

Aus der Neurologischen Universitätsklinik Tübingen
Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt
neurovaskuläre Erkrankungen

**Einfluss von Dimethylfumarat
auf funktionelle Magnetresonanztomographiemarker
kortikaler Ruhenetzwerkkonnektivität
bei schubförmig remittierender Multipler Sklerose
in den ersten sechs Behandlungsmonaten**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Kim, Yeho-Irae

2023

Dekan: Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter: Professor Dr. U. Ziemann
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. M. Himmelbach

Tag der Disputation: 21.12.2022

*Diese Dissertation widme ich meiner Mutter,
die sich ihr ganzes Leben für mich aufgeopfert hat
und die ich stolz machen möchte*

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1. <u>EINLEITUNG</u> | 1 |
| 1.1. Einführung | 1 |
| 1.2. Funktionelle Konnektivität | 2 |
| 1.3. Funktionelle Magnetresonanztomographie | 3 |
| 1.4. Ruhenetzwerke und Ruhenetzwerkkonnektivität | 4 |
| 1.5. Schubförmig remittierende Multiple Sklerose | 6 |
| 1.6. Verlaufsmodifizierende Therapie mit Dimethylfumarat | 8 |
| 1.7. Aktueller Stand der Forschung und Studienhypothese | 9 |
| | |
| 2. <u>MATERIAL UND METHODEN</u> | 13 |
| 2.1. <u>Studiendesign</u> | 13 |
| 2.1.1. Studieneinschlusskriterien | 13 |
| 2.1.2. Studienausschlusskriterien | 14 |
| 2.1.3. Studienprotokoll | 15 |
| 2.1.4. Studienablauf | 16 |
| 2.1.5. Klinisches Untersuchungsprotokoll | 16 |
| 2.1.5.1. Expanded Disability Status Scale | 17 |
| 2.1.5.2. Multiple Sclerosis Functional Composite | 18 |
| 2.1.5.3. Symbol Digit Modalities Test | 19 |
| 2.1.5.4. Fatigue Severity Scale | 19 |
| 2.1.5.5. Sickness Impact Profile | 19 |
| 2.1.6. MRT-Untersuchungsprotokoll | 20 |
| 2.2. <u>Datenanalyse</u> | 21 |
| 2.2.1. Klinische Datenanalyse | 21 |
| 2.2.2. Strukturelle MRT-Datenanalyse | 21 |
| 2.2.3. Funktionelle MRT-Datenanalyse | 22 |
| 2.2.3.1. Datenvorverarbeitung | 22 |
| 2.2.3.2. Datenverarbeitung | 23 |
| 2.2.3.3. Statistische Analyse | 24 |
| 2.2.4. Multiple lineare Regressionsanalyse | 26 |

| | |
|---|-----------|
| 3. <u>ERGEBNISSE</u> | 27 |
| 3.1. <u>Ergebnisse der klinischen Datenanalyse</u> | 27 |
| 3.1.1. Expanded Disability Status Scale | 27 |
| 3.1.2. Multiple Sclerosis Functional Composite | 28 |
| 3.1.3. Symbol Digit Modalities Test | 29 |
| 3.1.4. Fatigue Severity Scale | 30 |
| 3.1.5. Sickness Impact Profile | 31 |
| 3.1.6. Klinisches Interview | 32 |
| 3.1.6.1. Rekrutierungsverlauf | 32 |
| 3.1.6.2. Geschlechterverteilung | 33 |
| 3.1.6.3. Alter bei Studieneinschluss | 34 |
| 3.1.6.4. Erkrankungsdauer bei Studieneinschluss | 35 |
| 3.1.6.5. Symptombdauer bei Studieneinschluss | 36 |
| 3.1.6.6. Neu aufgetretene Schubereignisse | 37 |
| 3.1.6.7. Neu aufgetretene Läsionen | 37 |
| 3.2. <u>Ergebnisse der strukturellen MRT-Datenanalyse</u> | 38 |
| 3.2.1. Hirnparenchymanteil | 38 |
| 3.2.2. Hirnvolumen | 40 |
| 3.2.3. Volumen der grauen Substanz | 42 |
| 3.2.4. Volumen der weißen Substanz | 44 |
| 3.2.5. Anzahl der T1-Läsionen | 46 |
| 3.2.6. Anzahl der T2-Läsionen | 47 |
| 3.2.7. Volumen der T1-Läsionen | 48 |
| 3.2.8. Volumen der T2-Läsionen | 49 |
| 3.3. <u>Ergebnisse der funktionellen MRT-Datenanalyse</u> | 50 |
| 3.3.1. Illustrationen der Ruhenetzwerke | 50 |
| 3.3.2. Ergebnisse der multivariaten funktionellen Datenanalyse | 51 |
| 3.3.3. Ergebnisse der univariaten funktionellen Datenanalyse | 52 |
| 3.4. <u>Ergebnisse der multiplen linearen Regressionsanalyse</u> | 54 |

| | |
|--|-----------|
| 4. DISKUSSION | 59 |
| 4.1. Zusammenfassung der Hauptergebnisse | 59 |
| 4.2. Diskussion der Methoden | 60 |
| 4.3. Diskussion der klinischen Ergebnisse | 61 |
| 4.4. Diskussion der strukturellen Ergebnisse | 62 |
| 4.5. Diskussion der funktionellen Ergebnisse | 64 |
| 4.6. Diskussion der Ergebnisse der multiplen linearen Regression | 67 |
| 4.7. Schlussfolgerung und Ausblick | 69 |
| 5. ZUSAMMENFASSUNG | 70 |
| 6. LITERATURVERZEICHNIS | 72 |
| 7. ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL | 78 |
| 8. DANKSAGUNG | 79 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1: Studienprotokoll | 15 |
| Tabelle 2: MRT-Untersuchungsprotokoll | 20 |
| Tabelle 3: Ergebnisse (multivariate Datenanalyse) | 51 |
| Tabelle 4: Ergebnisübersicht (univariate Datenanalyse) | 52 |
| Tabelle 5: Ergebnisse (univariate Datenanalyse) | 53 |
| Tabelle 6: Ergebnisse (hypothesengetriebene Regressionsanalyse) | 54 |
| Tabelle 7: Ergebnisse (datengetriebene Regressionsanalyse) | 55 |
| Tabelle 8: Signifikante Unterschiede der Hirnatrophie | 63 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: EDSS | 27 |
| Abbildung 2: MSFC | 28 |
| Abbildung 3: SDMT | 29 |
| Abbildung 4: FSS | 30 |
| Abbildung 5: SIP | 31 |
| Abbildung 6: Rekrutierungsverlauf | 32 |
| Abbildung 7: Geschlechterverteilung | 33 |
| Abbildung 8: Alter | 34 |
| Abbildung 9: Erkrankungsdauer | 35 |
| Abbildung 10: Symptombdauer | 36 |
| Abbildung 11: Neu aufgetretene Schubereignisse | 37 |
| Abbildung 12: Neu aufgetretene Läsionen | 37 |
| Abbildung 13: Hirnparenchymanteil | 38 |
| Abbildung 14: Hirnparenchymanteil mit gesunder Kontrollgruppe | 39 |
| Abbildung 15: Hirnvolumen | 40 |
| Abbildung 16: Hirnvolumen mit gesunder Kontrollgruppe | 41 |
| Abbildung 17: GMV | 42 |
| Abbildung 18: GMV mit gesunder Kontrollgruppe | 43 |
| Abbildung 19: WMV | 44 |
| Abbildung 20: WMV mit gesunder Kontrollgruppe | 45 |
| Abbildung 21: Anzahl der T1-Läsionen | 46 |
| Abbildung 22: Anzahl der T2-Läsionen | 47 |
| Abbildung 23: Volumen der T1-Läsionen | 48 |
| Abbildung 24: Volumen der T2-Läsionen | 49 |
| Abbildung 25: Identifizierte Ruhenetzwerke | 50 |
| Abbildung 26: Streudiagramm MSFC mit LECN (Messzeitpunkt B2) | 56 |
| Abbildung 27: Streudiagramm MSFC mit LECN (Messzeitpunkt V4) | 57 |
| Abbildung 28: Streudiagramm MSFC mit LECN (alle Messzeitpunkte) | 58 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------|---|
| ANCOVA | Kovarianzanalyse |
| ANOVA | Varianzanalyse |
| Auditory | Auditorisches Ruhenetzwerk |
| B1 | Baseline 1 |
| B2 | Baseline 2 |
| Basal-Ganglia | Ruhenetzwerk der Basalganglien |
| BOLD | Blood Oxygenation Level Dependent |
| BPF | Hirnparenchymanteil |
| BV | Hirnvolumen |
| cMRT | Kranielle Magnetresonanztomographie |
| dDMN | Dorsales Ruhezustandsnetzwerk |
| DMF | Dimethylfumarat |
| DMN | Ruhezustandsnetzwerk |
| EDSS | Expanded Disability Status Scale |
| FC | Funktionelle Konnektivität |
| fMRT | Funktionelle Magnetresonanztomographie |
| FSS | Fatigue Severity Scale |
| FWE | Family Wise Error |
| Gd | Gadolinium |
| GMV | Volumen der grauen Substanz |
| High-Visual | Höher visuelles Ruhenetzwerk |
| ICA | Unabhängigkeitsanalyse |
| Language | Sprachruhenetzwerk |
| LECN | Linkes exekutives Netzwerk |
| MANCOVA | Multivariate Kovarianzanalyse |
| Mixed ANOVA | Mixed-Design Varianzanalyse |
| Motor | Motorisches Ruhenetzwerk |
| MS | Multiple Sklerose |
| MSFC | Multiple Sclerosis Functional Composite |

| | |
|----------------|---|
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| nT1 | Anzahl der T1-Läsionen |
| nT2 | Anzahl der T2-Läsionen |
| PCA | Hauptkomponentenanalyse |
| Post-Saliience | Hinteres Saliienznetzwerk |
| Precuneus | Präkuneus-Ruhenetzwerk |
| Prim-Visual | Primär visuelles Ruhenetzwerk |
| RECN | Rechtes exekutives Netzwerk |
| RRMS | Schubförmig remittierende Multiple Sklerose |
| RS | Ruhezustand |
| RSN | Ruhenetzwerke |
| S1 | Session 1 |
| S2 | Session 2 |
| S3 | Session 3 |
| Saliience | Saliienznetzwerk |
| SCA | Saatbasierte Korrelationsanalyse |
| SDMT | Symbol Digit Modalities Test |
| SIP | Sickness Impact Profile |
| SPM | Statistical Parametric Mapping |
| V1 | Visit 1 |
| V2 | Visit 2 |
| V3 | Visit 3 |
| V4 | Visit 4 |
| vDMN | Ventrales Ruhezustandsnetzwerk |
| Visuospatial | Räumlich visuelles Ruhenetzwerk |
| vT1 | Volumen der T1-Läsionen |
| vT2 | Volumen der T2-Läsionen |
| WMV | Volumen der weißen Substanz |

1. EINLEITUNG

1.1. Einführung

Der strukturelle Aufbau und die Funktionsweise des Gehirns entsprechen einem neuronalen Netzwerk. Die Verbindungen dieses Netzwerks können durch verschiedene Definitionen von Konnektivität charakterisiert werden, wobei das Konzept der funktionellen Konnektivität beschreibt, in welchen Hirnarealen ein zeitlicher Zusammenhang von Hirnaktivität besteht (Friston 1994). Diese kann mit der funktionellen Magnetresonanztomographie indirekt über den BOLD-Effekt (Blood Oxygenation Level Dependent, BOLD) dargestellt werden (Ogawa, Lee et al. 1990). Hierfür können die Messbedingungen unterschiedlich gestaltet werden. Sofern der Proband während der Messung wach und die Messbedingung reiz- sowie aufgabenfrei ist, kann mittels der funktionellen Magnetresonanztomographie die funktionelle Konnektivität im Ruhezustand (Resting State) gemessen werden (Biswal, Yetkin et al. 1995). In diesem Ruhezustand kommen Ruhenetzwerke (Resting State Networks, RSN), wie beispielsweise das Ruhezustandsnetzwerk (Default Mode Network, DMN), zur Darstellung (Raichle, MacLeod et al. 2001). Die funktionelle Konnektivität von den Ruhenetzwerken zeigt sich bei der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose verändert (Rocca, Valsasina et al. 2012). Aufgrund der krankheitsbedingten diffusen Schädigung des Gehirns kann die Multiple Sklerose auch als multiples Diskonnektionssyndrom aufgefasst werden (Calabrese and Penner 2007). Als solches können an den geschädigten Ruhenetzwerken Alterationen der funktionellen Konnektivität nachgewiesen werden, die im Sinne von neuroplastischen Mechanismen sowohl adaptive als auch maladaptive Prozesse widerzuspiegeln zu scheinen (Rocca, De Meo et al. 2020). Ob therapeutische Effekte die krankheitsbedingt veränderte funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke im Sinne eines adaptiven Prozesses zu normalisieren vermag, ist bisher noch nicht hinreichend bekannt. Im Rahmen dieser Dissertation wird daher untersucht, ob eine Dimethylfumarattherapie bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose die funktionelle Konnektivität von Ruhenetzwerken beeinflusst und in welchem Zusammenhang dies zum klinisch und radiologisch beobachteten Krankheitsverlauf steht.

1.2. Funktionelle Konnektivität

Das Gehirn weist eine netzwerkartige Grundarchitektur auf, bei der in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht schätzungsweise 19 bis 23 Milliarden Neuronen des zerebralen Kortex jeweils etwa 5.000-10.000 Verbindungen zu anderen Neuronen besitzen (Pakkenberg, Pelvig et al. 2003). Die Verbindungen eines neuronalen Netzwerks können auf verschiedene Arten konzeptualisiert werden, wobei die klassischen Konnektivitätsbegriffe nach Friston zwischen drei Konnektivitätsformen unterscheiden (Friston 1994), die jeweils definieren, auf welche Weise Hirnareale eines neuronalen Netzwerks miteinander verbunden sind. Bei der strukturellen Konnektivität sind diese anatomisch miteinander verbunden, bei der funktionellen Konnektivität zeitlich und bei der effektiven Konnektivität kausal. Makroskopisch sichtbare, strukturelle Fasertrakte können beispielsweise über diffusionsgewichtete Sequenzen in der Magnetresonanztomografie, wie der Diffusionstensor-Bildgebung (DTI), direkt dargestellt werden (Basser, Mattiello et al. 1994). Bei der funktionellen und effektiven Konnektivität ist hingegen eine solche direkte Darstellung nicht möglich. Diese können erst unter Anwendung einer Vielzahl von statistisch aufwendigen Analyseverfahren ermittelt und modelliert zur Darstellung gebracht werden. Unter der funktionellen Konnektivität versteht man eine zeitliche Korrelation von Hirnaktivität in räumlich voneinander getrennten Hirnarealen. Diesem Paradigma liegt die Annahme zugrunde, dass Hirnareale, welche funktionell miteinander gekoppelt sind, eine zeitlich korrelierende Hirnaktivität zueinander aufweisen. Aufgrund dieser deskriptiv-korrelativen Natur der funktionellen Konnektivität, erlaubt diese grundsätzlich keine Aussage über kausale Zusammenhänge. Der Konnektivitätsbegriff, der die Richtung und die Kausalität des Einflusses eines Hirnareals auf die Aktivität eines anderen erklärt, ist die effektive Konnektivität (Friston 1994).

1.3. Funktionelle Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie (MRT) generiert als bildgebendes Verfahren ohne Einsatz ionisierender Strahlung mittels wechselnder Magnetfelder Schnittbilder, womit Weichteilstrukturen wie etwa das Nervengewebe in vivo hochauflösend dargestellt und beurteilt werden können. Die kranielle Magnetresonanztomographie (cMRT) stellt bei Erkrankungen des zentralen Nervensystems wie der Multiplen Sklerose daher einen elementaren Bestandteil der Diagnosestellung und Verlaufsbeurteilung dar. Die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) ist eine Variante der MRT-Bildgebung, mittels derer Hirnaktivität über den BOLD-Effekt indirekt dargestellt werden kann (Ogawa, Lee et al. 1990). Hirnaktivität entspricht einer neuronalen Aktivierung in bestimmten Hirnarealen, wo es physiologischerweise in den ersten 1-2 Sekunden durch einen erhöhten Verbrauch von Sauerstoff zu einem lokalen Anstieg von desoxygeniertem Hämoglobin kommt, woraufhin es nach 4-6 Sekunden zu einer reaktiven Perfusionssteigerung und damit zu einem regionalen Überangebot an oxygeniertem Hämoglobin führt. Die Ab- und Zunahme des Anteils an oxygeniertem Hämoglobin zeigt als hämodynamische Antwort der neurovaskulären Kopplung somit indirekt Hirnaktivität an, welche in der fMRT-Bildgebung zeitlich hochauflösend und in einer räumlichen Auflösung im Bereich von wenigen Millimetern dargestellt werden kann. Der BOLD-Effekt ist hierbei von entscheidender Bedeutung, da dieser die unterschiedlichen magnetischen Eigenschaften von oxygeniertem (diamagnetisch) und desoxygeniertem (paramagnetisch) Hämoglobin als endogenes Kontrastmittel nutzt (Ogawa, Lee et al. 1990). In jedem Voxel kann in Abhängigkeit eines bestimmten Zeitverlaufs ein bestimmter BOLD-Signalverlauf beobachtet werden. Je stärker die BOLD-Signalverläufe von räumlich getrennten Hirnarealen zeitlich miteinander korrelieren, desto eher kann vom Vorliegen einer funktionellen Konnektivität und gegebenenfalls eines funktionellen Netzwerks ausgegangen werden. Von erheblicher Bedeutung ist zudem, unter welchen Messbedingungen die funktionelle Konnektivität während der fMRT-Bildgebung erfasst wird. Um Hirnareale auf eine bestimmte reiz- oder aufgabenbezogene Aktivierung hin zu untersuchen, könnte man die Probanden während der Messung im Sinne einer

event- oder task-related-fMRT verschiedenen Reizen aussetzen oder spezielle Aufgaben ausführen lassen und die erfassten BOLD-Signalverläufe damit korrelieren. Im Gegensatz dazu stellt die resting-state-fMRT eine Messbedingung dar, bei der die Probanden keine expliziten Aufgaben durchführen und in Abwesenheit von externen Reizen sich in einem wachen Ruhezustand befinden (Biswal, Yetkin et al. 1995). Da es somit nicht möglich ist, die BOLD-Signalverläufe mit Ereignissen zu korrelieren, die durch fMRT-Paradigmen vordefiniert sind, werden hierbei meistens eine saatbasierte Korrelationsanalyse (Seed-based Correlation Analysis, SCA) oder eine Unabhängigkeitsanalyse (Independent Component Analysis, ICA) durchgeführt. Bei der SCA wird a priori eine Saatregion (Region of Interest, ROI) definiert und damit hypothesengetrieben die zeitliche Korrelation zu anderen Hirnarealen untersucht (Biswal, Yetkin et al. 1995). Die ICA identifiziert hingegen datengetrieben Frequenzen, für die bestimmte Hirnareale synchron aktiv sind (Esposito, Seifritz et al. 2003).

1.4. Ruhenetzwerke und funktionelle Ruhenetzwerkkonnektivität

Die Hirnregionen, die unter resting-state-Messbedingungen eine erhöhte sowie zeitlich korrelierende Hirnaktivität zueinander aufweisen, werden als Ruhenetzwerke (Resting State Networks, RSN) bezeichnet. In einer Vielzahl von bereits durchgeführten Studien konnten Ruhenetzwerke identifiziert werden, die nicht nur bei Studienprobanden, sondern auch über die menschliche Spezies hinweg nachweisbar waren. Ein Meilenstein hierfür stellte der Nachweis des Ruhezustandsnetzwerks (Default Mode Network, DMN) dar (Raichle, MacLeod et al. 2001). Das Ruhezustandsnetzwerk konnte mittlerweile sowohl bei Affen (Mantini, Gerits et al. 2011) als auch in Ratten (Lu, Zou et al. 2012) nachgewiesen werden. Auch spiegeln sowohl die Existenz als auch die nachweisbaren Aktivitätsmuster der Ruhenetzwerke am ehesten den wachen und intrinsisch vorhandenen Ruhezustand des Gehirns wider, sodass die funktionelle Konnektivität unter Ruhebedingungen entgegen einiger früherer Annahmen nicht mit einem inaktiven Zustand gleichzusetzen ist (Biswal, Yetkin et al. 1995).

Betrachtet man allein den Energieumsatz des Gehirns bei der Lösung einer kognitiven Aufgabe im Vergleich zum wachen Ruhezustand, so beträgt der Unterschied kaum mehr als 1% (Raichle and Mintun 2006). Zudem konnte gezeigt werden, dass Individuen im wachen, aufgabenfreien sowie reizunabhängigen Ruhezustand dazu neigen, in einem höheren Umfang Gedanken schweifen zu lassen, sodass dieser Zustand von freien Assoziationen, kreativen Überlegungen, Tagträumen und autobiographischen Erinnerungen geprägt ist (Mason, Norton et al. 2007). Der durch die resting-state-Messbedingung zur Darstellung kommende wache Ruhezustand des Gehirns weist daher ein nicht zu vernachlässigendes Maß an funktioneller Konnektivität in verschiedenen Hirnregionen auf.

Manche Ruhenetzwerke besitzen nicht nur aufgrund ihrer Funktion, sondern auch aufgrund ihres modularen Aufbaus ein weiträumiges Aktivitätsmuster und können dadurch topographisch über eine große räumliche Ausdehnung verfügen. Solche Ruhenetzwerke sind im Zusammenhang mit der Multiplen Sklerose, die aufgrund der charakteristisch diffusen Schädigung des zentralen Nervensystems auch als multiples Diskonnektionssyndrom aufgefasst werden kann (Calabrese and Penner 2007), von besonderem Interesse (Rocca, Valsasina et al. 2012). Im Rahmen dieser Dissertation werden 14 solcher Ruhenetzwerke (Shirer, Ryali et al. 2012) untersucht, die im Folgenden in alphabetischer Reihenfolge anhand ihrer in der englischen Fachliteratur jeweils geläufigen Abkürzung aufgelistet sind: auditorisches Ruhenetzwerk (Auditory), Ruhenetzwerk der Basalganglien (Basal-Ganglia), dorsales Ruhezustandsnetzwerk (dDMN), höher visuelles Ruhenetzwerk (High-Visual), Sprach-Ruhenetzwerk (Language), linkes exekutives Netzwerk (LECN), motorisches Ruhenetzwerk (Motor), hinteres Salienznetzwerk (Post-Saliency), Präkuneus-Ruhenetzwerk (Precuneus), primär visuelles Ruhenetzwerk (Prim-Visual), rechtes exekutives Netzwerk (RECN), Salienznetzwerk (Saliency), ventrales Ruhezustandsnetzwerk (vDMN), räumlich visuelles Ruhenetzwerk (Visuospatial).

1.5. Schubförmig remittierende Multiple Sklerose

Die Multiple Sklerose (Encephalomyelitis disseminata) ist eine chronisch-entzündliche, demyelinisierende und neurodegenerative Erkrankung des zentralen Nervensystems (Filippi, Bar-Or et al. 2018), die aufgrund einer bisher nicht abschließend geklärten Ätiologie und Pathogenese zu multiplen herdförmig-entzündlichen Läsionen führt, welche zeitlich und räumlich disseminieren. Weltweit sind etwa 2,5 Millionen Menschen, darunter vor allem junge Frauen, betroffen und zumal das durchschnittliche Erkrankungsalter bei etwa 30 Jahren liegt, kann dies sowohl die Berufs- als auch die Familienplanung erheblich einschränken (Dendrou, Fugger et al. 2015). Unter dem Aspekt der räumlichen Dissemination können die Läsionen diffus an verschiedenen Stellen des zentralen Nervensystems auftreten, die insbesondere in Abhängigkeit zur Lokalisation zu vielfältigen neurologischen Symptomen führen können, welche prägend für das heterogene klinische Bild der Multiplen Sklerose sind. Prädilektionsstellen für Läsionen stellen das juxtakortikale und periventrikuläre Marklager, der Hirnstamm, das Kleinhirn sowie das Rückenmark dar, wobei sowohl die weiße als auch die graue Substanz hiervon betroffen sind (Thompson, Banwell et al. 2018). Die jeweiligen Läsionen sind auf struktureller Ebene von Demyelinisierung und axonaler Schädigung gekennzeichnet, wofür entzündliche Aktivität und neurodegenerative Prozesse verantwortlich gemacht werden (Dendrou, Fugger et al. 2015). Für die entzündliche Aktivität scheinen autoreaktive periphere T-Lymphozyten eine entscheidende Rolle zu spielen, die an Myelinscheiden fokale Demyelinisierungen hervorrufen, sodass die Multiple Sklerose zu den autoimmunvermittelten Erkrankungen gezählt wird, wobei die Ursache für deren Autoreaktivität derzeit noch nicht bekannt ist (Garg and Smith 2015). Histopathologisch kann es an den geschädigten Myelinscheiden zu einer Remyelinisierung kommen, bei der eine reaktive Proliferation von Astrozyten zu gliösen Vernarbungen und Sklerose führt, was sich auch begrifflich in der Namensgebung der Multiplen Sklerose widerspiegelt.

Klinisch können bei der Multiplen Sklerose verschiedene Verlaufsformen beobachtet und unterschieden werden, wobei in dieser Dissertation die schubförmig remittierende Multiple Sklerose (Relapsing Remitting Multiple Sclerosis, RRMS) untersucht wurde, welche mit rund 85% bei Erstdiagnose die häufigste Verlaufsform darstellt. Hierbei treten neurologische Symptome im Gegensatz zur primär progredienten Verlaufsform im Rahmen von sogenannten Schüben auf, welche sich vollständig zurückbilden können. Wenn neurologische Defizite persistieren und nicht remittieren, können diese im weiteren Verlauf der Erkrankung zu kumulativen Residualsymptomen führen, woraus erhebliche Einschränkungen resultieren können. So sind beispielsweise 25 Jahre nach Diagnosestellung einer Multiplen Sklerose schätzungsweise 50% der Patienten dauerhaft auf einen Rollstuhl angewiesen (Dendrou, Fugger et al. 2015). Die Abnahme von Krankheitsremission zugunsten einer Zunahme von Krankheitsprogression stellt den Übergang in die prognostisch ungünstigere sekundär-progrediente Verlaufsform dar. Bei der leitliniengerechten Therapie für die Behandlung der Multiplen Sklerose wird grundsätzlich zwischen einer symptomatischen Schubtherapie und einer verlaufsmodifizierenden Therapie unterschieden. In Bezug auf die leitliniengerechte verlaufsmodifizierende Therapie ist die Verlaufsform der Multiplen Sklerose entscheidend. Bei Vorliegen eines schubförmig remittierenden Verlaufs mit einer milden bis moderaten Krankheitsaktivität sind Glatirameracetat, Interferon- β -Präparate, Teriflunomid und Dimethylfumarat Therapeutika der 1. Wahl zur Verlaufsmodifikation.

1.6. Verlaufsmodifizierende Therapie mit Dimethylfumarat

Dimethylfumarat ist seit 2014 unter dem Handelsnamen „Tecfidera®“ zur Behandlung der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose bei Erwachsenen von der europäischen Zulassungsbehörde zugelassen. In placebo-kontrollierten randomisierten Doppelblindstudien zeigte Dimethylfumarat eine signifikante Reduktion der jährlichen Schubrate um 32% sowie eine signifikante Reduktion der mittleren Anzahl von neuen Gadolinium-aufnehmenden Läsionen als auch von neuen T1- und T2-Läsionen (Kappos, Gold et al. 2008). Eine signifikante Reduktion der Schubrate als auch der Läsionslast durch eine verlaufsmodifizierende Therapie mit Dimethylfumarat im Vergleich zur Placebogabe konnte ebenfalls in klinischen Zulassungsstudien wie in der DEFINE-Studie (Gold, Kappos et al. 2012) und CONFIRM-Studie (Fox, Miller et al. 2012) gezeigt werden. Obgleich der empirisch belegten Wirksamkeit ist der genaue Wirkmechanismus noch nicht abschließend geklärt (Carlström, Ewing et al. 2019). Dimethylfumarat ist von der chemischen Struktur ein Dimethylester der Fumarsäure. Fumarsäuredimethylester fungiert hierbei als Prodrug, welches in die Wirkform Monomethylfumarat umgewandelt wird. Monomethylfumarat aktiviert den antioxidativen Transkriptionsfaktor NRF2 (Nuclear Related Factor 2) und den immunmodulatorisch wirkenden Membranrezeptor HCA2 (Bomprezzi 2015). In Bezug auf die therapeutische Wirksamkeit von Dimethylfumarat bei der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose verdichten sich die Hinweise auf einen Zusammenhang mit dem ROS-Signalweg (Reaktive Sauerstoffspezies, Reactive Oxygen Species, ROS) in Monozyten, wo bereits nach 3 Monaten ein frühzeitiges Ansprechen auf Dimethylfumarat nachweisbar war und auf eine erhöhte therapeutische Wirksamkeit hinwies (Carlström, Ewing et al. 2019). Zudem konnte eine ROS-abhängige Suppression von IL-17-produzierenden CD8⁺(Tc17)-Zellen mit der therapeutischen Wirkung von Dimethylfumarat in Verbindung gebracht werden (Lückel, Picard et al. 2019).

1.7. Aktueller Stand der Forschung und Studienhypothese

Nach dem aktuellen Stand der Forschung ist bisher jedoch kaum etwas darüber bekannt, ob, inwiefern und wann eine krankheitsbedingt veränderte funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke sich durch eine verlaufsmodifizierende Therapie der Multiplen Sklerose mit schubförmig remittierendem Verlauf unter Dimethylfumarat normalisiert und in welchem Zusammenhang dies zum klinisch und radiologisch beobachteten Krankheitsverlauf steht.

Allgemein sind therapiebedingte Effekte auf die funktionelle Konnektivität von Ruhenetzwerken im Zusammenhang einer verlaufsmodifizierenden Behandlung bei der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose bislang kaum untersucht worden. Eine kürzlich veröffentlichte Studie berichtete zwar von ausbleibenden Veränderungen der funktionellen Konnektivität in den Ruhenetzwerken nach 6 sowie 12 Behandlungsmonaten mit Dimethylfumarat, wobei jedoch explizit auf die Limitation der Studie hinsichtlich der fehlenden Kontrollgruppe hingewiesen wurde (Piervincenzi, Sbardella et al. 2022). Derselben Limitation unterlag eine zuvor durchgeführte Studie, die eine reduzierte funktionelle Konnektivität im Ruhezustandsnetzwerk und im frontoparietalen Ruhenetzwerk nach 6 Behandlungsmonaten mit Fingolimod zeigte und einen möglichen Zusammenhang zwischen Behandlungserfolg und veränderter funktioneller Konnektivität im Ruhezustandsnetzwerk beschrieb (Piervincenzi, Petsas et al. 2021). Eine weitere Studie konnte nach 24 Behandlungsmonaten mit Fingolimod sowie Natalizumab eine gesteigerte funktionelle Konnektivität im Ruhezustandsnetzwerk als auch in frontoparietalen, zerebellären und sensomotorischen Ruhenetzwerken nachweisen (Rocca, Marchetti et al. 2019). Andere Studien, die pharmakotherapeutische Effekte bezüglich der funktionellen Konnektivität bei Vorliegen einer Multiplen Sklerose betrachteten, untersuchten diese vorwiegend aufgabenbezogen und weniger anhand von Ruhenetzwerken (Rocca, De Meo et al. 2020). Die hierbei untersuchten pharmakotherapeutischen Interventionen umfassten Rivastigmin (Parry, Scott et al. 2003), 3,4-Diaminopyridin (Mainero, Inghilleri et al. 2004) und Rivastigmin im Vergleich zu Domperidon (Cader, Palace et al. 2009).

Obgleich grundsätzlich gezeigt werden konnte, dass die Konnektivität der Ruhenetzwerke bei Vorliegen einer Multiplen Sklerose in vielerlei Hinsicht verändert sein kann, wie die reduzierte funktionelle Konnektivität von sensorischen oder kognitionsbezogenen Ruhenetzwerken (Kingwell 2012), war man sich ohne den dazugehörigen Kontext von klinischen oder strukturellen Zusatzinformationen, die eine Krankheitsprogression bzw. Krankheitsremission anzeigen, im Unklaren, ob eine veränderte funktionelle Konnektivität einen adaptiven oder maladaptiven Prozess darstellt. So zielte ein Großteil vorangegangener Studien vor allem darauf ab, die Zusammenhänge zwischen veränderter funktioneller Konnektivität und klinisch fassbaren Symptomen sowie strukturell objektivierbaren MRT-Befunden zu untersuchen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass eine reduzierte funktionelle Konnektivität in verschiedenen Ruhenetzwerken signifikant mit dem T2-Läsionsvolumen und dem klinischen Behinderungsgrad, der mittels Expanded Disability Status Scale (EDSS) quantifiziert wurde, korreliert (Rocca, Valsasina et al. 2012). Die reduzierte funktionelle Konnektivität in parietalen, frontalen und zerebellären Regionen kognitiver, sensorischer und motorischer Ruhenetzwerke war dabei bereits in frühen Krankheitsstadien der Multiplen Sklerose, wie dem klinisch isolierten Syndrom, nachweisbar und nahm mit zunehmender Krankheitsprogression weiter ab (Rocca, Valsasina et al. 2018). Auch andere Autoren wiesen bei Vorliegen einer Multiplen Sklerose auf frühzeitig (Roosendaal, Hulst et al. 2010) und sensitiv (Richiardi, Gschwind et al. 2012) nachweisbare Anomalien der funktionellen Konnektivität in Ruhenetzwerkregionen hin, woraus die Hoffnung auf einen potenziellen Biomarker erwuchs, welcher die klinische und radiologische Verlaufsbeurteilung als auch die Beurteilung des Behandlungserfolgs einer verlaufsmodifizierenden Therapie ergänzt. Eine grundsätzliche Einschränkung der konventionellen klinischen und radiologischen Parameter wie beispielsweise EDSS oder Läsionslast liegt darin begründet, dass diese einen ausbleibenden Behandlungserfolg einer verlaufsmodifizierenden Therapie nur nachträglich aufgrund einer stattgehabten Krankheitsprogression feststellen kann oder weil beispielsweise erneut Schubereignisse aufgetreten sind und neue Läsionen im cMRT nachweisbar waren.

Eine große Motivation für die Untersuchung der funktionellen Konnektivität stellte zudem dar, ein tieferes Verständnis für den Zusammenhang zwischen einer krankheitsbedingten diffusen Schädigung des zentralen Nervensystems im Sinne eines sogenannten multiplen Diskonnektionssyndroms (Calabrese and Penner 2007) und der heterogenen klinischen Manifestation von Symptomen zu entwickeln. Thematisch wird im Zusammenhang mit adaptiven und kompensatorischen Mechanismen nach krankheitsbedingter struktureller Schädigung des zentralen Nervensystems dem Konzept der Neuroplastizität eine wichtige Rolle beigemessen (Tomassini, Matthews et al. 2012) und die gezeigten Veränderungen der funktionellen Konnektivität als potenzieller Ausdruck hiervon diskutiert. Prozesse, die der Neuroplastizität zugeordnet werden, vollziehen sich nicht nur auf struktureller Ebene, wie beispielsweise an Neuronen, Synapsen, Axonen oder Myelinscheiden, sondern auch in den übergeordneten Netzwerken des Gehirns, die anhand der funktionellen Konnektivität untersucht werden können (Rocca, De Meo et al. 2020).

So konnte beispielsweise in aufgabenbasierten fMRT-Studien gezeigt werden, dass Patienten mit Multipler Sklerose, die jedoch kognitiv keine objektivierbaren Einschränkungen aufwiesen, bei der Durchführung von kognitiven Aufgaben eine durchgehend erhöhte zerebrale Aktivierung, ein stärker verteiltes kortikales Rekrutierungsmuster sowie veränderte funktionelle Konnektivität in kognitionsabhängigen Regionen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden zeigten, was nahelegte, dass diese gezeigten Veränderungen adaptiven Kompensationsmechanismen entsprechen, welche die klinische Manifestation von krankheitsbedingten strukturellen Schäden zu einem gewissen Grad begrenzen (Rocca, Amato et al. 2015).

Aufgabenbasierte fMRT-Paradigmen besitzen jedoch den großen Nachteil bei der Durchführung und Interpretation der Messungen, dass diese in einem erheblichen Umfang von der Leistungsfähigkeit der jeweiligen Probanden abhängig sind und dadurch Untersuchungen an krankheitsbedingt eingeschränkten Individuen nur unter Vorbehalt umsetzbar sind.

Dies stellt zugleich den größten Vorteil der resting-state-Messbedingung dar, da diese deutlich unabhängiger von der Leistungsfähigkeit und der Krankheitsschwere des jeweiligen Probanden ist und dadurch erlaubt, auch krankheitsbedingt eingeschränkte Individuen, wie beispielsweise Probanden mit einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose, eingehend zu untersuchen (Rocca, Amato et al. 2015).

Unter Einbezug der oben geschilderten Sachverhalte, war das Hauptziel dieser Dissertation eine Untersuchung der funktionellen Konnektivität der Ruhenetzwerke bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose bezüglich früherer therapeutischer Effekte durch eine verlaufsmodifizierende Therapie mit Dimethylfumarat. Hierfür sollte die folgende Studienhypothese überprüft werden:

„Dimethylfumarat bewirkt innerhalb von zwei Monaten eine Normalisierung der funktionellen Konnektivität von den Ruhenetzwerken in der funktionellen Magnetresonanztomographie“.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Studiendesign

Zur Beantwortung der Studienhypothese wurde als Studiendesign eine prospektive Beobachtungsstudie konzipiert. 20 Probanden mit schubförmig remittierender Multipler Sklerose, bei denen eine von der Studienteilnahme unabhängige Indikation für eine Dimethylfumarattherapie bestand (RRMS-DMF-Gruppe), wurden zu definierten Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn mit Dimethylfumarat im Längsschnittvergleich untersucht. Zugleich erfolgten Querschnittsvergleiche zu zwei Kontrollgruppen. 10 Probanden mit schubförmig remittierender Multipler Sklerose, die einen stabilen Krankheitsverlauf ohne Therapie oder unter einer immunmodulatorischen Therapie mit Glatirameracetat oder Interferon- β aufwiesen, bildeten die RRMS-Kontrollgruppe und 10 gesunde Probanden ohne bestehende Diagnose oder Therapie die gesunde Kontrollgruppe. Als Studienpopulation waren entsprechend insgesamt 40 Probanden vorgesehen. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät Tübingen genehmigt (Projektnummer 594/2013BO1), die Studiendurchführung entspricht der letzten Version der Deklaration von Helsinki und sämtliche Studienteilnehmer gaben vor Studieneinschluss ihre schriftliche aufgeklärte Einwilligung in die Studienteilnahme.

2.1.1. Studieneinschlusskriterien

Bei den Probanden der RRMS-DMF-Gruppe und der RRMS-Kontrollgruppe musste die Diagnosestellung gemäß der McDonald-Kriterien für die schubförmig remittierende Multiple Sklerose, ein Alter zwischen 18-55 Jahren und ein EDSS-Wert zwischen 0-5 bei Studieneinschluss bestehen. Bei der RRMS-DMF-Gruppe wurde eine von der Studienteilnahme unabhängige Indikation für eine Dimethylfumarattherapie nach europäischer Leitlinie gestellt. Bei der RRMS-Kontrollgruppe bestand mit oder ohne einer immunmodulatorischen Therapie mit Glatirameracetat oder Interferon- β ein stabiler Krankheitsverlauf ohne Schubereignisse oder Gadolinium-aufnehmende Läsionen in den letzten 12 Monaten vor Studieneinschluss. Die gesunde Kontrollgruppe wurde der RRMS-DMF-Gruppe bezüglich Alter und Geschlecht angepasst.

2.1.2. Studienausschlusskriterien

Als allgemeine Ausschlusskriterien wurden jedwede Befunde definiert, die eine potenzielle Gefährdung für die Studienteilnehmer darstellten. So wurde niemand in diese Studie eingeschlossen, bei dem eine Kontraindikation bezüglich einer Messung im MRT bestand. Ebenfalls wurden sämtliche Personen exkludiert, bei denen Hinweise auf eine Schwangerschaft, ausgeprägte Unverträglichkeitsreaktionen oder einer klinisch relevanten Komorbidität wie beispielsweise einem Malignom oder einer schweren Infektionskrankheit wie HIV, Hepatitis B oder C vorlagen.

Ferner durfte keine komorbid bestehende neurologische und psychiatrische Erkrankung nach den ICD-10-Kriterien von F00-99 und G00-99 vorliegen sowie insbesondere keine andere Verlaufsform der Multiplen Sklerose als die schubförmig remittierende. In Bezug auf die Krankheitsaktivität durfte im Zeitraum von 50 Tagen vor der Baseline-Messung keine Schubsymptomatik oder ein instabiler Zustand nach einem Schub bestehen sowie keine Gadolinium-aufnehmende Läsion im cMRT in den letzten 3 Monaten vor Studieneinschluss. Außerdem stellte jede Vorbehandlung mit den im Folgenden genannten Therapiemodalitäten ein Ausschlusskriterium dar. So durfte keine Vorbehandlung mit Dimethylfumarat, Fumaderm, Cladribin, T-Zell-Rezeptor-Impfungen, monoklonalen Antikörpern, Fingolimod oder einer Radiatio bestehen. Bis 50 Tage vor Studienschluss durfte keine Behandlung mit Kortikosteroiden bestehen, bis 6 Monate zuvor keine mit Ciclosporin, Azathioprin, Methotrexat, Natalizumab, Mycophenolat-Mofetil, Immunglobulinen, Plasmapheresen, Zytopheresen sowie keinem anderen Studienpräparat oder einer zugelassenen Therapie für Forschungszwecke und bis 12 Monate zuvor keine Therapie mit Mitoxantron oder Cyclophosphamid.

2.1.3. Studienprotokoll

| Tabelle 1: Studienprotokoll | | | | | | |
|-------------------------------|----|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | B1 | B2 T=0 | V1 +0,5M | V2 +1M | V3 +2M | V4 +6M |
| RRMS-DMF-Gruppe (n=20) | | | | | | |
| MRT | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| EDSS | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| MSFC | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SDMT | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| FSS | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SIP | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Interview | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| RRMS-Kontrollgruppe (n=10) | | | | | | |
| MRT | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| EDSS | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| MSFC | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SDMT | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| FSS | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SIP | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Interview | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Gesunde Kontrollgruppe (n=10) | | | | | | |
| MRT | ■ | | | | | |

Gemäß der Studienkonzeption und des Studienprotokolls erfolgte die Durchführung der Studienuntersuchungen (MRT, EDSS, MSFC, SDMT, FSS, SIP, Interview) in Abhängigkeit von der Gruppe (RRMS-DMF-Gruppe, RRMS-Kontrollgruppe, gesunde Kontrollgruppe) und den Messzeitpunkten (Baseline B1 und B2 sowie Visiten V1, V2, V3 und V4). Vorgesehene Untersuchungen wurden hierbei jeweils mit einem schwarzen Kästchen dargestellt.

2.1.4. Studienablauf

Bei der RRMS-DMF-Gruppe erfolgte unmittelbar nach der B2-Messung der Therapiebeginn mit Dimethylfumarat, sodass die Baseline-Messungen (B1 eine Woche vor Therapiebeginn und B2 unmittelbar vor Therapiebeginn) entsprechend die Messzeitpunkte vor Therapiebeginn darstellten und die nachfolgenden Messungen (V1, V2, V3 und V4) die Messzeitpunkte nach Therapiebeginn. Bei der RRMS-Kontrollgruppe und der gesunden Kontrollgruppe erfolgten die Messungen ohne geplante Therapieänderung, aber in denselben zeitlichen Abständen wie bei der RRMS-DMF-Gruppe. Die zeitlichen Intervalle zwischen den Visiten wurden so gewählt, dass unmittelbar nach Therapiebeginn durch engmaschigere Messzeitpunkte (V1 nach 2 Wochen, V2 nach 4 Wochen, V3 nach 2 Monaten und V4 nach 6 Monaten) frühzeitig auftretende Veränderungen der funktionellen Konnektivität in den Ruhenetzwerken mit einer höheren Wahrscheinlichkeit erfasst werden können. Die Follow-Up-Messungen (V5 nach 12 Monaten und V6 nach 24 Monaten nach Therapiebeginn) wurden im Studienprotokoll nicht dargestellt, zumal diese hauptsächlich gesondert im Rahmen einer anderen Dissertation behandelt wurden.

2.1.5. Klinisches Untersuchungsprotokoll

Die klinischen Untersuchungen waren gemäß des Studienprotokolls ausschließlich für die RRMS-DMF-Gruppe und die RRMS-Kontrollgruppe vorgesehen, womit der klinische Krankheitsverlauf, mit Ausnahme bei B2, zu jedem Messzeitpunkt mittels Expanded Disability Status Scale (Kurtzke 1983), Multiple Sclerosis Functional Composite (Fischer, Rudick et al. 1999), Symbol Digit Modalities Test (Langdon, Amato et al. 2012), Fatigue Severity Scale (Krupp, LaRocca et al. 1989) sowie Sickness Impact Profile (Bergner, Bobbitt et al. 1981) standardisiert erfasst und beurteilt werden sollte. Zusätzlich wurden bei B1 neben soziodemographischen Merkmalen wie Alter oder Geschlecht die jeweilige Erkrankungsdauer und Symptombdauer der Probanden dokumentiert und mittels eines klinischen Interviews zu jedem Messzeitpunkt stattgehabte Schubereignisse und neu aufgetretene kontrastmittel-aufnehmende Läsionen in studienunabhängigen cMRT-Bildgebungen anamnestisch erfasst.

2.1.5.1. Expanded Disability Status Scale (EDSS)

Mittels EDSS (Kurtzke 1983) kann der klinische Behinderungsgrad erfasst werden. Hierfür werden 8 Funktionsbereiche beurteilt, bestehend aus Pyramidenbahn, Kleinhirn, Hirnstamm, Sensorium, zerebraler Funktion, Visus, Blasen- und Mastdarmfunktion sowie einer Kategorie für weitere neurologische Defizite. Hierbei sind EDSS-Werte in Ordinalskalen zwischen 0 („unauffällige neurologische Untersuchung“) bis 10 („Tod infolge der Multiplen Sklerose“) möglich. Die methodische Validität des EDSS wurde hinreichend belegt (Amato and Ponziani 1999). Die methodische Reliabilität zeigt sich mit einer Interrater-Reliabilität mit Kappa-Werten zwischen 0,32 bis 0,76 für den EDSS-Gesamtwert sowie Kappa-Werten zwischen 0,23 bis 0,58 für die einzelnen EDSS-Funktionsbereiche und einer jeweils höheren Intrarater-Reliabilität eher eingeschränkt, wobei sich die Variabilität sowohl bezüglich Inter- als auch Intrarater-Reliabilität für EDSS-Gesamtwerte unter 3,5 als ausgeprägter zeigt, als für EDSS-Gesamtwerte über 3,5. Auch zeigt sich die Änderungssensitivität bei EDSS-Ausgangswerten über 6 eingeschränkt, sodass bei einem EDSS-Ausgangswert unter 6 bei einem Anstieg um 1 eine klinisch relevante Behinderungsprogression angenommen wird, ab einem EDSS-Ausgangswert von 6 bereits bei einem Anstieg um 0,5, wenn diese für 12-24 Wochen anhält (Meyer-Moock, Feng et al. 2014). Trotz der eingeschränkten Reliabilität und Änderungssensitivität sowie der unzureichenden Anwendbarkeit von parametrischen statistischen Methoden (Amato and Ponziani 1999), ist ein großer Vorteil die internationale Akzeptanz und der Einsatz als Studienendpunkt in einer Vielzahl von Studien, welche studienübergreifende Vergleiche ermöglichen (Meyer-Moock, Feng et al. 2014).

2.1.5.2. Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC)

Auch mittels MSFC (Fischer, Rudick et al. 1999) kann der klinische Behinderungsgrad erfasst werden, wofür 3 verschiedene Funktionsbereiche betrachtet werden. So wird zur Beurteilung der unteren Extremität die benötigte Dauer für eine Gehstrecke von 7,62 Metern gemessen (Gehstrecke entspricht 25 Fuß, daher „Timed 25 Foot Walk“, T25FW), für die obere Extremität erfolgt ein Steckbretttest („9 Hole Peg Test“, 9HPT) und zur Testung der kognitiven Funktionen wird ein sogenannter „Paced Auditory Serial Addition Test“ (PASAT) durchgeführt. Die methodische Validität gilt als hinreichend belegt (Meyer-Moock, Feng et al. 2014). Die methodische Reliabilität wird mit einer Interrater-Reliabilität von 0,96 und einer Intrarater-Reliabilität von 0,98 als hoch eingeschätzt. In Bezug auf die Änderungssensitivität gelten Veränderungen der einzelnen Funktionsbereiche ab 20% als klinisch relevant. Zu den Haupteinschränkungen zählen die Lerneffekte im PASAT, die fehlende Beurteilung des Visus und die notwendige z-Transformation (Meyer-Moock, Feng et al. 2014).

Um eine studienübergreifende Vergleichbarkeit zu gewährleisten, erfolgte die erforderliche z-Transformation der MSFC-Werte anhand der unten aufgeführten Formel von der „Task Force Database“ entnommen aus der überarbeiteten Version von 2001 des „Administration and Scoring Manuals“ der „National Multiple Sclerosis Society“ (Tiftikçioğlu 2018).

$$\text{MSFC} = \frac{1}{3} \times \left\{ \frac{\left(\text{Mittelwert} \left(\frac{1}{9\text{HPT}} \right) - 0,0439 \right)}{0,0101} \right\} + \left\{ \frac{-(\text{Mittelwert} [\text{T25FW}] - 9,5353)}{11,4058} \right\} + \left\{ \frac{([\text{PASAT3}] - 45,0311)}{12,0771} \right\}$$

2.1.5.3. Symbol Digit Modalities Test (SDMT)

Kognitive Defizite treten bei Vorliegen einer Multiplen Sklerose mit einer Prävalenz von 40-70% auf (Chiaravalloti and DeLuca 2008). Die Geschwindigkeit der Informationsverarbeitung stellt im Rahmen einer Multiplen Sklerose das häufigste kognitive Defizit dar und kann mittels SDMT beurteilt werden (Rocca, Amato et al. 2015). Die methodische Validität und Reliabilität vom SDMT wurden hinreichend belegt (Benedict, Deluca et al. 2017). Der SDMT zeigt sich aufgrund seiner hohen Änderungssensitivität insbesondere für Längsschnittbeurteilungen geeignet (Amato, Portaccio et al. 2010).

2.1.5.4. Fatigue Severity Scale (FSS)

Fatigue-Symptome treten bei Vorliegen einer Multiplen Sklerose mit einer Prävalenz von etwa 75% auf (Learmonth, Dlugonski et al. 2013). Unter einer Fatigue versteht man „ein Gefühl von körperlicher Müdigkeit und Energiemangel, das sich von Traurigkeit oder Schwäche unterscheidet“ (Krupp, LaRocca et al. 1989), die anhand eines Fragebogens mit 9 Aussagen, die auf einer siebenstufigen Likert-Skala von 1 („trifft überhaupt nicht zu“) bis 7 („trifft voll und ganz zu“) patientenbasiert erfasst werden (Lerdal 2014). Ab einem FSS-Mittelwert ≥ 4 kann von einem schweren Fatigue-Syndrom ausgegangen werden (Krupp, LaRocca et al. 1989). Die methodische Validität (Krupp, LaRocca et al. 1989) und Reliabilität (Lerdal, Wahl et al. 2005) wurde neben der Änderungssensitivität gezeigt und ist dadurch geeignet, Fatigue-Symptome diagnostisch zu erfassen (Whitehead 2009).

2.1.5.5. Sickness Impact Profile (SIP)

Krankheitsbedingte Alltagseinschränkungen werden im SIP anhand von 136 Items erfasst, die in insgesamt 12 Kategorien untergliedert werden und verschiedene Alltagsbereiche abbilden, wie beispielsweise physische oder psychosoziale Domänen. Es sind SIP-Werte zwischen 0 („keine Funktionsstörung“) bis 100 („maximale Funktionsstörung bzw. Tod“) möglich. Die methodische Validität und Reliabilität wurde hinreichend gezeigt (Wu, Skinner et al. 2014). Die Änderungssensitivität ist bei schweren Krankheitsgraden höher als bei leichten (Wu, Skinner et al. 2014).

2.1.6. MRT-Untersuchungsprotokoll

| Tabelle 2: MRT-Untersuchungsprotokoll | |
|---------------------------------------|------------------|
| MRT-Sequenzbezeichnungen | Dauer |
| LOCALIZER | 10 Sekunden |
| BOLD-SEQUENCE | 18 (3*6) Minuten |
| 3D-T1w-MPRAGE | 5 Minuten |
| 3D-T1w-MP2RAGE | 5 Minuten |
| 2D-FLAIR-AXIAL | 4 Minuten |
| DTI-SEQUENCE | 8 Minuten |
| 2D-T2w-AXIAL | 8 Minuten |
| 3D-DIR-AXIAL-1x1x3mm | 8 Minuten |

Die MRT-Untersuchung erfolgte mit einem Siemens Prisma mit 3,0 Tesla in Tübingen. Die funktionelle MRT-Bildgebung umfasste eine 18-minütige BOLD-Sequenz mit 3 verschiedenen Messbedingungen (Session 1-3) für jeweils 6 Minuten. Die ersten beiden Sessions (S1, S2) stellten resting-state-Messbedingungen dar, die dritte eine Kontroll-Messbedingung (S3). Für S1 wurden die Probanden angewiesen, die Augen geschlossen zu halten, bewegungslos zu bleiben, an nichts Spezielles zu denken und nicht einzuschlafen. Im Anschluss sollten sie für S2 ihre Augen öffnen und ein Fadenkreuz fixieren. Für S3 sollten sie eine explizit vordefinierte Rechenaufgabe (Berechnung der Fibonacci-Folge) lösen, die ihnen im Vorfeld der Untersuchung eingehend erläutert wurde.

Die BOLD-Sequenz erfolgte mit einer T2-gewichteten echoplanaren Bildgebung (Echo Planar Imaging, EPI) unter 180-facher Aufnahme von 36 axial ineinander verschachtelten (interleaved) Schichten, parallel zur AC-PC-Achse (neuroradiologische Verbindungslinie zwischen Commissura anterior und posterior) mit Einstellung von Repetitionszeit (Repetition Time, TR)=2000ms, Echozeit (Echo Time, TE)=32ms, Anregungswinkel (Flip Angle, FA)=80°, Field of View (FOV)=115,2mm*115,2mm, Matrix=64*64 und Schichtdicke (Slice Thickness)=3,2mm.

2.2. Datenanalyse

2.2.1. Klinische Datenanalyse

Ziel der klinischen Untersuchungen war die Beurteilung des klinischen Krankheitsverlaufs. Die RRMS-DMF-Gruppe sollte hierbei im Längsschnittvergleich vor und nach Therapiebeginn mit Dimethylfumarat als auch im Querschnittvergleich zur RRMS-Kontrollgruppe betrachtet werden. Hierfür erfolgte die Beurteilung des klinischen Behinderungsgrades mittels EDSS und MSFC, der kognitiven Defizite mittels SDMT und der Fatigue-Symptome mittels FSS und SIP. Mit Ausnahme der ordinalskalierten EDSS-Werte, wurde hierfür jeweils eine Mixed ANOVA berechnet. Vor Durchführung der jeweiligen Mixed ANOVA wurden die Voraussetzungen eingehend überprüft.

2.2.2. Strukturelle MRT-Datenanalyse

Ziel der strukturellen MRT-Untersuchungen war die Beurteilung des radiologischen Krankheitsverlaufs bezüglich Läsionslast und Hirnatrophie. Für die Läsionslast wurden Anzahl und Volumen der T1- und T2-Läsionen bestimmt, für die Hirnatrophie der Hirnparenchymanteil sowie das Hirnvolumen und das Volumen der grauen und weißen Substanz.

Die T1- und T2-Läsionen wurden durch zwei erfahrene ärztliche Studienmitarbeiter unabhängig voneinander unter Nutzung von ITK-SNAP Version 3.8.0, (Yushkevich, Pashchinskiy et al. 2019) für die Messzeitpunkte B1 und V6 (Follow-Up-Messung 24 Monate nach Therapiebeginn) manuell segmentiert. Im Anschluss wurden von den unabhängig segmentierten Läsionen die entsprechenden Mittelwerte gebildet.

Mittels der SIENAX-Software (Structural Imaging Evaluation of Normalized Atrophy, SIENA [Smith 2001, Smith 2002], einem Teil vom FSL-Paket [Smith 2004]) wurden anhand der T1-gewichteten MRT-Sequenzen automatisiert Hirnvolumina, die Hirnparenchymanteile sowie die Volumina der grauen und weißen Substanz segmentierungsbasiert ermittelt und in Bezug auf das intrakranielle Gesamtvolumen normalisiert (Stevenson, Smith et al. 2002).

2.2.3. Funktionelle MRT-Datenanalyse

Ziel der funktionellen MRT-Untersuchungen war die Überprüfung der Studienhypothese bezüglich Veränderungen der funktionellen Konnektivität von den Ruhenetzwerken innerhalb von 2 Monaten nach Therapiebeginn mit Dimethylfumarat bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose. Für die Untersuchungen der funktionellen Konnektivität wurden 14 Ruhenetzwerke ausgewählt (Auditory, Basal-Ganglia, dDMN, High-Visual, Language, LECN, Motor, Post-Saliency, Precuneus, Prim-Visual, RECN, Saliency, vDMN, Visuospatial), die bereits eingehend untersucht worden sind (Shirer, Ryali et al. 2012). Um diese zu identifizieren waren mehrere Schritte notwendig, die in einem datenvorverarbeitenden (Preprocessing) und einem datenverarbeitenden (Processing) Abschnitt untergliedert werden können.

2.2.3.1. Datenvorverarbeitung (Preprocessing)

Die Datenvorverarbeitung wurde mit der SPM12-Toolbox (Statistical Parametric Mapping) für MATLAB durchgeführt und umfasste eine Bewegungskorrektur (Realignment), Zeitschichtkorrektur (Slice-Timing-Correction), Koregistrierung (Coregistration), Segmentierung (Segmentation), Normalisierung (Normalisation) sowie eine Glättung (Smoothing) und eine Bandbreitenfilterung (Bandpass Filtering). Zusammengefasst war die Bewegungskorrektur notwendig, um Bewegungsartefakte, die beispielsweise durch Kopfbewegungen im MRT entstehen, durch Verschiebungen und Drehungen in den drei Raumrichtungen und Raumachsen bei gleichzeitigem Belassen der Größe und Form des Ausgangsobjektes im Sinne einer „6-Figure-Rigid-Body-Transformation“ auszugleichen. Die Zeitschichtkorrektur war unerlässlich für die Berücksichtigung der unterschiedlichen Bildakquisitionszeiten. Bei der Koregistrierung wurden die jeweiligen Voxel verschiedener Bildgebungsmodalitäten, wie sie bei den strukturellen und funktionellen MRT-Bildgebung vorliegen, räumlich miteinander abgeglichen. Durch die Segmentierung wurden für die verschiedenen Gewebetypen wie der weißen und grauen Substanz oder dem Liquor cerebrospinalis, aber auch für die T1- und T2-Läsionen, jeweils Bildmasken generiert. Um in verschiedenen Gehirnen, die sich jeweils in Größe und Form

unterscheiden, einen voxelweisen Vergleich von Aktivierungsmustern zu ermöglichen, war eine Normalisierung notwendig, welche die individuelle Neuroanatomie in ein Standardkoordinatensystem projiziert und so ein normalisiertes Standardgehirn generiert, wofür das in SPM12 vorgesehene „Default-EPI-Template“ verwendet wurde. Danach wurde eine Glättung mit einem „3D-6mm-Gauß-Kern“ durchgeführt, womit zufällig veränderte Bildgrauwerte einzelner Voxel herausgemittelt werden sollten. Abschließend wurden mit der REST-Software (Resting State fMRI Data Analysis Toolkit) Frequenzen außerhalb von 0,01-0,08Hz herausgefiltert (Song, Dong et al. 2011).

2.2.3.2. Datenverarbeitung (Processing)

Um eine studienübergreifende Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurden nach Abschluss der Datenvorverarbeitung analog zu einer vergleichbaren Studie (Rocca, Valsasina et al. 2012) mit der GIFT-Software (Group ICA of FMRI Toolbox) datengetriebene Komponentenanalysen durchgeführt, die eine Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis, PCA) und eine Unabhängigkeitsanalyse (Independent Component Analysis, ICA) beinhalteten (Calhoun, Adali et al. 2001). Hierbei wurde der gesamte fMRT-Datensatz mittels PCA zu Hauptkomponenten reduziert und zu den jeweiligen Messzeitpunkten zusammengefasst, woraus durch die Unabhängigkeitsanalyse auf Gruppenebene (Group-ICA), die zu identifizierenden Ruhenetzwerke in Form von unabhängigen Komponenten mit dem Infomax-Optimierungsprinzip algorithmisch ermittelt (Bell and Sejnowski 1995) und mit den implementierten Funktionen der GIFT-Software rekonstruiert wurden (Calhoun, Adali et al. 2001). Die Anzahl der unabhängigen Komponenten wurde hierbei entsprechend dem informationstheoretischen Kriterium der minimalen Beschreibungslänge (Minimum Description Length Criterion) auf 40 geschätzt (Calhoun, Adali et al. 2001), wobei eine unterschätzte Anzahl zu einer eingeschränkten Auftrennung von tatsächlich unabhängigen Komponenten und eine überschätzte Anzahl zu einer abnehmenden Stabilität der ermittelten unabhängigen Komponenten führen kann (Li, Adali et al. 2007), sodass mit der ICASSO-Toolbox unter zehnfacher Anwendung des Infomax-

Optimierungsprinzips mit unterschiedlichen Ausgangsbedingungen als auch mit Bootstrapping-Verfahren die statistische Reliabilität der unabhängigen Komponenten überprüft wurde (Himberg, Hyvärinen et al. 2004). Offensichtliche Artefakte wurden durch eine eingehende visuelle Inspektion und Überprüfung der räumlichen Aktivierungsmuster sowie durch eine Frequenzanalyse der ermittelten unabhängigen Komponenten ausgeschlossen. Diejenigen unabhängigen Komponenten, die in ihren zeitlichen Verläufen sich in einem niedrigen Frequenzbereich zwischen 0,01-0,05Hz befanden und eine hohe spektrale Leistung >50% aufwiesen, wurden mit 14 a priori vordefinierten Ruhenetzwerk-Mustervorlagen auf eine möglichst hohe räumliche Korrelation abgeglichen (Shirer, Ryali et al. 2012) und durch die R²-Implentierung in der GIFT-Software entsprechend des höchsten quadrierten Korrelationskoeffizienten dem jeweiligen Ruhenetzwerk zugeordnet (Damoiseaux, Rombouts et al. 2006). Die auf diese Weise identifizierten 14 Ruhenetzwerke wurden im Ergebnisteil mittels der F-Kontrastfunktion von SPM12 ($p < 0,05_{\text{FWE-korrigiert}}$, Clustergröße $k > 50$ Voxel) illustriert. Die Synchronisationswerte der BOLD-Signale innerhalb der Voxel des jeweiligen Ruhenetzwerks entsprachen den Rohwerten der funktionellen Konnektivität, wofür eine z-Transformation mittels der MARSBAR-Toolbox (Brett, Anton et al. 2002) erfolgte (Rocca, Valsasina et al. 2012).

2.2.3.3. Statistische Analyse

Zur Überprüfung der Studienhypothese, ob die funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke sich durch Dimethylfumarat innerhalb von 2 Monaten verändert, wurden multivariate und univariate Analysen durchgeführt. Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz wurden dabei stets als Kovariaten definiert, sodass für die multivariaten Analysen MANCOVAs und für die univariaten Analysen ANCOVAs berechnet wurden.

Um Atrophien der grauen Substanz als Kovariaten definieren zu können, wurde mittels der SPM12-Toolbox eine Segmentierung der T1-gewichteten MRT-Bilder von der MPRAGE-Messesequenz (Magnetization Prepared Rapid Acquisition with Gradient Echoes) für die graue und weiße Substanz als auch für den Liquor cerebrospinalis durchgeführt (Villain, Desgranges et al. 2008).

Analog zu Villain, Desgranges et al. (2008) sowie Rocca et al. (2012) wurden die segmentierten Bildmasken der grauen Substanz im Anschluss normalisiert und zum Ausgleich der individuellen Unterschiede der gyralen Anatomie durch einen 6mm-Gauß-Kern geglättet. Um die Trennschärfe zwischen grauer und weißer Substanz zu maximieren und eine mögliche Überlappung zu minimieren, wurden sämtliche Voxel durch Schwellenwertverfahren exkludiert, die die mit einer niedrigeren Wahrscheinlichkeit als 50% zur grauen Substanz gehörten. Anhand dieser optimierten Bildmasken wurde für jeden Probanden das jeweilige Volumen der grauen Substanz (GMV) bestimmt und entsprechend der unten aufgeführten z-Transformation ein z-Wert für das Volumen der grauen Substanz (gmz) berechnet, womit potenzielle Atrophien der grauen Substanz in den Analysen der funktionellen Konnektivität als Kovariaten definiert werden konnten (Villain, Desgranges et al. 2008).

$$gmz_{\text{Proband}} = \frac{(GMV_{\text{Proband}} - \text{Mittelwert}[GMV_{\text{Gesunde Kontrollgruppe}}])}{\text{Standardabweichung}[GMV_{\text{Gesunde Kontrollgruppe}}]}$$

Im Rahmen der multivariaten Datenanalyse wurden die z-Werte der funktionellen Konnektivität aller 14 Ruhenetzwerke in einer MANCOVA über alle Messzeitpunkte und Messbedingungen hinweg hinsichtlich signifikanter Unterschiede untersucht. Hierbei war insbesondere der Längsschnittvergleich bei der RRMS-DMF-Gruppe zwischen den Messzeitpunkten vor (B1, B2) und nach Therapiebeginn (V1, V2, V3, V4) von Interesse. Der Querschnittsvergleich erfolgte zu den jeweiligen Messzeitpunkten zwischen den Gruppen. Um insbesondere den Vergleich zwischen den Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn eingehend zu untersuchen, erfolgten im Anschluss 5 weiterführende multivariate Datenanalysen (B1-B2, B1-V1, B1-V2, B1-V3, B1-V4), wofür jeweils eine MANCOVA berechnet wurde.

Abschließend wurden im Rahmen einer univariaten Datenanalyse die z-Werte der funktionellen Konnektivität für jedes der 14 Ruhenetzwerke einzeln in einer ANCOVA zu den jeweiligen Messzeitpunkten und Messbedingungen hinsichtlich signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen unter Durchführung einer Bonferroni-Korrektur untersucht.

2.2.4. Multiple lineare Regressionsanalyse

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der funktionellen Konnektivität der 14 Ruhenetzwerke und den 8 klinischen (EDSS, MSFC, SDMT, FSS, SIP, Alter, Erkrankungsdauer, Symptombdauer) sowie 8 strukturellen Parametern (Hirnparenchymanteil, Hirnvolumen, Volumen grauer Substanz, Volumen weißer Substanz, Anzahl T1-Läsionen, Anzahl T2-Läsionen, Volumen T1-Läsionen, Volumen T2-Läsionen) wurden multiple lineare Regressionsanalysen durchgeführt. Die z-Werte der funktionellen Konnektivität der jeweiligen Ruhenetzwerke wurden dabei als abhängige Variablen definiert und die entsprechenden klinischen sowie strukturellen Parameter als unabhängige Variablen. Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz wurden hierbei stets als Kovariaten berücksichtigt, sodass jede multiple lineare Regressionsanalyse mit insgesamt 4 unabhängigen Variablen berechnet wurde. Anhand der unabhängigen Variablen wurden mittels SPSS die entsprechenden nicht-standardisierten Prädiktoren berechnet als auch die korrigierten R^2 -Werte mit der unten aufgeführten Formel in Abhängigkeit der Anzahl der Beobachtungen (n_B) und unabhängigen Variablen ($n_U=4$).

$$R^2_{\text{korrigiert}} = 1 - (1 - R^2) \times \frac{(n_B - 1)}{(n_B - n_U - 1)}$$

Auf diese Weise wurden hypothesengetrieben diejenigen Ruhenetzwerke untersucht, bei denen sich in den multivariaten bzw. univariaten Analysen eine signifikant veränderte funktionelle Konnektivität zeigte, da dort mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit relevante Zusammenhänge vermutet wurden. Die z-Werte der funktionellen Konnektivität wurden dabei in Abhängigkeit von den Messzeitpunkten (B1 bis V4) und Messbedingungen (S1 bis S3) im Zusammenhang mit den 8 klinischen und 8 strukturellen Parametern untersucht. Zusätzlich erfolgten datengetriebene multiple lineare Regressionsanalysen bei denen eine Bonferroni-Korrektur durchgeführt wurde. Da hierbei die z-Werte der funktionellen Konnektivität von 14 Ruhenetzwerken im Zusammenhang von 16 Parametern untersucht wurden, betrug das Signifikanzniveau $\alpha=0,05/224$.

3. ERGEBNISSE

3.1. Ergebnisse der klinischen Datenanalyse

3.1.1. Expanded Disability Status Scale (EDSS)

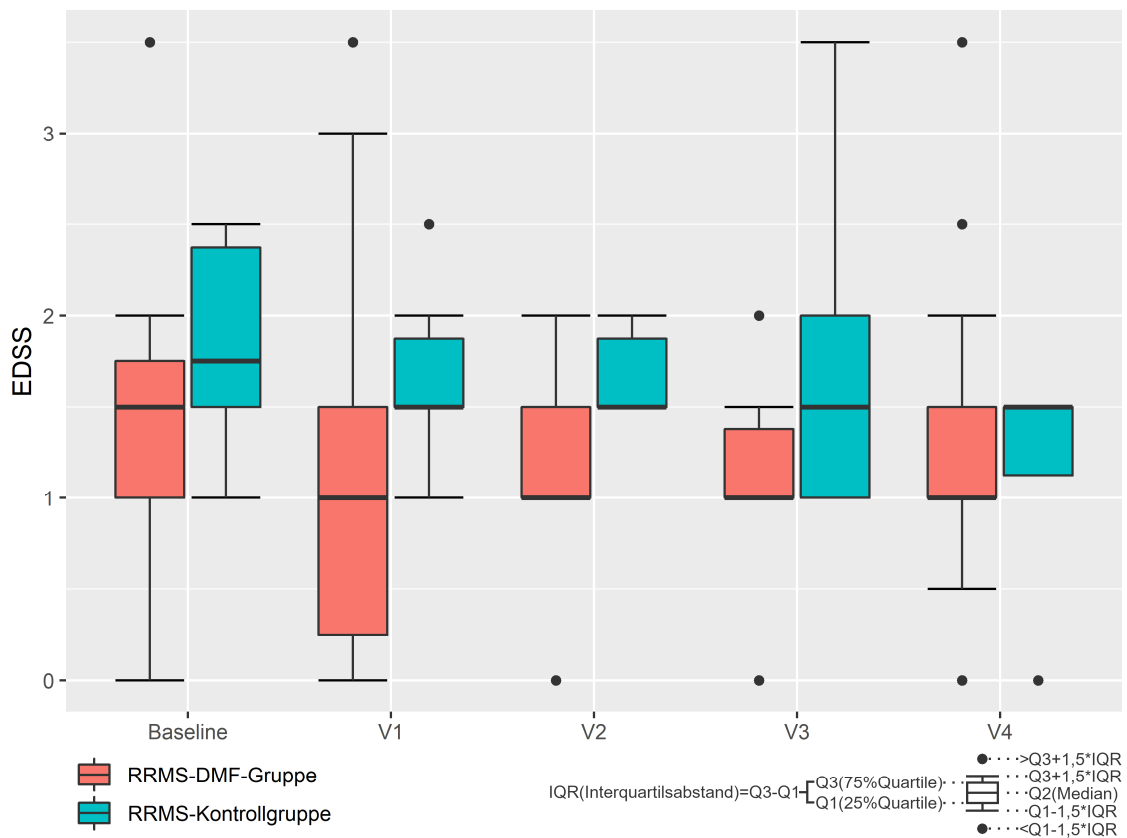


Abbildung 1: EDSS

Bei Baseline betrug der EDSS-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 1,45 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 1,83. In den Längsschnittvergleichen bestand zwischen Baseline und den Messzeitpunkten bis V4 weder in der RRMS-DMF-Gruppe noch in der RRMS-Kontrollgruppe in den jeweils durchgeführten Friedman-Tests ein statistisch signifikanter Unterschied. In den Querschnittsvergleichen bestand zu keinem Messzeitpunkt zwischen den Gruppen in den durchgeführten Mann-Whitney-U-Tests ein statistisch signifikanter Unterschied.

3.1.2. Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC)

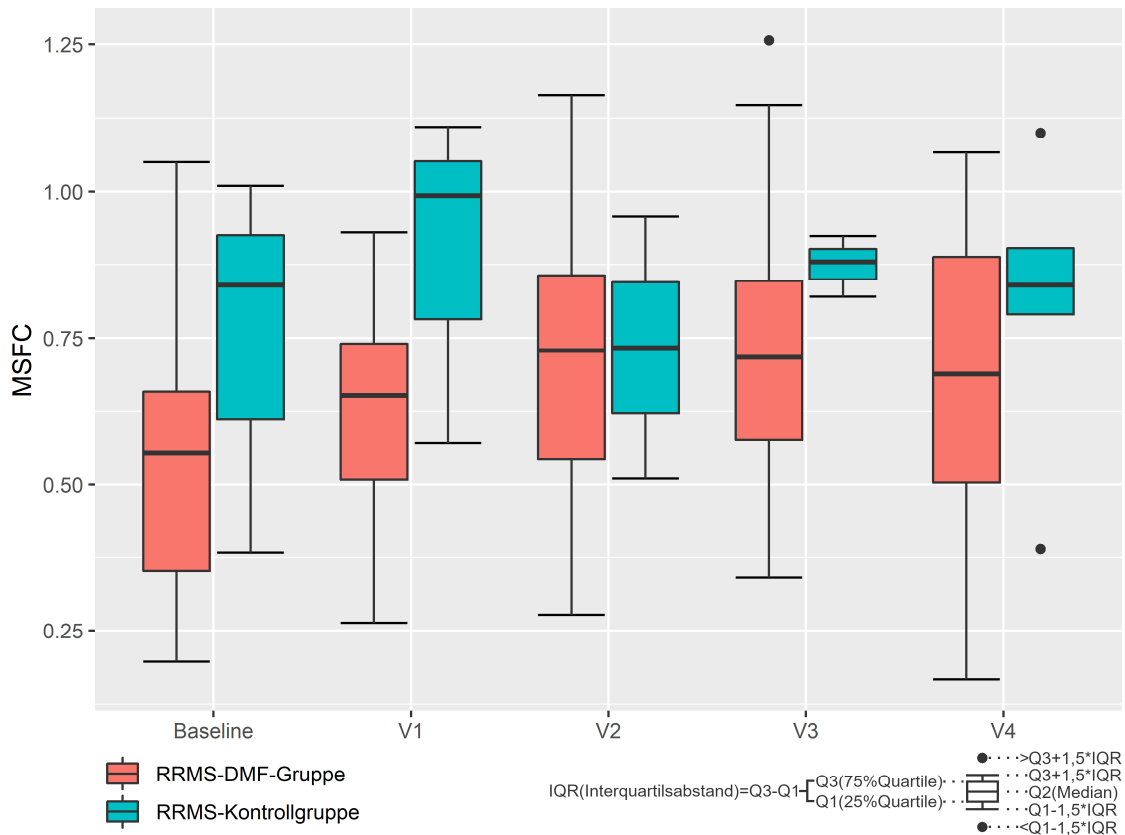


Abbildung 2: MSFC

Bei Baseline betrug der MSFC-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 0,54 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 0,74. Um studienübergreifende Vergleiche zu ermöglichen, wurden die MSFC-Werte anhand der im Methodenteil aufgeführten Formel von der „Task Force Database“ z-transformiert. Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigte sich die Bedingung der Varianzgleichheit (Homoskedastizität) als nicht erfüllt. So zeigte der Levene-Test bei Baseline $p=0,018$ in Bezug auf die Homogenität der Fehlervarianzen zwischen den Gruppen, sodass als alternatives Verfahren eine robuste Mixed ANOVA berechnet wurde, in der sich jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten und Gruppen zeigte, $F(4,9)=0,4$, $p=0,8$.

3.1.3. Symbol Digit Modalities Test (SDMT)

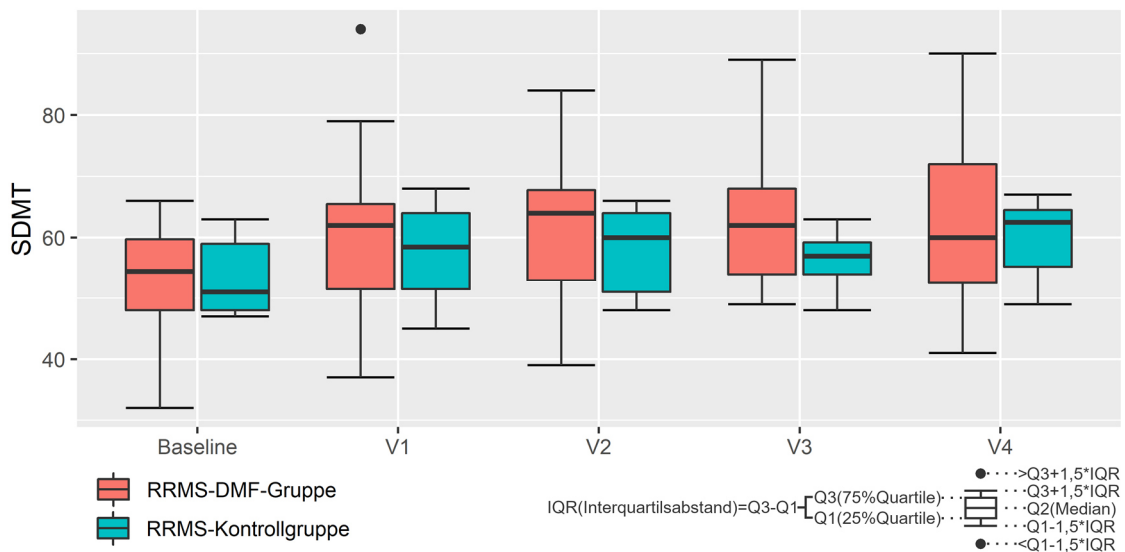


Abbildung 3: SDMT

Bei Baseline betrug der SDMT-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 53,7 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 53,6. Die Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA lagen vor. Es zeigte sich jedoch kein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(3,47)=1,43$, $p=0,25$, partielles $\eta^2=0,82$ sowie kein statistisch signifikanter Haupteffekt bezüglich der Gruppen, $F(1,16)=0,433$, $p=0,520$, partielles $\eta^2=0,026$. Es bestand aber ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(4,64)=2,553$, $p=0,047$, partielles $\eta^2=0,138$. In der daraufhin durchgeführten einfaktoriellen ANOVA mit Messwiederholungen bestanden bei der RRMS-DMF-Gruppe zwischen den Messzeitpunkten signifikante Unterschiede, $F(4,52)=6,57$, $p<0,001$, partielles $\eta^2=0,34$. In den post-hoc-Tests zeigten sich nach Durchführung einer Bonferroni-Korrektur signifikante Verbesserungen zwischen Baseline und V2 um eine mittlere Differenz von 8 ($p=0,027$) sowie zwischen Baseline und V3 um eine mittlere Differenz von 10 ($p=0,01$). Bei der RRMS-Kontrollgruppe zeigten sich zwischen den Messzeitpunkten keine statistisch signifikanten Unterschiede, $F(4,12)=2,24$, $p=0,126$.

3.1.4. Fatigue Severity Scale (FSS)

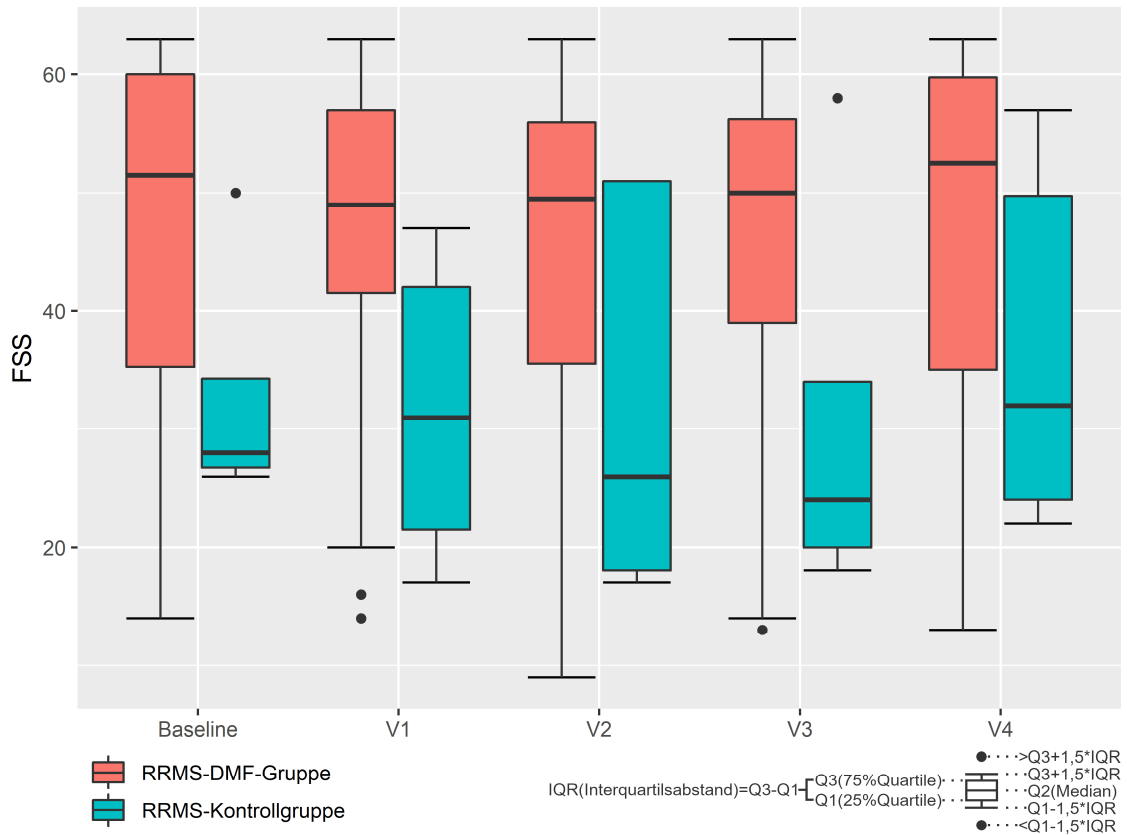


Abbildung 4: FSS

Bei Baseline betrug der FSS-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 51,3 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 36,7. Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigte sich die Bedingung der Varianzgleichheit als nicht erfüllt. So zeigte der Levene-Test bei Baseline $p=0,014$ in Bezug auf die Homogenität der Fehlervarianzen zwischen den Gruppen, sodass als alternatives Verfahren eine robuste Mixed ANOVA berechnet wurde, in der sich jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten und Gruppen zeigte, $F(2,35)=0,232$, $p=0,826$.

3.1.5. Sickness Impact Profile (SIP)

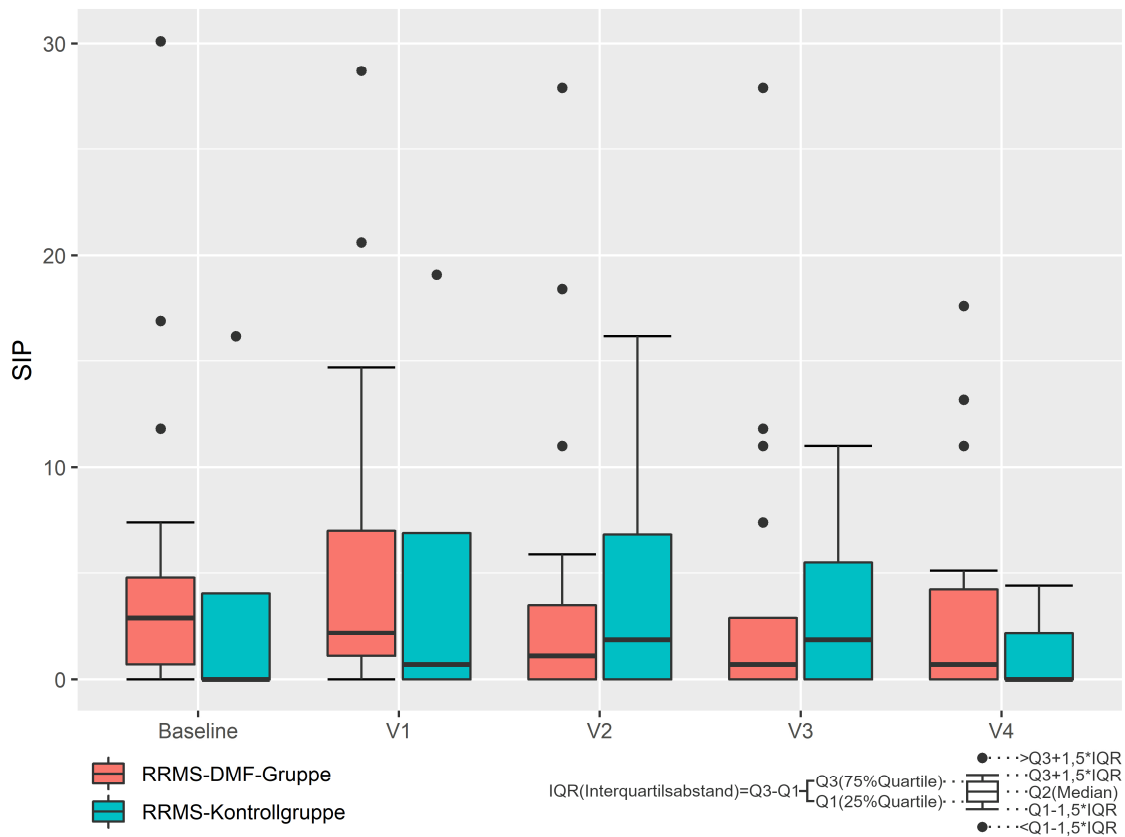


Abbildung 5: SIP

Bei Baseline betrug der SIP-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 5,03 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 4,05. Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigten sich zahlreiche Ausreißer bei der RRMS-DMF-Gruppe, die hauptsächlich zwei Probanden zugeordnet werden konnten. Bei Exklusion der selbigen zeigte sich die Bedingung der Varianzgleichheit gemäß dem Levene-Test als nicht und bei Belassen hingegen als erfüllt. Da bei Belassen der Ausreißer im Mauchly-Test jedoch eine Verletzung der Voraussetzung der Sphärizität vorlag, wurde eine Greenhouse-Geisser Korrektur der Freiheitsgrade vorgenommen. In der Mixed ANOVA zeigte sich vorbehaltlich der geschilderten Einschränkungen kein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(2,28)=0,254$, $p=0,752$, partielles $\eta^2=0,016$. Auch trat weder ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte auf, Greenhouse-Geisser $F(2,28)=1,848$, $p=0,179$, partielles $\eta^2=0,104$ noch bezüglich der Gruppen, Greenhouse-Geisser $F(1,16)=0,005$, $p=0,947$, partielles $\eta^2<0,001$.

3.1.6. Klinisches Interview

3.1.6.1. Rekrutierungsverlauf

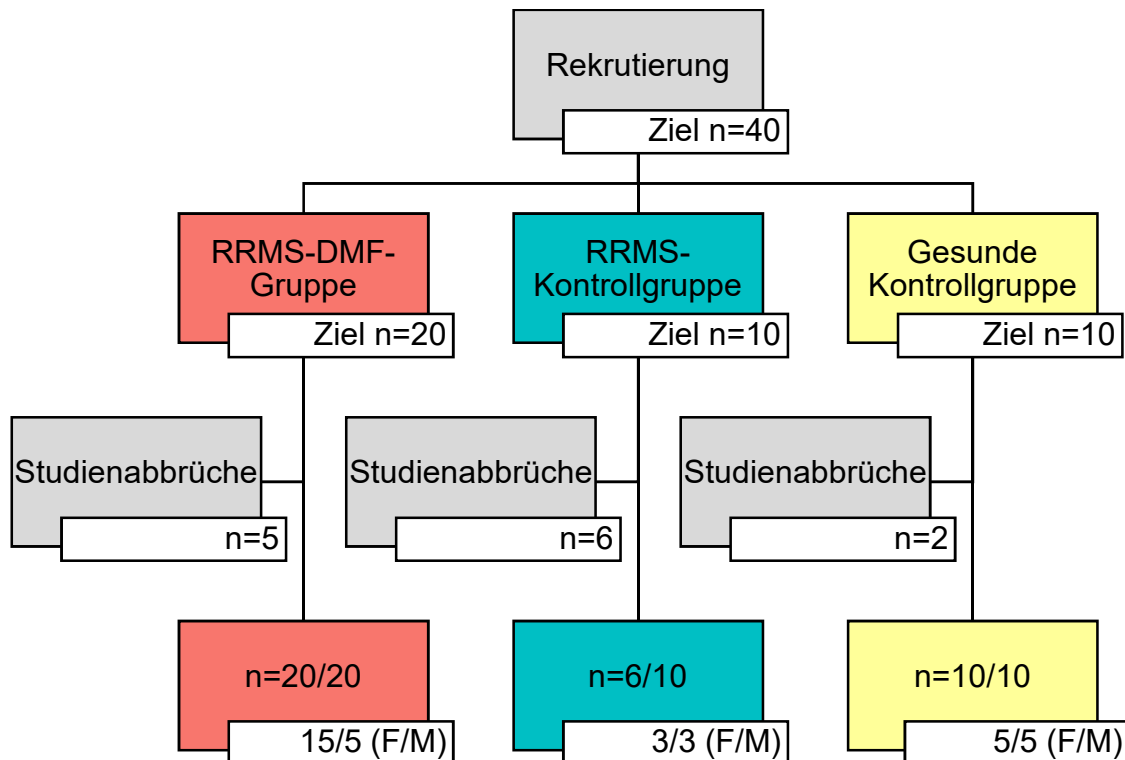


Abbildung 6: Rekrutierungsverlauf

Gemäß des Studienprotokolls war die Rekrutierung von insgesamt 40 Probanden vorgesehen, von denen 20 in die RRMS-DMF-Gruppe und jeweils 10 in die RRMS-Kontrollgruppe und in die gesunde Kontrollgruppe zugeteilt werden sollten. Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt 49 Probanden rekrutiert, von denen sich 13 kurz bzw. unmittelbar nach Studieneinschluss gegen eine Weiterführung der Studienteilnahme entschieden. Von den 36 verbleibenden Probanden befanden sich 20 in der RRMS-DMF-Gruppe, 6 in der RRMS-Kontrollgruppe und 10 in der gesunden Kontrollgruppe. Auch aufgrund der zahlreichen Studienabbrüche wurde in der RRMS-Kontrollgruppe das Rekrutierungsziel von 10 Probanden nicht erreicht. Auch zeigte sich nach Abschluss der Rekrutierung ein unausgewogenes Geschlechterverhältnis in der RRMS-DMF-Gruppe von 15 Frauen (F) zu 5 Männern (M).

3.1.6.2. Geschlechterverteilung

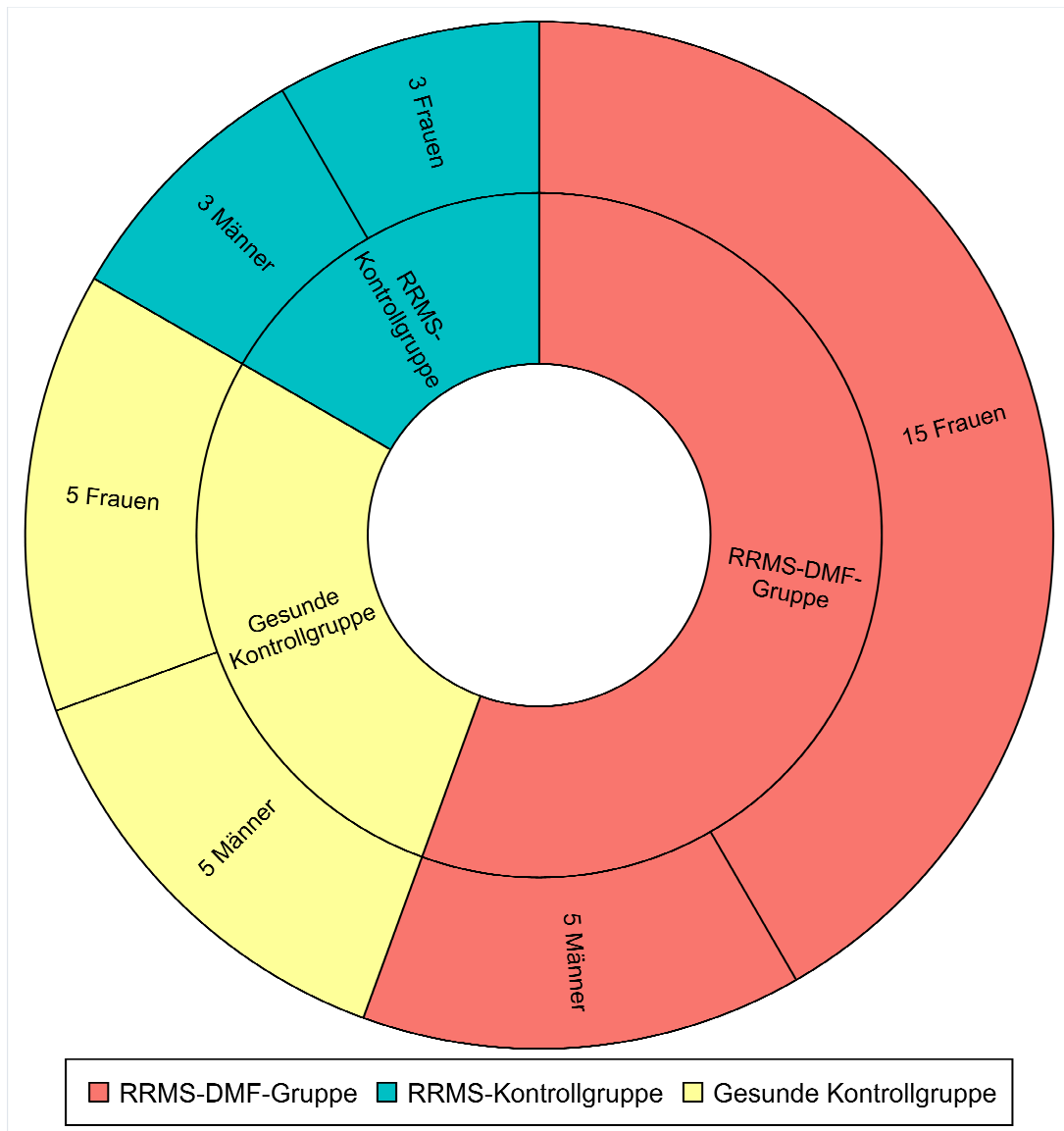


Abbildung 7: Geschlechterverteilung

Das Geschlechterverhältnis betrug bei der RRMS-DMF-Gruppe 15 Frauen zu 5 Männern, bei der RRMS-Kontrollgruppe 3 zu 3 und bei der gesunden Kontrollgruppe 5 zu 5.

3.1.6.3. Alter bei Studieneinschluss

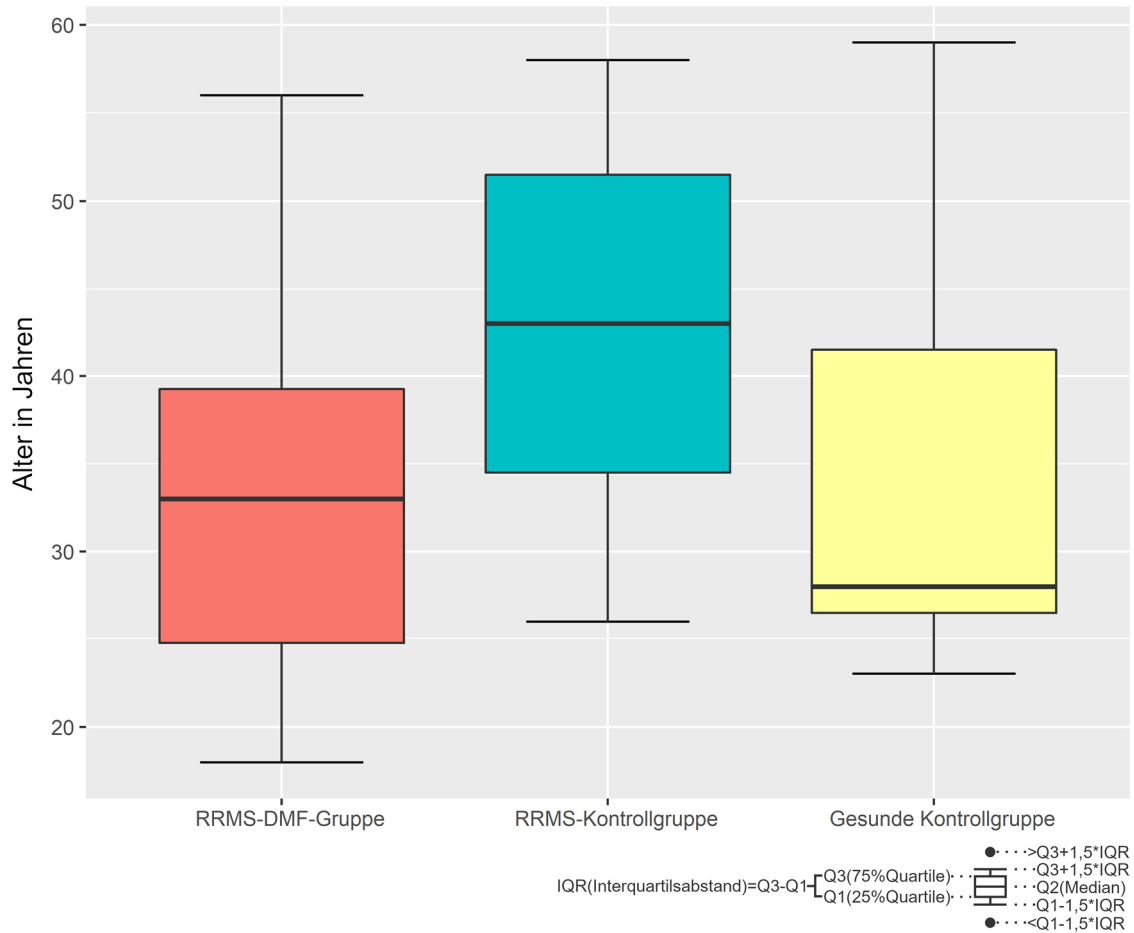


Abbildung 8: Alter

Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses bzw. der Baseline betrug der Mittelwert des Alters bei der RRMS-DMF-Gruppe 33,1 Jahre (18-56 Jahre, medianes Alter 33 Jahre), bei der RRMS-Kontrollgruppe 42,7 Jahre (26-58 Jahre, medianes Alter 43 Jahre) und bei der gesunden Kontrollgruppe 34,8 Jahre (23-59 Jahre, medianes Alter 28 Jahre). In der einfaktoriellen ANOVA unterschied sich das Alter zwischen der RRMS-DMF-Gruppe statistisch nicht signifikant zur RRMS-Kontrollgruppe ($p=0,25$) und zur gesunden Kontrollgruppe ($p=0,71$).

3.1.6.4. Erkrankungsdauer bei Studieneinschluss

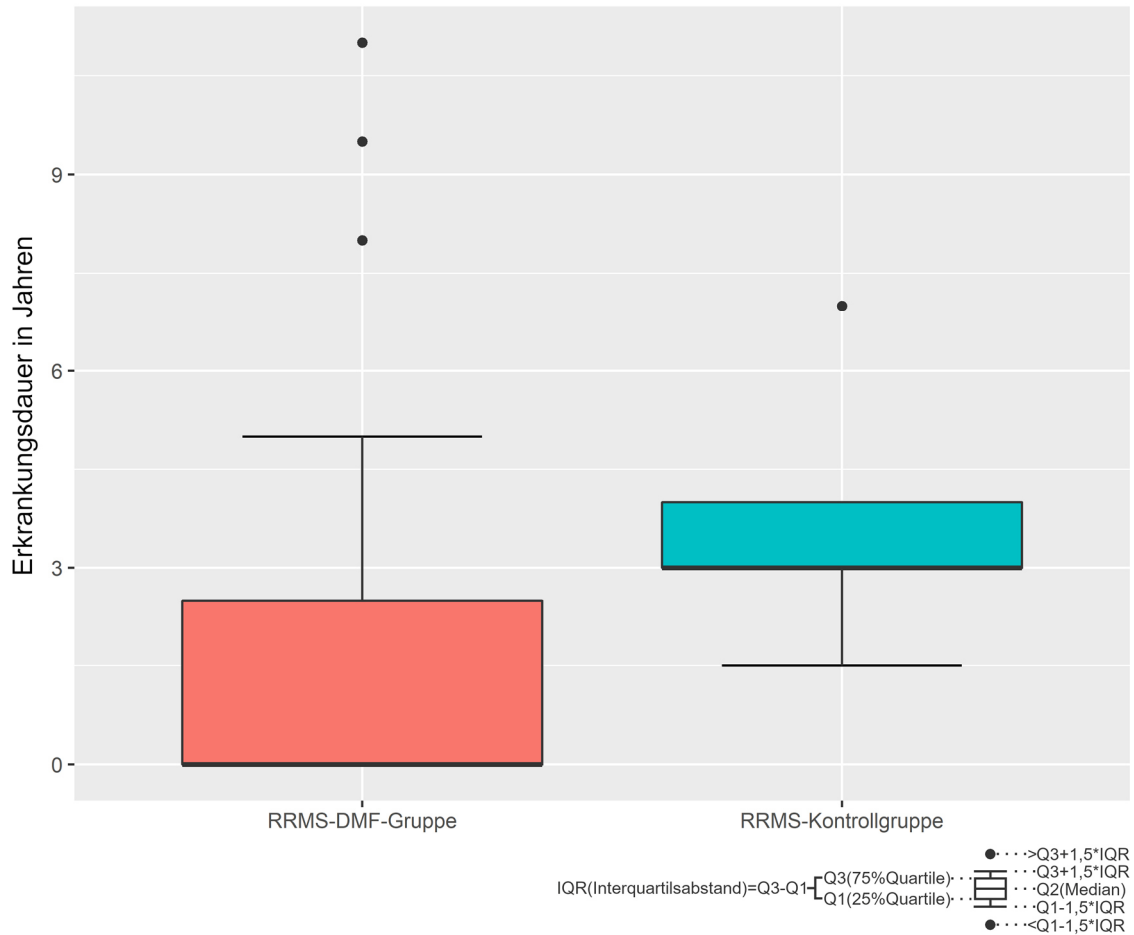


Abbildung 9: Erkrankungsdauer

Als Erkrankungsdauer wurde die Anzahl der Jahre nach Erstdiagnosestellung der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose zum Zeitpunkt der Baseline-Messung definiert. Bei der RRMS-DMF-Gruppe betrug der Mittelwert für die Erkrankungsdauer bei Baseline 2,8 Jahre (0 bis 11 Jahre) und bei der RRMS-Kontrollgruppe 4,3 Jahre (1,5 bis 7 Jahre). Im t-Test für unabhängige Stichproben zeigte sich im Vergleich der Erkrankungsdauer zwischen der RRMS-DMF-Gruppe und der RRMS-Kontrollgruppe statistisch kein signifikanter Unterschied ($p=0,43$).

3.1.6.5. Symptombdauer bei Studieneinschluss

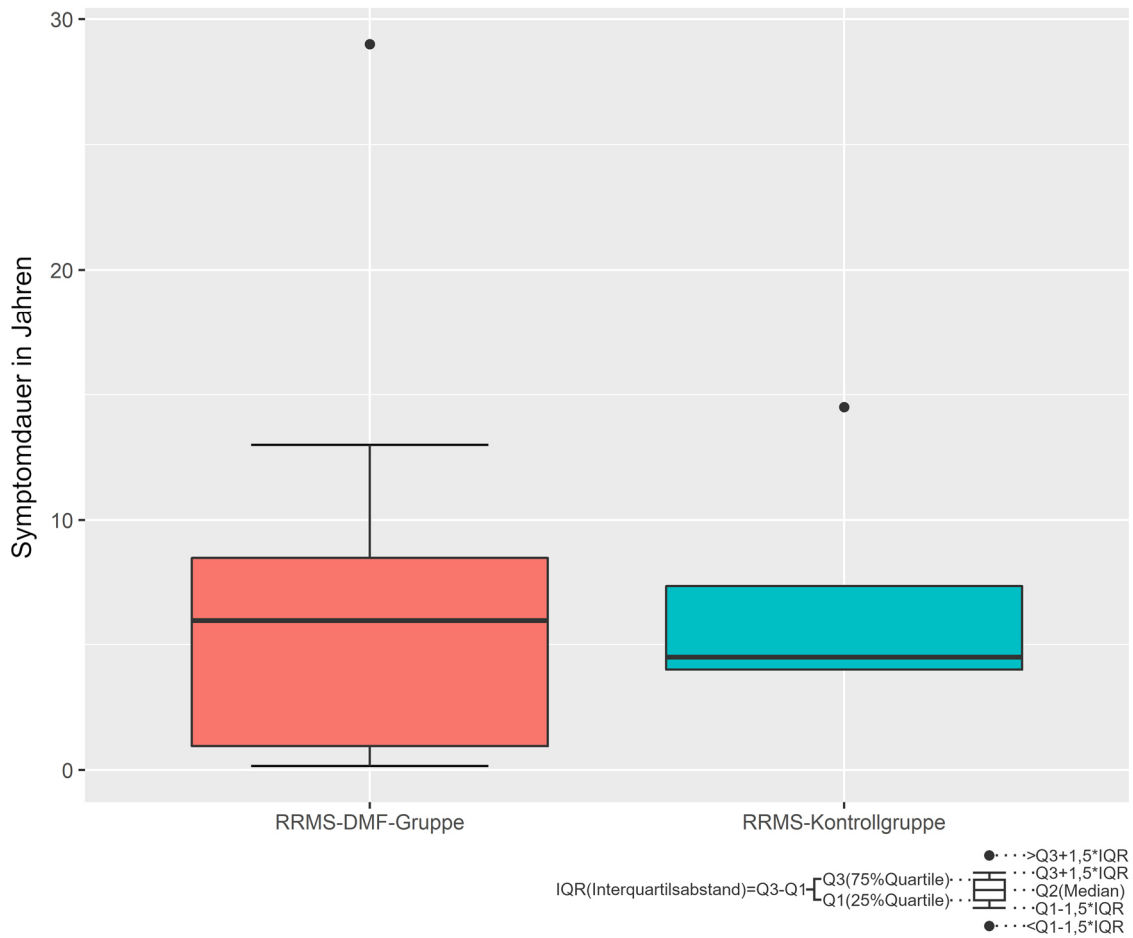


Abbildung 10: Symptombdauer

Als Symptombdauer wurde die Anzahl der Jahre nach Erstmanifestation von Symptomen der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose zum Zeitpunkt der Baseline-Messung definiert. Bei der RRMS-DMF-Gruppe betrug der Mittelwert für die Symptombdauer bei Baseline rund 6 Jahre (0 bis 29 Jahre) und bei der RRMS-Kontrollgruppe 6,9 Jahre (4 bis 14,5 Jahre). Im t-Test für unabhängige Stichproben zeigte sich im Vergleich der Symptombdauer zwischen der RRMS-DMF-Gruppe und der RRMS-Kontrollgruppe statistisch kein signifikanter Unterschied ($p=0,81$).

3.1.6.6. Neu aufgetretene Schubereignisse

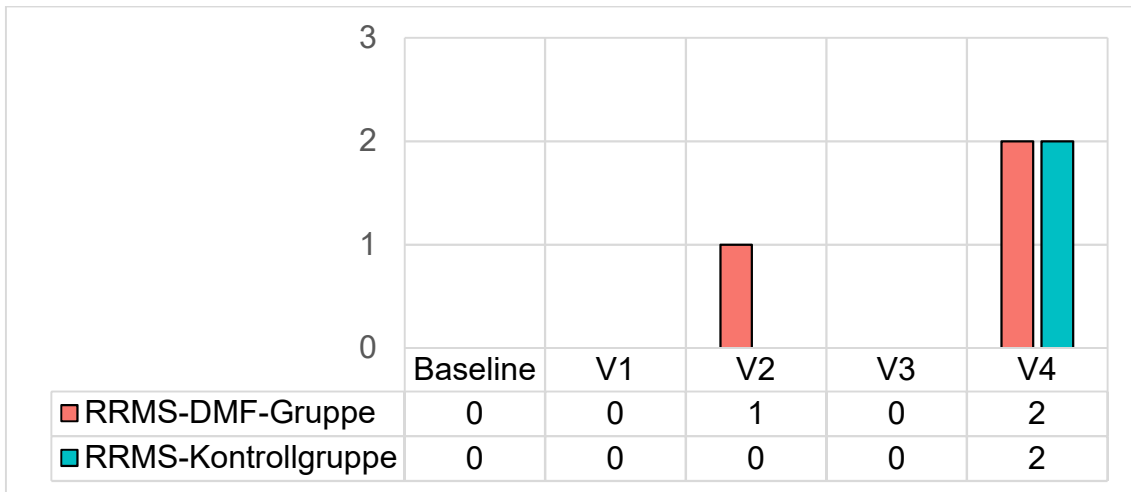


Abbildung 11: Neu aufgetretene Schubereignisse

Im Zeitraum bis V4 berichteten in der RRMS-DMF-Gruppe und RRMS-Kontrollgruppe jeweils 2 Probanden von stattgehabten Schubereignissen. Bei einem dieser Probanden der RRMS-DMF Gruppe trat zusätzlich bereits in V2 ein Schubereignis auf.

3.1.6.7. Neu aufgetretene Läsionen

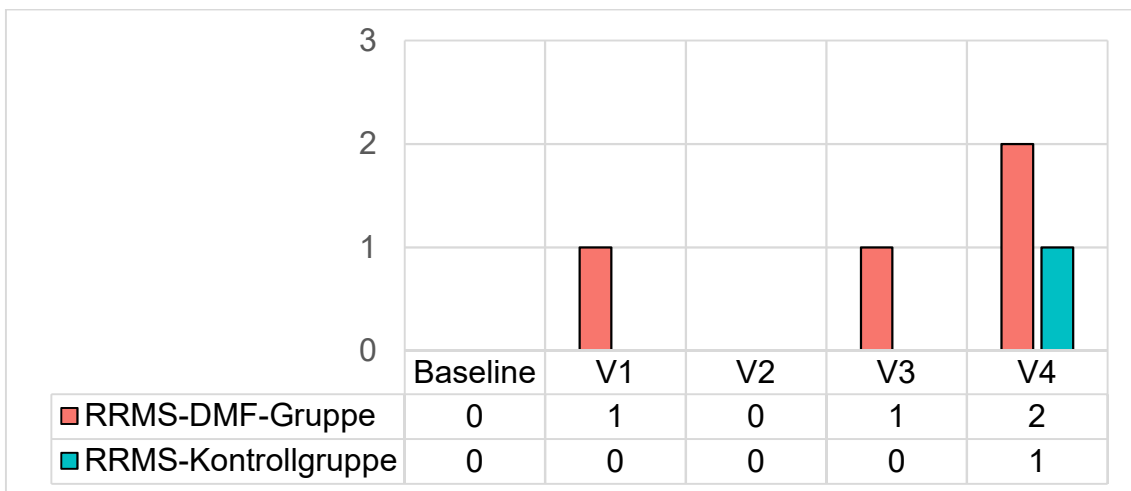


Abbildung 12: Neu aufgetretene kontrastmittel-aufnehmende Läsionen

Im Zeitraum bis V4 berichteten 4 Probanden der RRMS-DMF-Gruppe und ein Proband der RRMS-Kontrollgruppe von neu aufgetretenen kontrastmittelaufnehmenden Läsionen in der cMRT-Bildgebung.

3.2. Ergebnisse der strukturellen MRT-Datenanalyse

3.2.1. Hirnparenchymanteil (Brain Parenchymal Fraction, BPF)

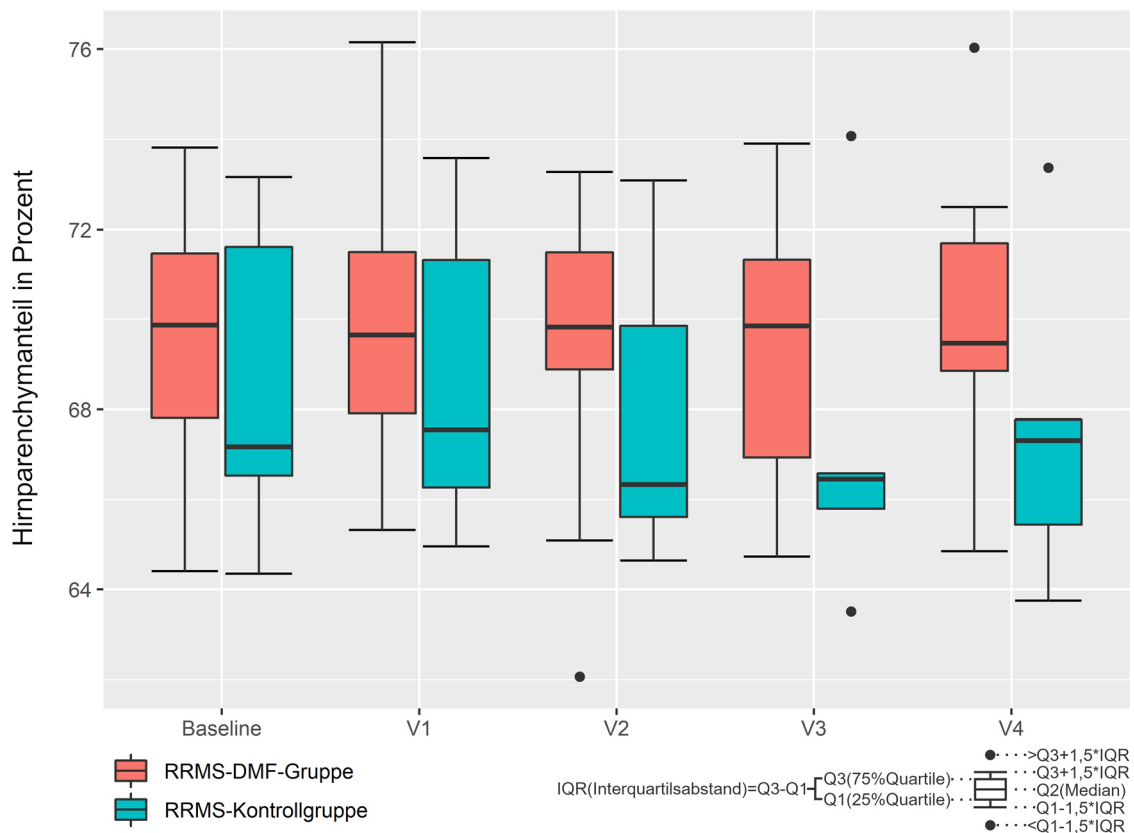


Abbildung 13: Hirnparenchymanteil

Bei Baseline betrug der BPF-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 70% und bei der RRMS-Kontrollgruppe 69%. Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigten sich zahlreiche Ausreißer. Bei Exklusion der selbigen zeigte sich die Bedingung der Varianzgleichheit als nicht erfüllt, bei Belassen hingegen war die Homogenität der Fehlervarianzen zwischen den Gruppen gemäß dem Levene-Test für alle Variablen erfüllt ($p > 0,05$). Es zeigte sich jedoch kein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(4,75)=1,001$, $p=0,414$, partielles $\eta^2=0,053$. Auch trat weder ein statistisch signifikanter Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(4,75)=0,069$, $p=0,992$, partielles $\eta^2=0,004$ noch bezüglich der Gruppe auf, $F(1,18)=2,579$, $p=0,126$, partielles $\eta^2=0,125$.

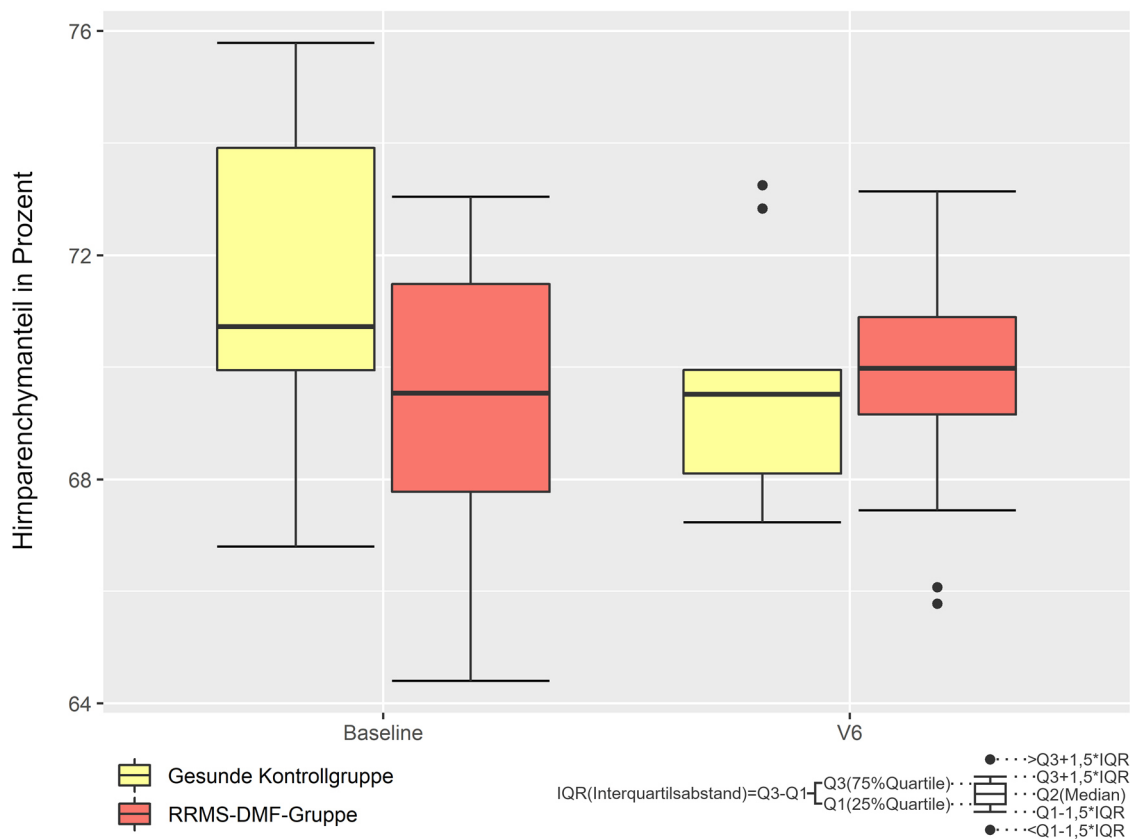


Abbildung 14: Hirnparenchymanteil mit gesunder Kontrollgruppe

Bei Baseline betrug der BPF-Mittelwert bei der gesunden Kontrollgruppe 71%. Die Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA lagen vor. Es zeigte sich zwar ein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(1,22)=7,236$, $p=0,013$, partielles $\eta^2=0,248$, jedoch bestanden weder in den Testungen der Innersubjekteffekte zwischen den Messzeitpunkten, $F(1,23)=0,725$, $p=0,403$, partielles $\eta^2=0,031$ noch in den Tests der Zwischensubjekteffekte zwischen den beiden Gruppen, $F(1,22)=0,914$, $p=0,35$ partielles $\eta^2=0,273$ statistisch signifikante Unterschiede.

3.2.2. Hirnvolumen (BRAINVOLUME, BV)

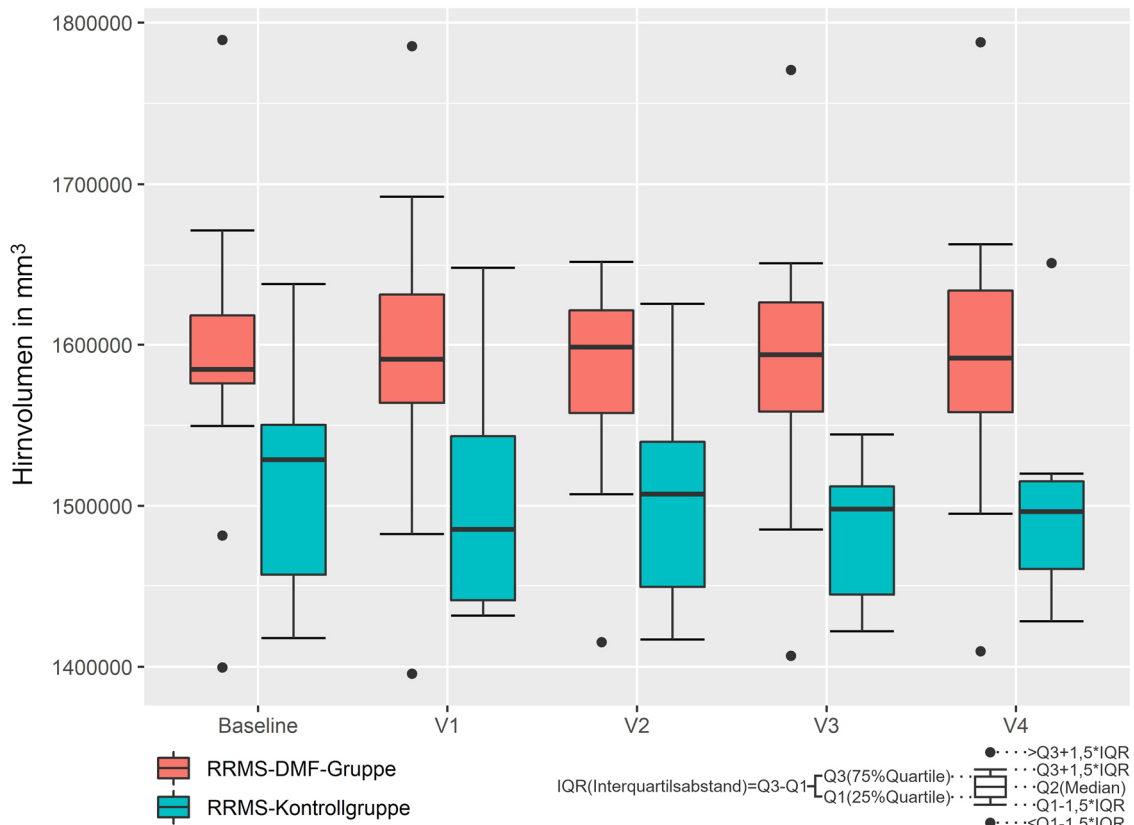


Abbildung 15: Hirnvolumen

Bei Baseline betrug der Mittelwert der Hirnvolumina bei der RRMS-DMF-Gruppe $1.593.614\text{mm}^3$ und bei der RRMS-Kontrollgruppe $1.517.182\text{mm}^3$. Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigte sich bei einem Probanden der RRMS-DMF-Gruppe durchgehend Ausreißer, sodass dieser exkludiert wurde. Im Mauchly-Test zeigte sich eine Verletzung der Voraussetzung der Sphärizität, sodass eine Greenhouse-Geisser-Korrektur der Freiheitsgrade vorgenommen wurde. Es zeigte sich zwar weder ein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, Greenhouse-Geisser $F(2,29)=0,875$, $p=0,426$, partielles $\eta^2=0,055$ noch ein Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, Greenhouse-Geisser $F(2,29)=0,435$, $p=0,648$, partielles $\eta^2=0,028$, jedoch war ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Gruppe nachweisbar, Greenhouse-Geisser $F(1,15)=26,862$, $p=0,001$, partielles $\eta^2=0,642$. So war das mittlere Hirnvolumen bei der RRMS-DMF-Gruppe ($1.590.809\text{mm}^3$) signifikant größer als bei der RRMS-Kontrollgruppe ($1.504.926\text{mm}^3$).

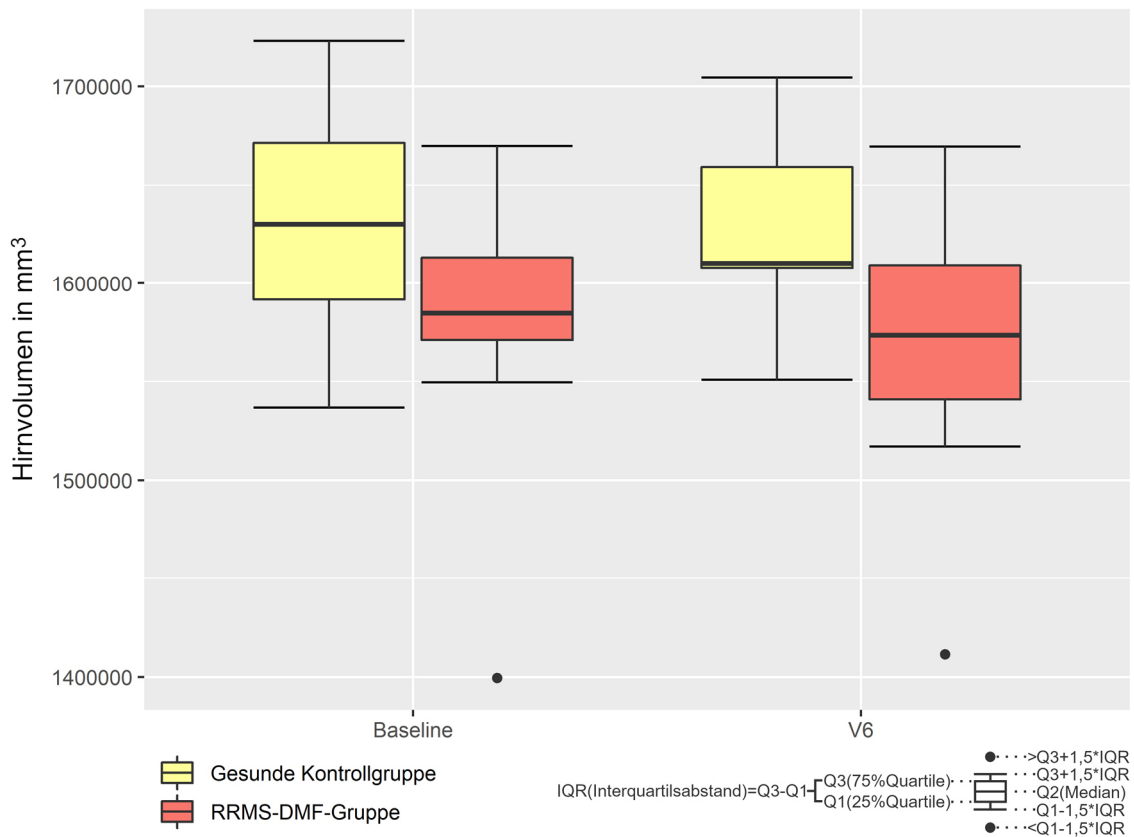


Abbildung 16: Hirnvolumen mit gesunder Kontrollgruppe

Bei Baseline betrug der Mittelwert der Hirnvolumina bei der gesunden Kontrollgruppe 1.633.085mm³. Die Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA lagen vor, nachdem der gleiche Proband von der RRMS-DMF-Gruppe mit den Ausreißern wie zuvor exkludiert wurde. Es zeigte sich zwar weder ein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(1,19)=0,053$, $p=0,820$, partielles $\eta^2=0,003$ noch ein Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(1,19)=0,0597$, $p=0,449$, partielles $\eta^2=0,030$, jedoch war ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Gruppe nachweisbar, $F(1,19)=4,790$, $p=0,041$, partielles $\eta^2=0,201$. So war das mittlere Hirnvolumen bei der RRMS-DMF-Gruppe (1.578.594mm³) signifikant kleiner als bei der gesunden Kontrollgruppe (1.629.836mm³).

3.2.3. Volumen der grauen Substanz (Gray Matter Volume, GMV)

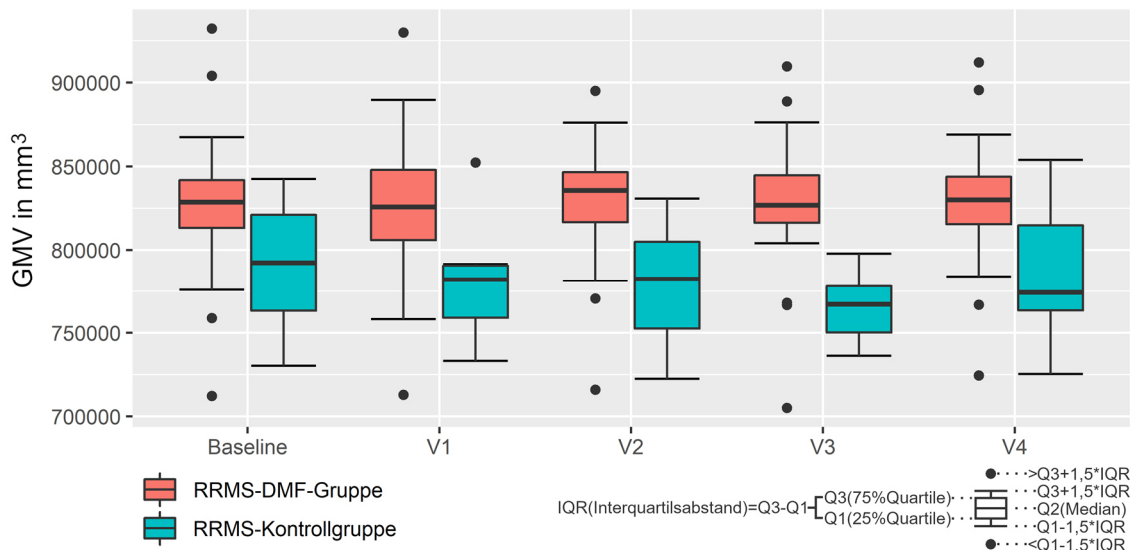


Abbildung 17: GMV

Bei Baseline betrug der GMV-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 827.899mm^3 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 790.272mm^3 . Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigten sich in beiden Gruppen zahlreiche Ausreißer, bei einem Probanden der RRMS-DMF-Gruppe zu jedem Messzeitpunkt und teilweise mit mehr als dem 3-fachen des Interquartilsabstands. Da sich jedoch nach Exklusion dieses Probanden anderweitige Ausreißer zeigten, wurde der ursprüngliche Datensatz belassen und von einer Exklusion einzelner Probanden abgesehen. Im Mauchly-Test zeigte sich eine Verletzung der Voraussetzung der Sphärizität ($p=0,010$), sodass eine Greenhouse-Geisser Korrektur der Freiheitsgrade vorgenommen wurde. Es zeigte sich zwar weder ein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, Greenhouse-Geisser $F(3,54)=1,638$, $p=0,191$, partielles $\eta^2=0,033$ noch ein Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, Greenhouse-Geisser $F(3,54)=0,623$, $p=0,603$, partielles $\eta^2=0,033$, jedoch war ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Gruppe nachweisbar, Greenhouse-Geisser $F(1,18)=5,052$, $p=0,037$, partielles $\eta^2=0,219$. So war das mittlere Volumen der grauen Substanz bei der RRMS-DMF-Gruppe (827.289mm^3) signifikant größer als bei der RRMS-Kontrollgruppe (781.208mm^3).

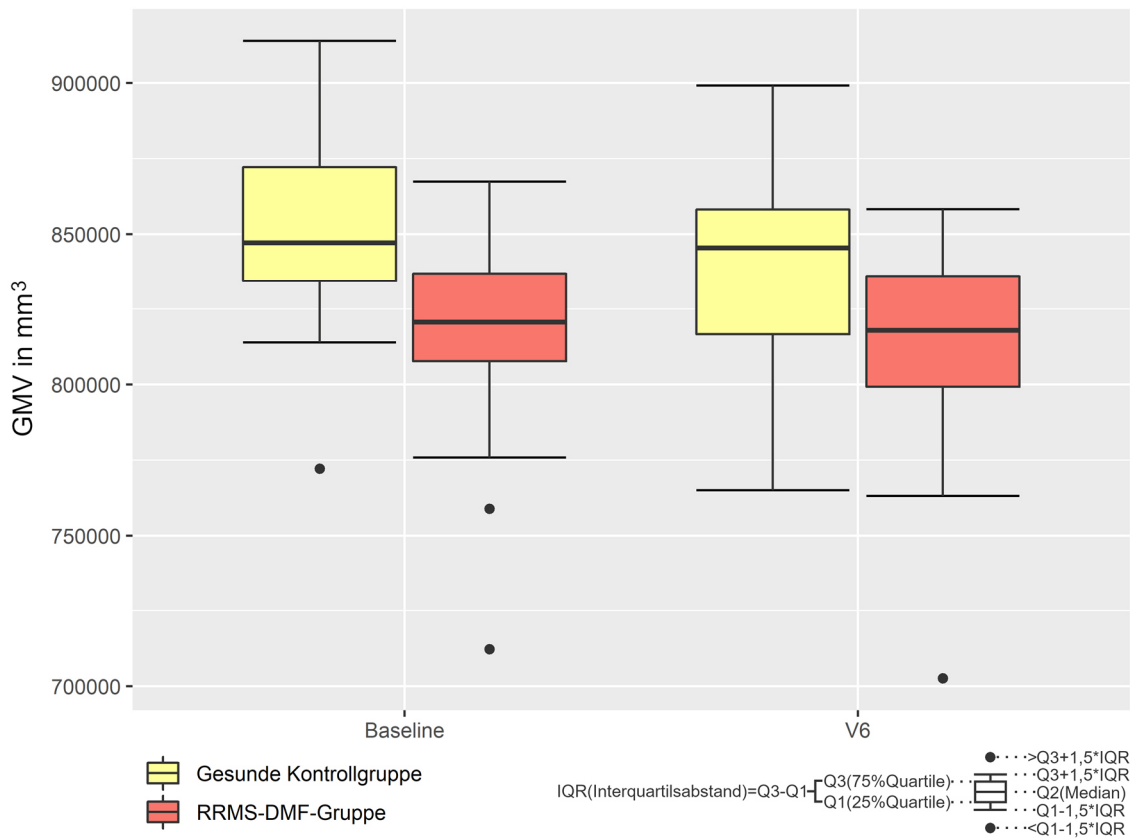


Abbildung 18: GMV mit gesunder Kontrollgruppe

Bei Baseline betrug der GMV-Mittelwert bei der gesunden Kontrollgruppe 847.597mm³. Die Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA lagen vor. Es zeigte sich jedoch kein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(1,22)=0,195$, $p=0,663$, partielles $\eta^2=0,009$ sowie weder ein Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(1,22)=1,390$, $p=0,251$, partielles $\eta^2=0,059$ noch bezüglich der Gruppen, $F(1,22)=4,165$, $p=0,053$, partielles $\eta^2=0,159$.

3.2.4. Volumen der weißen Substanz (White Matter Volume, WMV)

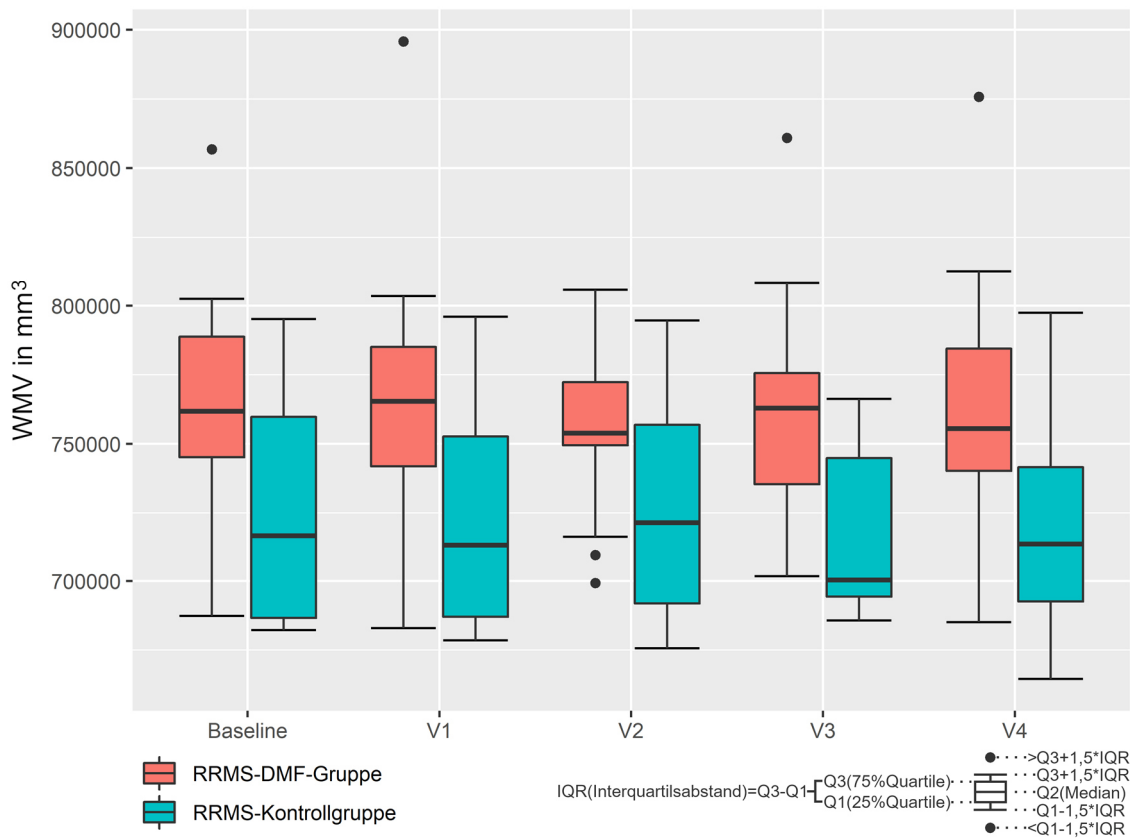


Abbildung 19: WMV

Bei Baseline betrug der WMV-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 765.715mm^3 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 726.910mm^3 . Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigte sich im Mauchly-Test eine Verletzung der Voraussetzung der Sphärizität ($p < 0,001$), sodass eine Korrektur der Freiheitsgrade nach Greenhouse-Geisser vorgenommen wurde. Es zeigte sich zwar kein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, Greenhouse-Geisser $F(3,46)=1,092$, $p=0,356$, partielles $\eta^2=0,057$ noch ein Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, Greenhouse-Geisser $F(3,46)=0,392$, $p=0,728$, partielles $\eta^2=0,021$, jedoch war ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Gruppe nachweisbar, Greenhouse-Geisser $F(1,18)=7,345$, $p=0,014$, partielles $\eta^2=0,290$. So war das mittlere Volumen der weißen Substanz bei der RRMS-DMF-Gruppe (763.520mm^3) signifikant größer als bei der RRMS-Kontrollgruppe (723.718mm^3).

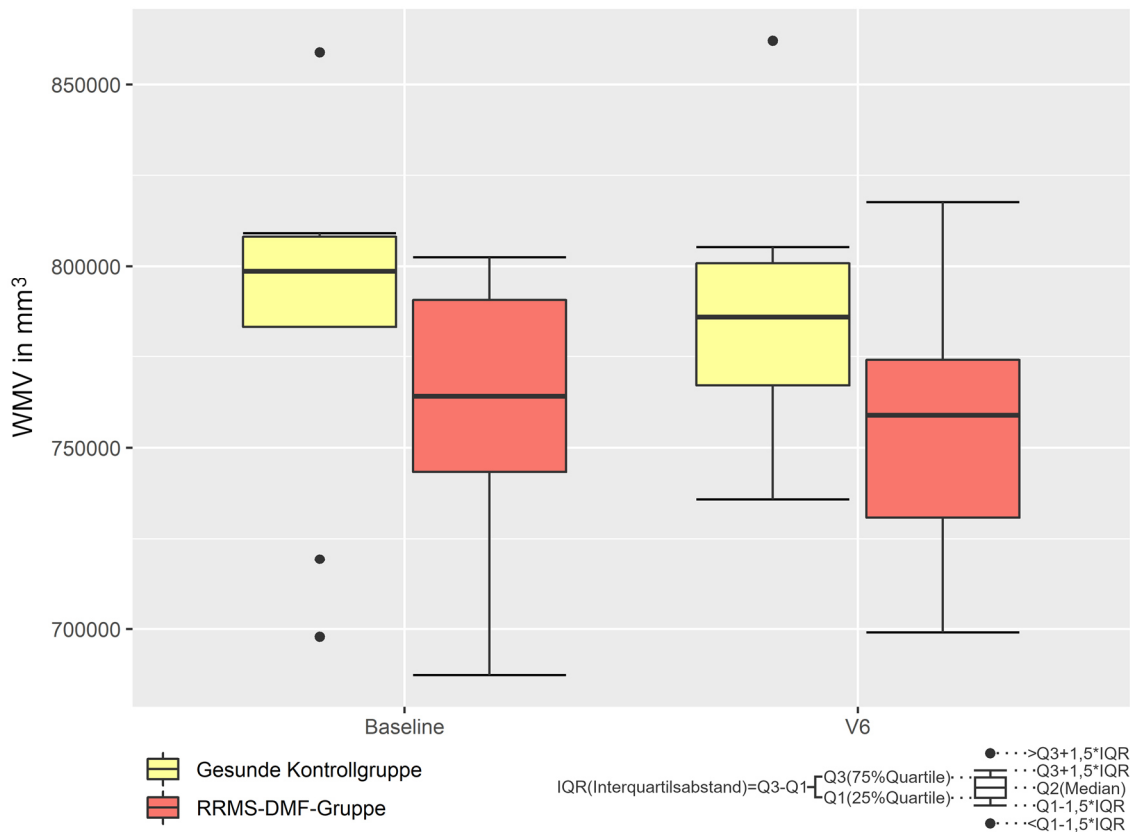


Abbildung 20: WMV mit gesunder Kontrollgruppe

Bei Baseline betrug der WMV-Mittelwert bei der gesunden Kontrollgruppe 785.488mm³. Die Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA lagen vor. Es zeigte sich zwar kein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(1,22)=0,258$, $p=0,616$, partielles $\eta^2=0,012$ noch ein Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(1,22)=0,058$, $p=0,812$, partielles $\eta^2=0,003$, jedoch war ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Gruppe nachweisbar, $F(1,22)=4,398$, $p=0,048$, partielles $\eta^2=0,167$. So war das mittlere Volumen der weißen Substanz bei der RRMS-DMF-Gruppe (759.718mm³) signifikant kleiner als bei der gesunden Kontrollgruppe (786.744mm³).

3.2.5. Anzahl der T1-Läsionen (number of T1-lesions, nT1)

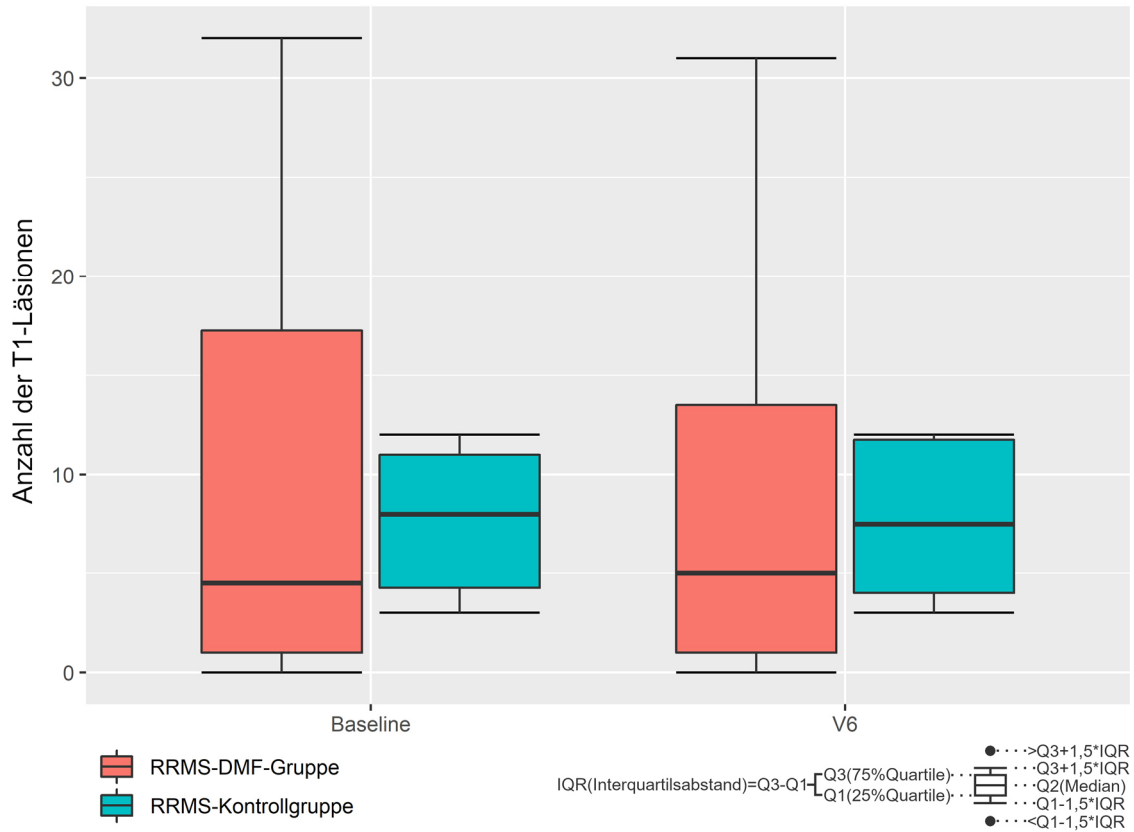


Abbildung 21: Anzahl der T1-Läsionen

Bei Baseline betrug der Mittelwert der T1-Läsionsanzahl bei der RRMS-DMF-Gruppe 8,6 T1-Läsionen (Median 4,5) und bei der RRMS-Kontrollgruppe 7,7 T1-Läsionen (Median 8). Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigte sich die Bedingung der Varianzgleichheit als nicht erfüllt. So zeigte der Levene-Test bei Baseline $p=0,030$ in Bezug auf die Homogenität der Fehlervarianzen zwischen den Gruppen, sodass alternativ t-Tests berechnet wurden. Hierbei zeigte sich weder in den t-Tests für abhängige Stichproben für den Längsschnittvergleich noch in den t-Tests für unabhängige Stichproben für den Querschnittsvergleich statistisch signifikante Unterschiede.

3.2.6. Anzahl der T2-Läsionen (number of T2-lesions, nT2)

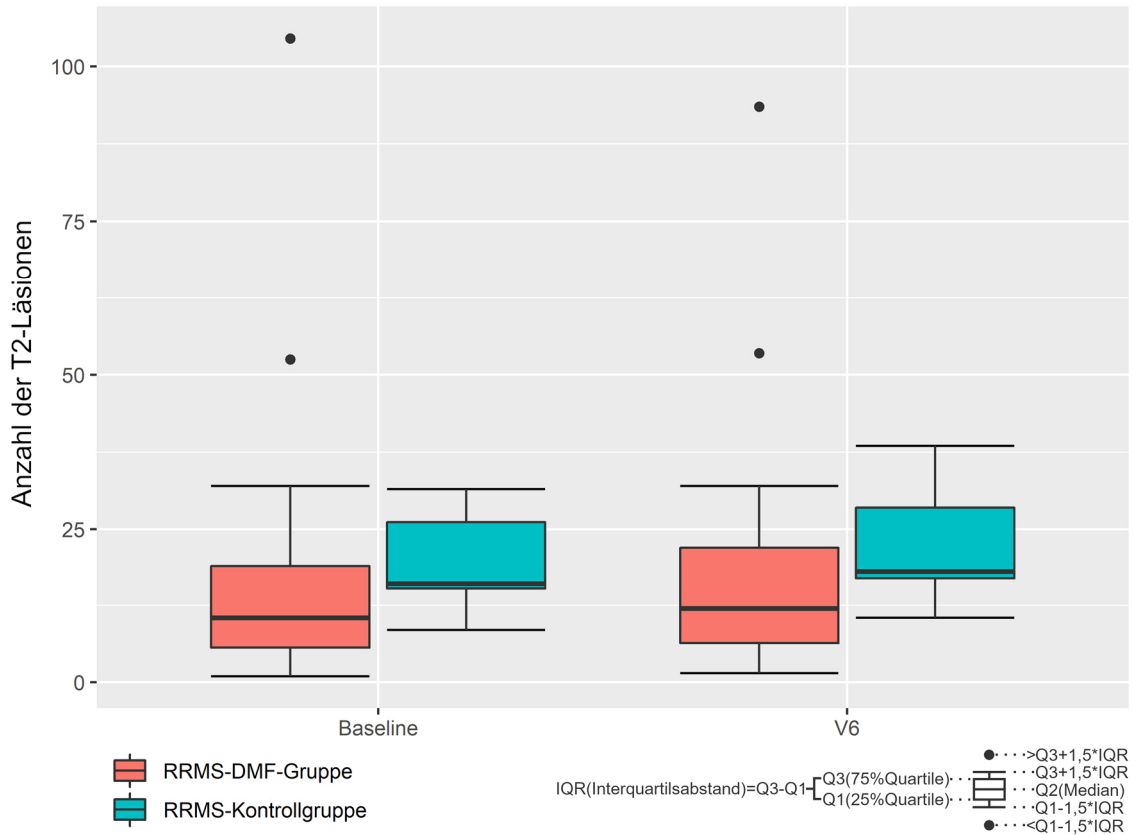


Abbildung 22: Anzahl der T2-Läsionen

Bei Baseline betrug der Mittelwert der T2-Läsionsanzahl bei der RRMS-DMF-Gruppe 18,9 T2-Läsionen (Median 10,5) und bei der RRMS-Kontrollgruppe 19,4 T2-Läsionen (Median 16). Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigte sich im Box-Test mit $p=0,019$ keine Homogenität der Kovarianzmatrizen, sodass von einer stark eingeschränkt interpretierbaren Mixed ANOVA, insbesondere bezüglich des Interaktionseffekts, ausgegangen werden musste. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Haupteffekt bezüglich der Gruppen, $F(1,22)=0,022$, $p=0,884$, partielles $\eta^2=0,001$, jedoch ein signifikanter Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(1,22)=5,69$, $p=0,026$, partielles $\eta^2=0,205$. Im t-Test für abhängige Stichproben zeigte sich bei der RRMS-Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied ($p=0,02$) zwischen den beiden Messzeitpunkten mit einer mittleren Zunahme von 2,8 T2-Läsionen zwischen Baseline und V6. Bei der RRMS-DMF-Gruppe bestand hingegen kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Baseline und V6 ($p=0,31$).

3.2.7. Volumen der T1-Läsionen (volume of T1-lesions, vT1)

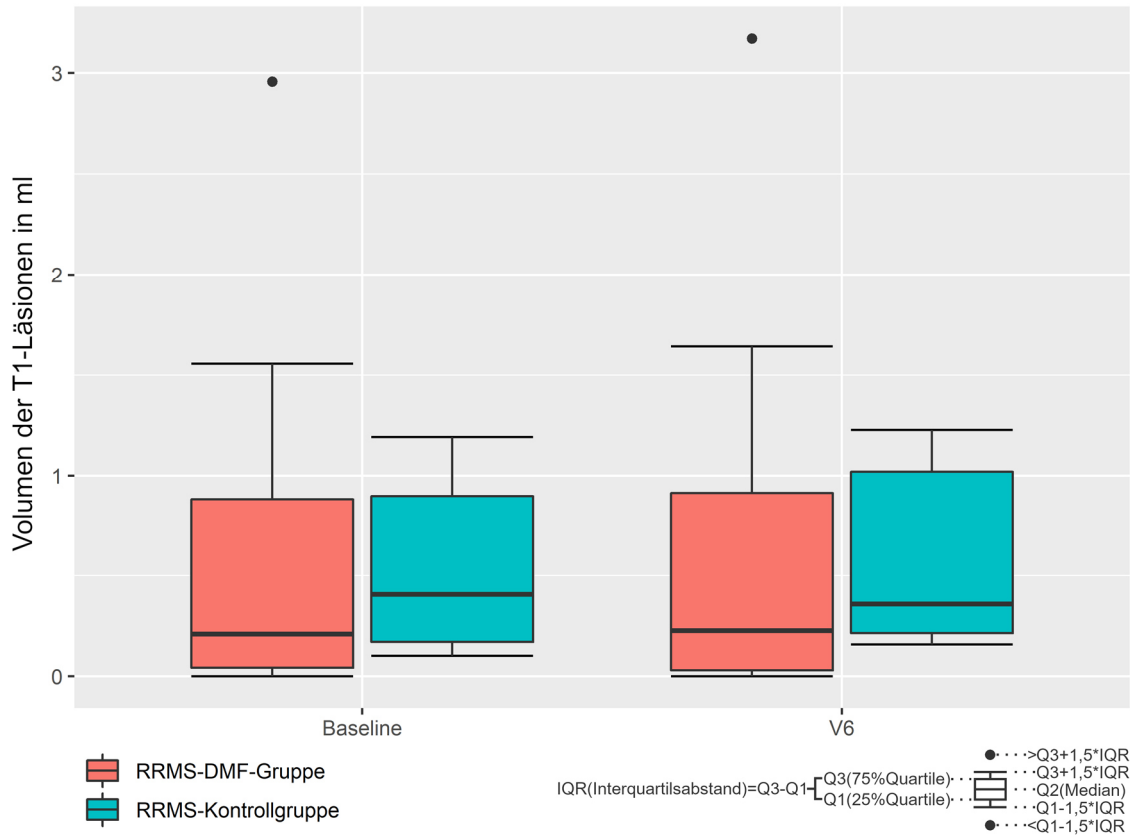


Abbildung 23: Volumen der T1-Läsionen

Bei Baseline betrug der Mittelwert der T1-Läsionsvolumina bei der RRMS-DMF-Gruppe 0,56ml (Median 0,21ml) und bei der RRMS-Kontrollgruppe 0,54ml (Median 0,41ml). Die Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA lagen vor. Es zeigte sich jedoch kein statistisch signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Messzeitpunkten und den Gruppen, $F(1,22)=0,052$, $p=0,822$, partielles $\eta^2=0,002$. Auch trat weder ein statistisch signifikanter Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(1,22)=1,546$, $p=0,227$, partielles $\eta^2=0,066$ noch ein Haupteffekt bezüglich der Gruppen auf, $F(1,22)=0,002$, $p=0,967$, partielles $\eta^2<0,001$.

3.2.8. Volumen der T2-Läsionen (volume of T2-lesions, vT2)

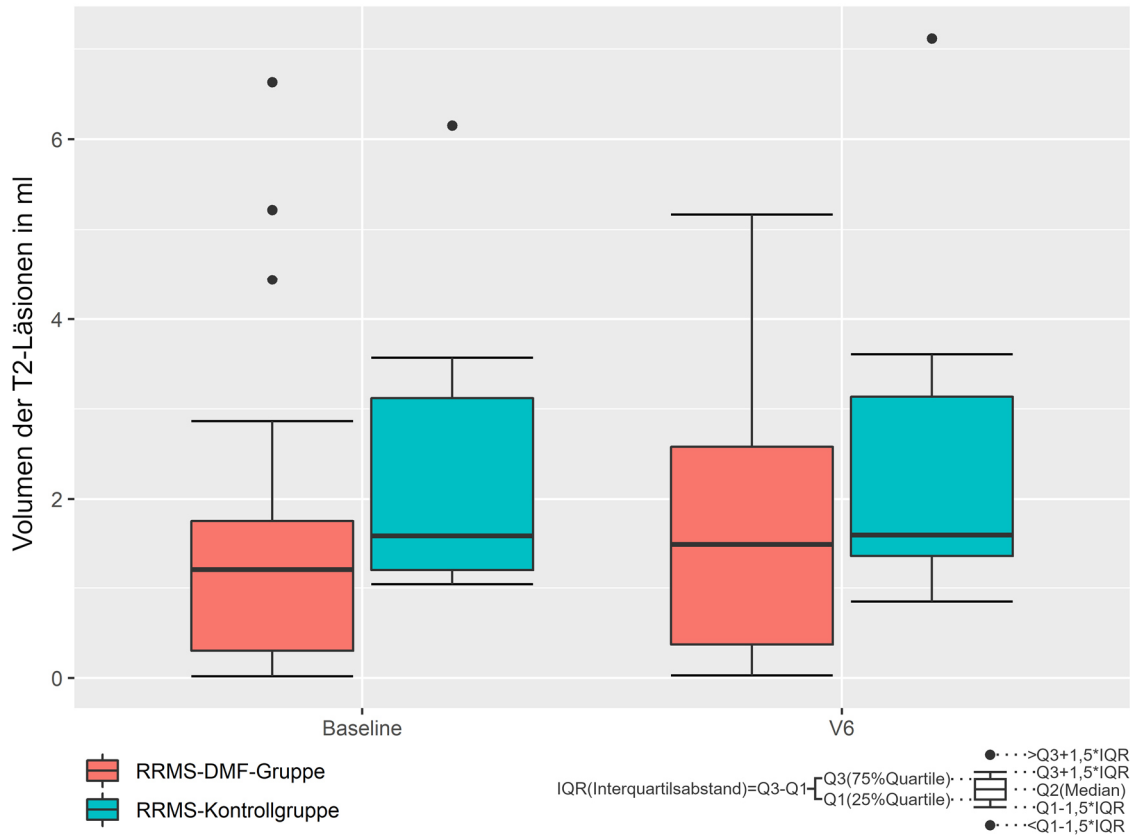


Abbildung 24: Volumen der T2-Läsionen

Bei Baseline betrug der Mittelwert der T2-Läsionsvolumina bei der RRMS-DMF-Gruppe 1,71ml (Median 1,21ml) und bei der RRMS-Kontrollgruppe 2,51ml (Median 1,59ml). Bei der Überprüfung der Voraussetzungen zur Durchführung einer Mixed ANOVA zeigte sich neben zahlreichen Ausreißern von unterschiedlichen Probanden im Box-Test mit $p=0,019$ keine Homogenität der Kovarianzmatrizen, sodass von einer stark eingeschränkt interpretierbaren Mixed ANOVA, insbesondere bezüglich des Interaktionseffekts, ausgegangen werden musste. Es zeigte sich weder ein statistisch signifikanter Haupteffekt bezüglich der Messzeitpunkte, $F(1,22)=0,859$, $p=0,364$, partielles $\eta^2=0,038$ noch ein Haupteffekt bezüglich der Gruppen, $F(1,22)=0,901$, $p=0,353$, partielles $\eta^2=0,039$.

3.3. Ergebnisse der funktionellen MRT-Datenanalyse

3.3.1. Illustrationen der Ruhenetzwerke

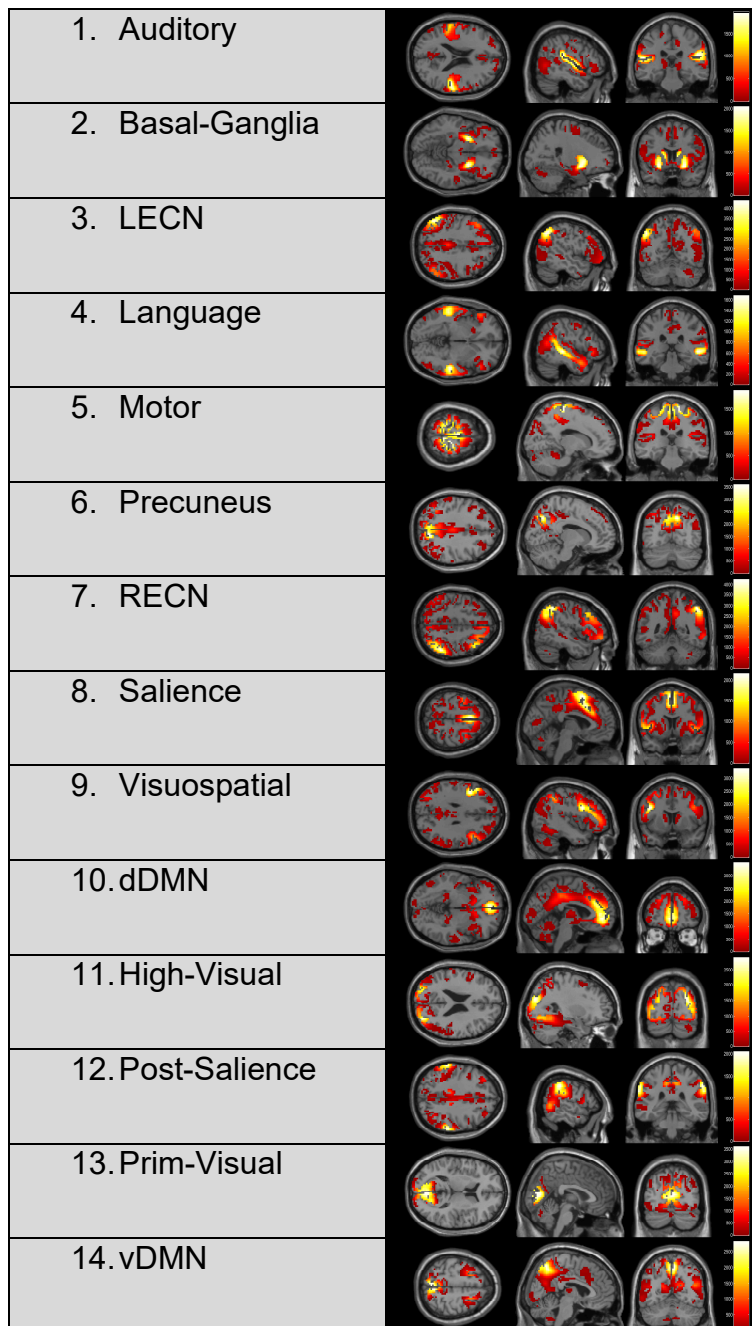


Abbildung 25: Identifizierte Ruhenetzwerke

Illustriert sind die 14 identifizierten Ruhenetzwerke in axialen, sagittalen und koronaren T1-gewichteten MRT-Schnittbildern mittels der F-Kontrastfunktion von SPM12. Die Farbskalen entsprechen den jeweiligen F-Kontrastwerten und sind für kleine F-Werte rötlich und für große gelblich. Die Identifikation der jeweiligen Ruhenetzwerke erfolgte wie im Methodenteil beschrieben.

3.3.2. Ergebnisse der multivariaten funktionellen Datenanalyse

Im Rahmen der multivariaten Datenanalyse wurden die z-Werte der funktionellen Konnektivität aller 14 Ruhenetzwerke zu den Messzeitpunkten vor (B1, B2) und nach Therapiebeginn (V1, V2, V3, V4) mit Dimethylfumarat bei der RRMS-DMF-Gruppe im Längsschnittvergleich als auch im Querschnittsvergleich zu der RRMS-Kontrollgruppe untersucht. Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz wurden im Rahmen der jeweiligen MANCOVA als Kovariaten definiert. In der ersten MANCOVA wurden alle Messzeitpunkte inkludiert, in den weiterführenden Baseline-Vergleichen wurden 5 MANCOVAs durchgeführt, die jeweils 2 Messzeitpunkte umfassten (B1-B2 sowie B1-V1, B1-V2, B1-V3, B1-V4).

| Tabelle 3: Ergebnisse (multivariate Datenanalyse) | |
|---|--|
| MANCOVA (mit Vergleich aller Messzeitpunkte) | |
| B1-B2-V1-V2-V3-V4 | F(98,547)=0,891, p=0,758, Wilks-Lambda=0,392 |
| MANCOVA (mit Vergleich der Baseline) | |
| B1-B2 | F(7,14)=2,813, p=0,087, Wilks-Lambda=0,151 |
| MANCOVAs (mit Vergleichen zur Baseline) | |
| B1-V1 | F(8,14)=1,898, p=0,182, Wilks-Lambda=0,231 |
| B1-V2 | F(8,14)=0,379, p=0,946, Wilks-Lambda=0,601 |
| B1-V3 | F(6,14)=0,407, p=0,922, Wilks-Lambda=0,513 |
| B1-V4 | F(8,14)=0,447, p=0,910, Wilks-Lambda=0,561 |

Die Voraussetzungen zur Durchführung einer MANCOVA lagen jeweils vor. In keiner der berechneten MANCOVAs zeigte sich jedoch bei der RRMS-DMF-Gruppe zwischen den Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn oder im Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe ein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich der funktionellen Konnektivität in den 14 Ruhenetzwerken.

3.3.3. Ergebnisse der univariaten funktionellen Datenanalyse

Im Rahmen der univariaten Datenanalyse wurden die z-Werte der funktionellen Konnektivität für jedes Ruhenetzwerk einzeln zu den Messzeitpunkten (B1 bis V4) und Messbedingungen (S1 bis S3) zwischen der RRMS-DMF-Gruppe und den beiden Kontrollgruppen verglichen, wonach jeweils eine Bonferroni-Korrektur durchgeführt wurde. Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz wurden im Rahmen jeder berechneten ANCOVA als Kovariaten definiert.

| Tabelle 4: Ergebnisübersicht (univariate Datenanalyse) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----|---|---|----|---|---|----|---|---|----|---|---|----|---|----|----|---|----|
| Messzeitpunkt | B1 | | | B2 | | | V1 | | | V2 | | | V3 | | | V4 | | |
| Messbedingung | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| Auditory | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Basal-Ganglia | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| dDMN | | | | | | | | | | | | | | | 3↓ | | | |
| High-Visual | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Language | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LECN | | | | | | | | | | 1↓ | | | | | | | | |
| Motor | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post-Saliency | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Precuneus | 1↓ | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Prim-Visual | 1↑ | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RECN | | | | | | | | | | 1↓ | | | | | | | | 2↓ |
| Saliency | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| vDMN | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Visuospatial | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Schwarz unterlegt sind die signifikanten Unterschiede der berechneten ANCOVAs zwischen RRMS-DMF-Gruppe und RRMS-Kontrollgruppe (bzw. grau unterlegt im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe) in Abhängigkeit von Messzeitpunkten und Messbedingungen. Die Pfeile nach oben und unten kennzeichnen relativ erhöhte ↑ bzw. erniedrigte ↓ funktionelle Konnektivität bei der RRMS-DMF-Gruppe.

| Tabelle 5: Ergebnisse (univariate Datenanalyse) | | |
|---|--------------------|------------------------|
| Ruhenetzwerk | Mittlere Differenz | p-Wert |
| Vergleich zwischen RRMS-DMF-Gruppe und RRMS-Kontrollgruppe | | |
| dDMN_V3_S3 | -0,123 | F(1,18)=8,875, p=0,008 |
| LECN_V2_S1 | -0,075 | F(1,20)=5,177, p=0,034 |
| Precuneus_B1_S1 | -0,122 | F(2,30)=5,268, p=0,015 |
| RECN_V2_S1 | -0,114 | F(1,25)=5,382, p=0,031 |
| RECN_V4_S2 | -0,115 | F(1,25)=4,817, p=0,040 |
| Vergleich zwischen RRMS-DMF-Gruppe und gesunder Kontrollgruppe | | |
| Prim-Visual_B1_S1 | +0,201 | F(2,30)=4,801, p=0,036 |

In der univariaten Datenanalyse zeigten sich in 9 der 14 Ruhenetze statistisch keinerlei signifikante Unterschiede nach Durchführung einer Bonferroni-Korrektur. Bei diesen 9 handelte es sich um die Ruhenetze Auditory, Basal Ganglia, High Visual, Language, Motor, Post Salience, Salience, vDMN und Visuospatial.

Im Vergleich zwischen der RRMS-DMF-Gruppe und der gesunden Kontrollgruppe zeigte sich zum Messzeitpunkt B1 von den 14 Ruhenetzen ausschließlich im primär visuellen Ruhenetzwerk ein signifikanter Unterschied nach Durchführung einer Bonferroni-Korrektur. Hierbei bestand bei der RRMS-DMF-Gruppe unter der Messbedingung S1 eine erhöhte funktionelle Konnektivität mit einer mittleren Differenz von 0,201 im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe, $F(2,30)=4,801$, $p=0,036$.

Im Vergleich zwischen der RRMS-DMF-Gruppe und der RRMS-Kontrollgruppe zeigte sich in insgesamt 4 verschiedenen Ruhenetzen (dDMN, LECN, Precuneus, RECN) zu jeweils unterschiedlichen Messzeitpunkten ein signifikanter Unterschied nach Durchführung einer Bonferroni-Korrektur. Hierbei bestand bei der RRMS-DMF-Gruppe jeweils eine erniedrigte funktionelle Konnektivität im Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe.

3.4. Ergebnisse der multiplen linearen Regressionsanalyse

Bei den Ruhenetzwerken, die eine signifikant veränderte funktionelle Konnektivität aufwiesen (dDMN, LECN, Precuneus, Prim-Visual, RECN), wurden die z-Werte der funktionellen Konnektivität hypothesengetrieben in Abhängigkeit von den Messzeitpunkten (_B1 bis _V4) und Messbedingungen (_S1 bis _S3) im Zusammenhang mit den 8 klinischen und 8 strukturellen Parametern untersucht.

| Tabelle 6: Ergebnisse (hypothesengetriebene Regressionsanalyse) | | | |
|---|-------------------|---------------------------|---------------------------|
| Prädiktor | Ruhenetzwerk | p-Wert, $\alpha=0,05$ | $R^2_{\text{korrigiert}}$ |
| EDSS | dDMN_B2_S3 | F(4,8)=8,128, p=0,033 | 0,781 |
| MSFC | dDMN_V3_S1 | F(4,17)=6,733, p=0,004 | 0,574 |
| | dDMN_V4_S1 | F(4,18)=4,467, p=0,016 | 0,435 |
| | LECN_B2_S2 | F(4,5)=55580,262, p=0,010 | 1,000 |
| | LECN_V4_S3 | F(4,18)=3,183, p=0,047 | 0,327 |
| | RECN_V1_S1 | F(4,16)=5,778, p=0,008 | 0,544 |
| SDMT | Prim-Visual_V2_S2 | F(4,22)=8,060, p=0,001 | 0,562 |
| FSS | dDMN_V1_S1 | F(4,24)=4,073, p=0,014 | 0,339 |
| | dDMN_V3_S1 | F(4,20)=3,746, p=0,025 | 0,355 |
| | LECN_V3_S2 | F(4,20)=3,800, p=0,023 | 0,359 |
| | RECN_V1_S2 | F(4,24)=8,963, p=0,000 | 0,570 |
| | RECN_V3_S2 | F(4,20)=4,742, p=0,010 | 0,428 |
| SIP | dDMN_V1_S1 | F(4,23)=3,398, p=0,029 | 0,294 |
| | LECN_V1_S3 | F(4,23)=4,604, p=0,009 | 0,385 |
| | RECN_V1_S2 | F(4,23)=5,672, p=0,004 | 0,448 |
| BPF | Prim-Visual_V3_S1 | F(4,22)=3,124, p=0,041 | 0,279 |
| BV | dDMN_V2_S1 | F(4,24)=5,010, p=0,006 | 0,401 |
| | dDMN_V4_S1 | F(4,24)=3,086, p=0,039 | 0,258 |
| | LECN_V4_S3 | F(4,24)=4,571, p=0,009 | 0,373 |
| | RECN_B1_S3 | F(4,25)=3,005, p=0,042 | 0,243 |
| GMV | dDMN_V4_S1 | F(4,24)=3,251, p=0,033 | 0,273 |
| | LECN_B1_S3 | F(4,25)=3,058, p=0,039 | 0,248 |
| | LECN_V4_S3 | F(4,24)=4,249, p=0,012 | 0,351 |
| | RECN_B1_S3 | F(4,25)=3,886, p=0,016 | 0,316 |

Zusätzlich wurden die z-Werte der funktionellen Konnektivität von allen 14 Ruhenetzwerken datengetrieben im Zusammenhang mit sämtlichen 16 Parametern untersucht, wonach eine Bonferroni-Korrektur ($\alpha=0,05/224$) erfolgte. Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz wurden sowohl im Rahmen der hypothesengetriebenen als auch datengetriebenen multiplen linearen Regressionsanalyse stets als Kovariaten definiert, woraus wie im Methodenteil beschrieben, die jeweiligen nicht-standardisierten Prädiktoren und korrigierten R^2 -Werte berechnet wurden.

| Tabelle 7: Ergebnisse (datengetriebene Regressionsanalyse) | | | |
|--|--------------|-----------------------------|---------------------------|
| Prädiktor | Ruhenetzwerk | p-Wert, $\alpha=0,05/224$ | $R^2_{\text{korrigiert}}$ |
| MSFC | LECN | $F(4,281)=13,690, p<\alpha$ | 0,153 |
| SDMT | Motor | $F(4,365)=18,435, p<\alpha$ | 0,160 |
| SIP | Prim-Visual | $F(4,386)=12,729, p<\alpha$ | 0,108 |

Im Folgenden werden die signifikanten Korrelationen zwischen den z-Werten der funktionellen Konnektivität des linken exekutiven Netzwerks (LECN) und den MSFC-Werten dargestellt, zumal sich dieser Zusammenhang sowohl in den hypothesengetriebenen als auch datengetriebenen multiplen linearen Regressionsanalysen zeigte.

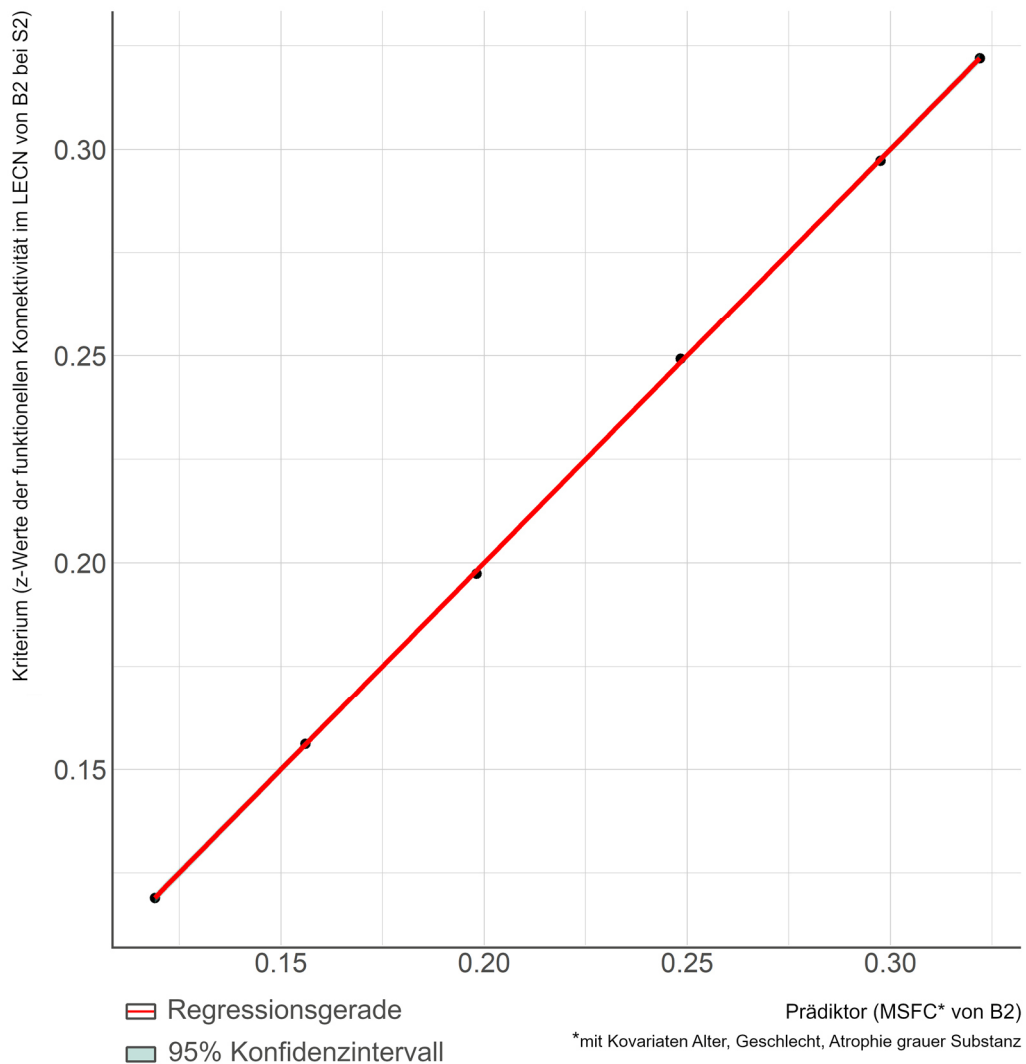


Abbildung 26: Streudiagramm MSFC mit LECN (Messzeitpunkt B2)

Mit einem korrigierten R^2 -Wert von 1 besitzt das Modell zum Messzeitpunkt B2 unter der Messbedingung S2 eine statistisch ideale Korrelation, sodass der MSFC-Wert als Prädiktor unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz als Kovariaten, statistisch signifikant die funktionelle Konnektivität des linken exekutiven Netzwerks voraussagt, $F(4,5)=55580,262$, $p=0,010$.

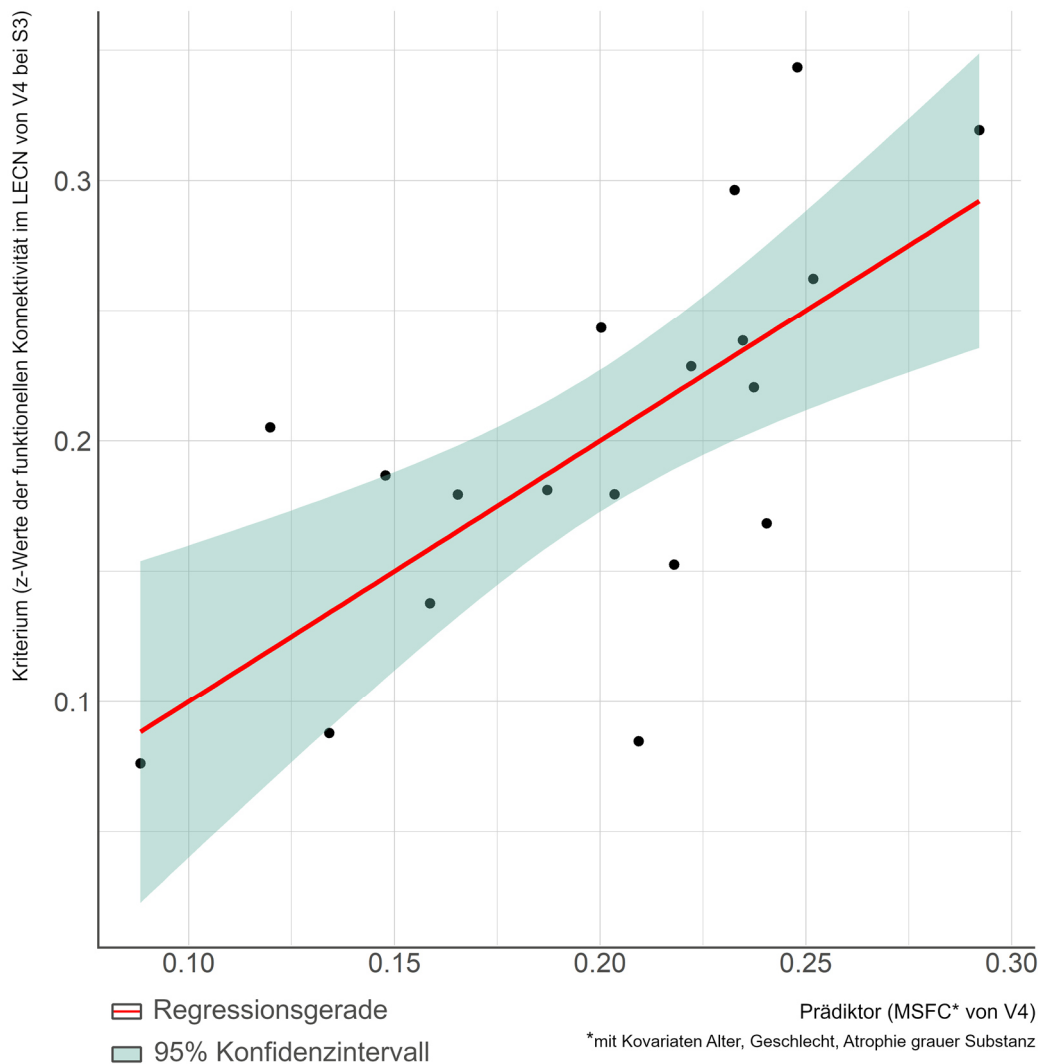


Abbildung 27: Streudiagramm MSFC mit LECN (Messzeitpunkt V4)

Mit einem korrigierten R^2 -Wert von 0,327 besitzt das Modell zum Messzeitpunkt V4 unter der Messbedingung S3 eine statistisch hohe Anpassungsgüte. Der MSFC-Wert sagt als Prädiktor unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz als Kovariaten, statistisch signifikant die funktionelle Konnektivität des linken exekutiven Netzwerks voraus, $F(4,18)=3,183$, $p=0,047$.

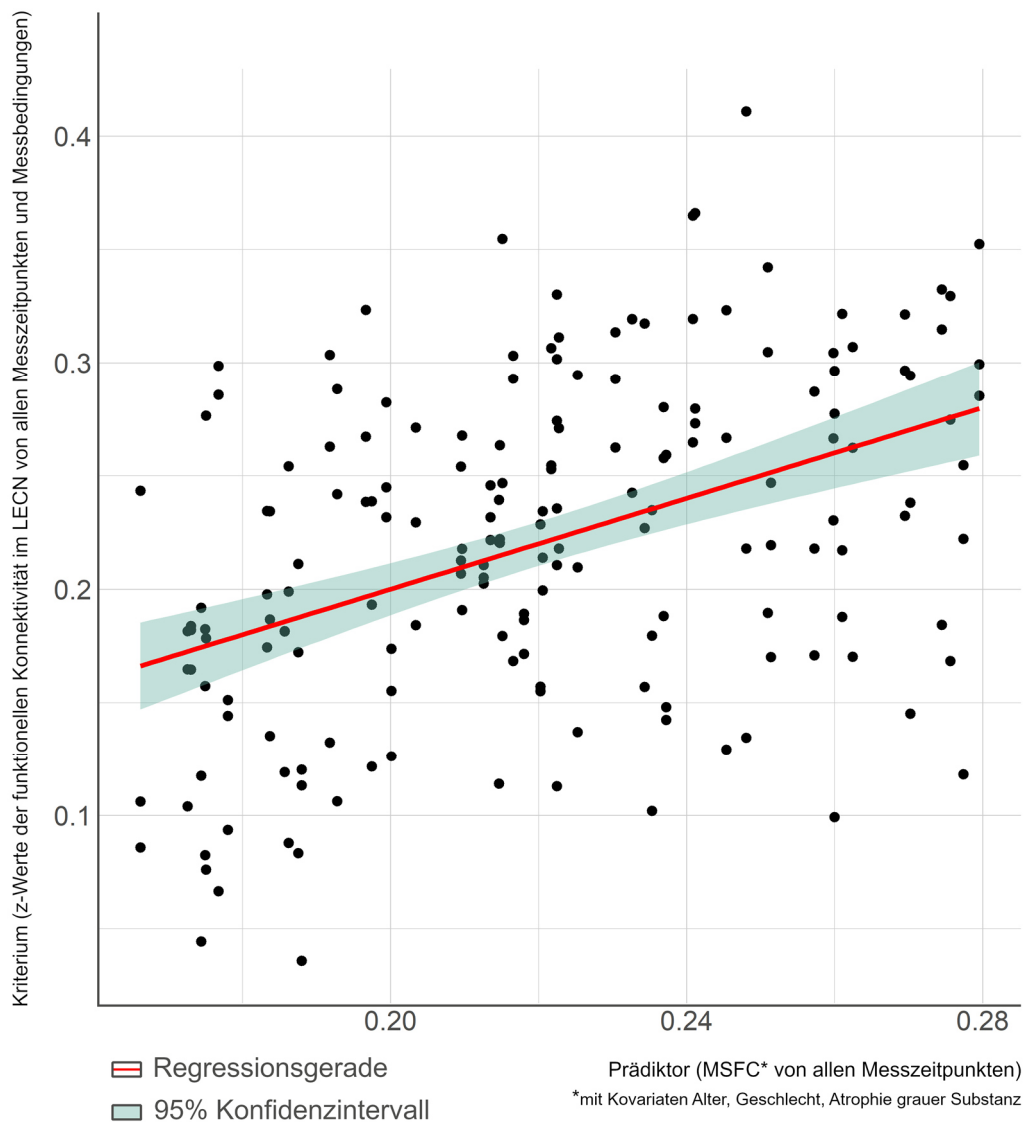


Abbildung 28: Streudiagramm MSFC mit LECN (alle Messzeitpunkte)

Mit einem korrigierten R^2 -Wert von 0,153 besitzt das Modell unter Einbezug aller Messzeitpunkte (B1, B2, V1, V2, V3, V4) und Messbedingungen (S1, S2, S3) eine mittlere Anpassungsgüte. Der MSFC-Wert sagt als Prädiktor unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz als Kovariaten, statistisch signifikant die funktionelle Konnektivität des linken exekutiven Netzwerks voraus, $F(4,281)=13,690$, $p<0,05/224$.

4. DISKUSSION

4.1. Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Das Hauptziel dieser Dissertation war die Untersuchung, ob die funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose sich unter einer verlaufsmodifizierenden Therapie mit Dimethylfumarat normalisiert und in welchem Zusammenhang dies zum klinisch und radiologisch beobachteten Krankheitsverlauf steht.

Im beobachteten Zeitraum von 6 Monaten nach Therapiebeginn mit Dimethylfumarat zeigte sich bei der RRMS-DMF-Gruppe weder klinisch noch radiologisch eine Krankheitsprogression. Im Längsschnittvergleich der funktionellen Konnektivität der 14 Ruhenetzwerken war bei der RRMS-DMF-Gruppe zwischen den Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn statistisch kein signifikanter Unterschied nachweisbar. In einer vergleichbaren Längsschnittstudie zeigte sich nach 6 bzw. 12 Behandlungsmonaten mit Dimethylfumarat ebenfalls keine statistisch signifikante Veränderung der funktionellen Konnektivität (Piervincenzi, Sbardella et al. 2022).

In den Querschnittsvergleichen zur gesunden Kontrollgruppe bestand bei der RRMS-DMF-Gruppe eine erhöhte funktionelle Konnektivität im primär visuellen Ruhenetzwerk, was auch in einer vorherigen Querschnittsstudie bereits gezeigt werden konnte (Rocca, Valsasina et al. 2018). Im Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe zeigte sich jeweils eine erniedrigte funktionelle Konnektivität im linken und rechten exekutiven Netzwerk, im dorsalen Ruhezustandsnetzwerk und im Präkuneus-Ruhenetzwerk, die vereinzelt zu unterschiedlichen Messzeitpunkten auftraten. Reduzierte funktionelle Konnektivität im Ruhezustandsnetzwerk konnte bereits im Zusammenhang einer Behandlung mit Fingolimod nachgewiesen werden (Piervincenzi, Petsas et al. 2021).

In den multiplen linearen Regressionsanalysen zeigten sich nach Durchführung einer Bonferroni-Korrektur ($\alpha=0,05/224$) statistisch signifikante Korrelationen zwischen dem motorischen Ruhenetzwerk und SDMT, zwischen dem primär visuellen Ruhenetzwerk und SIP sowie zwischen dem linken exekutiven Netzwerk und dem MSFC.

4.2. Diskussion der Methoden

Als Studiendesign wurde eine prospektive Beobachtungsstudie konzipiert, in der die RRMS-DMF-Gruppe vor und nach Therapiebeginn mit Dimethylfumarat hinsichtlich Veränderungen der funktionellen Konnektivität anhand von 14 Ruhenetzwerken untersucht wurde. Betont werden muss in diesem Zusammenhang, dass die Indikation für die Therapie mit Dimethylfumarat hierbei unabhängig von der Studienteilnahme vorlag und keine Interventionsstudie angestrebt wurde. Zumal der Untersuchungsschwerpunkt auf frühen Veränderungen der funktionellen Konnektivität lag, wurden die Messzeitpunkte nach Therapiebeginn hochfrequent und engmaschig gewählt, um diese mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit erfassen zu können. Außerdem wurden zwei Baseline-Messungen vor Therapiebeginn durchgeführt, was einerseits erlaubt, fehlende oder fehlerhafte Messungen auszugleichen, als auch die Stabilität der Baseline-Messungen nachzuweisen. Sowohl die doppelte Baseline-Messung als auch die engmaschig angeordneten Messzeitpunkte im Längsschnitt und können daher als Stärke dieser Studie angesehen werden.

Für die Querschnittsvergleiche zu den jeweiligen Messzeitpunkten wurde im Gegensatz zu vergleichbaren Längsschnittstudien (Piervincenzi, Petsas et al. 2021, Piervincenzi, Sbardella et al. 2022) sowohl eine RRMS-Kontrollgruppe als auch eine gesunde Kontrollgruppe definiert. Der kleine Stichprobenumfang im Verhältnis zu vorherigen Querschnittsstudien (Rocca, Valsasina et al. 2012) ist jedoch kritisch zu betrachten, insbesondere bezüglich der RRMS-Kontrollgruppe (Rocca, Valsasina et al. 2018). Bezüglich des kleinen Stichprobenumfangs der RRMS-Kontrollgruppe ist der stattgehabte Rekrutierungsverlauf erwähnenswert, im Rahmen dessen im Rekrutierungszeitraum von 2014 bis 2017 erhebliche Anstrengungen unternommen wurden, um das Rekrutierungsziel ($n=10$) zu erreichen. Die Rekrutierung erfolgte hierbei hauptsächlich über die neuroimmunologische Ambulanz der Universitätsklinik Tübingen, wo jedoch nur sporadisch RRMS-Patienten mit stabilen Krankheitsverläufen vorstellig wurden. Trotz Etablierung von Kooperationen mit niedergelassenen Neurologen und eines Rekrutierungszeitraums von 4 Jahren konnte das Rekrutierungsziel, auch aufgrund mehrerer Studienabbrüche, nicht vollständig erreicht werden.

4.3. Diskussion der klinischen Ergebnisse

Ziel der klinischen Untersuchungen war die klinische Beurteilung des Krankheitsverlaufs, wo in der zusammenfassenden Gesamtbetrachtung der klinischen Untersuchungsergebnisse bei der RRMS-DMF-Gruppe bis 6 Monate nach Therapiebeginn mit Dimethylfumarat klinisch keine Krankheitsprogression beobachtet werden konnte.

Der klinische Behinderungsgrad wurde dabei mittels EDSS und MSFC beurteilt, zumal beide dieser klinischen Scoring-Instrumente international etabliert sind und deren Verwendung studienübergreifende Vergleiche ermöglicht. Bei Baseline betrug der EDSS-Mittelwert bei der RRMS-DMF-Gruppe 1,45 und bei der RRMS-Kontrollgruppe 1,83, was den Schweregraden 1 („abnorme Zeichen ohne Behinderung“) bis 2 („leichte Behinderung“) entspricht. In den nachfolgenden Längsschnitt- und Querschnittsvergleichen bestanden jeweils keine Unterschiede. Von allen durchgeführten Vergleichen der klinischen Untersuchungen zeigten sich ausschließlich bei den SDMT-Werten signifikante Unterschiede. Mittels SDMT wurden im Rahmen dieser Studie kognitive Defizite beurteilt, womit insbesondere die Geschwindigkeit der Informationsverarbeitung, was bei einer Multiplen Sklerose das häufigste kognitive Defizit darstellt (Rocca, Amato et al. 2015) änderungssensitiv im Längsschnitt untersucht werden konnte (Amato, Portaccio et al. 2010). Während die SDMT-Werte sich bei Baseline zwischen der RRMS-DMF-Gruppe (53,7) von der RRMS-Kontrollgruppe (53,6) nicht unterschieden, zeigte sich bei der RRMS-DMF-Gruppe eine Verbesserung bei V2 um 8 und bei V3 um 10 SDMT-Werte im Vergleich zur Baseline. Dem Umstand geschuldet, dass sich diese Verbesserungen bei V2 (+1 Monat nach Therapiebeginn) und V3 (+2 Monate) zeigen, jedoch nicht bei V4 (+6 Monate) und in Bezug auf die Retest-Reliabilität moderate Lerneffekte beschrieben sind (Pereira, Costa et al. 2015), legt es die Vermutung nahe, dass Lern-, Übungs- und Gedächtniseffekte mittelfristig sich bei V2 und V3 gezeigt haben und beim längeren Zeitintervall bei V4 nicht mehr nachweisbar gewesen sein könnten. Hierdurch erscheinen die zwischenzeitlich beobachtbaren Verbesserungen der SDMT-Werte plausibler erklärt, als durch vorübergehende therapeutische Effekte von Dimethylfumarat auf kognitive Defizite.

4.4. Diskussion der strukturellen Ergebnisse

Ziel der strukturellen MRT-Untersuchungen war die radiologische Beurteilung des Krankheitsverlaufs, wo bei der RRMS-DMF-Gruppe bezüglich Läsionslast und Hirnatrophie radiologisch keine Krankheitsprogression beobachtet werden konnte.

Für die Läsionslast wurden Anzahl und Volumen der T1- und T2-Läsionen bestimmt. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang die Methodik der Läsionssegmentierung. Nachdem die initial durchgeführten automatischen Segmentierungsverfahren, wie beispielsweise mittels der LST-Toolbox (Lesion Segmentation Tool), bei der Segmentierung von hyperintensiven T2-Läsionen in FLAIR-Bildern zu inakkuraten Segmentierungsergebnissen führten, wurde die Läsionssegmentierung manuell durch zwei erfahrene ärztliche Mitarbeiter durchgeführt. Beim Vergleich der Läsionslast zeigte sich bei der RRMS-Kontrollgruppe zwischen B1 und V6 (Follow-Up-Messung nach 24 Monaten) eine mittlere Zunahme von etwa 3 T2-Läsionen, die bei der RRMS-DMF-Gruppe hingegen nicht nachweisbar war. Zumal eine signifikante Reduktion von neu auftretenden T2-Läsionen durch Dimethylfumarat sowohl in der DEFINE-Studie (Gold, Kappos et al. 2012) als auch in der CONFIRM-Studie (Fox, Miller et al. 2012) hinreichend gezeigt wurde, ist diese Beobachtung mit einem therapeutischen Effekt von Dimethylfumarat vereinbar.

Für die Hirnatrophie wurden die Hirnvolumina, Volumina der grauen und weißen Substanz und Hirnparenchymanteile bestimmt. Im Gegensatz zu den Vergleichen der Läsionslast, wo grundsätzlich keine Vergleiche mit der gesunden Kontrollgruppe möglich sind, waren hierbei Vergleiche zu beiden Kontrollgruppen möglich. Da der Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe im Zeitraum B1 bis V6 (24 Monate nach Therapiebeginn) und der Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe im Zeitraum B1 bis V4 (6 Monate nach Therapiebeginn) erfolgte, werden diese aufgrund der unterschiedlichen Beobachtungszeiträume im Folgenden getrennt betrachtet. In der folgenden Tabelle sind ausschließlich die signifikanten Unterschiede zwischen der RRMS-DMF-Gruppe und den jeweiligen Kontrollgruppen dargestellt.

| Tabelle 8: Signifikante Unterschiede der Hirnatrophie | | |
|---|--------------------------|--------------------------|
| B1-V6 (+24 Monate) | RRMS-DMF-Gruppe | Gesunde Kontrollgruppe |
| Hirnvolumen (Mittelwert) | 1.578.594mm ³ | 1.629.836mm ³ |
| WMV (Mittelwert) | 759.718mm ³ | 786.744mm ³ |
| B1-V4 (+6 Monate) | RRMS-DMF-Gruppe | RRMS-Kontrollgruppe |
| Hirnvolumen (Mittelwert) | 1.590.809mm ³ | 1.504.926mm ³ |
| GMV (Mittelwert) | 827.289mm ³ | 781.208mm ³ |
| WMV (Mittelwert) | 763.520mm ³ | 723.718mm ³ |

Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe bestand bei der RRMS-DMF-Gruppe eine stärker ausgeprägte Hirnatrophie mit einem signifikant kleineren Hirnvolumen und Volumen der weißen Substanz. Zumal Hirnatrophie bereits in frühen Krankheitsstadien der Multiplen Sklerose durch eine erhöhte Verlustrate von Hirngewebe auftritt (Rocca, Battaglini et al. 2017), entsprachen diese Beobachtungen zu erwartenden Unterschieden. Bemerkenswert ist jedoch, dass die RRMS-DMF-Gruppe im Längsschnittvergleich nach 24 Monaten keine Veränderung bezüglich des Hirnvolumens und des Volumens der weißen Substanz aufwies. Auch war nach 24 Monaten keine Atrophie der grauen Substanz nachweisbar. Zumal bereits gezeigt werden konnte, dass Dimethylfumarat die Verlustrate des Hirnvolumens über 24 Monate signifikant reduziert (Kappos, Youstry et al. 2016) und zusätzlich Hinweise auf eine kleinere Verlustrate des Volumens der grauen Substanz bestehen (Dupuy, Tauhid et al. 2016), legen diese Beobachtungen mögliche therapeutische Effekte von Dimethylfumarat nahe.

Im Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe bestand bei der RRMS-DMF-Gruppe eine weniger stark ausgeprägte Hirnatrophie mit einem signifikant größeren Hirnvolumen und Volumen der grauen sowie weißen Substanz. Da sich in den Längsschnittvergleichen innerhalb des deutlich kürzeren Beobachtungszeitraums von 6 Monaten jedoch weder in der RRMS-DMF-Gruppe noch in der RRMS-Kontrollgruppe signifikante Unterschiede zeigten, scheinen diese nicht auf einen therapeutischen Effekt zurückführbar.

4.5. Diskussion der funktionellen Ergebnisse

Ziel der funktionellen MRT-Untersuchungen war die Beantwortung der Studienhypothese, ob Dimethylfumarat bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose innerhalb von zwei Monaten eine frühzeitige Normalisierung der funktionellen Konnektivität in den Ruhenetzwerken bewirkt. Hierfür wurde bei der RRMS-DMF-Gruppe die funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke zu Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn hochfrequent im Längsschnitt als auch im Querschnitt zur RRMS-Kontrollgruppe und gesunden Kontrollgruppe untersucht. In vergleichbaren Längsschnittstudien stellten fehlende Kontrollgruppen hingegen jeweils eine grundsätzliche Limitation dar (Piervincenzi, Petsas et al. 2021, Piervincenzi, Sbardella et al. 2022). Auch lag der Untersuchungsschwerpunkt dieser Dissertation im Gegensatz zu vergleichbaren Längsschnittstudien (Rocca, Marchetti et al. 2019, Piervincenzi, Petsas et al. 2021, Piervincenzi, Sbardella et al. 2022) auf frühzeitig auftretende therapeutische Effekte innerhalb und nicht nach Ablauf von 6 Behandlungsmonaten. Für die durchgeführten statistischen Analysen wurden neben Alter und Geschlecht auch stets die Atrophie der grauen Substanz als Kovariate definiert, die insbesondere bei den Vergleichen zur gesunden Kontrollgruppe zu berücksichtigen war (Rocca, Valsasina et al. 2012).

Bei den Vergleichen zur gesunden Kontrollgruppe zeigte sich ausschließlich im primär visuellen Ruhenetzwerk ein signifikanter Unterschied mit einer erhöhten funktionellen Konnektivität bei der RRMS-DMF-Gruppe. Zwar konnte in einer vergleichbaren Querschnittsstudie derselbe Unterschied gezeigt werden (Rocca, Valsasina et al. 2018), jedoch wurden auch weitere Unterschiede berichtet, wie beispielsweise eine reduzierte funktionelle Konnektivität im Ruhezustandsnetzwerk (DMN). Zumal die Ergebnisse jener Studie anhand einer deutlich größeren Studienpopulation mit 215 MS-Probanden (davon 119 mit RRMS) und 98 gesunden Kontrollprobanden generiert wurden (Rocca, Valsasina et al. 2018), liegt die Vermutung nahe, dass aufgrund des niedrigeren Stichprobenumfangs dieser explorativen Studie nicht alle Unterschiede vollumfänglich, sondern lediglich andeutungsweise zur Darstellung gekommen sind.

Der kleine Stichprobenumfang zeigte sich auch für die anderen Untersuchungen als teststatistische Limitation, insbesondere bei den Vergleichen mit der RRMS-Kontrollgruppe (n=6). Dabei waren zur Überprüfung der Studienhypothese insbesondere die Vergleiche zwischen den Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn bei der RRMS-DMF-Gruppe als auch die jeweiligen Vergleiche zur RRMS-Kontrollgruppe von Interesse, wofür in erster Linie multivariate Analysen durchgeführt wurden. In keiner der durchgeführten multivariaten Analysen zeigte sich bei der RRMS-DMF-Gruppe jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn sowie im Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe. Auch in einer vergleichbaren Längsschnittstudie konnte nach 6 sowie 12 Behandlungsmonaten mit Dimethylfumarat keine signifikante Veränderung der funktionellen Konnektivität in den Ruhenetzwerken nachgewiesen werden (Piervincenzi, Sbardella et al. 2022). Zumal im Rahmen einer verlaufsmodifizierenden Therapie mit Fingolimod nach 6 Monaten jedoch signifikante Veränderungen der funktionellen Konnektivität in den Ruhenetzwerken gezeigt werden konnten (Piervincenzi, Petsas et al. 2021) wurde darauf hingewiesen, dass auch die Abwesenheit einer signifikanten Veränderung der funktionellen Konnektivität der Ruhenetzwerke einen möglichen therapeutischen Effekt im Sinne einer Stabilisierung darstellen könnten (Piervincenzi, Sbardella et al. 2022). Zudem wurde angemerkt, dass die untersuchte Studienpopulation mit Dimethylfumarat eine geringere Krankheitsaktivität aufweisen könnte als die mit Fingolimod (Piervincenzi, Petsas et al. 2021), zumal Dimethylfumarat eher bei milden bis moderaten Krankheitsverläufen und Fingolimod eher bei hochaktiven indiziert ist.

Die Studienpopulationen der genannten Studien, welche die funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose im Zusammenhang einer verlaufsmodifizierenden Therapie im Längsschnittvergleich untersuchten, umfassten jeweils etwa 30 Probanden (Rocca, Marchetti et al. 2019, Piervincenzi, Petsas et al. 2021, Piervincenzi, Sbardella et al. 2022). Dem Umstand geschuldet, dass auch im Rahmen dieser Dissertation lediglich 36 Probanden (20 Probanden der RRMS-DMF-Gruppe, 6 der RRMS-Kontrollgruppe, 10 der gesunden Kontrollgruppe) zur Verfügung

standen, wären für Ergebnisse auf dem $p < 0,05$ -Niveau und für eine statistische Power von 0,8 jedoch große Effektstärken notwendig gewesen, sodass eher davon ausgegangen werden musste, dass die vorliegende Studienpopulation für die Berechnung multivariater Analysen nur mit Einschränkungen geeignet war.

Vor dem Hintergrund der limitierten Stichprobengröße und der daraus bedingten teststatistischen Einschränkungen, wurden für eine weiterführende Exploration univariate Analysen durchgeführt. Im Gegensatz zu den multivariaten Analysen wurden die 14 Ruhenetzwerke hierbei nicht gemeinsam im Längsschnitt zu unterschiedlichen Messzeitpunkten verglichen, sondern jedes Ruhenetzwerk einzeln zu einem Messzeitpunkt. Da somit jedes Ruhenetzwerk in Abhängigkeit des Messzeitpunkts (und der jeweiligen Messbedingung) untersucht wurde, ging dies mit der Durchführung von Mehrfachvergleichen und einer konsekutiv erheblichen Alphafehlerkumulierung einher, sodass für jede univariate Analyse eine Bonferroni-Korrektur erfolgte. Kritisch anzumerken ist in diesem Zusammenhang die erhöhte Risikokonstellation für Fehler 2. Art, sodass auch weniger rigide Korrekturverfahren als geeignet zu betrachten sind. Um sicherzustellen, dass trotz der explorativen Natur dieser Studie möglichst wenige falsch-positive Ergebnisse generiert werden, wurde zu diesem Zweck diese konservative Form der Korrektur gewählt, wo sich in 4 Ruhenetzwerken (dDMN, Precuneus, LECN, RECN) signifikante Unterschiede im Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe zeigten. Der Umstand, dass der Unterschied im Präkuneus-Ruhenetzwerk zum Messzeitpunkt B1 bereits bei B2 nicht mehr nachweisbar war, legt die Vermutung nahe, dass dies nicht auf einen therapeutischen Effekt zurückzuführen ist, da der Therapiebeginn erst nach B2 erfolgte. In Anbetracht der Tatsache, dass keiner der verbleibenden Unterschiede konsistent über verschiedene Messzeitpunkte oder Messbedingungen hinweg zu beobachten war und angesichts der durchgeführten Analysen, die insbesondere aufgrund des geringen Stichprobenumfangs erheblichen teststatistischen Einschränkungen unterworfen waren, konnte die Studienhypothese in letzter Konsequenz statistisch weder hinreichend belegt noch widerlegt werden.

4.6. Diskussion der Ergebnisse der multiplen linearen Regression

Ziel der multiplen linearen Regressionsanalysen war die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der funktionellen Konnektivität der 14 Ruhenetzwerke und der 8 klinischen sowie 8 strukturellen Parameter. Hierfür wurden multiple lineare Regressionsanalysen mit (datengetrieben) und ohne Bonferroni-Korrektur (hypothesengetrieben) durchgeführt. Alter, Geschlecht und Atrophie der grauen Substanz wurden dabei jeweils als Kovariaten definiert.

Datengetrieben zeigten sich trotz der konservativen Bonferroni-Korrektur ($\alpha=0,05/224$) 3 signifikante Korrelationen, die jedoch bisher weder bekannt noch aus klinischer Perspektive plausibel zu begründen waren. So war die Korrelation zwischen dem motorischen Ruhenetzwerk und dem SDMT, einem Test, der vor allem die Geschwindigkeit der Informationsverarbeitung überprüft (Rocca, Amato et al. 2015) nicht nachvollziehbar. Ebenso erscheint der Zusammenhang zwischen dem primär visuellen Ruhenetzwerk und dem SIP nicht unmittelbar ersichtlich, zumal im SIP in keinem der 136 Items visuelle Einschränkungen explizit abgebildet werden (Bergner, Bobbitt et al. 1981).

Die Korrelation zwischen der funktionellen Konnektivität im LECN und dem MSFC zeigte sich als einzige sowohl in den datengetriebenen als auch in der hypothesengetriebenen multiplen linearen Regressionsanalysen, wo insbesondere der korrigierte R^2 -Wert von 1 zum Messzeitpunkt B2 auffällig war. Diese statistisch ideale positive Korrelation scheint jedoch weniger auf einen tatsächlichen Zusammenhang, sondern eher auf einen teststatistischen Zufallseffekt zurückzuführen, zumal bei B2 gemäß des Studienprotokolls lediglich klinische Untersuchungen vorgesehen waren, die bei B1 nicht durchgeführt werden konnten, sodass die Stichprobengröße zum Messzeitpunkt B2 lediglich 6 Probanden umfasste und daher nur eingeschränkt Aussagen bezüglich der Grundgesamtheit zulässt. Ebenso ist dieser Zusammenhang mit Ausnahme bei V4 nicht konsistent über mehrere Messzeitpunkte und Messbedingungen hinweg nachweisbar.

Auch bei Betrachtung der anderen Ergebnisse der hypothesengetriebenen multiplen linearen Regressionsanalyse erscheinen diese nicht konsistent über mehrere Messzeitpunkte oder Messbedingungen hinweg. Zwar konnten mitunter auch bekannte Korrelationen, wie beispielsweise zwischen dDMN und EDSS, repliziert werden (Rocca, Valsasina et al. 2012), doch musste angesichts der durchgeführten Mehrfachvergleiche in Abwesenheit eines Korrekturverfahrens auch mit Ergebnissen gerechnet werden, die das Resultat einer erheblichen Alphafehlerkumulierung darstellen können. In der datengetriebenen multiplen linearen Regressionsanalyse wurden zwar solche Fehler 1. Art durch die Durchführung einer Bonferroni-Korrektur minimiert, jedoch zulasten möglicher Fehler 2. Art, sodass weniger rigide Korrekturverfahren, auch in Hinblick auf die geringe Stichprobengröße, sinnvolle Alternativen darstellen. In Anbetracht der eingeschränkten Teststärke der durchgeführten Analysen bedürfen die zu explorativen Zwecken generierten Ergebnisse daher anhand von weiterführenden Studien einer eingehenden Überprüfung.

4.7. Schlussfolgerung und Ausblick

Das Hauptziel der Überprüfung der Studienhypothese, ob Dimethylfumarat bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose innerhalb von zwei Monaten eine Normalisierung der funktionellen Konnektivität in den Ruhenetzwerken bewirkt, zeigte sich insbesondere durch den geringen Stichprobenumfang limitiert und dadurch teststatistisch weder hinreichend belegbar noch widerlegbar. So konnte zwar der klinische und radiologische Krankheitsverlauf für den beobachteten Zeitraum von 6 Monaten detailliert charakterisiert werden, doch waren die durchgeführten Analysen der funktionellen Konnektivität von den Ruhenetzwerken teststatistischen Einschränkungen unterworfen, sodass diese explorative Studie lediglich erste Einblicke in mögliche therapiebedingte Veränderungen der funktionellen Konnektivität von Ruhenetzwerken bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose erlaubt. Zugleich könnte diese Studie aber auch als Anregung dienen, um in Form von nachfolgenden Studien das Verständnis für adaptive und maladaptive Prozesse im Rahmen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose weiter zu vertiefen, zumal die gezeigten Veränderungen der funktionellen Konnektivität von Ruhenetzwerken nach aktuellem Verständnis sowohl krankheitsbedingte als auch neuroplastische Phänomene widerzuspiegeln scheinen. Der Forschungsansatz, den Zusammenhang zwischen neuroplastischen Mechanismen und der funktionellen Konnektivität der Ruhenetzwerke zu untersuchen, um damit adaptive Prozesse mit bestimmten Veränderungen der funktionellen Konnektivität in Verbindung zu bringen, erscheint insofern reizvoll, da im Falle eines Nachweises von adaptiven Veränderungen der funktionellen Konnektivität, dies die Möglichkeit eröffnen würde, diese im Kontext von therapeutischen Effekten zu betrachten. Falls therapeutische Effekte im Sinne von adaptiven Veränderungen der funktionellen Konnektivität frühzeitig nachweisbar sein sollten, könnte dies einen potenziellen Biomarker darstellen, der möglicherweise ein therapeutisches Ansprechen zu prädictieren und dadurch die verlaufsmodifizierende Behandlung der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose zu optimieren vermag.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Obgleich der Umstand bekannt ist, dass die funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose sich auf vielfältige Weise verändert zeigt und hierbei krankheitsbedingte als auch neuroplastische Phänomene zur Darstellung kommen, die sowohl Ausdruck von adaptiven als auch maladaptiven Mechanismen sein können, ist noch nicht hinreichend bekannt, ob sich diese durch eine verlaufsmodifizierende Therapie mit Dimethylfumarat beeinflussbar zeigen.

Zur Untersuchung dieses Zusammenhangs wurde bei 20 RRMS-Probanden, welche die RRMS-DMF-Gruppe bildeten, die funktionelle Konnektivität von 14 Ruhenetzwerken zu 2 Messzeitpunkten vor und zu 4 Messzeitpunkten nach Therapiebeginn mit Dimethylfumarat im Längsschnittvergleich innerhalb eines Beobachtungszeitraums von 6 Monaten untersucht. Zusätzlich wurden Querschnittsvergleiche zu einer gesunden Kontrollgruppe und einer RRMS-Kontrollgruppe durchgeführt, bei denen jeweils keine therapeutische Intervention bestand.

Dabei war innerhalb von 6 Monaten nach Therapiebeginn bei der RRMS-DMF-Gruppe keine klinische oder radiologische Krankheitsprogression beobachtbar. Für die klinische Verlaufsbeurteilung wurden unter anderem der klinische Behinderungsgrad (EDSS, MSFC), kognitive Defizite (SDMT), Fatigue-Symptome (FSS, SIP) und Schubereignisse erfasst, für die radiologische Verlaufsbeurteilung sowohl Hirnatrophie (Hirnvolumen, GMV, WMV, Hirnparenchymanteil) als auch Läsionslast (Anzahl und Volumen von T1- und T2-Läsionen).

Für den Längsschnittvergleich der funktionellen Konnektivität der 14 Ruhenetzwerke zwischen den Messzeitpunkten vor und nach Therapiebeginn wurden multivariate Analysen durchgeführt, wo sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zeigten. Für die Querschnittsvergleiche wurden zusätzlich univariate Analysen durchgeführt.

In den Querschnittsvergleichen zur gesunden Kontrollgruppe bestand bei der RRMS-DMF-Gruppe eine erhöhte funktionelle Konnektivität im primär visuellen Ruhenetzwerk mit einer mittleren Differenz von 0,201, $F(2,30)=4,801$, $p=0,036$ und im Vergleich zur RRMS-Kontrollgruppe eine jeweils erniedrigte funktionelle Konnektivität im linken und rechten exekutiven Netzwerk, im dorsalen Ruhezustandsnetzwerk und im Präkuneus-Ruhenetzwerk, die vereinzelt zu unterschiedlichen Messzeitpunkten auftraten.

Für die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen der funktionellen Konnektivität der Ruhenetzwerke und der klinischen sowie radiologischen Parameter wurden multiple lineare Regressionsanalysen durchgeführt, wo sich statistisch signifikante Korrelationen zwischen dem motorischen Ruhenetzwerk und SDMT, zwischen dem primär visuellen Ruhenetzwerk und SIP sowie zwischen dem linken exekutiven Netzwerk und dem MSFC nach Durchführung einer Bonferroni-Korrektur mit $p<0,05/224$ zeigten.

Zusammengefasst bietet diese explorative Studie erste Einblicke in den Zusammenhang zwischen krankheitsbedingt veränderter funktioneller Konnektivität bei Vorliegen einer schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose und möglichen therapeutischen Effekten. Zugleich erfordern die gezeigten Ergebnisse, die anhand einer kleinen Studienpopulation generiert wurden und dadurch teststatistischen Limitationen unterworfen waren, eine weiterführende Exploration und Überprüfung durch nachfolgende Studien, wofür die vorliegende Dissertation als Anregung dienen könnte.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Amato, M. P. and G. Ponziani (1999). "Quantification of impairment in MS: discussion of the scales in use." Multiple Sclerosis Journal **5**(4): 216-219.
2. Amato, M. P., E. Portaccio, B. Goretti, V. Zipoli, A. Iudice, D. D. Pina, G. Malentacchi, S. Sabatini, P. Annunziata, M. Falcini, M. Mazzoni, M. Mortilla, C. Fonda and N. De Stefano (2010). "Relevance of cognitive deterioration in early relapsing-remitting MS: a 3-year follow-up study." Multiple Sclerosis Journal **16**(12): 1474-1482.
3. Basser, P. J., J. Mattiello and D. LeBihan (1994). "MR diffusion tensor spectroscopy and imaging." Biophys J **66**(1): 259-267.
4. Bell, A. J. and T. J. Sejnowski (1995). "An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution." Neural Comput **7**(6): 1129-1159.
5. Benedict, R., J. Deluca, G. Phillips, N. LaRocca, L. Hudson and R. Rudick (2017). "Validity of the Symbol Digit Modalities Test as a cognition performance outcome measure for multiple sclerosis." Multiple Sclerosis Journal **23**: 135245851769082.
6. Bergner, M., R. A. Bobbitt, W. B. Carter and B. S. Gilson (1981). "The Sickness Impact Profile: development and final revision of a health status measure." Med Care **19**(8): 787-805.
7. Biswal, B., F. Z. Yetkin, V. M. Haughton and J. S. Hyde (1995). "Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI." Magn Reson Med **34**(4): 537-541.
8. Bomprezzi, R. (2015). "Dimethyl fumarate in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: an overview." Ther Adv Neurol Disord **8**(1): 20-30.
9. Brett, M., J.-L. Anton, R. Valabregue and J.-B. Poline (2002). Region of interest analysis using an SPM toolbox. 8th international conference on functional mapping of the human brain, Sendai.
10. Cader, S., J. Palace and P. M. Matthews (2009). "Cholinergic agonism alters cognitive processing and enhances brain functional connectivity in patients with multiple sclerosis." J Psychopharmacol **23**(6): 686-696.
11. Calabrese, P. and I. K. Penner (2007). "Cognitive dysfunctions in multiple sclerosis--a "multiple disconnection syndrome"?" J Neurol **254 Suppl 2**: li18-21.
12. Calhoun, V. D., T. Adali, G. D. Pearlson and J. J. Pekar (2001). "A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis." Hum Brain Mapp **14**(3): 140-151.
13. Carlström, K. E., E. Ewing, M. Granqvist, A. Gyllenberg, S. Aeinehband, S. L. Enoksson, A. Checa, T. V. S. Badam, J. Huang, D. Gomez-Cabrero, M. Gustafsson, F. Al Nimer, C. E. Wheelock, I. Kockum, T. Olsson, M. Jagodic and F. Piehl (2019). "Therapeutic efficacy of dimethyl fumarate in relapsing-remitting multiple sclerosis associates with ROS pathway in monocytes." Nature Communications **10**(1): 3081.
14. Chiaravalloti, N. D. and J. DeLuca (2008). "Cognitive impairment in multiple sclerosis." Lancet Neurol **7**(12): 1139-1151.

15. Damoiseaux, J. S., S. A. Rombouts, F. Barkhof, P. Scheltens, C. J. Stam, S. M. Smith and C. F. Beckmann (2006). "Consistent resting-state networks across healthy subjects." *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**(37): 13848-13853.
16. Dendrou, C. A., L. Fugger and M. A. Friese (2015). "Immunopathology of multiple sclerosis." *Nature Reviews Immunology* **15**(9): 545-558.
17. Dupuy, S. L., S. Tauhid, S. Hurwitz, R. Chu, F. Yousuf and R. Bakshi (2016). "The Effect of Dimethyl Fumarate on Cerebral Gray Matter Atrophy in Multiple Sclerosis." *Neurol Ther* **5**(2): 215-229.
18. Esposito, F., E. Seifritz, E. Formisano, R. Morrone, T. Scarabino, G. Tedeschi, S. Cirillo, R. Goebel and F. Di Salle (2003). "Real-time independent component analysis of fMRI time-series." *NeuroImage* **20**(4): 2209-2224.
19. Filippi, M., A. Bar-Or, F. Piehl, P. Preziosa, A. Solari, S. Vukusic and M. A. Rocca (2018). "Multiple sclerosis." *Nature Reviews Disease Primers* **4**(1): 43.
20. Fischer, J. S., R. A. Rudick, G. R. Cutter and S. C. Reingold (1999). "The Multiple Sclerosis Functional Composite Measure (MSFC): an integrated approach to MS clinical outcome assessment. National MS Society Clinical Outcomes Assessment Task Force." *Mult Scler* **5**(4): 244-250.
21. Fox, R. J., D. H. Miller, J. T. Phillips, M. Hutchinson, E. Havrdova, M. Kita, M. Yang, K. Raghupathi, M. Novas, M. T. Sweetser, V. Vigiotta and K. T. Dawson (2012). "Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis." *N Engl J Med* **367**(12): 1087-1097.
22. Friston, K. J. (1994). "Functional and effective connectivity in neuroimaging: A synthesis." *Human Brain Mapping* **2**(1-2): 56-78.
23. Garg, N. and T. W. Smith (2015). "An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis." *Brain Behav* **5**(9): e00362.
24. Gold, R., L. Kappos, D. L. Arnold, A. Bar-Or, G. Giovannoni, K. Selmaj, C. Tornatore, M. T. Sweetser, M. Yang, S. I. Sheikh and K. T. Dawson (2012). "Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis." *N Engl J Med* **367**(12): 1098-1107.
25. Himberg, J., A. Hyvärinen and F. Esposito (2004). "Validating the independent components of neuroimaging time series via clustering and visualization." *Neuroimage* **22**(3): 1214-1222.
26. Kappos, L., R. Gold, D. H. Miller, D. G. Macmanus, E. Havrdova, V. Limmroth, C. H. Polman, K. Schmierer, T. A. Yousry, M. Yang, M. Eraksoy, E. Meluzinova, I. Rektor, K. T. Dawson, A. W. Sandrock and G. N. O'Neill (2008). "Efficacy and safety of oral fumarate in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled phase IIb study." *Lancet* **372**(9648): 1463-1472.
27. Kappos, L., T. Yousry, R. Fox, R. Gold, D. Arnold, J. Potts and J. Marantz (2016). "Rate of Brain Volume Loss with Long-Term Delayed-Release Dimethyl Fumarate Treatment in Patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: 6-Year Results from ENDORSE (P3.061)." *Neurology* **86**(16 Supplement): P3.061.
28. Kingwell, K. (2012). "Neuronal network connectivity is altered in multiple sclerosis." *Nature Reviews Neurology* **8**(11): 593-593.

29. Krupp, L. B., N. G. LaRocca, J. Muir-Nash and A. D. Steinberg (1989). "The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus." Arch Neurol **46**(10): 1121-1123.
30. Kurtzke, J. F. (1983). "Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS)." Neurology **33**(11): 1444-1452.
31. Langdon, D. W., M. P. Amato, J. Boringa, B. Brochet, F. Foley, S. Fredrikson, P. Hämäläinen, H. P. Hartung, L. Krupp, I. K. Penner, A. T. Reder and R. H. Benedict (2012). "Recommendations for a Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS)." Mult Scler **18**(6): 891-898.
32. Learmonth, Y. C., D. Dlugonski, L. A. Pilutti, B. M. Sandroff, R. Klaren and R. W. Motl (2013). "Psychometric properties of the Fatigue Severity Scale and the Modified Fatigue Impact Scale." Journal of the Neurological Sciences **331**(1): 102-107.
33. Lerdal, A. (2014). Fatigue Severity Scale. Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research. A. C. Michalos. Dordrecht, Springer Netherlands: 2218-2221.
34. Lerdal, A., A. K. Wahl, T. Rustoen, B. R. Hanestad and T. Moum (2005). "Fatigue in the general population: A translation and test of the psychometric properties of the Norwegian version of the fatigue severity scale." Scandinavian Journal of Public Health **33**(2): 123-130.
35. Li, Y. O., T. Adali and V. D. Calhoun (2007). "Estimating the number of independent components for functional magnetic resonance imaging data." Hum Brain Mapp **28**(11): 1251-1266.
36. Lu, H., Q. Zou, H. Gu, M. E. Raichle, E. A. Stein and Y. Yang (2012). "Rat brains also have a default mode network." Proceedings of the National Academy of Sciences **109**(10): 3979-3984.
37. Lückel, C., F. Picard, H. Raifer, L. Campos Carrascosa, A. Guralnik, Y. Zhang, M. Klein, S. Bittner, F. Steffen, S. Moos, F. Marini, R. Gloury, F. C. Kurschus, Y.-Y. Chao, W. Bertrams, V. Sexl, B. Schmeck, L. Bonetti, M. Grusdat, M. Lohoff, C. E. Zielinski, F. Zipp, A. Kallies, D. Brenner, M. Berger, T. Bopp, B. Tackenberg and M. Huber (2019). "IL-17+ CD8+ T cell suppression by dimethyl fumarate associates with clinical response in multiple sclerosis." Nature Communications **10**(1): 5722.
38. Mainero, C., M. Inghilleri, P. Pantano, A. Conte, D. Lenzi, V. Frasca, L. Bozzao and C. Pozzilli (2004). "Enhanced brain motor activity in patients with MS after a single dose of 3,4-diaminopyridine." Neurology **62**(11): 2044-2050.
39. Mantini, D., A. Gerits, K. Nelissen, J. B. Durand, O. Joly, L. Simone, H. Sawamura, C. Wardak, G. A. Orban, R. L. Buckner and W. Vanduffel (2011). "Default mode of brain function in monkeys." J Neurosci **31**(36): 12954-12962.
40. Mason, M. F., M. I. Norton, J. D. V. Horn, D. M. Wegner, S. T. Grafton and C. N. Macrae (2007). "Wandering Minds: The Default Network and Stimulus-Independent Thought." Science **315**(5810): 393-395.
41. Meyer-Moock, S., Y.-S. Feng, M. Maeurer, F.-W. Dippel and T. Kohlmann (2014). "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 Neurology **14**(1): 58.
42. Ogawa, S., T. M. Lee, A. R. Kay and D. W. Tank (1990). "Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(24): 9868-9872.
 43. Pakkenberg, B., D. Pelvig, L. Marnar, M. J. Bundgaard, H. J. G. Gundersen, J. R. Nyengaard and L. Regeur (2003). "Aging and the human neocortex." Experimental Gerontology **38**(1): 95-99.
 44. Parry, A. M., R. B. Scott, J. Palace, S. Smith and P. M. Matthews (2003). "Potentially adaptive functional changes in cognitive processing for patients with multiple sclerosis and their acute modulation by rivastigmine." Brain **126**(Pt 12): 2750-2760.
 45. Pereira, D. R., P. Costa and J. J. Cerqueira (2015). "Repeated Assessment and Practice Effects of the Written Symbol Digit Modalities Test Using a Short Inter-Test Interval." Arch Clin Neuropsychol **30**(5): 424-434.
 46. Piervincenzi, C., N. Petsas, L. De Giglio, M. Carmellini, C. Gianni, S. Tommasin, C. Pozzilli and P. Pantano (2021). "Increased Within-Network Functional Connectivity May Predict NEDA Status in Fingolimod-Treated MS Patients." Frontiers in Neurology **12**(164).
 47. Piervincenzi, C., E. Sbardella, M. Altieri, A. Ianniello, P. Pantano, C. Pozzilli and N. Petsas (2022). "No Changes in Functional Connectivity After Dimethyl Fumarate Treatment in Multiple Sclerosis." Neurology and Therapy **11**(1): 471-479.
 48. Raichle, M. E., A. M. MacLeod, A. Z. Snyder, W. J. Powers, D. A. Gusnard and G. L. Shulman (2001). "A default mode of brain function." Proceedings of the National Academy of Sciences **98**(2): 676-682.
 49. Raichle, M. E. and M. A. Mintun (2006). "BRAIN WORK AND BRAIN IMAGING." Annual Review of Neuroscience **29**(1): 449-476.
 50. Richiardi, J., M. Gschwind, S. Simioni, J.-M. Annoni, B. Greco, P. Hagmann, M. Schluep, P. Vuilleumier and D. Van De Ville (2012). "Classifying minimally disabled multiple sclerosis patients from resting state functional connectivity." NeuroImage **62**(3): 2021-2033.
 51. Rocca, M., C. Marchetti, P. Valsasina, P. Preziosa, G. C. Riccitelli, M. Rodegher, L. Moiola, G. Comi and M. Filippi (2019). "Modulation of Large-Scale Functional Networks Occurs in MS Patients Starting Fingolimod or Natalizumab: A 2-Year Resting State Functional Connectivity Study (S31.003)." Neurology **92**(15 Supplement): S31.003.
 52. Rocca, M. A., M. P. Amato, N. De Stefano, C. Enzinger, J. J. Geurts, I.-K. Penner, A. Rovira, J. F. Sumowski, P. Valsasina and M. Filippi (2015). "Clinical and imaging assessment of cognitive dysfunction in multiple sclerosis." The Lancet Neurology **14**(3): 302-317.
 53. Rocca, M. A., M. Battaglini, R. H. Benedict, N. De Stefano, J. J. Geurts, R. G. Henry, M. A. Horsfield, M. Jenkinson, E. Pagani and M. Filippi (2017). "Brain MRI atrophy quantification in MS: From methods to clinical application." Neurology **88**(4): 403-413.
 54. Rocca, M. A., E. De Meo and M. Filippi (2020). Resting-State fMRI in Multiple Sclerosis. fMRI: Basics and Clinical Applications. S. Ulmer and O. Jansen. Cham, Springer International Publishing: 335-353.

55. Rocca, M. A., P. Valsasina, V. M. Leavitt, M. Rodegher, M. Radaelli, G. C. Riccitelli, V. Martinelli, F. Martinelli-Boneschi, A. Falini, G. Comi and M. Filippi (2018). "Functional network connectivity abnormalities in multiple sclerosis: Correlations with disability and cognitive impairment." Mult Scler **24**(4): 459-471.
56. Rocca, M. A., P. Valsasina, V. M. Leavitt, M. Rodegher, M. Radaelli, G. C. Riccitelli, V. Martinelli, F. Martinelli-Boneschi, A. Falini, G. Comi and M. Filippi (2018). "Functional network connectivity abnormalities in multiple sclerosis: Correlations with disability and cognitive impairment." Multiple Sclerosis Journal **24**(4): 459-471.
57. Rocca, M. A., P. Valsasina, V. Martinelli, P. Misci, A. Falini, G. Comi and M. Filippi (2012). "Large-scale neuronal network dysfunction in relapsing-remitting multiple sclerosis." Neurology **79**(14): 1449-1457.
58. Rocca, M. A., P. Valsasina, V. Martinelli, P. Misci, A. Falini, G. Comi and M. Filippi (2012). "Large-scale neuronal network dysfunction in relapsing-remitting multiple sclerosis." Neurology **79**.
59. Roosendaal, S. D., H. E. Hulst, H. Vrenken, H. E. Feenstra, J. A. Castelijns, P. J. Pouwels, F. Barkhof and J. J. Geurts (2010). "Structural and functional hippocampal changes in multiple sclerosis patients with intact memory function." Radiology **255**(2): 595-604.
60. Shirer, W. R., S. Ryali, E. Rykhlevskaia, V. Menon and M. D. Greicius (2012). "Decoding subject-driven cognitive states with whole-brain connectivity patterns." Cereb Cortex **22**(1): 158-165.
61. Song, X. W., Z. Y. Dong, X. Y. Long, S. F. Li, X. N. Zuo, C. Z. Zhu, Y. He, C. G. Yan and Y. F. Zang (2011). "REST: a toolkit for resting-state functional magnetic resonance imaging data processing." PLoS One **6**(9): e25031.
62. Stevenson, V. L., S. M. Smith, P. M. Matthews, D. H. Miller and A. J. Thompson (2002). "Monitoring disease activity and progression in primary progressive multiple sclerosis using MRI: sub-voxel registration to identify lesion changes and to detect cerebral atrophy." J Neurol **249**(2): 171-177.
63. Thompson, A. J., B. L. Banwell, F. Barkhof, W. M. Carroll, T. Coetzee, G. Comi, J. Correale, F. Fazekas, M. Filippi, M. S. Freedman, K. Fujihara, S. L. Galetta, H. P. Hartung, L. Kappos, F. D. Lublin, R. A. Marrie, A. E. Miller, D. H. Miller, X. Montalban, E. M. Mowry, P. S. Sorensen, M. Tintoré, A. L. Traboulsee, M. Trojano, B. M. J. Uitdehaag, S. Vukusic, E. Waubant, B. G. Weinshenker, S. C. Reingold and J. A. Cohen (2018). "Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria." Lancet Neurol **17**(2): 162-173.
64. Tiftikçioğlu, B. (2018). "Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC): Scoring Instructions." Noro Psikiyatry Ars **55**(Suppl 1): S46-s48.
65. Tomassini, V., P. M. Matthews, A. J. Thompson, D. Fuglør, J. J. Geurts, H. Johansen-Berg, D. K. Jones, M. A. Rocca, R. G. Wise, F. Barkhof and J. Palace (2012). "Neuroplasticity and functional recovery in multiple sclerosis." Nat Rev Neurol **8**(11): 635-646.
66. Villain, N., B. Desgranges, F. Viader, V. de la Sayette, F. Mézenge, B. Landeau, J. C. Baron, F. Eustache and G. Chételat (2008). "Relationships between hippocampal atrophy, white matter disruption, and gray matter hypometabolism in Alzheimer's disease." J Neurosci **28**(24): 6174-6181.

67. Whitehead, L. (2009). "The Measurement of Fatigue in Chronic Illness: A Systematic Review of Unidimensional and Multidimensional Fatigue Measures." Journal of Pain and Symptom Management **37**(1): 107-128.
68. Wu, A. W., E. A. Skinner, E. Pfoh and D. M. Steinwachs (2014). Sickness Impact Profile (SIP). Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research. A. C. Michalos. Dordrecht, Springer Netherlands: 5959-5963.
69. Yushkevich, P. A., A. Pashchinskiy, I. Oguz, S. Mohan, J. E. Schmitt, J. M. Stein, D. Zukić, J. Vicory, M. McCormick, N. Yushkevich, N. Schwartz, Y. Gao and G. Gerig (2019). "User-Guided Segmentation of Multi-modality Medical Imaging Datasets with ITK-SNAP." Neuroinformatics **17**(1): 83-102.

7. ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL

Diese Dissertation wurde am Universitätsklinikum Tübingen in der Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt neurovaskuläre Erkrankungen unter Betreuung von Prof. Dr. Ulf Ziemann durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. Ulf Ziemann (Ärztlicher Direktor der Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt neurovaskuläre Erkrankungen, Universitätsklinikum Tübingen) und Dr. Johannes Tünnerhoff (Facharzt für Neurologie, Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt neurovaskuläre Erkrankungen, Universitätsklinikum Tübingen).

Die Studienuntersuchungen wurden im Zeitraum Juli 2014 bis Oktober 2016 von mir und im Zeitraum Oktober 2016 bis September 2019 von Frau Hannah Krämer (Doktorandin), jeweils unter Supervision und Zusammenarbeit mit Dr. Johannes Tünnerhoff, koordiniert und durchgeführt. An den MRT-Untersuchungen waren außerdem Frau Edyta Charyasz-Leks und Dr. Paolo Belardinelli beteiligt.

Die statistische Auswertung wurde in Absprache mit Dr. Johannes Tünnerhoff durchgeführt. Die Berechnung der z-Werte der funktionellen Konnektivität der Ruhenetzwerke erfolgte durch Dr. Johannes Tünnerhoff. Die T1- und T2-Läsionen wurden von mir vollständig manuell segmentiert. Dr. Johannes Tünnerhoff segmentierte unabhängig von mir die T2-Läsionen.

Ich versichere hiermit, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

München, 28.02.2022

Yeho-Irae Kim

8. DANKSAGUNG

Mein ausdrücklicher Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Ulf Ziemann für die vertrauensvolle Überlassung dieses hochinteressanten und anspruchsvollen Themas, das ich stets als faszinierend empfand. Auch war es zweifellos eine einmalige und prägende Lebenserfahrung, ihn als Doktorvater haben zu dürfen. Mein größter Dank richtet sich an meinen Betreuer Dr. Johannes Tünnerhoff für sein unermüdliches Engagement, sein großartiges Durchhaltevermögen und die jahrelange intensive Zusammenarbeit, die stets von gegenseitigem Vertrauen und Verständnis geprägt war. Für die wertvollen Erfahrungen und erworbenen Kenntnisse im Rahmen dieser Dissertation bin ich zutiefst dankbar. Mein ganz besonderer Dank gebührt außerdem den Studienteilnehmenden, denen ich nur das Beste wünsche.

Abschließend danke ich meiner treusorgenden Mutter, die mich liebevoll und fürsorglich trotz widriger Lebensumstände unter größter Selbstaufopferung großgezogen hat. Ich hoffe sehr, dass Du stolz auf Deinen Sohn sein kannst!