergab, dass Patienten unter Plegridy® häufiger an Herpesinfektionen erkranken ($p = 0,043$) und häufiger Nebenwirkungen beschreiben als Patienten unter Rebif®. Dies waren zum Beispiel lokale

Symptome an der Injektionsstelle ($p = 0,002$), grippeähnliche Symptome und Gelenkschmerzen/ Muskelschmerzen ($p < 0,001$). Patienten mit Leukopenie zeigten zudem ein vermehrtes Auftreten von Pilzkrankungen sowie Gelenkschmerzen/Muskelschmerzen ($p = 0,002$ bzw. $p = 0,033$).

Es ist wichtig zu erwähnen, dass die aktuellen Empfehlungen des krankheitsbezogenen Kompetenznetzes Multiple Sklerose (KKNMS) während der Therapie mit Interferon- β eine Basislabor-Untersuchung oder ein Differentialblutbild nicht als obligat, sondern als fakultativ empfehlen. Im Vergleich zu anderen verlaufsmodifizierenden Medikamenten sind somit regelmäßige Laboruntersuchungen lediglich bei Interferonpräparaten und Glatiramacetat nicht obligat.

Unsere Beobachtungen legen auch unter einer Therapie mit Plegridy® obligate laborchemische Kontrollen inkl. Leukozytenzahl und Differentialblutbild mit genauer Neutrophilenanzahl nahe. Unsere Analyse zeigt, dass eine niedrigere Zahl von Leukozyten bei Therapiebeginn ein erhöhtes Risiko für eine mögliche Leukopenie bzw. Neutropenie darstellt. Darüber hinaus weisen unsere Ergebnisse darauf hin, dass eine Leukopenie nach 7 Monaten auftritt. Bei Patienten mit niedrigen Ausgangswerten der Leukozyten $< 6,99$ Leukozyten/nL war das Risiko für das Auftreten einer Leukopenie signifikant ($p < 0,001$) erhöht. Dies galt ebenfalls für das Auftreten einer Neutropenie bei Ausgangswerten von weniger als $6,55$ Leukozyten/nL ($p = 0,007$). Anhand der oben genannten Ergebnisse ist eine obligate laborchemische Blutbildkontrolle mitsamt Differentialblutbild vor Therapiebeginn zu empfehlen. Patienten mit einer absoluten Leukozytenzahl unter einem bestimmten Cut-off-Wert (in der vorliegenden Studie unter $6,55$ Leukozyten/nL) könnten auf diese Weise vor Therapiebeginn als Risikopatienten identifiziert und engmaschiger kontrolliert werden. Wir schlagen eine erneute laborchemische Kontrolle 4 Wochen nach Therapiestart und im Anschluss vierteljährliche Kontrollen vor. Bei diesen Patienten sollte das Nebenwirkungsprofil darüber hinaus engmaschig überwacht werden, um unter anderem die häufige auftretende opportunistischen Infektionen frühzeitig zu detektieren und leitliniengerecht behandeln zu können (s. Abbildung 11). Bei Patienten mit normwertiger Leukozytenzahl bei Therapiebeginn halten wir eine vierteljährliche Verlaufskontrolle für ausreichend.

Für die Beantwortung der Frage, ob beim Auftreten einer Leukopenie unter Plegridy die Immunmodulation fortgesetzt werden kann, sollte die klinische Relevanz sowie das individuelle Nebenwirkungsprofil herangezogen werden, da ein Verbleiben der Leukozyten im niedrigen Bereich beim Fortsetzen der Therapie wahrscheinlich ist.

Zu Bedenken bleibt, dass eine obligate Verlaufskontrolle unter Plegridy® oder generell unter Interferon- β die Selbstständigkeit von Patienten reduziert. Das könnte dazu führen, dass die Akzeptanz von Interferonpräparaten abnimmt und Patienten und Behandler sich für eine

vergleichbare immunmodulierende Therapie mit Verlaufskontrollen in ähnlichen Zeitintervallen entscheiden.

In der vorliegenden Arbeit wurden nur retrospektive Daten analysiert, sodass keine Rückschlüsse auf die Ätiologie einer möglichen Leukopenie bei Patienten unter Plegridy® gezogen werden können. Weitere prospektive longitudinale Studien mit einer Blutentnahme direkt nach Applikation von Plegridy® und Rebif® sind notwendig, um diesen Zusammenhang genauer zu erforschen. Eine parallele Abfrage potenzieller UAW könnte so die Entscheidung für eine mögliche Medikamentenumstellung unterstützen.

Laborchemisches Monitoring unter Interferon - β Therapie

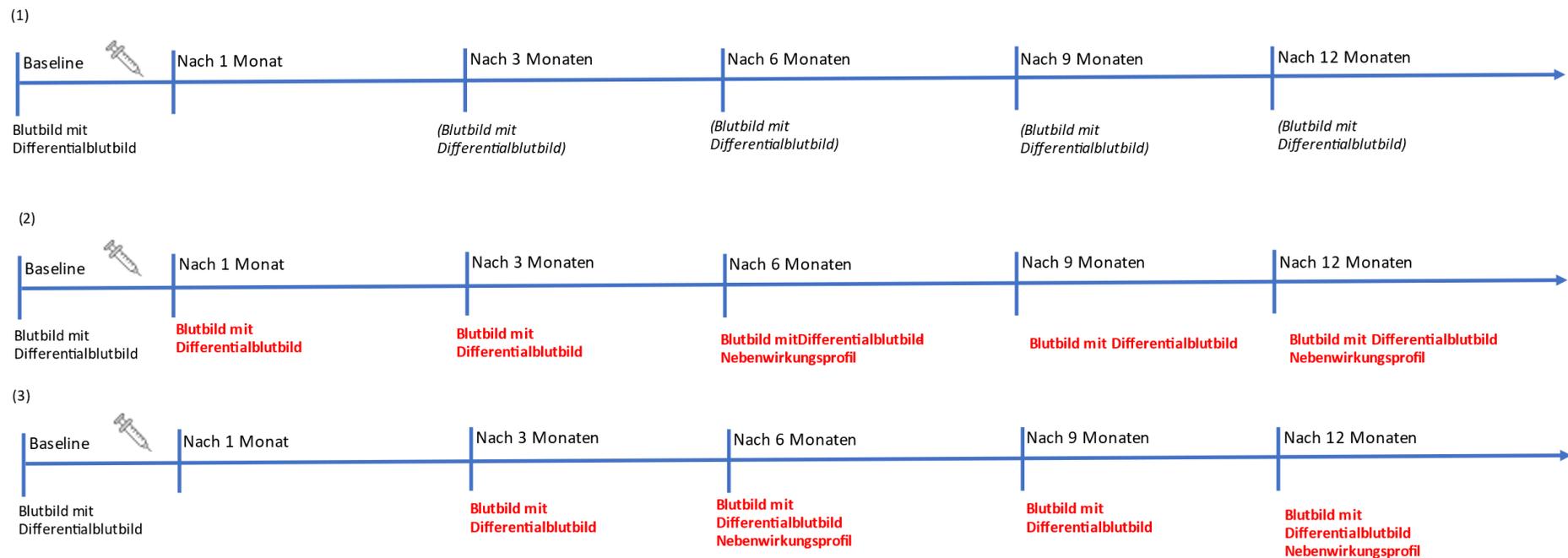


Abbildung 11: Laborchemisches Monitoring unter Interferon- β : (1) Aktuelles empfohlenes Monitoring anhand des krankheitsbezogenen Kompetenznetzes Multiple Sklerose (KKNMS) (*Blutbild mit Differentialblutbild als fakultativ*). (2) Empfehlung bei niedrigen Leukozytenzahl bei Baseline- **Blutbild mit Differentialblutbild als obligat**. (3) Empfehlung bei normalen Leukozytenzahl bei Baseline- **Blutbild mit Differentialblutbild als obligat**.

6 Zusammenfassung

Die Multiple Sklerose ist die häufigste chronisch-entzündliche ZNS-Erkrankung im jungen Erwachsenenalter. Die raschen Fortschritte und neuen Erkenntnisse in der Pathogenese der Erkrankung führten zu mehreren neuen Therapiemöglichkeiten in den letzten Jahren. Die Sammlung von Proben und klinischen Daten im Rahmen einer Biobank können dazu beitragen, über Biomarker die individuelle Krankheitsaktivität zu monitoren. Wichtig ist dabei, die Krankheitsprogression durch einfache Mittel zu erfassen, das Therapieansprechen zu bestimmen sowie die Sicherheit unter der immunmodulierenden Therapie zu beobachten.

In dieser Arbeit konnten Proben und Daten von insgesamt 142 MS-Patienten gesammelt werden. Hierbei erfolgte die erste Blutentnahme vor Beginn einer immunmodulierenden Therapie, um potentielle Marker für das Ansprechen einer Therapie sowie die Sicherheit der Therapie zu identifizieren. Desweiteren konzentrierte sich diese Arbeit auf die Sicherheit und mögliche unerwünschte Arzneimittelwirkungen unter der Therapie verschiedener Interferone- Präparate: nicht-pegyliertes Interferon Rebif® und pegyliertes Interferon Plegridy®. Wir konnten zeigen, dass Patienten unter einer Therapie mit Plegridy® signifikant häufiger eine Leukopenie und Neutropenie entwickelten als unter einer Therapie mit Rebif®. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Leukopenie bzw. Neutropenie weder unter Plegridy® noch unter Rebif® einen Effekt auf die Krankheitsprogression hatte. Wir untersuchten mehrere Faktoren, die zur Entwicklung einer Leukopenie oder Neutropenie unter Interferon-Therapie beitragen können. Hierzu wurden das Alter bei Therapiebeginn, die Therapiedauer, Vortherapien und die Leukozytenzahl vor Therapiebeginn berücksichtigt. Dabei konnte die Leukozytenzahl vor Therapiebeginn als ein möglicher Prädiktor für das Auftreten einer Leukopenie und Neutropenie unter Therapie mit Interferon-Präparaten identifiziert werden. Schließlich konnten wir durch die Durchführung eines telefonisches Fragenbogens das Auftreten von möglichen unerwünschten Arzneimittelwirkungen ermitteln und einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Leukopenie und Infektionen aufzeigen.

Zusammenfassend zeigt diese Arbeit die Bedeutung und die Schwierigkeiten in der Erstellung einer krankheitsbezogenen Biodatenbank. Zum anderen konnte ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von Neutropenien und Leukopenien unter Therapie mit dem pegylierten Interferon-Präparat Plegridy® im Vergleich zu nicht-pegyliertem Rebif® bei MS-Patienten aufgezeigt werden, welche mit dem Auftreten von Infektionen assoziiert waren. Anhand der Ergebnisse sind direkte Empfehlungen für das klinische Monitoring von MS-Patienten unter Immuntherapie mit Interferon-Präparaten ableitbar, um dem Auftreten einer Leukopenie bzw. Neutropenie vorzubeugen bzw. diese frühzeitig zu erkennen.

Anhang

Anhang 1: Fragebogen über Nebenwirkung unter Immunmodulation

Nebenwirkungen unter Immunmodulation						
Name:			Vorname:			
Geb-Datum			Größe (cm)		Gewicht (kg)	
Datum des Interviews:						
1. Verlaufsmodifizierende Therapie mit Interferonen						
Wirkstoff	Beginn		Ende		Grund für Therapieende	
	Monat	Jahr	Monat	Jahr		
Avonex®:					Krankheitsaktivität klinisch, subklinisch Unverträglichkeit: Laborwertveränderungen:	
Rebif®:					Krankheitsaktivität klinisch, subklinisch Unverträglichkeit: Laborwertveränderungen:	
Betaferon®:					Krankheitsaktivität klinisch, subklinisch Unverträglichkeit: Laborwertveränderungen:	
Plegridy®:					Krankheitsaktivität klinisch, subklinisch Unverträglichkeit: Laborwertveränderungen:	
2. Aktuelle verlaufsmodifizierende Therapie						
Wirkstoff	Beginn		Dosis	Regelmäßige Einnahme?		
	Monat	Jahr				
3. Wurden folgende Erkrankungen ärztlich diagnostiziert						
Infektionserkrankungen	Nein	Ja	Datum Monat/Jahr	Nicht bekannt	Medikamentöse Behandlung	
					Nein	Ja
Hepatitis B oder C						
HIV-Infektion						
Tuberkulose						
Andere opportunistische Infektionen						
Pilzkrankungen?						
Lokalisation?						
Herpes-Infektion Lokalisation?						

Gürtelrose?						
Lokalisation?						
Lungenentzündung						
Entzündung der oberen Atemwege						
Mandelentzündung						
Nasen-Neben-Höhlen-Entzündung						
Magen-Darm-Infektion						
Andere Infektionserkrankungen						
Blutbild/Laborveränderungen	Nein	Ja	Datum Monat/Jahr	Nicht bekannt	Medikamentöse Behandlung	
					Nein	Ja
Anämie						
Lymphopenie						
Leukopenie						
Neutropenie						
Gerinnungsstörungen						
Myelodysplastisches Syndrom						
Auffälligkeit bei Lebertest(s)						
Auffälligkeit bei Nierentest(s)						
Andere Blutbild/Laborveränderungen						
Allgemeine Symptome	Nein	Ja	Datum Monat/Jahr	Nicht bekannt	Medikamentöse Behandlung	
					Nein	Ja
Haarausfall						
Hautausschlag						
- Lokalisation						
- Dermat. Vorstellung erfolgt						
- Diagnose						
Lokale Symptome bei s.c. oder i.v. verabreichten Medikamenten (z.B. Entzündung, Nekrosen an der Injektionsstelle)						
Diarrhoe (<3 Tage Durchfall)						
Grippeähnliche Symptome						
Gelenkschmerzen, Muskelspastiken						

Gewichtsverlust oder – zunahme (>5 kg)						
4. Schwangerschaft	Nei n	J a	Datum			
Schwangerschaft-Verlauf						
Fehlbildungen						

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Lebenslauf

Geboren: Am 11.11.1995 in Göttingen

Staatsangehörigkeit: Zyprisch

Bildungsweg: 10/2013 – 05/2020

Studium der Medizin

Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

- 1. Staatsexamen, März 2016 -befriedigend-
- 2. Staatsexamen, April 2019 -befriedigend-
- 3. Staatsexamen, Mai 2020 -befriedigend-

09/2010 – 06/2013

Kykkos B´Lyzeum Nicosia, Zypern

- Abschlussnote: 1,1

Praktische

Erfahrung:

Seit dem 01/10/2020

- Assistenzärztin an der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Mainz
 - Stroke Unit (10/2020-12/2021) und 11/2022
 - Normalstation (seit 01/2022-10/2022)
 - Ambulanz für chronischen entzündlichen ZNS Erkrankungen seit 12/2022

05/2019 – 04/2020

Praktisches Jahr: Universitätsmedizin Mainz

- Wahlfach: Neurologie

- Innere Medizin
- Chirurgie

Wissenschaftliche Aktivität: Wissenschaftliche Hilfskraft, Neurologie Universitätsmedizin Mainz, Neuroimmunologie

- 10/2018- 03/2019: betreut von Dr. med. Vinzenz Fleischer
- 10/2019- 03/2020: betreut von PD Dr. med. Felix Lüssi

Publikationen: Engel S*, Protopapa M*, Steffen F, Papanastasiou V, Nicolaou C, Protopapas M, Zipp F, Bittner S, Luessi F. Implications of extreme serum neurofilament light chain levels for the management of patients with relapsing multiple sclerosis. Ther Adv Neurol Disord. 2021 Apr 20

Soziales Engagement: seit 2005: Pfadfindermittglied, Gruppenführer

- Sprachkenntnisse:**
- Griechisch- Muttersprache
 - Deutsch – fließend in Wort und Schrift
 - English – gute Kenntnisse

Interessen: Volleyballspielerin im Verein TV- Kostheim I

Literatur

1. Dobson, R. and G. Giovannoni, *Multiple sclerosis - a review*. Eur J Neurol, 2019. **26**(1): p. 27-40.
2. Klineova, S. and F.D. Lublin, *Clinical Course of Multiple Sclerosis*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2018. **8**(9).
3. Kingwell, E., et al., *Incidence and prevalence of multiple sclerosis in Europe: a systematic review*. BMC Neurol, 2013. **13**: p. 128.
4. Howard, J., S. Trevick, and D.S. Younger, *Epidemiology of Multiple Sclerosis*. Neurol Clin, 2016. **34**(4): p. 919-939.
5. Walton, C., et al., *Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition*. Mult Scler, 2020. **26**(14): p. 1816-1821.
6. Doshi, A. and J. Chataway, *Multiple sclerosis, a treatable disease*. Clin Med (Lond), 2016. **16**(Suppl 6): p. s53-s59.
7. Bittner, S., et al., *The potential of serum neurofilament as biomarker for multiple sclerosis*. Brain, 2021. **144**(10): p. 2954-2963.
8. Ziemssen, T., K. Akgün, and W. Brück, *Molecular biomarkers in multiple sclerosis*. J Neuroinflammation, 2019. **16**(1): p. 272.
9. Zettl, U.K., et al., *Interferon β -1a and β -1b for patients with multiple sclerosis: updates to current knowledge*. Expert Rev Clin Immunol, 2018. **14**(2): p. 137-153.
10. Murray, T.J., *The history of multiple sclerosis: the changing frame of the disease over the centuries*. J Neurol Sci, 2009. **277** Suppl 1: p. S3-8.
11. Landtblom, A.M., E. Granieri, and S. Fredrikson, *[Augustus d'Este--the first documented case of MS]*. Lakartidningen, 2007. **104**(26-27): p. 2009-11.
12. Flamm, E.S., *The neurology of Jean Cruveilhier*. Med Hist, 1973. **17**(4): p. 343-55.
13. Thormann, J. and H. Steinberg, *Friedrich Theodor von Frerichs (1819-1885)*. J Neurol, 2014. **261**(1): p. 248-9.
14. Gomes Mda, M. and E. Engelhardt, *Jean-Martin Charcot, father of modern neurology: an homage 120 years after his death*. Arq Neuropsiquiatr, 2013. **71**(10): p. 815-7.
15. Kumar, D.R., et al., *Jean-Martin Charcot: the father of neurology*. Clin Med Res, 2011. **9**(1): p. 46-9.
16. Ebers, G.C., A.D. Sadovnick, and N.J. Risch, *A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis*. Canadian Collaborative Study Group. Nature, 1995. **377**(6545): p. 150-1.
17. Young, I.R., et al., *Nuclear magnetic resonance imaging of the brain in multiple sclerosis*. Lancet, 1981. **2**(8255): p. 1063-6.
18. Hemond, C.C. and R. Bakshi, *Magnetic Resonance Imaging in Multiple Sclerosis*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2018. **8**(5).
19. Rommer, P.S., et al., *Relapsing and progressive MS: the sex-specific perspective*. Ther Adv Neurol Disord, 2020. **13**: p. 1756286420956495.
20. Brola, W. and B. Steinborn, *Pediatric multiple sclerosis - current status of epidemiology, diagnosis and treatment*. Neurol Neurochir Pol, 2020. **54**(6): p. 508-517.

21. Bermel, R.A., A.D. Rae-Grant, and R.J. Fox, *Diagnosing multiple sclerosis at a later age: more than just progressive myelopathy*. *Mult Scler*, 2010. **16**(11): p. 1335-40.
22. Gale, C.R. and C.N. Martyn, *Migrant studies in multiple sclerosis*. *Prog Neurobiol*, 1995. **47**(4-5): p. 425-48.
23. Marrie, R.A., *Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology*. *Lancet Neurol*, 2004. **3**(12): p. 709-18.
24. Thompson, A.J., et al., *Multiple sclerosis*. *Lancet*, 2018. **391**(10130): p. 1622-1636.
25. Patsopoulos, N.A., et al., *Fine-mapping the genetic association of the major histocompatibility complex in multiple sclerosis: HLA and non-HLA effects*. *PLoS Genet*, 2013. **9**(11): p. e1003926.
26. Ramagopalan, S.V., J.C. Knight, and G.C. Ebers, *Multiple sclerosis and the major histocompatibility complex*. *Curr Opin Neurol*, 2009. **22**(3): p. 219-25.
27. Garg, N. and T.W. Smith, *An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis*. *Brain Behav*, 2015. **5**(9): p. e00362.
28. Batoulis, H., K. Addicks, and S. Kuerten, *Emerging concepts in autoimmune encephalomyelitis beyond the CD4/T(H)1 paradigm*. *Ann Anat*, 2010. **192**(4): p. 179-93.
29. Wekerle, H., *B cells in multiple sclerosis*. *Autoimmunity*, 2017. **50**(1): p. 57-60.
30. Lublin, F.D. and S.C. Reingold, *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*, 1996. **46**(4): p. 907-11.
31. Lublin, F.D., et al., *Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions*. *Neurology*, 2014. **83**(3): p. 278-86.
32. Thompson, A.J., et al., *Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria*. *Lancet Neurol*, 2018. **17**(2): p. 162-173.
33. Inojosa, H., et al., *A focus on secondary progressive multiple sclerosis (SPMS): challenges in diagnosis and definition*. *J Neurol*, 2019.
34. Ontaneda, D., et al., *Progressive multiple sclerosis: prospects for disease therapy, repair, and restoration of function*. *Lancet*, 2017. **389**(10076): p. 1357-1366.
35. Ontaneda, D., *Progressive Multiple Sclerosis*. *Continuum (Minneap Minn)*, 2019. **25**(3): p. 736-752.
36. Toledano, M., B.G. Weinshenker, and A.J. Solomon, *A Clinical Approach to the Differential Diagnosis of Multiple Sclerosis*. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2015. **15**(8): p. 57.
37. Karussis, D., *The diagnosis of multiple sclerosis and the various related demyelinating syndromes: a critical review*. *J Autoimmun*, 2014. **48-49**: p. 134-42.
38. Brownlee, W.J., et al., *Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges*. *Lancet*, 2017. **389**(10076): p. 1336-1346.
39. Pape, K. and F. Zipp, *[Milestone or missed opportunity? : Commentary on the revision of the McDonald criteria 2017]*. *Nervenarzt*, 2019. **90**(2): p. 183-184.
40. Kurtzke, J.F., *On the origin of EDSS*. *Mult Scler Relat Disord*, 2015. **4**(2): p. 95-103.
41. Meyer-Moock, S., et al., *Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis*

- Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis.* BMC Neurol, 2014. **14**: p. 58.
42. Filippi, M., et al., *MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines.* Lancet Neurol, 2016. **15**(3): p. 292-303.
 43. Raphael, I., et al., *Body fluid biomarkers in multiple sclerosis: how far we have come and how they could affect the clinic now and in the future.* Expert Rev Clin Immunol, 2015. **11**(1): p. 69-91.
 44. Pryce, G. and D. Baker, *Oligoclonal bands in multiple sclerosis; Functional significance and therapeutic implications. Does the specificity matter?* Mult Scler Relat Disord, 2018. **25**: p. 131-137.
 45. Tintore, M., et al., *Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis.* Brain, 2015. **138**(Pt 7): p. 1863-74.
 46. Link, H. and Y.M. Huang, *Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness.* J Neuroimmunol, 2006. **180**(1-2): p. 17-28.
 47. Hartung, H.P., et al., *Diagnosis of multiple sclerosis: revisions of the McDonald criteria 2017 - continuity and change.* Curr Opin Neurol, 2019. **32**(3): p. 327-337.
 48. Jarius, S., et al., *The MRZ reaction as a highly specific marker of multiple sclerosis: re-evaluation and structured review of the literature.* J Neurol, 2017. **264**(3): p. 453-466.
 49. Bonnan, M., *Intrathecal IgG synthesis: a resistant and valuable target for future multiple sclerosis treatments.* Mult Scler Int, 2015. **2015**: p. 296184.
 50. Kuhle, J., et al., *Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study.* Mult Scler, 2015. **21**(8): p. 1013-24.
 51. Cantó, E., et al., *Chitinase 3-like 1 plasma levels are increased in patients with progressive forms of multiple sclerosis.* Mult Scler, 2012. **18**(7): p. 983-90.
 52. Abdelhak, A., et al., *Blood GFAP as an emerging biomarker in brain and spinal cord disorders.* Nat Rev Neurol, 2022. **18**(3): p. 158-172.
 53. Plavina, T., et al., *Anti-JC virus antibody levels in serum or plasma further define risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy.* Ann Neurol, 2014. **76**(6): p. 802-12.
 54. Bloomgren, G., et al., *Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy.* N Engl J Med, 2012. **366**(20): p. 1870-80.
 55. Uphaus, T., et al., *NfL predicts relapse-free progression in a longitudinal multiple sclerosis cohort study.* EBioMedicine, 2021. **72**: p. 103590.
 56. Novakova, L., et al., *Monitoring disease activity in multiple sclerosis using serum neurofilament light protein.* Neurology, 2017. **89**(22): p. 2230-2237.
 57. Siller, N., et al., *Serum neurofilament light chain is a biomarker of acute and chronic neuronal damage in early multiple sclerosis.* Mult Scler, 2019. **25**(5): p. 678-686.
 58. Bittner, S., et al., *Clinical implications of serum neurofilament in newly diagnosed MS patients: A longitudinal multicentre cohort study.* EBioMedicine, 2020. **56**: p. 102807.
 59. Kuhle, J., et al., *Blood neurofilament light chain as a biomarker of MS disease activity and treatment response.* Neurology, 2019. **92**(10): p. e1007-e1015.
 60. Varhaug, K.N., et al., *Neurofilament light chain predicts disease activity in relapsing-remitting MS.* Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2018. **5**(1): p. e422.

61. Rosso, M., et al., *Temporal association of sNfL and gad-enhancing lesions in multiple sclerosis*. *Ann Clin Transl Neurol*, 2020. **7**(6): p. 945-955.
62. Sejbaek, T., et al., *Dimethyl fumarate decreases neurofilament light chain in CSF and blood of treatment naïve relapsing MS patients*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2019. **90**(12): p. 1324-1330.
63. Dargahi, N., et al., *Multiple Sclerosis: Immunopathology and Treatment Update*. *Brain Sci*, 2017. **7**(7).
64. Pape, K., F. Zipp, and S. Bittner, *[New aspects of immunotherapy in multiple sclerosis]*. *Nervenarzt*, 2018. **89**(12): p. 1365-1370.
65. Hart, F.M. and J. Bainbridge, *Current and emerging treatment of multiple sclerosis*. *Am J Manag Care*, 2016. **22**(6 Suppl): p. s159-70.
66. Montalban, X., et al., *ECTRIMS/EAN Guideline on the pharmacological treatment of people with multiple sclerosis*. *Mult Scler*, 2018. **24**(2): p. 96-120.
67. Harding, K., et al., *Clinical Outcomes of Escalation vs Early Intensive Disease-Modifying Therapy in Patients With Multiple Sclerosis*. *JAMA Neurol*, 2019. **76**(5): p. 536-541.
68. Merkel, B., et al., *Timing of high-efficacy therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis: A systematic review*. *Autoimmun Rev*, 2017. **16**(6): p. 658-665.
69. Kappos, L., et al., *Inclusion of brain volume loss in a revised measure of 'no evidence of disease activity' (NEDA-4) in relapsing-remitting multiple sclerosis*. *Mult Scler*, 2016. **22**(10): p. 1297-305.
70. Kappos, L., et al., *Siponimod versus placebo in secondary progressive multiple sclerosis (EXPAND): a double-blind, randomised, phase 3 study*. *Lancet*, 2018. **391**(10127): p. 1263-1273.
71. Comi, G., et al., *Safety and efficacy of ozanimod versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis (SUNBEAM): a multicentre, randomised, minimum 12-month, phase 3 trial*. *Lancet Neurol*, 2019. **18**(11): p. 1009-1020.
72. Hauser, S.L., et al., *Ofatumumab versus Teriflunomide in Multiple Sclerosis*. *N Engl J Med*, 2020. **383**(6): p. 546-557.
73. Hu, X., et al., *A novel PEGylated interferon beta-1a for multiple sclerosis: safety, pharmacology, and biology*. *J Clin Pharmacol*, 2012. **52**(6): p. 798-808.
74. Jakimovski, D., et al., *Long-term drug treatment in multiple sclerosis: safety success and concerns*. *Expert Opin Drug Saf*, 2020. **19**(9): p. 1121-1142.
75. Faissner, S. and R. Gold, *Efficacy and Safety of the Newer Multiple Sclerosis Drugs Approved Since 2010*. *CNS Drugs*, 2018. **32**(3): p. 269-287.
76. Paskal, W., et al., *Aspects of Modern Biobank Activity - Comprehensive Review*. *Pathol Oncol Res*, 2018. **24**(4): p. 771-785.
77. De Souza, Y.G. and J.S. Greenspan, *Biobanking past, present and future: responsibilities and benefits*. *Aids*, 2013. **27**(3): p. 303-12.
78. Fransson, M.N., et al., *Toward a common language for biobanking*. *Eur J Hum Genet*, 2015. **23**(1): p. 22-8.
79. Harati, M.D., et al., *An Introduction to Starting a Biobank*. *Methods Mol Biol*, 2019. **1897**: p. 7-16.
80. Myhr, K.M., et al., *The Norwegian Multiple Sclerosis Registry and Biobank*. *Acta Neurol Scand*, 2015. **132**(199): p. 24-8.
81. Chitnis, T., *Serum NFL levels should be used to monitor multiple sclerosis evolution - Commentary*. *Mult Scler*, 2020. **26**(1): p. 21-22.
82. Lucchetta, R.C., et al., *Safety outcomes of disease-modifying therapies for relapsing-remitting multiple sclerosis: A network meta-analysis*. *Mult Scler Relat Disord*, 2019. **35**: p. 7-15.

83. *Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group.* Neurology, 1993. **43**(4): p. 655-61.
84. Calabresi, P.A., et al., *Pegylated interferon β -1a for relapsing-remitting multiple sclerosis (ADVANCE): a randomised, phase 3, double-blind study.* Lancet Neurol, 2014. **13**(7): p. 657-65.
85. Bermel, R.A., et al., *Intramuscular interferon beta-1a therapy in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a 15-year follow-up study.* Mult Scler, 2010. **16**(5): p. 588-96.
86. Zettl, U.K., et al., *Interferon beta-1a and beta-1b for patients with multiple sclerosis: updates to current knowledge.* Expert Rev Clin Immunol, 2018. **14**(2): p. 137-153.
87. Alba Palé, L., et al., *Systematic review of depression in patients with multiple sclerosis and its relationship to interferon β treatment.* Mult Scler Relat Disord, 2017. **17**: p. 138-143.
88. Giovannoni, G., E. Southam, and E. Waubant, *Systematic review of disease-modifying therapies to assess unmet needs in multiple sclerosis: tolerability and adherence.* Mult Scler, 2012. **18**(7): p. 932-46.
89. Newsome, S.D., et al., *Long-term outcomes of peginterferon beta-1a in multiple sclerosis: results from the ADVANCE extension study, ATTAIN.* Ther Adv Neurol Disord, 2018. **11**: p. 1756286418791143.
90. Salvetti, M., et al., *Safety and clinical effectiveness of peginterferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis in the real-world setting: Interim results from the Plegridy Observational Program.* Mult Scler Relat Disord, 2022. **57**: p. 103350.
91. Wittling, M.C., et al., *Shared and Unique Features of Human Interferon-Beta and Interferon-Alpha Subtypes.* Front Immunol, 2020. **11**: p. 605673.
92. Sarrazin, C., et al., *[Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis C virus (HCV) infection: the German guidelines on the management of HCV infection].* Z Gastroenterol, 2010. **48**(2): p. 289-351.
93. Saleh, M.I. and N.N. Hindi, *A population pharmacodynamic model characterizing neutropenia associated with pegylated interferon alpha 2-a therapy in patients with chronic hepatitis C viral infection.* Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2018. **391**(9): p. 953-963.
94. Melia, M.T., et al., *Infections during peginterferon/ribavirin therapy are associated with the magnitude of decline in absolute lymphocyte count: results of the IDEAL study.* Clin Infect Dis, 2014. **58**(7): p. 960-9.
95. Peck-Radosavljevic, M., et al., *Rapid suppression of hematopoiesis by standard or pegylated interferon-alpha.* Gastroenterology, 2002. **123**(1): p. 141-51.
96. Ong, J.P. and Z.M. Younossi, *Managing the hematologic side effects of antiviral therapy for chronic hepatitis C: anemia, neutropenia, and thrombocytopenia.* Cleve Clin J Med, 2004. **71 Suppl 3**: p. S17-21.