Universitätsklinikum Ulm

Klinik für Neurologie

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Albert C. Ludolph

Charakterisierung der sensiblen Nervenbeteiligung bei Amyotropher Lateralsklerose

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Vorgelegt von Anna Calderaro, geboren in München

2020

Amtierender Dekan: Prof. Dr. T. Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. A. C. Ludolph

2. Berichterstatter: PD Dr. F. Zengerling

Tag der Promotion: 21.04.2022

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis III

1. Einleitung 1

1.1 Amyotrophe Lateralsklerose und ihre Subtypen 1

1.2 Extramotorisch betroffene Systeme 1

1.3 Ziele der Arbeit 3

2. Material und Methoden 4

2.1 Studienrahmen und Rekrutierung 4

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien 4

2.3 Aufklärung 4

2.4 Studienkollektiv und Untersuchungsgang 5

2.5 Messmethoden und Geräte 7

2.6 Datenauswertung und statistische Analyse 22

3. Ergebnisse 24

3.1 Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems - Ergebnisse der Biopsie und der klassischen Neurophysiologie 24

3.2 Statistische Zusammenhänge zwischen sensibler Nervenschädigung und klinischer Charakteristika 25

3.3 Ergebnisse mittels QST 34

3.4 Vergleich der QST-Parameter mit Biopsie und klassischer Neurophysiologie 38

4. Diskussion 40

4.1 Ausmaß der Schädigungen im peripheren sensiblen Nervensystem (Hautbiospie und Neurografie) 40

4.2 Zusammenhänge zwischen Auftreten der Schädigung/ Art der Schädigung/ Schweregrad der SFN und klinischen Krankheitscharakteristika 41

4.3 Welche Nervenfasern sind bei einer vorliegenden SFN betroffen? 46

4.4 Diagnosefähigkeit von Small fiber Neuropathien durch die quantitativ sensorische Testung (QST) – Wie zuverlässig ist die QST im Vergleich zur histopathologisch aufgearbeiteten Hautbiopsie? 47
4.5 Limitationen 48
4.6 Schlussfolgerung und Ausblick 49
5. Zusammenfassung 50
6. Literaturverzeichnis 52
Anhang 59
Tabellenverzeichnis 60
Abbildungsverzeichnis 62
Danksagung 64
Lebenslauf 65

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
ALL	Dynamic Mechanical Allodynia
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ALSFRS-R	Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised
C9ORF72	potentielles Ursachengen der ALS
CDT	Cold Detection Threshold
CPT	Cold Pain Threshold
Cz	Markierung im 10-20-System für EEG-Ableitungen
DFNS	Deutscher Forschungsverbund Neuropathischer Schmerz
DGNN	Deutsche Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie
DMA	Dynamic Mechanical Allodynia
DNA	englisch für DNS (Desoxyribonukleinsäure)
DTI	diffusion tensor imaging
EFNS	European Federation of Neurological Societies
EMG	Elektromyografie
ENG	Elektroneurografie
fALS	familiäre Form der ALS
Fpz	Markierung im 10-20-System für EEG-Ableitungen
FTD	Frontotemporale Demenz
FUS	Fused in Sarcoma
FVC	forcierte exspiratorische Vitalkapazität
HE	Hämatoxylin-Eosin
HPT	Heat Pain Threshold
IENF	intraepidermale Nervenfasern

IENFD	intraepidermale Nervenfaserdichte
KI	Konfidenzintervall
m	männlich
MDT	Mechanical Detection Threshold
MPS	Mechanical Pain Sensitivity
MPT	Mechanical Pain Threshold
N/A	not available
NIV	non-invasive ventilation
NLG	Nervenleitgeschwindigkeit
NS	Nervensystem
Pat.	Patient
PBS	phosphate buffered saline
PEG	perkutane endoskopische Gastrostomie
PGP 9.5	Protein Gen Produkt 9.5
PHS	Paradoxical Heat Sensations
PPT	Pressure Pain Threshold
pTDP-43	potentielles Ursachengen der ALS
QST	quantitative sensorische Testung
sALS	sporadische Form der ALS
SEP	somatosensorisch evoziertes Potential
SFN	Small-Fiber-Neuropathie
SNAP	sensibles Nervenaktionspotential
SOD1	potentielles Ursachengen der ALS
stat.	statistisch
TBK1	TANK-binding Kinase, spezielle Protein-Kinase

TDP-43	Transactive response DNA binding protein 43
TSL	Thermal Sensory Limen
UCHL1	Ubiquitin Carboxyl-Terminal Esterase L1
VDT	Vibration Detection Threshold
vs.	versus
w	weiblich
WDT	Warm Detection Threshold
WUR	Wind-Up Ratio

Hinweis zum Gender-Mainstreaming: im Folgenden wird aus Gründen der sprachlichen Vereinfachung meist nur die männliche Form verwendet. Es sind jedoch stets alle Geschlechter gemeint.

1. Einleitung

1.1 Amyotrophe Lateralsklerose und ihre Subtypen

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine nicht heilbare, rasch progrediente, degenerative Erkrankung. Überwiegend ist dabei das motorische Nervensystem betroffen. Jährlich erkranken ca. 1-3 von 100.000 Menschen an der Motoneuronerkrankung. Die Prävalenz liegt bei 3-8 pro 100.000. Männer sind dabei häufiger betroffen als Frauen (1,5:1). Über die Ätiologie und mögliche Risikofaktoren ist bisher nur wenig bekannt. Als gesicherte Risikofaktoren für die Erkrankungen gelten das männliche Geschlecht, eine positive Familienanamnese und ein fortgeschrittenes Alter [21]. Auch oxidativer Stress, der neurodegenerative Prozesse auslösen kann, soll eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der ALS spielen [49,58]. Die meisten Patienten versterben innerhalb von fünf Jahren nach Diagnosestellung auf Grund einer eintretenden respiratorischen Insuffizienz, hervorgerufen durch eine Zwerchfellschwäche [21,25,71].

Bei etwa 95% der Erkrankten handelt es sich um eine sporadische Form (sALS). In 5% der Fälle findet man eine familiäre Form der ALS (fALS) [27]. Die meisten Fälle treten zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr auf [56].

Die Amyotrophe Lateralsklerose ist gekennzeichnet durch den gemeinsamen Untergang des ersten und zweiten Motoneurons. Entsprechend dieser Schädigung zeigen sich als Symptome Paresen und Atrophien der Bulbär-, Extremitäten-, Thorax-, und Abdominalmuskulatur, gesteigerte Reflexe, Muskelfaszikulationen, Krämpfe, seltener auch positive Pyramidenzeichen. Es kann die gesamte Willkürmuskulatur betroffen sein [21,33].

Die Paresen und Atrophien breiten sich kontinuierlich über den gesamten Körper aus. Da im späten Stadium auch die Atemmuskulatur betroffen ist, kommt es in der Terminalphase zu einer respiratorischen Insuffizienz, die in den meisten Fällen der lebenslimitierende Faktor der Erkrankung ist [21].

1.2 Extramotorisch betroffene Systeme

Neben den oben beschriebenen klassischen Symptomen, die das motorische Nervensystem betreffen, wird in rezenter Forschung immer öfter über Symptome der Kognition, Extrapyramidalmotorik oder autonomen und sensiblen Nervensystem berichtet [27,47,69]. Für das autonome und sensible Nervensystem werden oft nur

subklinische Beteiligungen beschrieben [3,27]. Es setzt sich die Ansicht durch, dass die Amyotrophe Lateralsklerose- entgegen der traditionellen Definition- eine Multisystemerkrankung mit motorischer Betonung darstellt [27,29].

Als extramotorische Beteiligungen bei ALS Patienten werden Dysfunktionen des Sympathikus und Parasympathikus an verschiedensten Organen beobachtet [3], beispielsweise durch verminderte Lakrimation [11] oder gastrointestinale Beschwerden [62,66,67]. Kardiovaskulär zeigen sich Blutdruckfluktuationen [60,61].

Hinsichtlich der beobachteten sensiblen Störungen klagen einige Patienten über Hypästhesien, Parästhesien oder neuropathischen Schmerz. Andere nehmen die sensorischen Defizite zwar nicht wahr, zeigen in entsprechenden Untersuchungen jedoch pathologische Ergebnisse.

Post mortem Untersuchungen gaben Hinweise darauf, dass neben den Motoneuronen auch die sensorischen Neuronen zu Grunde gehen, allerdings zeitlich verzögert [2,7,30].

Iglesias et al. wiesen mit Hilfe von somatosensorisch evozierten Potentialen (SEPs) und „diffusion tensor imaging“ (DTI) subklinische Schädigungen des sensorischen Nervensystems nach, die mit der Krankheitsdauer positiv korrelierten [28].

Weitere Studien brachten erhöhte Schmerzschwellenwerte in der quantitativen sensorischen Testung (QST) [68] und fanden eine reduzierte intraepidermale Nervenfaserdichte (IENFD) in entnommenen Hautbiopsien [74]. Diese Ergebnisse lassen auf eine Schädigung des sensorischen Nervensystems im Sinne einer sogenannten „small fiber Neuropathie“ (SFN) schließen.

Studien, die eine genaue Charakterisierung der betroffenen sensiblen Nervenfasern dargelegt haben, existieren meist nur mit partiellen Fragestellungen und ohne Abbildung des gesamten sensiblen Traktes inklusive des Funiculus posterior, der myelinisierten sensiblen Nervenfasern und der nicht myelinisierten C-Fasern. Deshalb soll in dieser Arbeit der Befall des sensiblen Nervensystems bei der ALS untersucht werden. Zur Erfassung des Nervenfaserstatus im sensorischen Nervensystem wurden in dieser Studie sensible Neurografien, sensibel evozierte Potentiale, quantitative sensorische Testungen (QST) und Hautbiospien durchgeführt.

1.3 Ziele der Arbeit

Da über die nicht-motorischen Charakteristika bei der ALS weit weniger bekannt ist als über deren motorischen Ausfallerscheinungen, wurde in Kooperation mit dem pathologischen Referenzlabor von Prof. J. Weis in Aachen eine Charakterisierung der small-fiber Pathologie bei der ALS durchgeführt. Mit der Arbeit sollte die Beteiligung der sensorischen Nervenfasern bei ALS Patienten charakterisiert werden.

Folgende Fragen sind zu klären:

- Ist das sensorische Nervensystem mitbetroffen? Wenn ja, in welchem Ausmaß?
- Gibt es Zusammenhänge zwischen dem Ausmaß der Schädigung und klinischen Charakteristika bzw. der Krankheitsdauer?
- Welche Nervenfasern sind bei einer vorliegenden small fiber Neuropathie betroffen?
- Wie zuverlässig ist die quantitative sensorische Testung (QST) im Vergleich zur histopathologisch aufgearbeiteten Hautbiopsie zur Quantifizierung der kleinen sensiblen Nervenfasern?

2. Material und Methoden

2.1 Studienrahmen und Rekrutierung

Die Charakterisierung der sensiblen Nervenbeteiligung der ALS-Patienten erfolgte durch die Durchführung und Begutachtung von sensiblen Neurografien, sensibel evozierten Potentialen, quantitativ sensorischen Testungen (QST), sowie Hautbiopsien und wurde während eines stationären Aufenthaltes zur diagnostischen Abklärung durchgeführt. Die untersuchten Personen waren Patienten, die die Diagnosekriterien entsprechend der Revised El Escorial Kriterien aus dem Jahr 2010 erfüllten. Mit diesen Kriterien wird die Diagnose ALS in sichere, wahrscheinliche und mögliche ALS unterteilt [9]. In diese Studie wurden alle drei Unterformen eingeschlossen. Die Rekrutierung der Probanden erfolgte in der neurologischen Abteilung der Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm. Die Verarbeitung der Daten erfolgte anonymisiert. Die Datenerhebung fand zwischen März 2013 und März 2016 in den Räumlichkeiten der neurologischen Abteilung der Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm, Oberer Eselsberg 45, 89081 Ulm statt. Die Studie erhielt ein positives Votum der Ethikkommission der Universität Ulm (Nr. 30/14)

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Alle untersuchten Patienten waren zwischen 45 und 80 Jahre alt und erfüllten die Diagnosekriterien entsprechend der Revised El Escorial Kriterien aus dem Jahr 2010 [9]. Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren plasmatische Gerinnungsstörungen, nicht kontrollierte Infektionen, Hautläsionen an den zu untersuchenden Stellen, Vorliegen eines somatisch begründbaren Schmerzsyndroms oder einer bekannten organisch bedingten Polyneuropathie, ein thrombotisches Ereignis innerhalb der letzten sechs Monate, schwere neurologische oder psychiatrische Beeinträchtigung, welche die Fähigkeit zur Abgabe einer gültigen Einverständniserklärung und die Compliance mit der Studie beeinträchtigen könnte, fehlende Bereitschaft zur Speicherung und Weitergabe der persönlichen Krankheitsdaten im Rahmen des Protokolls, sowie Schwangerschaft.

2.3 Aufklärung

Vor Beginn der Datenerhebung wurden die Patienten ausgiebig über Inhalte und Ziele der Studie, sowie über potenzielle Risiken aufgeklärt. Nach dem Gespräch hatte jeder Patient die Möglichkeit noch offene Fragen zu stellen und diese zu

klären. Die Teilnahme an der Studie erfolgte freiwillig und konnte zu jeder Zeit ohne Angabe von Gründen abgebrochen werden. Alle Patienten willigten vor den jeweiligen Untersuchungen schriftlich ein.

2.4 Studienkollektiv und Untersuchungsgang

Insgesamt erklärten sich 51 Patienten bereit an der Studie teilzunehmen, davon waren 23 Frauen und 28 Männer. Manche gaben im Alltag intermittierend bestehende milde sensible Defizite, wie z.B. Hypästhesie oder Parästhesien an. Grundsätzlich zeigte sich hier ein inhomogenes Bild innerhalb des Kollektivs. Auch die intraindividuellen Angaben schwankten teilweise stark, sodass hier allgemein allenfalls von sensiblen Reizphänomenen gesprochen werden kann. Zur Charakterisierung des sensiblen Nervensystems wurde bei den Patienten eine quantitativ sensorische Testung (QST) durchgeführt und eine Hautbiopsie entnommen. Diese beiden Methoden dienten speziell der Analyse der kleinen Aδ- und C- Nervenfasern der Haut (small fibers) hinsichtlich einer small fiber Neuropathie (SFN). Zur Ermittlung der histologischen Diagnose einer SFN in der Hautbiopsie wurden die IENFD der Patienten mit entsprechenden Referenznormwerten verglichen. Die von uns erhobene IENFD im Kollektiv betrug im Mittel 3,96 Nervenfasern/mm.

Des Weiteren wurden sensible Neurografien des N. suralis erstellt. Diese repräsentieren die klassische neurophysiologische Untersuchung, mit der Schädigungen im sensiblen Nervensystem im Sinne der größeren Aβ-Fasern untersucht werden können. Zum Ausschluss einer primär zentralen sensiblen Schädigung führten wir sensibel evozierte Potentiale (SEP) des N. tibialis durch; in einigen Fällen auch SEPs des N. medianus.

Das Untersuchungsergebnis der Hautbiopsie konnte bei 44 der 51 Patienten miteinbezogen werde, da sieben Biopsien histologisch nicht verwertbar waren.

Für die Charakterisierung des Kollektivs allein mittels QST standen 51 Datensätze zur Verfügung. Das mittlere Alter betrug in diesem Kollektiv 65,7 Jahre, wobei der jüngste 45,5 Jahre und der älteste Patient 79,7 Jahre alt war.

Für alle weiteren Analysen und Vergleiche konnten nur die 44 Patienten mit verwertbarer Hautbiopsie miteinbezogen werden. Dieses zu untersuchende Kollektiv bestand aus 20 Frauen (45,5%) und 24 Männern (54,5%). Das Alter der

Patienten erstreckte sich von 45,5 bis 79,7 Jahre, im Mittel betrug es 66 Jahre. Zur genaueren Charakterisierung und der Untersuchung auf mögliche Zusammenhänge der Schädigung im sensiblen Nervensystem mit anderen Merkmalen erfassten wir zusätzlich die Krankheitsdauer in Monaten, die Erstsymptomatik (spinal oder bulbär), sowie das Maß der Funktionsbeeinträchtigung mittels ALSFRS-R (Amyotrophic Lateral Sclerosis Rating Scale Revised). Beim ALSFRS-R handelt es sich um einen Fragekatalog zur Symptomselbstbeschreibung. Die Patienten schätzen sich hinsichtlich bestimmter Fähigkeiten im Alltag subjektiv selbst ein. Grundsätzlich ist eine Bewertung der bulbären Symptome, Fein- und Grobmotorik, sowie der Atmung möglich. Er besteht aus 12 Unterpunkten, jeweils mit 0 bis maximal 4 Punkten (vollständiger Funktionsverlust vs. Funktion vollständig erhalten) bewertbar. Somit sind Werte zwischen 0 und 48 erreichbar [8,17]. Die Krankheitsdauer, die wir als Zeitraum von der Diagnosestellung bis zur Messung innerhalb der Studie definierten, erstreckte sich von null bis hin zu 38 Monaten, im Mittel betrug die Krankheitsdauer 6,6 Monate. Bei 31 der 44 Patienten (70,5%) fand man einen spinalen Beginn, bei 13 Patienten (29,5%) einen bulbären Typ. Der von den Probanden durchschnittliche erreichte Punktewert im ALSFRS-R Fragebogen betrug 35 Punkte (18-48).

Tabelle 1: Beschreibung des ALS-Kollektivs bzgl. Geschlecht und Art des Krankheitsonsets, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. ALS: Amyotrophe Lateralsklerose

Eigenschaften des Kollektivs	Anzahl absolut	Anzahl in %
weiblich	20	45,5
männlich	24	54,5
spinales Onset	31	70,5
bulbäres Onset	13	29,5

Tabelle 2: Beschreibung des ALS-Kollektivs bzgl. Alter, Krankheitsdauer, Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R), intraepidermale Nervenfaserdichte (IENFD), Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. ALS: Amyotrophe Lateralsklerose

Eigenschaften des Kollektivs	Min.	Max.	Durchschnitt	Spannweite
Alter [Jahre]	45,5	79,7	66	34,2
Krankheitsdauer [Monate]	0	38	6,6	38
ALSFRS-R [Punkte]	18	48	35	30
IENFD [Nervenfasern/mm]	0	10,3	3,96	10,3

2.5 Messmethoden und Geräte

2.5.1 Sensibel evozierte Potentiale

Zum Ausschluss einer primär zentralen sensiblen Schädigung wurden von den Patienten kortikal abgeleitete somatosensorisch evozierte Potentiale (SEP) des N. tibialis erstellt; in einigen Fällen wurden SEPs des N. medianus verwendet, insbesondere wenn eine reine Beteiligung der cervikalen Etage vorhanden war oder die Patienten sensible Reizerscheinungen an den Armen angaben. Die SEPs gelten als stabil und sind beispielsweise durch Medikamente oder Veränderungen des Bewusstseinszustandes wenig beeinflussbar [41].

Das somatosensible System lässt sich in ein lemniskales und ein extralemniskales System unterteilen. Mit den SEPs wird das lemniskale System (spezifisches System) untersucht, welches von den Spinalganglienzellen über den Hinterstrang des Rückenmarks und den Hinterstrangkernen Nucleus cuneatus und Nucleus gracilis, zur primären sensiblen Rinde im Gyrus postcentralis ziehen [41,72]

Die Fortleitung des applizierten Reizes erfolgt vorwiegend über dick myelinisierte, schnell leitende Nervenfasern. Je nach Veränderungen in den abgeleiteten SEPs kann auf ein bestimmtes Schädigungsmuster am Nerv geschlossen werden. So kommt es bei Entmarkungserkrankungen in erster Linie zu Leitungsverzögerungen, liegt eine Axonerkrankung vor, so spiegelt sich das v.a. durch eine Amplitudenabnahme des Potentials wider [41].

Zur Ableitung der somatosensorisch evozierten Potentiale benötigt man eine Stimulations- und eine Ableitelektrode. Für die N. tibialis SEPs wurde die Reizelektrode am Sprunggelenk, unterhalb des Malleolus medialis platziert. Da der N. tibialis ein gemischt motorisch- sensibler Nerv ist, wird die Reizstärke so gewählt, dass sie 3-4 mA über der motorischen Reizschwelle liegt. Diese ist als diejenige Stimulationsstärke definiert, bei der erste Muskelkontraktionen im vom entsprechenden Nerv innervierten Muskel sichtbar werden. Beim N. tibialis äußert sich dies in Kontraktionen der Fußsohlenmuskulatur. Man verwendet für die Stimulation 0,1- 0,2 ms andauernde Rechteckimpulse, die mit einer Reizfrequenz von 3-5 Hz appliziert werden (auf diese Weise werden auf beiden Seiten je 512 Durchläufe aufsummiert). Die Positionierung der kortikalen Ableitelektrode orientiert sich am internationalen 10-20-System für EEG-Ableitungen, wo die Ableitelektrode am Skalp median, ca. 2-3 cm occipital der Cz Markierung, und die

Referenzelektrode auf Höhe der Stirnelektrode Fpz frontomedian angebracht wird [41,72].

Für die klinische Diagnostik hat der P40-Gipfel die größte Bedeutung, da er in einem eng umschriebenen Kortexareal, dem primär sensiblen kortikalen Fußfeld an der Medialseite des Gyrus postzentralis, entsteht [41].

Für die Befundung wird die Potentialkurve auf pathologische Veränderungen in der Amplitude, Konfiguration und Latenzzeit untersucht.

Beim Medianus SEP wird analog das sensible Hautareal des N. medianus an der Hand stimuliert und entsprechend am Kopf abgeleitet. Für die Auswertung wird das N20 Potential verwendet [41].

2.5.2 Elektroneurografie

Unter Elektroneurographie versteht man die Aufzeichnung und Auswertung von Aktionspotentialen eines peripheren Nervs [5]. Durch sie lässt sich der Funktionszustand eines einzelnen peripheren Nervs und allgemeine Nervenschädigungen, wie man sie beispielsweise im Rahmen einer Polyneuropathie findet, objektiv prüfen. Dabei ist aber zu beachten, dass sich ein Nerv immer aus einem Spektrum verschiedener Nervenfasertypen zusammensetzt, die sich in ihrem Durchmesser, Dicke der Myelinscheide und somit Leitungsgeschwindigkeit unterscheiden. Grundsätzlich kann man folgende Nervenfasertypen differenzieren. In Klammern ist der jeweilige Durchmesser der Nervenfasern angegeben: Schnell leitende, dick myelinisierte Aα- (12-15 µm) und Aβ- (8-10 µm) Fasern, und dünn- bzw. nicht myelinisierte Aδ- (2-5 µm) und C- (0,5-1 µm) Fasern. Die dünneren Aδ- und C- Fasern entziehen sich dabei der klassischen Neurografie [72]. Findet man also eine Pathologie in der Neurografie, so kann man sagen, dass Aα- und/ oder Aβ- Fasern betroffen sind.

Durch die elektrische Reizung des peripheren Nervs wird im entsprechenden Nerv ein Aktionspotential ausgelöst, dessen Form und Dauer bewertet wird. Überdies wird das Zeitintervall zwischen Reizsetzung und Beginn des Aktionspotentials erfasst (Latenzzeit). In Zusammenschau mit der Distanz zwischen Reiz- und Ableitpunkt kann man mit ihr die Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) berechnen (Distanz/ Zeit = Geschwindigkeit). Eine Amplitudenminderung gibt Hinweis auf

Schäden am Axon (axonale Denervierungsprozesse), eine Reduktion der Nervenleitgeschwindigkeit spricht für einen Demyelinisierungsprozess [64,72].

Für Reiz- und Ableitungselektrode werden routinemäßig bipolare Oberflächenelektroden verwendet. Während der Untersuchung ist eine Hauttemperatur zwischen 34 und 36°C nötig, da die Nervenleitgeschwindigkeit temperaturabhängig ist [65].

Grundsätzlich lassen sich mittels der Elektroneurographie sowohl motorische als auch sensorische Nerven analysieren. In dieser Studie wurde an den Patienten eine sensible Neurographie des N. suralis durchgeführt, um den Funktionszustand des sensorischen Nervensystems im Bereich des Fußes, begutachten zu können.

2.5.3 Das QST Protokoll

2.5.3.1 Die Quantitative Sensorische Testung (QST) – eine kurze Einführung

Die Quantitative sensorische Testung (QST) ist ein psychophysisches, subjektives, nicht invasives Messverfahren, mit dem Reaktionen auf schmerzhafte und schmerzlose Reize quantitativ erfasst werden können. Sie stellt eine Erweiterung der klassischen klinisch- neurologischen Untersuchung des somatosensorischen Systems dar. Mittels kalibrierter Reize werden Reizschwellenwerte für verschiedene somatosensorische kutane Sinneseindrücke wie Berührungen, Vibration, mechanischen Schmerz und thermische Stimuli bestimmt [54]. So ist eine detaillierte Funktionsuntersuchung aller sensiblen Nervenfasertypen und deren Projektion über entsprechende zentrale Bahnen ins Gehirn möglich [52]. Eine standardisierte QST Testbatterie besteht aus sieben validen thermischen und mechanischen Kurztests. Die QST kann im Vergleich zu den konventionellen elektrophysiologischen Messverfahren (SEP und Neurographie) neben sensiblen Minuszeichen (z.B. Hypoalgesie, Hypästhesie), auch sensible Pluszeichen (z.B. Allodynie, Hyperalgesie) bezüglich aller relevanten somatosensorischen Submodalitäten feststellen. Des Weiteren kann mittels der QST nicht nur der Funktionszustand der großen dick myelinisierten large fibers (Aβ-Nervenfasern), sondern auch die Funktion der sensiblen small fibers (kleinen, dünn- bzw. nicht-myelinisierten Aδ- und C-Nervenfasern) untersucht werden, was mittels der konventionellen Messmethoden nicht möglich ist [55].

Die Testreihe beinhaltet folgende, nach Submodalitäten des somatosensorischen Systems gruppierte Untertests und die dadurch jeweils abgebildeten Nervenfasermodalitäten [55]:

Tabelle 3: Auflistung der messbaren Parameter der quantitativ sensorischen Testung (QST) und dem damit entsprechenden, erfassten neurologischen Korrelat nach Rolke et al., 2006a und 2012 [57,59] sowie „Physiologie“ Hans-Christian Pape [54]

Testparameter	**entsprechende Abkürzung**	**erfasste Nervenfaserqualität/ neurologisches Korrelat**
Detektionsschwelle für Kälte	CDT	Aδ
Detektionsschwelle für Wärme	WDT	C
Kälte-/ Hitzeschmerzschwelle	CPT, HPT	Aδ, C
thermische Unterschiedsschwellen	TSL	Aδ, C
paradoxe Hitzeempfindungen	PHS	Aδ, C
mechanische Detektionsschwelle	MDT	Aβ
mechanische Schmerzschwelle	MPT	Aδ
mechanische Schmerzsensitivität	MPS	Aδ
dynamische mechanische Allodynie	ALL/ DMA (Allodynie)	Aβ
temporäre Schmerzsummation („wind-up“-Phänomen)	WUR	zentrale Sensibilisierung/ Disinhibition
Vibrations(detektions)schwelle	VDT	Aβ
Druckschmerzschwelle	PPT	dumpfer Tiefenschmerz/ Tiefensensibilität (C, Aδ)

Es existieren von der DFNS veröffentlichte alters- und geschlechtsspezifische Datensets mit Referenzwerten für verschiedene Körperregionen (Gesicht, Thorax, Rücken, Hand, Fuß) von gesunden Freiwilligen [54].

Die Standardisierung des Testprotokolls wird durch genaue Instruktionen an die Versuchspersonen, vorgegebene Reihenfolge der Einzeltests und geeichte Testinstrumente für thermische und mechanische Testdurchgänge, gewährleistet. Der Untersucher muss zudem trainiert sein [44].

2.5.3.2 Einsatz psychophysischer Testmethoden

Zur Quantifizierung der verschiedenen Schwellenwerte stehen zwei psychophysische Testmethoden zur Verfügung: die „Limits-“ und die „Levels-Methode“.

Die „Limits-Methode“ ist ein sensorisches Testverfahren, bei dem die Reizintensität so lange gesteigert wird, bis der Proband den Reiz zum ersten Mal wahrnimmt. Die Parameter in der Thermotestung (CDT, WDT, CPT, HPT) werden auf diese Weise erhoben. Da der Patient nach Erreichen des Schwellenwerts noch Rückmeldung geben muss, ist diese Messmethode abhängig von der Reaktionszeit des Probanden. Die „Limits-Methode“ hat daher den Nachteil, dass der eigentliche Schwellenwert überschätzt wird. Ein Vorteil ist jedoch die gering benötigte Zeit zur Erfassung der Werte.

Bei der „Levels-Methode“ werden in mehreren Durchgängen Reize ober- bzw. unterhalb des jeweiligen Schwellenwertes appliziert. Sie wird bei der Erfassung der Parameter MDT und MPT angewandt. Der Proband wird nach jeder einzelnen Reizung gefragt, ob er den zuletzt aufgebrachten Reiz wahrgenommen hat oder nicht (MDT) bzw. ob er diesen als spitz/ leicht stechend (MPT) empfunden hat. Der Schwellenwert wird dabei als die Reizintensität definiert, bei der 50% der Reize (als spitz) detektiert werden. Diese sehr genaue Methode hat den Nachteil, dass sie sehr zeitaufwändig ist. Auch kann es durch die relativ große Anzahl an applizierten Reizen zur Entwicklung von Sensibilisierungsphänomenen kommen [44,52].

2.5.3.3 Vorbereitungen für die Quantitative Sensorische Testung - Bedingungen für Patienten

Die einzelnen Tests des QST Protokolls wurden in der festgesetzten Reihenfolge, wie in Punkt 2.5.3.1 aufgelistet, durchgeführt. Während der Prozedur hatten die Testpersonen ihre Augen geschlossen oder fixierten einen Punkt im Raum. Während der thermischen Testung war es ihnen nicht möglich, den Computerbildschirm des Untersuchers zu betrachten.

2.5.3.4 QST Einzeltests

Mit Hilfe der thermischen Testdurchgänge (CDT, WDT, CPT, HPT, TSL, PHS) und der mechanischen Testung, bei der die Patienten stumpfem Druck (PPT) und dünnen Nadelreizen (MPT, MPS) ausgesetzt werden (mechanisch evozierte

Schmerzen), wird die Funktion der peripheren kleinen, dünn- bzw. nicht-myelinisierten Aδ- und C-Nervenfasern (small fibers) und deren zentrale Weiterleitung über den Tractus spinothalamicus untersucht. In den mechanischen Testdurchgängen zu leichten Berührungsreizen (DMA, MDT) und Vibrationswahrnehmung (VDT), wird die Funktion der großen dick myelinisierten Aβ-Nervenfasern (large fibers) und deren zentrale Weiterleitung über das Hinterstrangsystem geprüft.

Thermische Testung (CDT, WDT, CPT, HPT, TSL) und paradoxe Hitzeempfindungen (PHS)

Das QST Protokoll beginnt mit der Testung von Detektions- und Schmerzschwellen für Kälte (CDT und CPT) und Wärme (WDT und HPT), thermische Unterschiedsschwelle/ thermisch-somatosensorischer Limen (TSL) und Anzahl an paradoxen Hitzeempfindungen (PHS). Sämtliche dieser Tests, bei denen thermische Reize appliziert werden, werden mit Hilfe des computergesteuerten Thermotesters TSA 2001-II (MEDOC, Israel) durchgeführt [20,76]. Dieses Gerät besitzt eine Thermode mit Peltier-Element und Kühlwasserversorgung, welche auf die Haut des Patienten (linker Fußrücken) aufgelegt wird [44]. Es kann die Temperatur, ausgehend von einer Basistemperatur von 32°C, mit einer Geschwindigkeit von 1°C/s verändern. Dieser Vorgang kann durch Tastendruck einer Computermaus gestoppt werden. Um Irritationen der Haut zu vermeiden, beendet das Gerät die Temperaturveränderung automatisch beim Erreichen der Maximal- bzw. Minimalwerte von 50°C bzw. 0°C. Die Kontaktfläche beträgt 9,0 cm^2 [44]. Die Parameter werden nach der Limits-Methode wie folgt erhoben: Bei CDT und WDT wird die Temperatur ausgehend von einer Basistemperatur von 32°C, mit einer Geschwindigkeit von 1°C/s so lange gesenkt bzw. gesteigert, bis der Patient zum ersten Mal den Reiz als kalt bzw. warm wahrnimmt. Sobald dies der Fall ist, muss er die Taste eines Stoppschalters (Computermaus), die mit dem Thermotester verbunden ist, betätigen. Daraufhin wird die Temperaturveränderung gestoppt, und der Schwellenwert kann abgelesen werden. Dieser Vorgang wird je dreimal durchgeführt. Es folgt die Bestimmung der thermischen Unterschiedsschwellen (TSL), bei der eine Reihe von sechs alternierenden Kalt- und Warmreizen appliziert wird. Der Patient muss nach jeder wahrgenommenen Temperaturänderung die Stopptaste betätigen und dem Versuchsleiter berichten, ob er die Veränderung als

wärmer oder kälter im Vergleich zu der zuletzt gespürten Temperatur, empfunden hat. Während dieser Messung werden auch evtl. auftretende paradoxe Hitzeempfindungen (PHS) registriert. Unter einer paradoxen Hitzeempfindung versteht man den Fall, dass ein Kältereiz fälschlicher Weise als warm empfunden wird [6,54,55].

Als letzter Teil der thermischen Testung werden die Schmerzschwellen für Kälte und Wärme (CPT, HPT) erfasst. Analog zu den Parametern CDT und WDT, wird auch hier die Temperatur mit einer Geschwindigkeit von 1°C/ s so lange herabgesetzt bzw. gesteigert, bis der Patient den Reiz diesmal als „brennend, stechend oder schmerzhaft“ wahrnimmt. Auch hier werden je drei Temperaturwerte erfasst.

Zur Ermittlung der Schwellenwerte wird aus den drei Temperaturwerten pro Parameter ein Mittelwert errechnet. Die paradoxen Hitzeempfindungen werden gezählt, wobei Werte von null bis drei möglich sind [6,54,55].

Mechanische Detektionsschwelle – MDT

Die mechanische Detektionsschwelle (MDT) wird mit Hilfe eines Sets, bestehend aus 12 standardisierten von Frey Haaren (OptiHair$_2$-Set, Marstock Nervtest, Deutschland), welche für 1-2 Sekunden mit der Hautoberfläche in Kontakt gebracht werden, erfasst. Sie bestehen aus Glasfaserfilamenten unterschiedlicher Längen und Stärken mit denen jeweils unterschiedlich hohe Kräfte appliziert werden können (0,25/ 0,5/ 1/ 2/ 4/ 8/ 16/ 32/ 64/ 128/ 256/ 512 mN) [18,19,73]. Um scharfe Ränder zu vermeiden, die ungewollt Nozizeptoren aktivieren könnten, besitzen die Filamente abgerundete Enden mit einer Kontaktfläche von ca. 0,5 mm Durchmesser. Die Härchen werden in fünf Durchgängen immer auf die gleiche Art und Weise auf die Haut aufgesetzt, bis sie sich s-förmig verbiegen. Dabei findet die Levels-Methode Anwendung: Die Stärke der Filamente wird in auf- bzw. absteigender Reihenfolge so lange verändert, bis der Patient den Reiz wahrnimmt, bzw. gerade nicht mehr spürt. Die MDT entspricht dem Mittelwert aus fünf Wiederholungen [44,45].

Mechanische Schmerzschwelle – MPT

Für die Erfassung der mechanischen Schmerzschwelle wird ein Set aus sieben standardisierten Nadelreizstimulatoren (Pinprick, MRC Systems GmbH, Deutschland) verwendet [44], die sich in ihrer Masse unterscheiden. Dadurch können Reizintensitäten von 8, 16, 32, 64, 128, 256 und 512 mN über eine flache Kontaktfläche von 0,2 mm Durchmesser auf die Haut gebracht werden. Die Kontaktzeit soll dabei ca. zwei Sekunden betragen. Es ist darauf zu achten, dass die Nadelreizgeräte (pinpricks) immer auf die gleiche Art, möglichst rechtwinklig auf die Patientenhaut aufgebracht werden. Wie bei der MDT, wird auch hier der Schwellenwert mittels der Levels-Methode erhoben. Der Patient wird nach jeder Reizung gebeten, diese als „spitz“ oder „stumpf“ zu beurteilen. Der Versuchsleiter appliziert den ersten pinprick der Intensität 8 mN auf die Hautoberfläche des Patienten und steigert die Intensität so lange, bis der Patient angibt, den Reiz zum ersten Mal als „spitz“ wahrgenommen zu haben. Danach wird die Intensität in absteigender Reihenfolge gesenkt, bis ein Stimulus als „stumpf“ empfunden wird. Dieses Prozedere wird viermal wiederholt, sodass man am Ende fünf dieser Wertepaare an gerade über- und unterschwelligen Reizstärken erhält. Aus diesen wird der Mittelwert errechnet, welcher der mechanischen Schmerzschwelle entspricht [6,54,55].

Reiz-Antwort-Funktion – MPS, DMA

Um die mechanische Schmerzsensitivität (MPS) zu bewerten, wird das bereits in der MPT-Messung erwähnte Set aus sieben Nadelreizstimulatoren (pinpricks) verwendet. Zur Erfassung der Reiz-Antwort-Funktion nach Nadelreizen, werden die sieben pinpricks unterschiedlicher Intensität in einer pseudorandomisierten Reihenfolge je fünf Mal auf die Haut des Patienten appliziert. Nach jeder Reizung wird dieser gebeten eine Wertung anhand einer numerischen Schmerzskala zu geben. Diese Skala reicht von 0 bis 100, wobei 0 für „kein Schmerz“ und 100 für „maximal vorstellbarer Schmerz“ steht. Neben der MPS wird in diesem Testdurchgang auch nach einer eventuell auftretenden dynamischen mechanischen Allodynie (DMA) gesucht. Unter Allodynie versteht man eine gesteigerte Schmerzempfindlichkeit. Selbst Berührungsreize leichter Intensität werden von den Patienten als schmerzhaft wahrgenommen. Dazu werden drei Geräte verwendet, mit denen es möglich ist primär nicht schmerzhafte, leichte

Berührungen unterschiedlicher Intensität auf die Patientenhaut aufzubringen: Wattebausch (3 mN), Wattestäbchen, befestigt an einem elastischen Stab (~100 mN) und standardisierter Pinsel (Somedic, Schweden) (~200-400 mN) [4,35]. Sie werden jeweils für 1-2 Sekunden auf einer Länge von ca. 2 cm über die Haut gestrichen. Die leichten Berührungsreize werden in einer balancierten Reihenfolge, in die Reizserien der pinpricks eingestreut. Der Patient hat so 50 Stimuli (35 Mal pinpricks, 15 Mal leichte Berührungsreize) mittels der numerischen Schmerzskala einzeln zu bewerten. Zwischen den Reizen soll ein ca. zehn Sekunden langes Interstimulusintervall eingehalten werden, um ein mögliches wind-up-Phänomen zu vermeiden. Die mechanische Schmerzsensitivität wird als Mittelwert der numerischen Bewertungen bezüglich der pinpricks, die mechanische dynamische Allodynie als Mittelwert der Einzelwerte für die leichten Berührungsreize, ermittelt [6,44,45,54,55].

Wind-up-Phänomen – WUR

In diesem Testteil wird die Schmerzintensität einer einzelnen Reizung durch den 256 mN pinprick mit einer Serie von zehn Wiederholungen mit demselben Stimulator verglichen. Die Reizserie wird dabei mit einer Frequenz von 1/s (1 Hz) innerhalb eines Areals von 1 cm^2 auf verschiedene Hautareale des Fußrückens aufgebracht. Dieses Vorgehen wird fünfmal wiederholt. Der Patient muss dabei für jeden Einzelreiz und im Anschluss für die Reizserie eine Wertung auf der numerischen Schmerzskala von 0 bis 100 (s.o.) abgeben. Die Wind-up-ratio (WUR) berechnet sich aus dem Mittelwert der Reizserie dividiert durch den Mittelwert der Einzelreize [45,54].

$$WUR = \frac{Mittelwert_{Reizserie}}{Mittelwert_{Einzelreize}}$$

Das „wind-up“ bezeichnet ein Phänomen zeitlicher Summation im Rückenmark, das spezifisch bei Wide-dynamic-Neuronen auftritt, wenn deren C-Faser-Eingänge >1 Mal innerhalb drei Sekunden gereizt werden [45]. Es kommt zu einer frequenzabhängigen Steigerung der Erregbarkeit von Spinalnerven, die nach ca. fünf Stimuli ein Plateau erreicht [26].

Vibrations(detektions)schwelle – VDT

Die Vibrationsschwelle wird mittels einer Ryder-Seiffer-Stimmgabel (64 Hz, 8/8 Skala) bestimmt. Das Instrument wird zum Schwingen gebracht und auf das Testareal- in dieser Studie der Malleolus medialis- des Patienten aufgesetzt. Dieser spürt nun die Vibration. Sobald er diese nicht mehr wahrnimmt, muss er dem Untersucher ein Zeichen geben, worauf hin dieser den entsprechenden Wert auf der 8/8 Skala ablesen kann. Nach dreimaliger Wiederholung wird der Mittelwert berechnet [14,24,54,57].

Druckschmerzschwelle - PPT

Der letzte Test im QST Protokoll wird mit Hilfe eines Druckalgometers (FDN200, Wagner Instrument, USA) durchgeführt. Es besitzt eine stumpfe, mit Gummi überzogene, kreisrunde Kontaktfläche von 1 cm^2, über die Druck bis zu einer Stärke von 20 kg/cm^2 (entspricht ca. 2000 kPa) aufgebracht werden kann [15,32,34,53]. Nachdem das Gerät über dem Musculus abductor hallucis aufgesetzt wurde, wird die Druckstärke mit einer Geschwindigkeit von 50 kPa/s (~0,5 kg/cm^2s) stufenweise so lange gesteigert, bis der Patient das Druckgefühl zum ersten Mal als schmerzhaft wahrnimmt. Nach drei Wiederholungen wird auch hier ein Mittelwert berechnet [45,55].

Statistische Transformationen

Da die meisten QST Paramater mathematisch eine schiefe Verteilung zeigen, wurden diese – mit Ausnahme von PHS, CPT, HPT und VDT- vor der statistischen Verarbeitung logarithmisch transformiert, sodass eine Standardnormalverteilung entsteht. Um die gemessenen Daten mit den Kontrollwerten vergleichen und ein Sensibilitätsprofil erstellen zu können, wurden die Patientendaten - für jeden einzelnen Parameter – danach folgender Maßen z-transformiert [55]:

$$Z - score = \frac{(X_{Einzelpatient} - Mittelwert_{Kontrollgruppe})}{Standardabweichung_{Kontrollgruppe}}$$

Durch diese Transformation ist es einfacher die Daten eines einzelnen Patienten mit der Kontrollgruppe zu vergleichen, da das 95% Konfidenzintervall einer Standardnormalverteilung wie folgt definiert ist:

$$95\%\ KI = Mittelwert_{Kontrollgruppe} \pm 1{,}96\ Standardabweichungen_{Kontrollgruppe}$$

Zur Vereinfachung gilt: Liegt der erhobene Z-Wert außerhalb ± 2 Standardabweichungen, so ist er als pathologisch anzusehen.

Für das erstellte Sensibilitätsprofil gilt: Z-Werte >0 signalisieren einen Funktionsgewinn, der Patient ist also im Vergleich zur Kontrollgruppe sensibler bezüglich des getesteten Reizes. Z-Werte <0 hingegen repräsentieren einen Funktionsverlust, der Patient ist weniger sensibel als die Kontrollgruppe.

Eine Erhöhung der Schwellenwerte (CDT, WDT, TSL, HPT, CPT, MDT, MPT, VDT, PPT) resultiert somit in einem negativen Z-Wert, wohingegen hohe numerische Wertungen in MPS, ALL und WUR einem positiven Z-Wert entsprechen. Paradoxe Hitzeempfindungen (PHS) werden als Verlust der thermodiskriminativen Funktion interpretiert, was sich als negativer Z-Wert widerspiegelt [54,55].

2.5.4 Hautbiopsie

Die Entnahme einer Hautbiopsie und anschließende immunhistochemische Anfärbung mit dem neuronenspezifischen anti-PGP 9.5-Antikörper gilt als standardisiertes und valides diagnostisches Vorgehen für die Analyse des intraepidermalen Nervenfaserstatus. Nach der Färbung ist mittels der von Ebenezer et al. veröffentlichten Zähltechniken und Abgleich mit erhobenen Normwerten eine genaue Beschreibung des Innervationsstatus und somit die Diagnosestellung Small-Fiber-Neuropathie möglich [13]. Mit entsprechenden alters- und geschlechtsspezifischen Normdaten gesunder Probanden ist eine neuropathologische Bewertung des Biopsiematerials möglich. [37].

Die entnommenen Hautbiopsien wurden vom Institut für Neuropathologie, unter der Leitung von Prof. Weis, Pauwelsstraße 30, in 52074 Aachen untersucht, welches als Referenzzentrum für neuromuskuläre Krankheiten bei der Deutschen Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie (DGNN), auf die Diagnostik von Krankheiten des Nervensystems und der Skelettmuskulatur spezialisiert ist.

Beim angewandten Biopsieverfahren handelt es sich um eine minimalinvasive, sichere Methode, bei der es laut aktueller Literatur nur selten zu unerwünschten Nebenwirkungen kommt. Die häufigste berichtete Nebenwirkung ist dabei eine leichte Infektion der Wunde aufgrund unsachgemäßer Wundbehandlung, welche aber durch eine topische Antibiose gut behandelbar ist. Die geschätzte Häufigkeit, mit der solche Nebenwirkungen auftreten liegt bei 1,9:1000 [37].

Jeder Patient wurde vor dem Eingriff ausführlich über theoretisch mögliche Komplikationen, wie evtl. auftretende Blutungen, verzögerte Wundheilung oder Infektion der Wunde, aufgeklärt. Eine schriftliche Einwilligung des Patienten wurde eingeholt [63].

2.5.4.1 Entnahme

Die Biopsie wurde nach einer Lidocain Lokalanästhesie unter sterilen Bedingungen mittels einer 4 mm Einmalstanze am distalen lateralen Unterschenkel, ca. 10 cm proximal des Malleolus lateralis des linken Beines, im Innervationsgebiet des N. suralis, entnommen [37]. Bei einer Patientin wurde aufgrund einer bekannten iatrogenen Nervenschädigung auf der linken Seite bei Z.n. früherer Biopsie die Hautbiopsie sowie alle weiteren Untersuchungen rechts durchgeführt. Das Biopsat enthält im Idealfall sowohl Epidermis-, als auch Dermisanteile (oberflächliches Korium mit Hautanhangsgebilden). Nach der Biopsie ist keine Naht nötig, es wird eine Wundrandadaptation mittels Steristrips durchgeführt. Nach einer Wundheilungsdauer von 7-10 Tagen verbleibt nur eine kleine Narbe [37].

Nach Entnahme des Gewebes wurde dieses sofort in gekühlter (4°C) Zamboni-Lösung fixiert [37] und in einer bruchsicheren Verpackung an das Institut für Neuropathologie in Aachen, welches die mikroskopische Beurteilung durchführte, verschickt.

2.5.4.2 Das Präparat für die mikroskopische Untersuchung

Aus jeder Hautbiopsie werden drei Präparate mit verschiedenen histochemischen Färbetechniken hergestellt. Eine Hämatoxylin-Eosin (HE)- und eine Thioflavine S-Amyloid-Färbung (Schnittdicke je 7µm), sowie eine indirekte Immunfluoreszenz-Färbung mit Antikörpern gegen den Neuropeptid-Marker PGP 9.5 (Schnittdicke 40µm). Anhand der HE-Färbung können grobe Pathologien, wie z.B. Entzündungen erkannt werden. Mittels der Thioflavine S-Amyloid-Färbung kann eine evtl. vorliegende Amyloidose sichtbar gemacht werden.

Für die Beurteilung der IENF Dichte und etwaige Pathologien wird die PGP 9.5-Färbung verwendet. Das Protein Gen Produkt 9.5 ist ein nicht spezifischer, panaxonaler, zytoplasmatischer Marker, der üblicher Weise für Untersuchungen von kleinkalibrigen Nervenfasern in Hautbiopsien verwendet wird. Die Anti-PGP 9.5-Antikörper zielen auf die Ubiquitin Carboxyl-Terminal Esterase L1 (UCHL1), eine

Form der Ubiquitin Carboxyl-Terminal Hydrolase. Dies ist ein neuronenspezifisches Enzym [13,63].

2.5.4.3 Herstellung des PGP 9.5-Präparats

Für die PGP 9.5- Präparate werden mittels Gefrier-Mikrotoms dünne Schichten von 40 µm Dicke aus dem Biopsat geschnitten. Es werden immer drei dieser 40 µm-Schnitte auf einen Objektträger gebracht, sodass am Ende zwei Objektträger mit insgesamt sechs Schnitten zur weiteren Verarbeitung zur Verfügung stehen.

Bei der Herstellung des PGP 9.5-Präparats wendet man das Prinzip der sekundären Immunfluoreszenz an. Dies bedeutet, dass das Gewebe im ersten Schritt mit einem spezifischen Primärantikörper, der gegen das neuronenspezifische PGP 9.5 Protein gerichtet ist, inkubiert wird. Im Anschluss wird ein passender Sekundärantikörper, der an den Primärantikörper bindet, hinzugegeben. Der Sekundärantikörper ist mit einem Enzym gekoppelt, das nach einer Enzym-Substrat-Reaktion für die Farbentstehung verantwortlich ist. Diese ist später unter dem Fluoreszenzmikroskop als Leuchten zu sehen [1,31]

2.5.4.4 Mikroskopie

2.5.4.4.1 Analyse der IENF und IENF-Dichte

Die intraepidermalen Nervenfasern (IENF) werden in allen sechs Schnitten unter 20- bis 40-facher Vergrößerung gezählt. Dabei wird getreu einer speziellen, veröffentlichten Zähltechnik, die auch von der EFNS [37] empfohlen wird, vorgegangen [13,31,36].

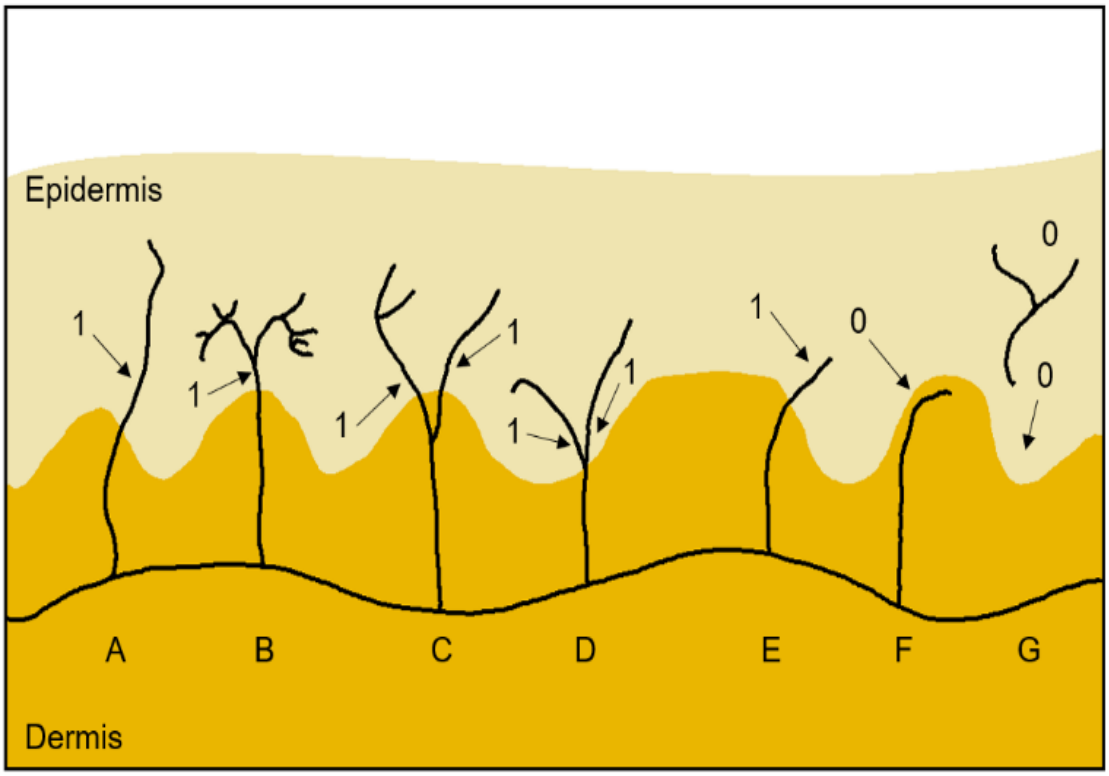

Abbildung 1: Zähltechnik zur Quantifizierung der intraepidermalen Nervenfasern (IENF) (Grafik nach [13,36]); Nerven schwarz, Dermis orange, Epidermis beige, am Übergang die Basalmembran

Bei dieser Technik werden nur solche Nervenfasern gezählt, die sich von der Dermis bis zur Epidermis erstrecken, in ihrem Verlauf also die epidermale Basalmembran kreuzen (vgl. Abbildung 1: A). Nervenfasern, die sich erst nach dem Durchdringen der Basalmembran verzweigen, werden als eine Nervenfaser gezählt (B). Kommt es jedoch unterhalb der Basalmembran zur Aufzweigung der Nervenfaser, so werden die Verzweigungen jeweils als einzelne Nervenfaser gezählt (C). Gleiches gilt für Nervenfasern, die sich genau auf Höhe der Basalmembran verzweigen (D). Auch Nervenfragmente werden, solange sie die Basalmembran durchqueren, mitgezählt (E). Nervenfragmente, die die Basalmembran zwar erreichen, diese aber nicht durchbrechen (F) und Nervenfragmente, die nur in der Epidermis zu finden sind, ohne die Basalmembran zu durchqueren werden nicht mitgezählt (G) [13,36].

Im Anschluss an die Quantifizierung der IENF wird die Länge der epidermalen Oberfläche im untersuchten Präparat bestimmt. Diese wird entweder vom Untersucher mit Hilfe eines im Okular befindlichen Lineals gemessen oder mittels einer speziellen Software. Die lineare epidermale Innervationsdichte (IENFD) ergibt

sich dann aus dem Verhältnis der gezählten IENF zur Länge der untersuchten Epidermisstrecke (IENF/ mm) [37].

Das Institut für Neuropathologie in Aachen verwendet die von Lauria et al. erhobenen Daten als Referenzwerte [39]. In dieser weltweiten Multicenterstudie wurden an acht Laboratorien die IENFD Werte von 550 Personen, 285 Frauen und 265 Männern, bestimmt. Befindet sich der gemessene Dichte Wert der IENF unter der 5. Perzentile, so gilt dieser als pathologisch und die Diagnose einer Small -Fiber-Neuropathie kann gestellt werden [39].

Tabelle 4: Geschlechts- und altersspezifische Normwerte für die intraepidermale Nervenfaserdichte (IENFD) in der Einheit Nervenfasern/ mm [46]

	Frauen		Männer	
Alter (Jahre)	**Median der IENFD Normwerte**	**5. Perzentil der IENFD Normwerte**	**Median der IENFD Normwerte**	**5. Perzentil der IENFD Normwerte**
20-29	13,5	8,4	10,9	6,1
30-39	12,4	7,1	10,3	5,2
40-49	11,2	5,7	9,6	4,4
50-59	9,8	4,3	8,9	3,5
60-69	8,7	3,2	8,3	2,8
70-79	7,6	2,2	7,7	2,1
≥80	6,7	1,6	7,2	1,7

2.5.4.4.2 Weitere Parameter

Neben der IENFD wurden die Biopsien auch auf weitere Pathologien und morphologische Veränderungen hin untersucht. So zum Beispiel die Innervation der Schweißdrüsen oder des subepidermalen Plexus. Ein besonderes Augenmerk wurde hier auf fokale Schwellungen in den intraepidermalen Axonen gelegt. Solche Schwellungen werden als Auftreibungen mit einem Durchmesser >1,5 µm definiert. Diese wurden in der Vergangenheit sowohl bei ALS Patienten, als auch bei Patienten mit Small-Fiber-Neuropathie (anderer Ätiologie) vermehrt gefunden. Sie ähneln in ihrem Aussehen den Sphäroiden in Motorneuronen, welche zu den histopathologischen Kennzeichen der ALS zählen [10,23,74,75]. Man geht davon aus, dass sie frühe axonale Degeneration repräsentieren [13], und wahrscheinlich Folge des selben neurodegenerativen Prozesses sind, welcher auch in den Motorneuronen von ALS Patienten zu finden ist [74]. Die Hypothese, dass diese axonalen Schwellungen ein Frühzeichen später folgender IENF Axonopathie/ IENF Degeneration darstellen, wurde auch durch Ergebnisse entsprechender

Folgestudien verifiziert. So wurden bei Patienten mit Neuropathie in einer ersten Untersuchung bei IENFD im Normbereich, vermehrt axonale Schwellungen gefunden. In einer späteren zweiten Untersuchung zeigten diese Patienten einen Rückgang der Schwellungen- wobei die Anzahl immer noch höher war als in gesunden Kontrollen- die in linearer Beziehung zur Minderung der IENFD standen [22,38]. Wurde in einer Hautbiopsie also noch eine normwertige IENFD, aber erhöhte Anzahlen von axonalen Schwellungen gefunden, so wurde dies als Frühzeichen einer Small-Fiber-Neuropathie gewertet.

2.6 Datenauswertung und statistische Analyse

Die statistische Auswertung wurde mittels SPSS-Software (Version 21 und 26, IBM) durchgeführt. Die einzelnen Untersuchungen hinsichtlich Zusammenhänge bzw. Korrelationen zwischen den verschiedenen Variablen, wurden mit Hilfe folgender Tests durchgeführt: Chi-Quadrat-Test, exakter Test von Fisher, Mann-Whitney-U-Test, sowie Kruskal-Wallis-Test. Statistische Signifikanz wurde bei p-Werten $< 0,05$ angenommen. Der anschließende Vergleich zwischen dem QST-Messverfahren und der Hautbiopsie (Goldstandard) hinsichtlich der Detektionsstärke bzgl. der Diagnose SFN, fand mit Hilfe eines statistischen Methodenvergleichs, bestehend aus Sensitivität, Spezifität und den dazugehörigen 95%-Konfidenzintervallen, statt. Der Chi-Quadrat-Test vergleicht erwartete und beobachtete Häufigkeiten zweier kategorialer (nominal oder ordinal) Variablen. Er beantwortet also die Frage, ob beobachtete Häufigkeiten sich statistisch signifikant von den erwarteten unterscheiden. Dazu verwendet man Kreuztabellen, Erwartungswerte und tatsächlich beobachtete Werte. So wird die asymptomatische Signifikanz p errechnet. Im Falle $p<0,05$ wird die Nullhypothese, welche besagt es gebe keine Unterschiede zwischen erwarteten und beobachteten Häufigkeiten, verworfen. Folglich bedeutet ein $p>0,05$, dass es zwischen den erwarteten und beobachteten Häufigkeiten keine statistisch signifikanten Unterschiede gibt.

Im Falle, dass im untersuchten Beispiel mindestens ein Erwartungswert <5 ist, muss anstelle des Chi-Quadrat-Tests auf den exakten Test von Fisher und die exakte Signifikanz zurückgegriffen werden. Gleiches gilt grundsätzlich für untersuchte Gruppen mit Fallzahlen <20.

Der Mann-Whitney-U-Test vergleicht zwei unabhängige Stichproben anhand der Ränge der abhängigen Variablen auf signifikante Unterschiede. Die abhängige

Variable besteht dabei nur aus zwei Gruppen (z.B. „Schädigung“: ja/nein). Durch die Rangbildung eignet er sich genau wie der u.g. Kruskal-Wallis-Test gut für Stichproben mit Ausreißern, da diese durch die Rangbildung eingedämmt werden. Zudem eignen sich beide für nicht normalverteilte Daten, die auch nicht metrisch (stetig oder diskret) verteilt sein müssen, vielmehr können sie z.B. auch ordinal skaliert sein. Dies ist bei den erhobenen Daten der Fall.

Ähnlich wie der Mann-Whitney-U Test, vergleicht auch der Kruskal-Wallis-Test Stichproben mittels Rangbildung auf signifikante Unterschiede. Auch er testet also, ob die zentralen Tendenzen der Stichproben verschieden sind. Wichtig ist hier dabei doch, dass die abhängigen Variablen aus mehr als zwei Gruppen bestehen: Die Variablen „Art der Schädigung“ und „Grad der SFN“ bestehen aus drei bzw. vier Gruppen, die drei Merkmale „Krankheitsdauer“, „Patientenalter“ und „ALSFRS-R“ sind (mehr oder weniger) asymmetrisch verteilt, zudem treten Ausreißer auf. Aus den o.g. Gründen wurden diese beiden Tests anstatt einer einfaktoriellen Varianzanalyse verwendet. Bei einer Stichprobe von >30 wurde danach auch hier die asymptotische Signifikanz betrachtet, um eine Aussage bzgl. signifikanter Unterschiede zu treffen (vgl. oben).

Tabelle 5: Untersuchte Merkmale im Kollektiv der an Amyotrophe Lateral Sklerose erkrankten Patienten und dementsprechend angewandte statistische Tests, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. SFN: Small-Fiber-Neuropathie; ALSFRS-R: Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised

statistische Untersuchung	angewandter statistischer Test
Schädigung / Geschlecht	Chi-Quadrat-Test
Schädigung / Onset	Exakter Test nach Fisher
Schädigung / Krankheitsdauer	Mann-Whitney-U-Test
Schädigung / Patientenalter	Mann-Whitney-U-Test
Schädigung / ALSFRS-R	Mann-Whitney-U-Test
Art der Schädigung / Geschlecht	Chi-Quadrat-Test
Art der Schädigung / Onset	Exakter Test nach Fisher
Art der Schädigung / Krankheitsdauer	Kruskal-Wallis-Test
Art der Schädigung / Patientenalter	Kruskal-Wallis-Test
Art der Schädigung / ALSFRS-R	Kruskal-Wallis-Test
Grad der SFN / Geschlecht	Chi-Quadrat-Test
Grad der SFN / Onset	Exakter Test nach Fisher
Grad der SFN / Krankheitsdauer	Kruskal-Wallis-Test
Grad der SFN / Patientenalter	Kruskal-Wallis-Test
Grad der SFN / ALSFRS-R	Kruskal-Wallis-Test

3. Ergebnisse

3.1 Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems - Ergebnisse der Biopsie und der klassischen Neurophysiologie

Bei 32 Patienten (72,7%) zeigte sich eine sensible Schädigung, und somit Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems. 12 der 44 Untersuchten (27,3%) zeigten weder in der Biopsie noch in der Neurografie pathologische Befunde. Einen genauen Überblick über die einzelnen Befunde und deren Anzahl innerhalb des Kollektivs liefert das folgende Flussdiagramm:

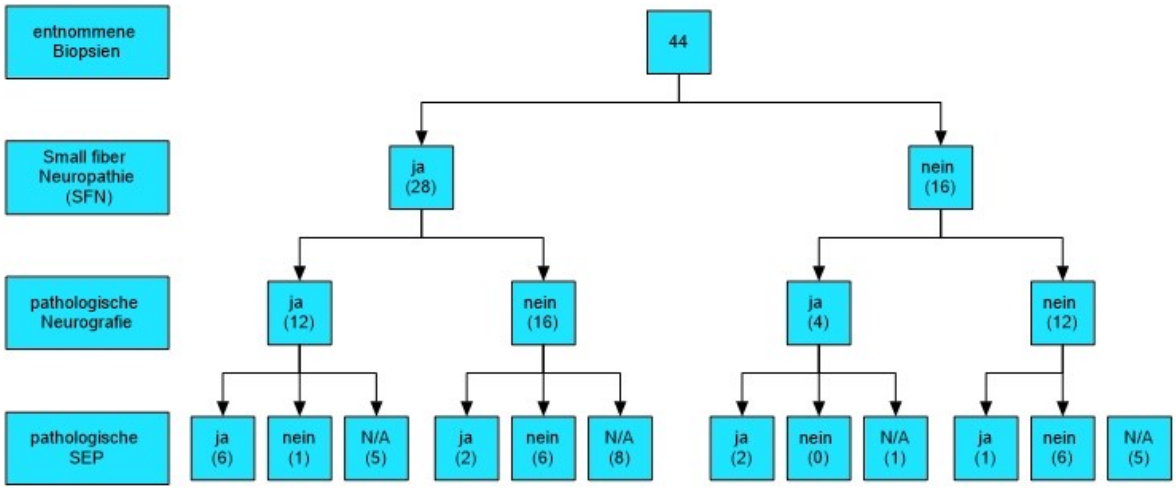

Abbildung 2: Überblick der Befunde im ALS-Kollektiv für n=44, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. N/A: nicht verfügbare Daten; SEP: somatosensibel evozierte Potentiale; SFN: Small-Fiber-Neuropathie; ALS: Amyotrophe Lateralsklerose

Um das Kollektiv bzgl. der Schädigung im sensiblen (peripheren) Nervensystem genauer untersuchen zu können, definierten wir drei Gruppen bzgl. der Art der Schädigung wie folgt:

- Gruppe A: „unauffällige Messungen“ (Normalbefund)
- Gruppe B: „Patienten, die nur eine Small-Fiber-Neuropathie zeigten“
- Gruppe C: „Patienten, bei denen eine pathologische Neurografie erfasst wurde, mit oder ohne SFN“ (Large fiber Neuropathie)

Es zeigte sich folgendes Verteilungsmuster:

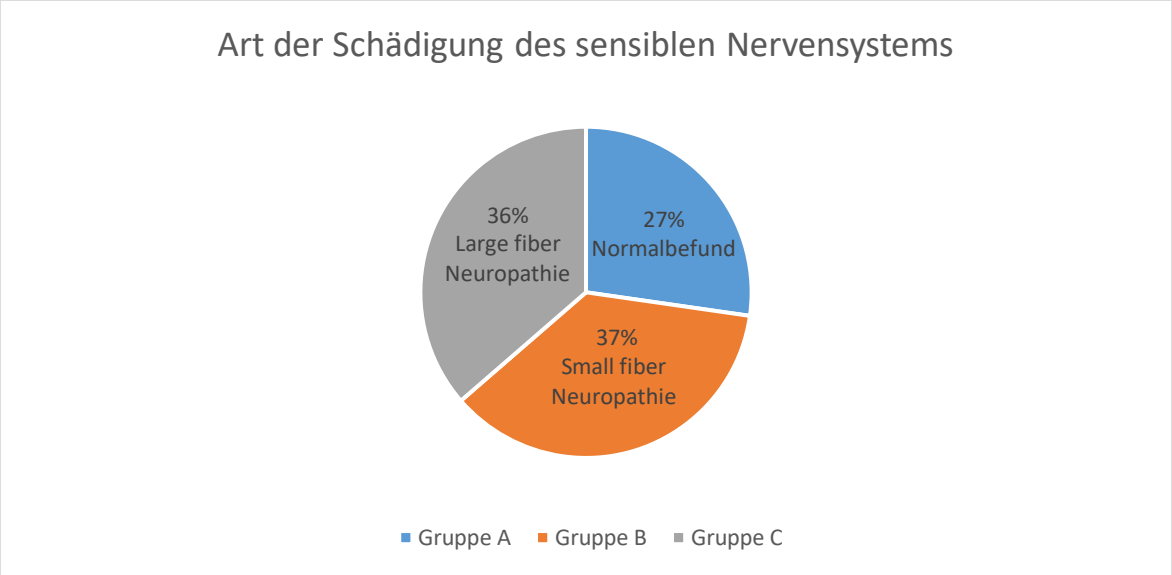

Abbildung 3: Art der Schädigung des sensiblen Nervensystems - Häufigkeitsverteilung innerhalb des ALS-Kollektivs n=44, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. ALS: Amyotrophe Lateralsklerose

3.2 Statistische Zusammenhänge zwischen sensibler Nervenschädigung und klinischer Charakteristika

3.2.1 Geschlecht

20/24 (83,3%) der Männer zeigten grundsätzlich eine Schädigung des peripheren sensiblen Nervensystems gegenüber 12/20 (60%) der Frauen. Prozentual zeigte sich also bei mehr Männern eine Schädigung. Der Chi-Quadrat-Test (vgl. Tabelle 9) erbrachte eine asymptotische Signifikanz von p=0,084, also p>0,05. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht und Auftreten einer Schädigung konnte somit nicht gezeigt werden. Es kann lediglich von einer Tendenz gesprochen werden.

Bei der Untersuchung etwaiger Zusammenhänge zwischen Art der sensiblen Schädigung und Geschlecht fanden sich folgende Ergebnisse:

- weiblich (n=20): Normalbefunde 8/20 (40,0%); Small fiber Neuropathie 9/20 (45,0%); Large fiber Neuropathie 3/20 (15,0%)

- männlich (n=24): Normalbefunde 4/24 (16,7%); Small fiber Neuropathie 7/24 (29,2%); Large fiber Neuropathie 13/24 (54,2%)

Der Chi-Quadrat-Test (vgl. Tabelle 9) erbrachte hierbei eine asymptotische Signifikanz von p=0,023. Zwischen Geschlecht und Art der Schädigung (A/B/C) konnte mit den Daten der Zusammenhang gezeigt werden, dass bei Männern mehr Large fiber Neuropathien auftreten (Gruppe C: 54,2% vs. 15,0%) und es weniger Männer gibt, die keine Schädigung haben (16,7% vs. 40,0%).

3.2.2 Onset-Typ

In der Gruppe der Patienten mit spinalem Onset zeigten 24 von 31 (77,4%) eine Schädigung des sensiblen Nervensystems. In der Vergleichsgruppe mit bulbärem Onset waren es 8 von 13 (61,5%) Patienten. Prozentual zeigten mehr Patienten mit spinalem Onset eine Schädigung, ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Art des Onsets und dem Auftreten einer Schädigung konnte statistisch jedoch nicht gezeigt werden (Vgl. Tabelle 9).

Bei der Untersuchung etwaiger Zusammenhänge zwischen Art der Schädigung und Art des Onsets fanden sich folgende Ergebnisse:

Onset spinal (n=31): Normalbefunde 7/31 (22,6%); Small fiber Neuropathie 11/31 (35,5%); Large fiber Neuropathie 13/31 (41,9%)

Onset bulbär (n=13): Normalbefunde 5/13 (38,5%); Small fiber Neuropathie 5/13 (38,5%); Large fiber Neuropathie 3/13 (23,1%)

Es zeigte sich, dass in dieser Studie Patienten mit spinalem Onset prozentual öfter Large fiber Neuropathien zeigten als diejenigen mit bulbärem Onset. Der exakte Test nach Fisher (vgl. Tabelle 9) erbrachte jedoch keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen Typ des Onsets und Art der Schädigung.

3.2.3 Krankheitsdauer

Im Mittel war die Krankheitsdauer unter den Patienten mit Schädigung des sensiblen Nervensystems länger. Eine statistisch signifikante Korrelation bezogen auf die Krankheitsdauer konnte mittels Mann-Whitney-U-Test jedoch nicht nachgewiesen werden.

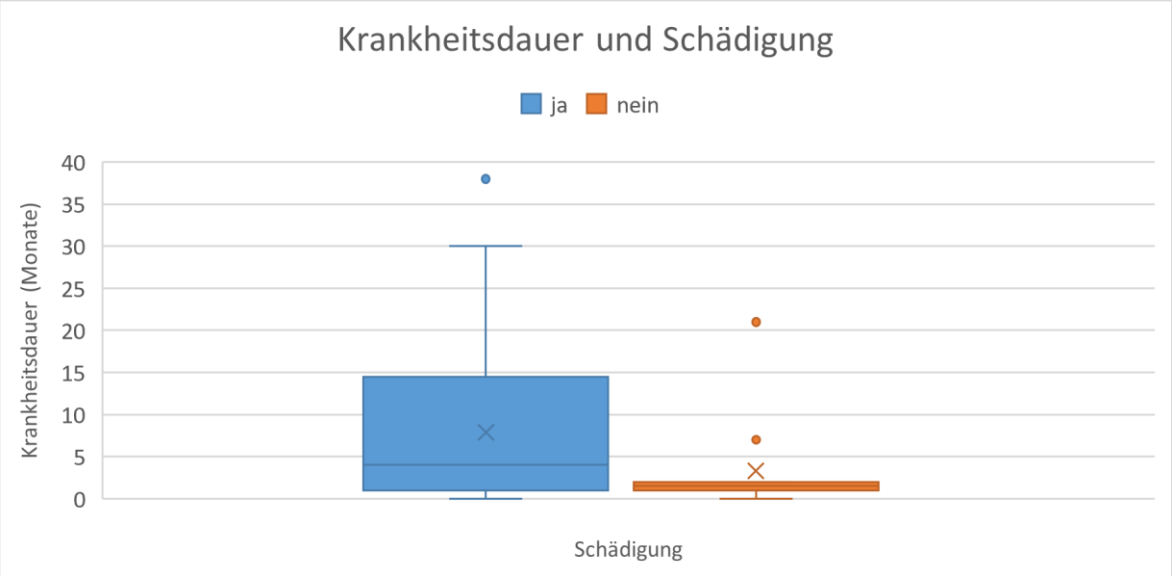

Abbildung 4: Boxplot-Darstellung von sensibler Schädigung und Krankheitsdauer der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

Bei der Untersuchung etwaiger Zusammenhänge zwischen Art der Schädigung und Krankheitsdauer fanden sich die in Abbildung 5 veranschaulichten Ergebnisse. Mittels des Kruskal-Wallis-Tests konnte eine statistische signifikante Korrelation nicht nachgewiesen werden.

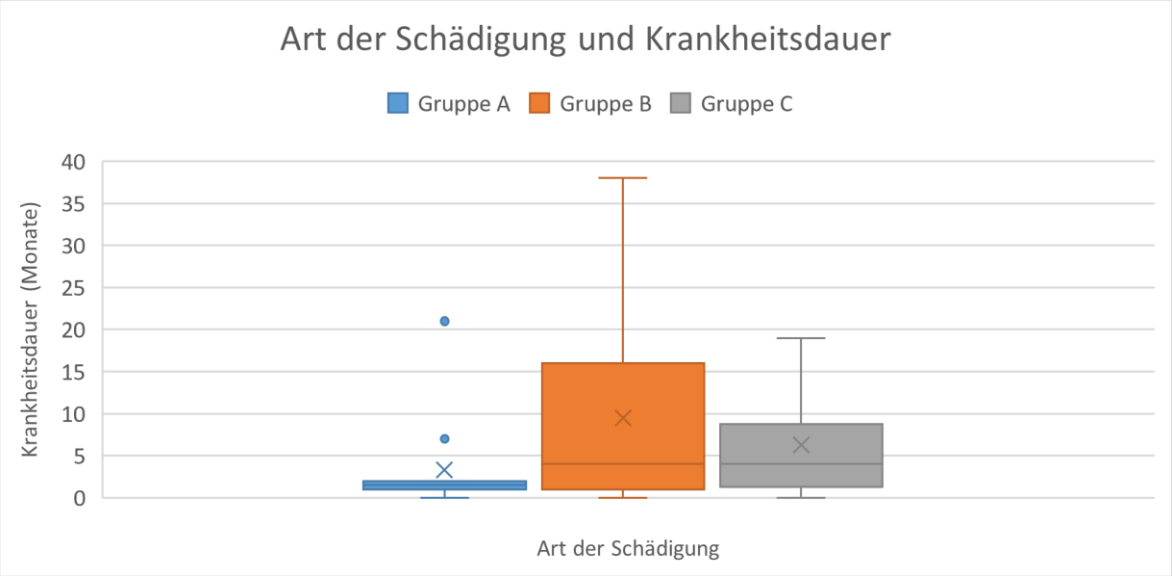

Abbildung 5: Boxplot-Darstellung von Art der Schädigung im sensiblen Nervensystem und Krankheitsdauer der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

3.2.4 Patientenlebensalter

Im Mittel waren die betroffenen etwas jünger als die nicht betroffenen Patienten. Eine statistisch signifikante Korrelation mittels Mann-Whitney-U-Test, bezogen auf das Patientenlebensalter, konnte man jedoch nicht nachweisen.

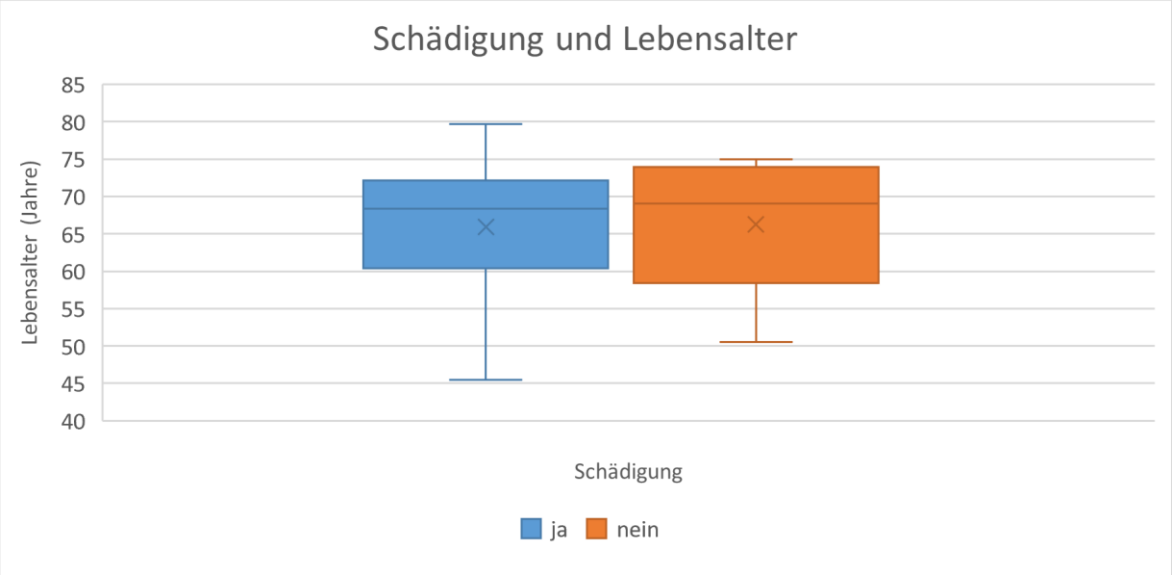

Abbildung 6: Boxplot-Darstellung von sensibler Schädigung und Lebensalter der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

Bei der Untersuchung etwaiger Zusammenhänge zwischen Art der Schädigung und Lebensalter fanden sich die in Abbildung 7 veranschaulichten Ergebnisse. Ein statistisch signifikanter Unterschied mittels Kruskal-Wallis-Test konnte auch hier nicht beobachten werden.

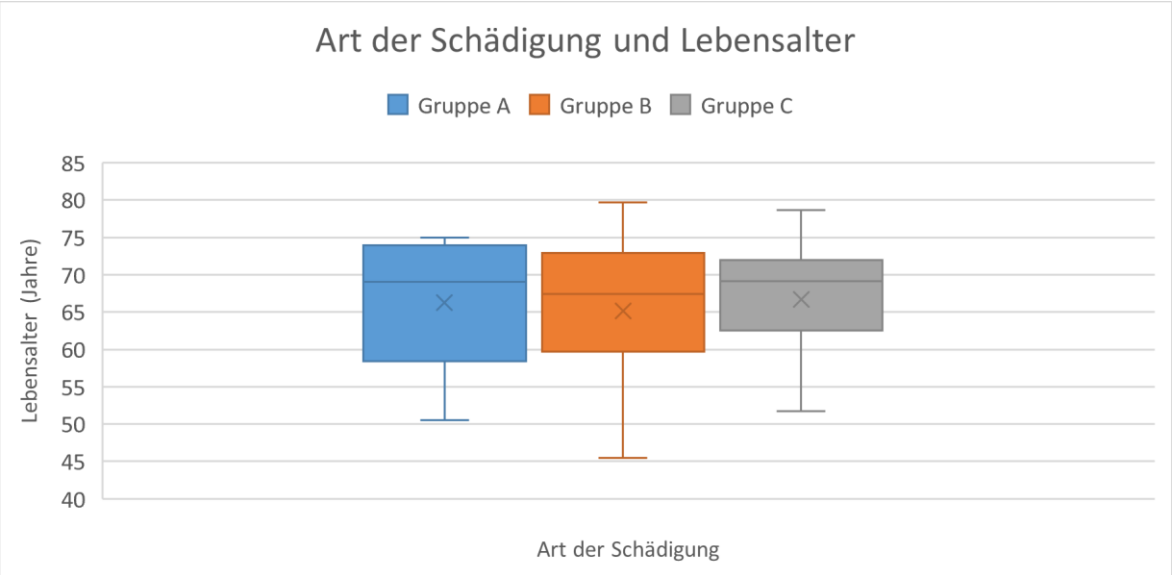

Abbildung 7: Boxplot-Darstellung von Art der Schädigung im sensiblen Nervensystem und Lebensalter der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

3.2.5 Punktewert im ALSFRS-R

Grundsätzlich zeigt sich, dass in der Gruppe der Patienten mit Schädigung der Mittelwert im ALSFRS-R etwas kleiner ist. Ebenfalls lässt sich beobachten, dass der Minimalwert in dieser Gruppe kleiner ist als der in der Vergleichsgruppe ohne beschriebene Schädigung. Eine statistisch signifikante Korrelation bezogen auf den ALSFRS-R konnte mittels Mann-Whitney-U-Test jedoch nicht beobachtet werden.

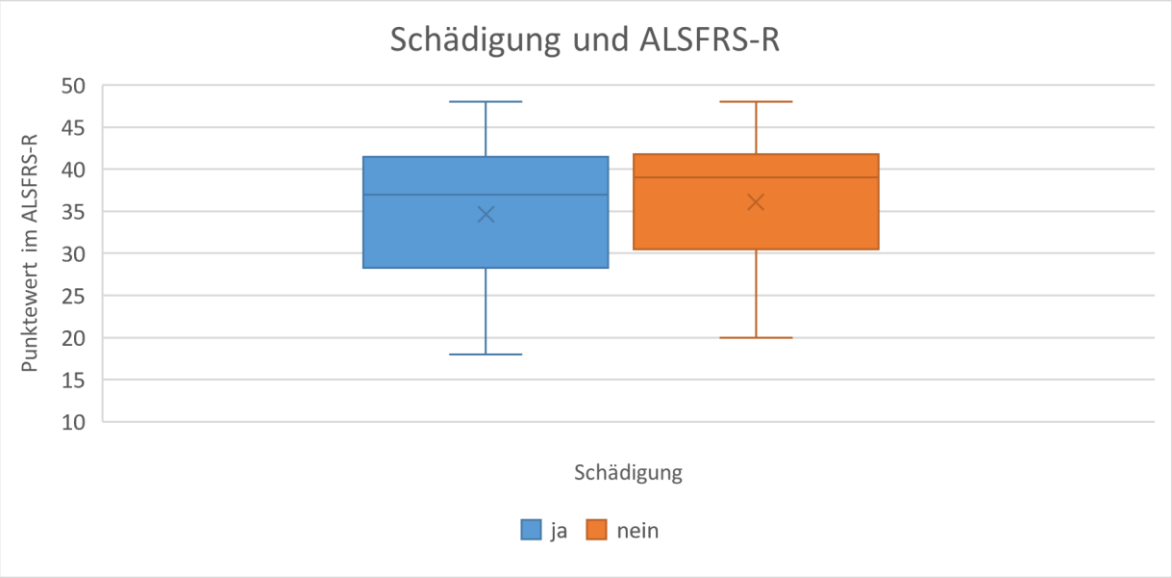

Abbildung 8: Boxplot-Darstellung von sensibler Schädigung und erzieltem Punktewert im Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

Der zuvor beobachtete minimale Unterschied im Mittelwert des ALSFRS-R zwischen der Gruppe mit Schädigung im Vergleich zu der ohne, geht verloren, sobald man die Schädigung in die Gruppen A-C unterteilt. Hier ist nicht einmal mehr eine Tendenz zu erkennen. Eine statistisch signifikante Korrelation mittels Kruskal-Wallis-Test konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

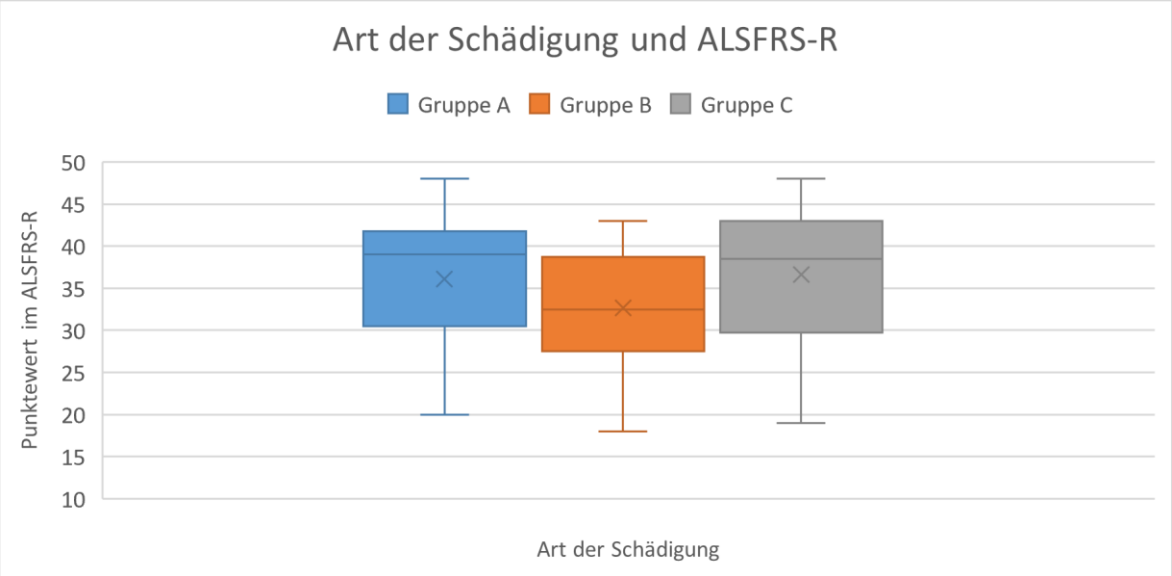

Abbildung 9: Boxplot-Darstellung von Art der Schädigung im sensiblen Nervensystem und erzieltem Punktewert im Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

3.2.6 Statistische Zusammenhänge zwischen Grad der SFN und klinischen Krankheitscharakteristika

Im Folgenden wurde das Ausmaß der Schädigung auf Ebene der SFN genauer betrachtet und hinsichtlich etwaiger statistischer Zusammenhänge bzw. Korrelationen bzgl. klinischer Krankheitscharakteristika untersucht. Dafür wurden die diagnostizierten SFN zunächst in verschiedene Schweregrade eingeteilt:

Grad 0: keine SFN, Normalzustand

Grad 1: beginnende SFN, mit axonalen Schwellungen oder verringerter IENFD

Grad 2: geringe, mäßige SFN

Grad 3: ausgeprägte, fortgeschrittene SFN

Tabelle 6 gibt Übersicht über die Häufigkeitsverteilung hinsichtlich des SFN-Schweregrades:

Tabelle 6: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten Patienten hinsichtlich des Schweregrades der Small-Fiber-Neuropathie (SFN), Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

SFN	Anzahl n (%)
Grad 0	16 (36,4)
Grad 1	11 (25,0)
Grad 2	12 (27,3)
Grad 3	5 (11,4)
gesamt	44 (100)

3.2.6.1 SFN-Schweregrad und Geschlecht

Tabelle 7: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten Patienten hinsichtlich Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Geschlecht, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

SFN	weiblich n (%)	männlich n (%)	gesamt n
Grad 0	10 (50)	6 (25)	16
Grad 1	5 (25)	6 (25)	11
Grad 2	4 (20)	8 (33,3)	12
Grad 3	1 (5)	4 (16,7)	5
gesamt	20 (100)	24 (100)	44

Innerhalb der Gruppe der weiblichen Patienten konnte man eine absteigende Zahl an Fällen mit zunehmendem Schweregrad der SFN beobachten. Betroffene Frauen der Studie hatten prozentual gesehen seltener eine höhergradige SFN diagnostiziert bekommen. Bei den betroffenen Männern kann keine Tendenz bzgl. des Schweregrades und der Anzahl des Auftretens beobachtet werden. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht und Schweregrad der SFN konnte mittels exaktem Test nach Fisher jedoch nicht nachgewiesen werden.

3.2.6.2 SFN-Schweregrad und Art des Krankheitsonsets

Tabelle 8: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten Patienten hinsichtlich Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Krankheitsonset, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

SFN	spinal n (%)	bulbär n (%)	gesamt n
Grad 0	11 (35,5)	5 (38,5)	16
Grad 1	8 (25,8)	3 (23,1)	11
Grad 2	10 (32,3)	2 (15,4)	12
Grad 3	2 (6,5)	3 (23,1)	5
gesamt	31 (100)	13 (100)	44

Man erkennt innerhalb beider Gruppen keine Tendenz hinsichtlich der Häufigkeit der vorkommenden SFN Schädigungsgrade. Es konnte mittels exaktem Test nach Fisher ebenfalls kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Art des Krankheitsonsets und des Schädigungsgrads der SFN nachgewiesen werden.

3.2.6.3 SFN-Schweregrad und Krankheitsdauer

Zwischen der Krankheitsdauer und dem Grad der SFN erbrachte der Kruskal-Wallis- Test eine asymptotische Signifikanz von 0,591. Somit zeigte sich keine statistisch signifikante Korrelation bezogen auf die Krankheitsdauer. Eine Tendenz, beispielsweise der Krankheitsdauer im Mittel, konnte ebenfalls nicht beobachtet werden.

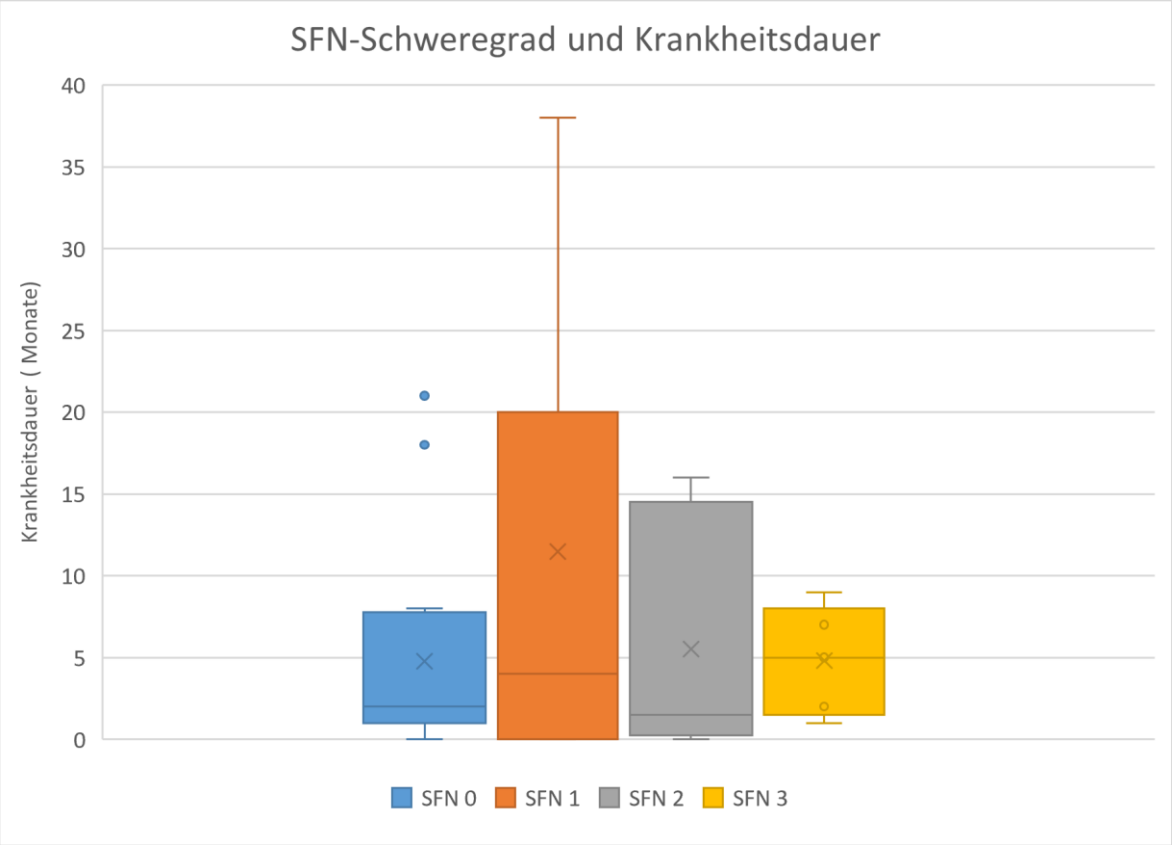

Abbildung 10: Boxplot-Darstellung von Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Krankheitsdauer der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

3.2.6.4 SFN-Schweregrad und Patientenlebensalter

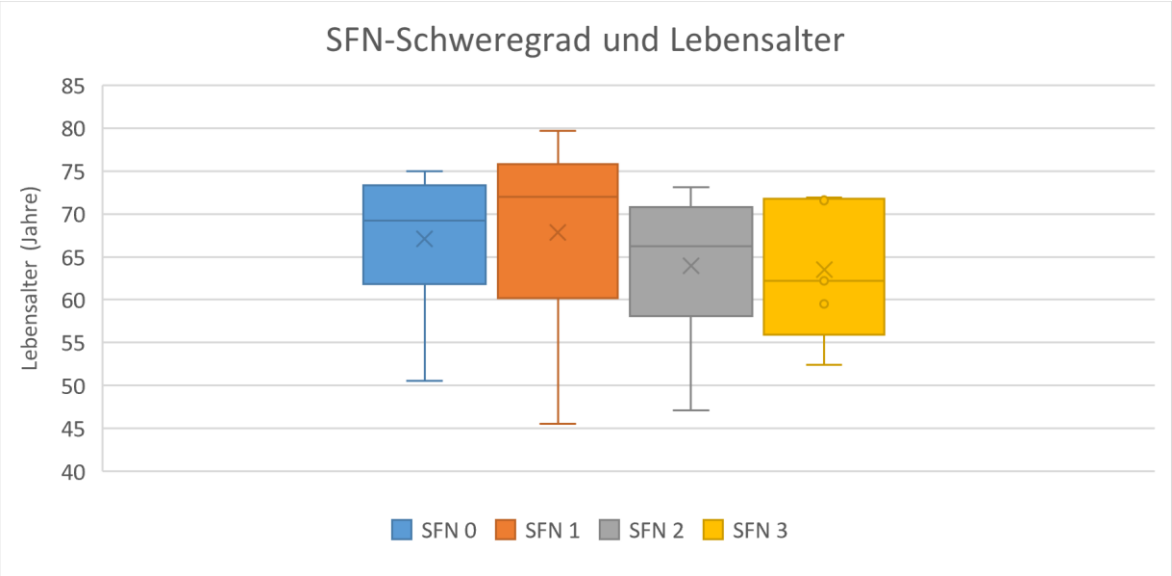

Abbildung 11: Boxplot-Darstellung von Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Lebensalter der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

Bezogen auf das Patientenlebensalter konnte keine statistisch signifikante Korrelation festgestellt werden. Eine Tendenz, beispielsweise des Lebensalters im Mittel, konnte ebenfalls nicht beobachtet werden.

3.2.6.5 SFN-Schweregrad und ALSFRS-R

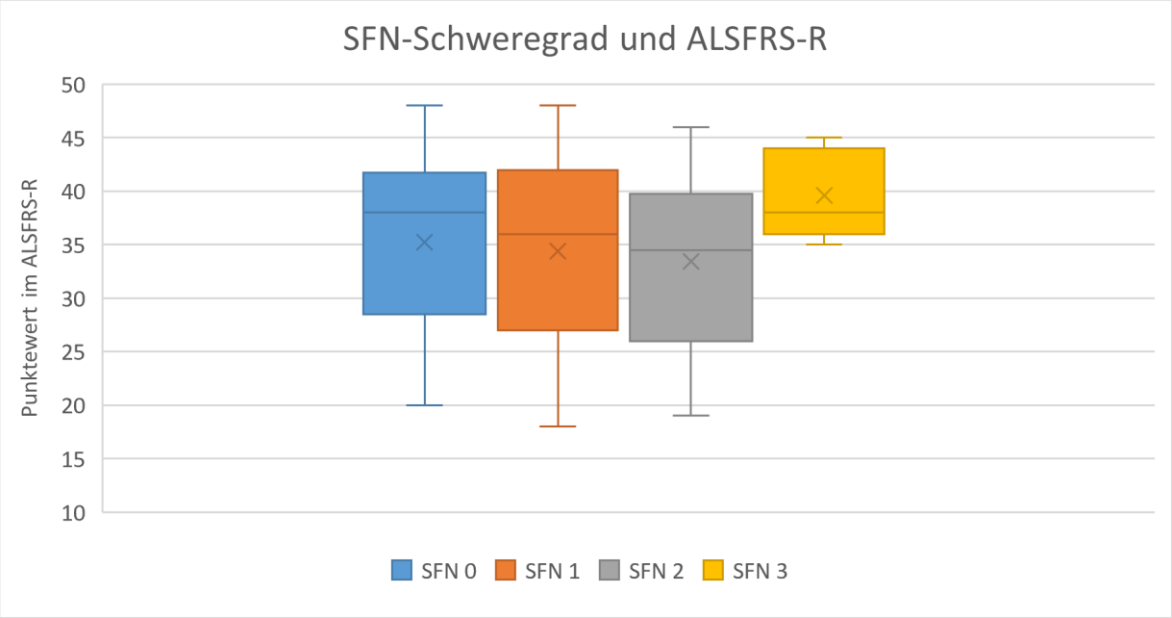

Abbildung 12: Boxplot-Darstellung von Schweregrad (Grad 0-3) der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und erzieltem Punktewert im Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

Betrachtet man lediglich die Schweregrade SFN 0 bis SFN 2, so beobachtet man, dass mit steigendem Grad der SFN, der Mittelwert der erreichten Punktzahl im ALSFRS-R sinkt. Die Patienten mit einer SFN 3 gaben jedoch im Mittel den höchsten ALSFRS-R Wert an. Eine statistisch signifikante Korrelation bezogen auf den ALSFRS-R konnte nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 9: Übersichtstabelle über die berechneten p-Werte in den jeweils durchgeführten statistischen Test. ASLFRS-R: Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised; SFN: Small-Fiber-Neuropathie

Untersuchte Variablen	**p-Werte**	**Statistischer Test**
Schädigung / Geschlecht	p=0,084	Chi-Quadrat-Test
Schädigung / Onset	p=0,295	Exakter Test nach Fisher
Schädigung / Krankheitsdauer	p=0,114	Mann-Whitney-U-Test
Schädigung / Patientenalter	p=0,712	Mann-Whitney-U-Test
Schädigung / ALSFRS-R	p=0,571	Mann-Whitney-U-Test
Art der Schädigung / Geschlecht	**p=0,023**	Chi-Quadrat-Test
Art der Schädigung / Onset	p=0,419	Exakter Test nach Fisher
Art der Schädigung / Krankheitsdauer	p=0,28	Kruskal-Wallis-Test
Art der Schädigung / Patientenalter	p=0,912	Kruskal-Wallis-Test
Art der Schädigung / ALSFRS-R	p=0,240	Kruskal-Wallis-Test
Grad der SFN / Geschlecht	p=0,290	Exakter Test nach Fisher
Grad der SFN / Onset	p=0,406	Exakter Test nach Fisher
Grad der SFN / Krankheitsdauer	p=0,591	Kruskal-Wallis-Test
Grad der SFN / Patientenalter	p=0,381	Kruskal-Wallis-Test
Grad der SFN / ALSFRS-R	p=0,578	Kruskal-Wallis-Test

3.3 Ergebnisse mittels QST

Neben der histopathologisch aufgearbeiteten Hautbiopsie, wird die QST als weitere Methode zur Erfassung einer SFN untersucht. Im Folgenden wird die Analyse dieser Untersuchungsmethode präsentiert. Nach Deskription des Kollektivs bzgl. der erhobenen Werte in der QST Messung folgt ein Vergleich der QST mit der Hautbiopsie hinsichtlich der Aufdeckungsrate der SFN. Abschließend erfolgt die Klärung, ob die QST genauso zuverlässig ist wie die histopathologisch aufgearbeitete Hautbiopsie.

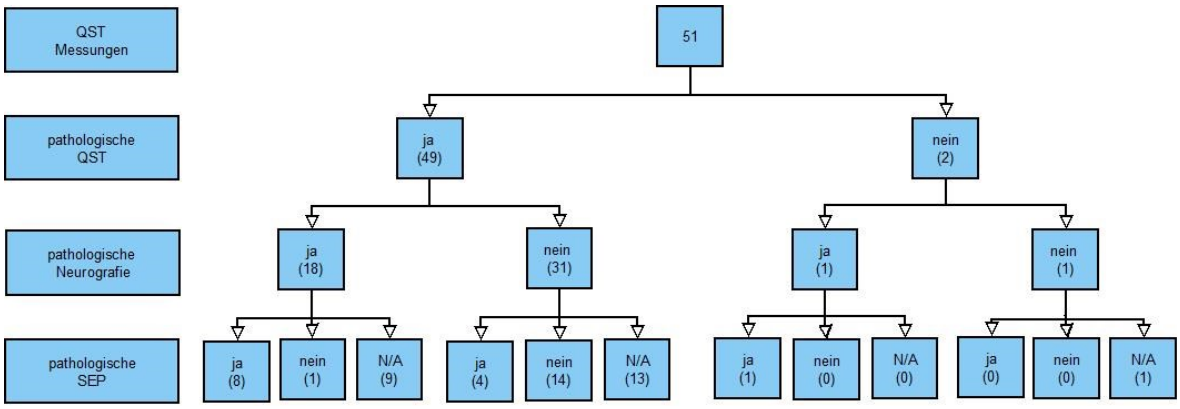

Abbildung 13: Überblick über die einzelnen Befunde im ALS-Kollektiv für n=51, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. N/A: nicht verfügbare Daten; SEP: somatosensibel evozierte Potentiale; SFN: Small-Fiber-Neuropathie, QST: quantitative sensorische Testung, ALS: Amyotrophe Lateralsklerose

Abbildung 13 veranschaulicht die erhobenen QST Messungen im Flussdiagramm. Insgesamt wurde an 51 Patienten eine QST Messung durchgeführt. 49 zeigten dabei in einem oder mehreren QST-Untertests einen pathologischen Wert. Von den 49 Patienten mit Auffälligkeiten in der QST Messung zeigten wiederum 18 ebenfalls Pathologien in der durchgeführten Neurografie. Innerhalb dieser 18 Patienten maß man achtmal pathologische SEPs, einmalig normwertige SEPs, zu den übrigen neun Patienten konnten keine SEP Werte erhoben werden. Analog sind die übrigen Werte des Flussdiagramms in Abbildung 13 zu lesen.

In Abbildung 14 wird die Häufigkeitsverteilung hinsichtlich der pathologisch aufgetretenen QST Testparameter visualisiert. Die meisten pathologischen Werte (20) wurden bzgl. des MPS Werts gemessen, die wenigsten fand man hinsichtlich CPT und HPT (jeweils 2).

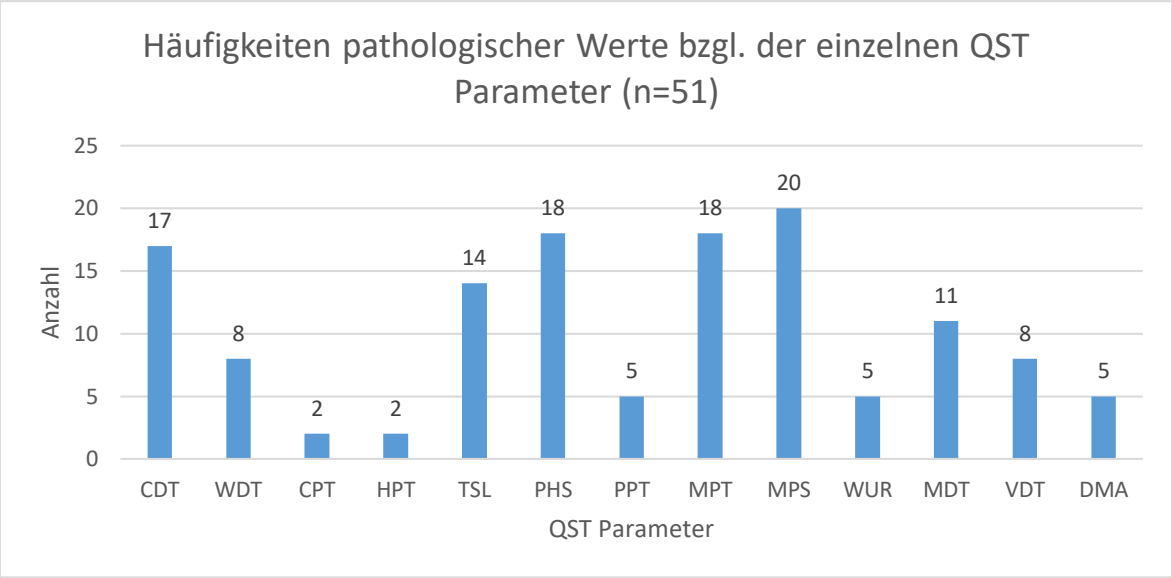

Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der pathologischen Parameter in der quantitativ sensorischen Testung (QST) der untersuchten, an Amyotrophe Lateral Sklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. CDT: Cold Detection Threshold; WDT: Warm Detection Threshold; CPT: Cold Pain Threshold; HPT: Heat Pain Threshold; TSL: Thermal Sensory Limen; PHS: Paradoxical Heat Sensation; PPT: Pressure Pain Threshold; MPT: Mechanical Pain Threshold; MPS: Mechanical Pain Sensitivity; WUR: Wind-Up Ratio; MDT: Mechanical Detection Threshold; VDT: Vibration Detection Threshold; DMA: Dynamic Mechanical Allodynia

Berücksichtigt man nun, welcher QST Parameter welche Nervenfaserqualität repräsentiert (vgl. Kapitel 2.5.3 „Das QST Protokoll“) ergeben sich die in Tabelle 11 aufgelisteten Werte. Man stellt fest, dass bei 44 der 51 Patienten pathologische Werte bzgl. der Aδ-Fasern gemessen werden konnten, gefolgt von 30 pathologischen Werten bzgl. der C-Fasern, 21 pathologische bzgl. Aβ und fünf pathologische Werte hinsichtlich der zentralen Sensibilisierung/ Disinhibition.

Tabelle 10: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten bzgl. der erfassten pathologischen Nervenfaserqualitäten in der quantitativ sensorischen Testung, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

Patientennummer	Aβ	Aδ	C	Zentrale Sensibilisierung/ Disinhibition
1	x	x		
2	x	x	x	
3	x	x		
4		x	x	
5		x	x	
6	x	x	x	
7	x	x	x	
8		x		
9		x		
10	x			
11	x	x		
12	x	x		
13		x	x	
14	x	x	x	
15		x	x	
16		x	x	
17		x	x	
18		x		
19	x	x	x	
20	x			
21		x	x	
22		x	x	
23	x	x	x	
24	x	x	x	
25		x	x	
26		x	x	
27		x		
28		x	x	
29	x	x	x	
30	x	x	x	
31				
32		x	x	
33		x	x	
34	x	x		
35				x
36		x	x	
37	x	x	x	
38	x			x
39	x	x	x	x
40				
41		x	x	
42	x	x		
43		x		
44		x		
45		x		
46		x	x	x
47		x	x	
48		x	x	
49		x		
50	x			
51		x	x	x
∑	**21**	**44**	**30**	**5**

3.4 Vergleich der QST-Parameter mit Biopsie und klassischer Neurophysiologie

Der Vergleich des QST Messverfahrens mit der histopathologisch ausgewerteten Hautbiospie konnte nur bei 44 Patientendatensätzen durchgeführt werden, da in sieben der 51 Studienfälle eine verwertbare Biopsie fehlte (es entfielen die Fälle Nr. 3, 10, 32, 33, 34, 47, 51). Für die in der QST betroffenen Nervenfasern ergab sich die in Abbildung 15 dargestellte Verteilung.

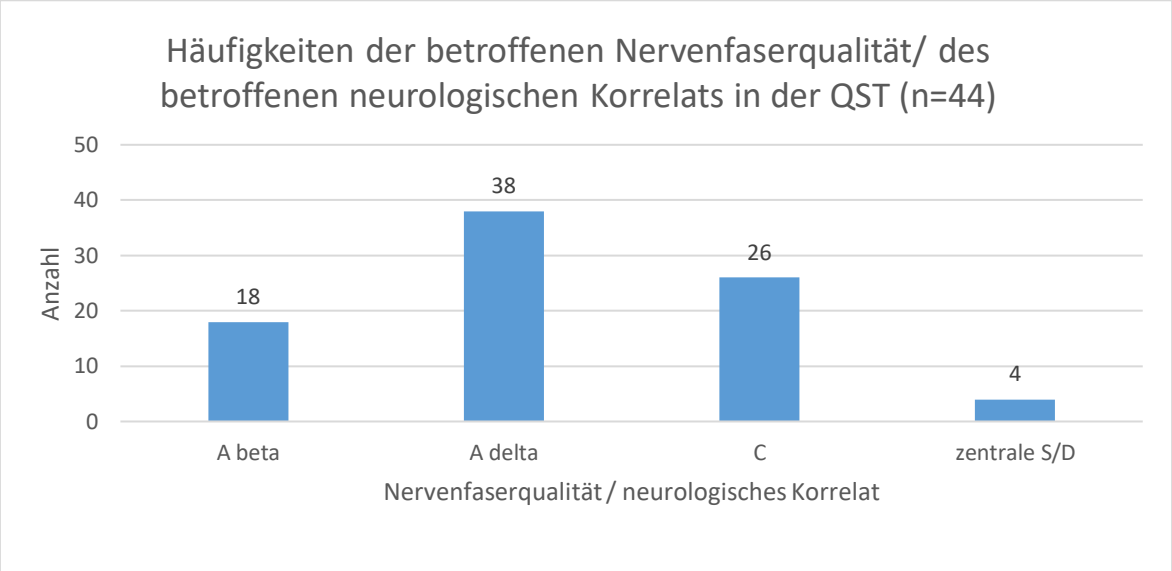

Abbildung 15: Häufigkeitsverteilung der betroffenen Nervenfasern/ des betroffenen neurologischen Korrelats in der quantitativ sensorischen Testung (QST) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten für n=44, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. Zentrale S/D: Zentrale Sensibilisierung/ Disinhibition

3.4.1 Vergleich QST und Hautbiopsie

Die Hautbiopsie erbrachte in 28 von 44 Fällen pathologische Ergebnisse. Die QST zeigte in allen diesen Fällen ebenfalls pathologische Werte. Dies entspricht einer Sensitivität von 1 (95%-Konfidenzintervall [0,877; 1]).

In 16 von 44 Fällen erbrachte die Untersuchung der Hautbiopsie normwertige Befunde, die QST hingegen lieferte in 14 dieser 16 Fälle ein pathologisches Ergebnis und widersprach somit dem Ergebnis der Hautbiopsie. Dies entsprich einer Spezifität von nur 0,125 (95%-Konfidenzintervall [0,016; 0,384]). Der positive Vorhersagewert beträgt 28/42 (66,7%). Der negative Vorhersagewert 2/2 (100%).

Tabelle 11: Methodenvergleich zwischen entnommener Biopsie und quantitativ sensorischer Testung (QST) - absolute Häufigkeiten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-216

	QST pathologisch	QST normwertig	gesamt
Biopsie pathologisch	28	0	28
Biopsie normwertig	14	2	16
gesamt	42	2	44

Analog könnte ein spezifischer Vergleich zwischen Schädigungen der Aδ- und C-Fasern in der Biopsie mit den jeweils entsprechenden QST-Untertests durchgeführt werden. Dies ist jedoch erst dann sinnhaft, wenn eine Differenzierung zwischen den einzelnen Nervenfasertypen in der untersuchten Hautbiopsie nötig ist, beispielsweise mittels spezifischer Färbungen. Da uns dies jedoch nicht möglich war, verzichten wir an dieser Stelle auf weitere Vergleiche wie o.g.

Ein solch spezifischer Vergleich ist lediglich für die myelinisierten Aβ-Fasern (Large fibers) möglich, da sich Schädigungen dieser durch pathologische Neurografien äußern. Es zeigte sich hierbei eine Sensitivität von 62,5 % (10/16); 95% KI = [0,354; 0,848], sowie eine Spezifität von 71,4% (20/28); 95% KI = [0,513; 0,868].

Tabelle 12: Methodenvergleich zwischen Neurografie und Untertest bzgl. Aβ-Fasern in der quantitativ sensorischen Testung (QST) - absolute Häufigkeiten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016

	QST pathologisch bzgl. Aβ-Faser	QST normwertig bzgl. Aβ-Faser	gesamt
Neurografie pathologisch	10	6	16
Neurografie normwertig	8	20	28
gesamt	18	26	44

4. Diskussion

4.1 Ausmaß der Schädigungen im peripheren sensiblen Nervensystem (Hautbiospie und Neurografie)

Grundsätzlich zeigte sich in dieser Studie bei nahezu 3/4 der Patienten (32 von 44 = 72,7%) eine Schädigung im peripheren sensiblen Nervensystem. Nur 12 der 44 untersuchten Personen zeigten weder in der Hautbiopsie noch in der Neurografie pathologische Befunde. Es wurde somit eine Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems beim Großteil der ALS Erkrankten beobachtet. Dies entspricht auch den bereits in früheren Studien erhobenen Ergebnissen, mittels derer die ALS, entgegen der traditionellen Definition, eine Multisystemerkrankung mit motorischer Betonung darstellt [27-29,50,68,74].

In der von uns anschließend durchgeführten genaueren Betrachtung hinsichtlich des Ausmaßes der sensiblen Schädigung mittels Hautbiopsie und Neurografie zeigten 28 von 32 (87,5%) Patienten eine SFN. Bei 16 von diesen 28 Patienten handelte es sich um eine reine SFN, bei 12 Patienten zeigte sich zusätzlich zur Biopsie auch die Neurografie pathologisch. In 4 von 44 Fällen (9,1%) fand man lediglich pathologische Neurografien.

Mit Hilfe der neu definierten Variable „Art der Schädigung im sensiblen Nervensystem“ wurde das Kollektiv hinsichtlich einer möglichen Mehrbeteiligung des distalen oder proximalen Teil des peripheren Nervensystems untersucht. Gruppe B stellte hierbei die alleinige Beteiligung der distal gelegenen small fibers dar (pathologische Biopsie), Patienten der Gruppe C zeigten durch die Beteiligung der weiter proximal gelegeneren Nervenfasern eine Large fiber Neuropathie (pathologische Neurografie). In beiden Gruppen fand sich die gleiche Anzahl an Patienten (jeweils 16). Jedoch ist zu beachten, dass 12 der 16 Patienten in Gruppe C ebenfalls eine SFN zeigten. Anhand dieser Beobachtung kann man die Hypothese aufstellen, dass es im Rahmen der sensiblen Schädigung bei ALS Patienten ein Ausbreitungsmuster von distal nach proximal geben könnte. Ähnliche Gedanken wurden bereits 2004 von Fischer et al. geäußert, jedoch damals bezogen auf die Schädigung des motorischen Nervensystems [16]. Wenn sich dieser Verdacht bewahrheiten sollte, müsste ein Zusammenhang zwischen der Krankheitsdauer und der Ausbreitung der Störung im sensiblen Nervensystem zu beobachten sein. Bei zunehmender Krankheitsdauer sollte vermehrt auch der

proximale Teil des sensiblen Nervensystems geschädigt sein. In dieser Arbeit konnten wir jedoch keinen Hinweis darauf finden, dass eine längere Krankheitsdauer mit einer aufsteigenden Schädigung des sensiblen peripheren Nervensystems assoziiert ist. Jedoch ist hier anzumerken, dass die Ursache der gemessenen pathologischen Neurografien ggf. eine bis dato unbekannte Polyneuropathie sein kann, welche eine häufige Erkrankung im fortgeschrittenen Alter darstellt und somit eine Bias hinsichtlich der untersuchten möglichen Zusammenhänge darstellen würde.

Da in der rezenten Forschung v.a. vom Auftreten einer SFN als Form der sensiblen Beteiligung bei ALS Patienten berichtet wird [12,74], wurde die SFN und ihr Ausmaß gesondert analysiert. Unter dieser Annahme sollte das Kollektiv mehr Patienten mit SFN (unabhängig vom Ergebnis der Neurografie) als Patienten mit reiner pathologischer Neurografie beinhalten. Dies war auch der Fall (28 vs. 4 Patienten). Auch die Anzahl der Patienten mit sowohl SFN als auch pathologischer Neurografie (12) war im Kollektiv geringer. Des Weiteren wurde das Ausmaß der Schädigung auf Ebene der SFN genauer betrachtet. Dafür erfolgte die Einteilung der diagnostizierten SFN in verschiedene Schweregrade (Grad 0-3). Allein die absoluten Häufigkeiten der jeweiligen Schweregrade erbrachten keine Auffälligkeiten. Der Schweregrad der SFN wurde ebenfalls hinsichtlich etwaiger Zusammenhänge bzw. Korrelationen bzgl. klinischer Krankheitscharakteristika untersucht, was im folgenden Abschnitt diskutiert wird.

4.2 Zusammenhänge zwischen Auftreten der Schädigung/ Art der Schädigung/ Schweregrad der SFN und klinischen Krankheitscharakteristika

In der Untersuchung auf etwaige statistische Zusammenhänge zwischen dem Auftreten einer Schädigung und deren Art im sensiblen Nervensystem, sowie dem Schweregrad der SFN und klinischen Krankheitscharakteristika konnten signifikante Unterschiede lediglich zwischen den beiden Geschlechtergruppen bzgl. Art der Schädigung festgestellt werden (vgl. Tabelle 9 im Ergebnisteil). Gruppe C (Large fiber Neuropathie) zeigte sich bei den untersuchten Männern deutlich größer, Gruppe A (unauffällige Messungen) hingegen signifikant kleiner. In allen anderen statistischen Untersuchungen zeigten sich allenfalls Tendenzen in bestimmte Richtungen, jedoch keine statistisch signifikanten Zusammenhänge oder Unterschiede.

Geschlecht und Schädigung

Grundsätzlich zeigten mehr Männer eine Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems. Bzgl. der Art der Schädigung fand sich sogar ein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtergruppen. Bzgl. des Schweregrades der SFN beobachtet man innerhalb der weiblichen Patienten eine absteigende Häufigkeit mit zunehmendem Schweregrad, diese ist innerhalb der Gruppe der männlichen Patienten weniger stark ausgeprägt. Insgesamt kann man also sagen, dass Männer öfter eine Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems zeigten. Zudem trat bei Männern öfter eine Typ C-Schädigung (Large fiber Neuropathie) auf.

Ein möglicher Grund hierfür könnte die Tatsache bringen, dass die ALS bei Männern generell öfter auftritt als bei Frauen (1,5:1) [21,42]. Da das männliche Geschlecht als Risikofaktor der Erkrankung ALS gilt [21], ist denkbar, dass das Geschlecht auch Einfluss auf das Ausmaß der Krankheit und der mitbeteiligten extramotorischen Systeme hat.

Jedoch ist zu beachten, dass auch bei einer vorhandenen Polyneuropathie anderer Genese z.B. bedingt durch Diabetes mellitus oder Vitaminmangel die o.g. Ergebnisse entstanden sein könnten. Sofern diese vor der Studienteilnahme bekannt waren, wurden die Patienten aus der Studie ausgeschlossen. Es ist jedoch dennoch möglich, dass sich unter den Probanden noch einige mit unbekannten Polyneuropathien befanden, welche die o.g. Ergebnisse dann beeinflussen können.

Onsettyp und Schädigung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Patienten mit spinalem Krankheitsbeginn öfter eine Schädigung im sensiblen Nervensystem zeigten (77,4 % vs. 61,5%). Bzgl. Art der Schädigung konnten vergleichbare Werte bzgl. einer Small fiber Neuropathie (Gruppe B) festgestellt werden (35,5 % vs. 38,5%). Large fiber Neuropathien (Gruppe C) konnten innerhalb der Gruppe der spinalen Krankheitsform bei 41,9 %, in der Gruppe der bulbären Form nur bei 23,1 % beobachtet werden. Diese Unterschiede sind jedoch sehr gering, daher konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen spinalem und bulbärem Onset hinsichtlich der sensiblen Schädigung gezeigt werden.

Auch im Hinblick auf den Schweregrad der aufgetretenen SFN konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen

werden. Vergleichbare Feststellung erbrachte die von Dalla Bella et al. durchgeführte Studie von 2016, in der kein Zusammenhang zwischen Verlust der IENFD und dem Onset der ALS Krankheit gesehen wurde [12].

In anderen extramotorischen betroffenen Systemen fand man widersprüchliche Ergebnisse bzgl. Unterschiede zwischen dem bulbären und spinalen Onsettyp. Es finden sich Studien, in denen Unterschiede in verschiedenen kognitiven Tests beobachtet werden konnten. Die bulbären Subtypen schnitten in diesen schlechter ab als die spinalen [40,59]. In der Gruppe des bulbären Onsets wurden von Mannarelli et al. beispielsweise häufiger Aufmerksamkeitsdefizite beobachtet [40]. Zalonis et al., sowie Ringholz et al. hingegen fanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bzgl. ihrer kognitiven Fähigkeiten [51,77].

Krankheitsdauer und Schädigung

Der Mann-Whitney-U-Test ergab eine asymptotische Signifikanz von 0,114. Somit konnte keine statistisch signifikante Korrelation zwischen Auftreten einer sensiblen Schädigung und der Krankheitsdauer gezeigt werden. Jedoch sieht man, dass in der Gruppe der Geschädigten die Krankheitsdauer höhere Werte annimmt. Man kann also eine Tendenz ablesen, dahingehend, dass mit zunehmender Krankheitsdauer auch zunehmend Schädigungen im sensiblen Nervensystem auftreten.

Die Krankheitsdauer, die wir als Zeitraum von der Diagnosestellung bis zur Messung innerhalb der Studie definierten, erstreckte sich von null bis hin zu 38 Monaten, im Mittel betrug die Krankheitsdauer 6,6 Monate, wir erfassten also ein relativ breites Spektrum mit einem kleinen Mittelwert im frühen Verlauf der Erkrankung.

Bei der Untersuchung etwaiger Zusammenhänge zwischen Art der Schädigung und dem Grad der SFN bzgl. der Krankheitsdauer fand sich ebenfalls keine signifikante Korrelation. Zwischen Krankheitsdauer und der Art der Schädigung erbrachte der Kruskal- Wallis- Test eine asymptotische Signifikanz von 0,28; bzgl. des SFN-Schweregrades einen Wert von 0,591. Eine Tendenz wie oben beschrieben erkennt man für keinen der zwei genannten Parameter.

Möglicher Grund für die fehlende signifikante Korrelation zwischen Auftreten einer Schädigung und Krankheitsdauer, könnte sein, dass die sensiblen Schädigungen relativ früh im Krankheitsverlauf auftreten. Unter dieser Annahme müssten tendenziell beide, sowohl die Patienten mit geringer Krankheitsdauer als auch die mit längerer diese Schädigung zeigen und somit keine signifikanten Unterschiede zu finden sein. Unter dieser Annahme müsste sich jedoch auch eher ein Zusammenhang zwischen Krankheitsdauer und Schweregrad zeigen (sowohl bzgl. Art der Schädigung als auch Grad der SFN), vorausgesetzt das Ausmaß der Schädigung im sensiblen Nervensystem nimmt im Krankheitsverlauf der ALS zu. Dies konnte jedoch in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Daher sollten die geäußerten Hypothesen mit Hilfe eines größeren Kollektivs weiter untersucht werden. Auch bezüglich der Untersuchung zwischen SFN-Grad (bei sehr geringen Unterschieden zwischen den einzelnen Graden) und Krankheitsdauer bedarf es deutlich größerer Fallzahlen.

Patientenalter und Schädigung

Mittels Mann-Whitney-U-Test konnte keine signifikante Korrelation zwischen den Variablen Lebensalter und Vorliegen einer SFN nachgewiesen werden. Man sieht lediglich, dass im Mittel die SFN-Betroffenen etwas jünger waren. Dies könnte bedeuten, dass sobald eine ALS Erkrankung vorliegt, die IENFD bei jüngeren Patienten stärker beeinträchtigt wird und es somit eher zur SFN kommt. Jedoch ist hierbei zu beachten, dass ein mögliches Bias durch die unterschiedliche Krankheitsdauer bestehen kann. Ein jüngerer Patient kann bereits länger an der ALS erkrankt sein als der Ältere. Wie o.g. wird davon ausgegangen, dass mit längerer Krankheitsdauer, neben den Schädigungen im motorischen Nervensystem auch diejenigen im sensiblen zunehmen.

Auch in den Untersuchungen bzgl. etwaiger Zusammenhänge zwischen Art der Schädigung / Grad der SFN und Lebensalter fanden sich keine signifikanten Unterschiede mittels Kruskal-Wallis-Test. Die Ergebnisse sind hier ebenfalls durch die unterschiedlichen Krankheitsdauern beeinflusst wie o.g. Um Verfälschungen der Ergebnisse bzgl. Lebensalter und dessen möglichen Einfluss auf das Vorhandensein sensibler Schädigung und deren Ausmaß zu vermeiden, benötigte man ein Kollektiv mit Patienten gleicher Krankheitsdauer und variablen Alters.

ALSFRS-R und Schädigung

Es konnte keine statistisch signifikante Korrelation bezogen auf den erreichten Punktewerts im ALSFRS-R nachgewiesen werden. Betrachtet man die erhobenen Werte jedoch genauer, lässt sich sagen, dass in der Gruppe der Patienten mit Schädigung im sensiblen Nervensystem der Mittelwert im ALSFRS-R etwas kleiner ausfiel. Zudem war der kleinste erhobene Punktewert im ALSFRS-R in dieser Gruppe geringer als in der Vergleichsgruppe ohne Schädigung. Diese Tendenz geht jedoch verloren, sobald man die Gruppe derer mit sensibler Schädigung nochmals unterteilt in die verschiedenen Gruppen bzgl. Art der Schädigung.

Auf Ebene der SFN beobachtet man innerhalb der Gruppen SFN Grad 0-2 ebenfalls eine gewisse Tendenz. Mit steigendem Grad der SFN, sinkt der Mittelwert der erreichten Punktzahl im ALSFRS. Die Patienten mit einer SFN Grad 3 gaben jedoch im Mittel den höchsten ALSFRS-R Wert an und waren somit am geringsten im Alltag betroffen. Bezogen auf alle Gruppen (SFN Grad 0-3) lässt sich lediglich bezüglich der erreichten Maximalwerte eine leichte Tendenz erkennen. Mit steigendem Schweregrad der SFN erreichten die Patienten niedrigerer Maximalwerte im ALSFRS-R.

Die SFN als Schädigung der kleinsten intraepidermalen Nervenfasern äußert sich meist nur subklinisch in den entsprechend durchgeführten objektiven Tests bzw. in der untersuchten Hautbiopsie, also ohne, dass der Patient selbst etwaige Veränderungen wahrnimmt. Der ALSFRS-R hingegen ist ein Fragebogen, mit welchem eine subjektive Selbstbewertung der Patienten möglich ist. Trotz seiner gängigen Verwendung in internationalen Studien als validierter Verlaufsparamater der ALS, könnte dieser Sachverhalt erklären, warum sich zwischen der von uns erhobenen Schädigung (meist SFN) und dem erhobenen ALSFRS-R Punktewert keine Korrelation zeigt. Zudem beinhaltet der Test größtenteils Fragen, die sich auf das motorische oder respiratorische System beziehen [8,17]. Keine der Fragen geht auf ein vermindertes Schmerz- oder Temperaturwahrnehmen ein, von welchem bei einer SFN auszugehen wäre. Auch dies kann ein Grund für die fehlende Korrelation sein.

4.3 Welche Nervenfasern sind bei einer vorliegenden SFN betroffen?

Betrachtet man die erhobenen pathologischen Messparameter in der QST und die damit korrelierenden geschädigten Nervenfasern, so stellt man fest, dass beim Vorliegen einer SFN, v.a. die Aδ-Fasern geschädigt sind (Kapitel 3.4, Abbildung 15) (Aδ: 38; C:26). Jedoch ist zu beachten, dass es mehrere Messparameter gibt (CPT, HPT, TSL, PHS), die sowohl Aδ-, als auch C-Fasern repräsentieren. Somit ist hier keine klare Aussage möglich, ob in diesen Fällen nur Aδ-Fasern, beide Fasertypen, oder sogar nur C-Fasern betroffen sind. Dies wird in der aktuellen Literatur diskutiert, auch wie zuverlässig die QST grundsätzlich hinsichtlich dieser Aussagen ist [43].

In dieser Studie wurde in solchen Fällen daher davon ausgegangen, dass beide, Aδ- und C-Fasern geschädigt sind. Mit diesem Wissen kann der tatsächliche (prozentuale) Anteil an geschädigten Aδ-Fasern im Kollektiv in beide Richtungen variieren. Betrachtet man das Kollektiv, so finden sich 25 von 44 Fällen, in denen sich einer oder mehrere dieser streitbaren Parameter in der QST pathologisch zeigte. Jedoch sieht man auch, dass sich in 22 dieser 25 Fälle mindestens ein Testparameter, der nur eine Aδ-Schädigung repräsentiert, pathologisch zeigte. Somit kann also maximal von einer Reduktion der Gesamtzahl an Fällen mit geschädigten Aδ-Fasern von 3 Patienten ausgegangen werden. Selbst dann sind jedoch die Aδ-Fasern noch immer diejenigen Subtypen der small-fibers, die im Kollektiv am häufigsten im Rahmen der SFN geschädigt waren. Um sicher zu stellen, welcher Nervenfasertyp in den fraglichen Fällen tatsächlich geschädigt ist, könnte eine Aδ-Faser-spezifische (histo-pathologische) Färbung der entnommenen Hautbiopsien weiterhelfen. Dies ist derzeit technisch jedoch noch nicht möglich. Eine weitere Möglichkeit wäre, die QST durch andere Messungen zu ergänzen, z.B. mittels Diodenlaser, basierend auf CO_2- und Thulium-YAG-Technologie, oder auch Schmerz-assoziierte elektrisch evozierte Potentiale (PREP für painrelated evoked potentials). Ersten Studien zu Folge sollen diese Messverfahren in der Lage sein, besser zwischen Aδ- und C-Fasern zu unterscheiden [43,46,48,70].

Zusammenfassend bleibt also die Beobachtung, dass größtenteils Aδ-Fasern betroffen waren im untersuchten Kollektiv. Dass man in weiteren Studien bereits vergleichbare Beobachtungen, sowohl bei bestehender SFN, als auch z.B. bei peripherer Polyneuropathien - bei variabler Genese der Nervenschädigungen

aufgrund verschiedener Grunderkrankungen - machte, lässt die von uns erhobenen Ergebnisse noch plausibler erscheinen [43,70].

4.4 Diagnosefähigkeit von Small fiber Neuropathien durch die quantitativ sensorische Testung (QST) – Wie zuverlässig ist die QST im Vergleich zur histopathologisch aufgearbeiteten Hautbiopsie?

Vergleicht man die QST-Messung mit der histopathologisch untersuchten Hautbiopsie (Goldstandard), so ergibt sich im Methodenvergleich für das Verfahren mittels QST eine Sensitivität von 1 (95%-Konfidenzintervall [0,877; 1]), sowie eine Spezifität von 0,125 (95%-Konfidenzintervall [0,016; 0,384]). Der positive Vorhersagewert beträgt 28/42 (66,7%), der negative Vorhersagewert 2/2 (100%).

So lässt sich sagen, dass die QST zwar in 100 % der 28 SFN-Fälle, diese ebenfalls detektierte, jedoch auch in 14 von 16 Fällen (87,5 %) bei Patienten ohne nachgewiesener SFN in der Hautbiospie eine pathologische QST Messung erbrachte. Wurden pathologische Werte in der QST gemessen, so wurde in 66,7% eine SFN in der Biopsie diagnostiziert, wurden in der QST nur Normwerte gemessen, so fand sich auch in 100 % der Fälle keine SFN in der Hautbiospie. Wichtig hierbei ist jedoch zu sehen, dass eine QST Messung auch dann pathologische Werte bringt, sobald außer den small fibers ein anderer (zusätzlicher) Teil des sensiblen Nervensystems beeinträchtigt ist, nachgewiesen z.B. durch pathologische sensible Neurografie oder SEP. Um also sicher von einer alleinigen SFN auszugehen, müssen die Patienten betrachtet werden, die sowohl normwertige Neurografien als auch SEP zeigen. Somit liegt sicher kein „höhergradiger“ Schaden vor, maximal eine SFN. Diese Beobachtung konnte bei 14/51 (Abbildung 13, Kapitel 3.3) bzw. 12/44 (nach Reduktion der Fälle) Patienten gemacht werden. Führt man innerhalb dieses kleineren Kollektivs einen erneuten Methodenvergleich durch, so kommt man zu folgenden Ergebnissen:

Sensitivität = 100 % (6/6) (95% KI = [0,7354; 1,0]), Spezifität = 0 % (0/6) (95% KI = [0; 0,2646]), positiver Vorhersagewert = 50 % (6/12), ein negativer Vorhersagewert kann nicht berechnet werden („0/0“).

Die alleinige QST-Messung kann also kein ausreichend gutes Ergebnis hinsichtlich einer SFN geben. Erst in Zusammenschau weiterer Messungen, wie die sensible Neurografie und SEP kann im Falle erhobener Pathologien in der QST auf eine möglich SFN geschlossen werden, wenn sich die übrigen Messwerte normwertig zeigen. Jedoch werden mittels QST auch dann noch zu viele falsch positive Werte erhoben, und somit in 50% der Fälle fälschlicherweise eine SFN diagnostiziert, obwohl in der Hautbiopsie keine reduzierte IENFD gefunden werden konnte. Die QST zeigt sich im Vergleich zum Goldstandard der Hautbiopsie also als nicht geeignet eine SFN zuverlässig nachzuweisen, da zu häufig falsch positive Ergebnisse erzielt werden.

Von einer spezifischeren Analyse hinsichtlich der nervenfaserspezifischen Untertests in der QST wurde von uns abgesehen, da hierfür eine Differenzierung der small fibers in der Hautbiopsie, beispielsweise mittels spezifischer Anfärbung, von Nöten wäre, was uns technisch nicht möglich war.

4.5 Limitationen

Mit dieser Studie haben wir eine Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems bei ALS Erkrankten untersucht, was im Allgemeinen gut gelang. Bei den spezifischeren Untersuchungen hinsichtlich Zusammenhänge zwischen Krankheitscharakteristika, Differenzierung der small fiber Typen und Vergleich zwischen QST und Hautbiospie, gelangen wir jedoch teilweise an die Grenzen der statistischen Auswertbarkeit und der Interpretation der Ergebnisse. Zwar fand man in bestimmten Fällen Zusammenhänge, bzw. bestimmte Tendenzen, eine statistische Signifikanz konnte jedoch meist nicht nachgewiesen werden. Ursache hierfür ist sicher zum einen das relativ kleine Kollektiv. Auch gilt es zu beachten, dass in den durchgeführten statistischen Tests immer jeweils nur zwei Variablen auf statistische Zusammenhänge untersucht wurden. Mögliche Bias durch Dritte bleiben somit verborgen. Des Weiteren fehlen weitere diagnostische Tools, wie z.B. die spezifische, histologische Anfärbung der Aδ-Fasern, um die bereits durchgeführten Untersuchungen zu vervollständigen bzw. durch weitere ergänzen zu können. Auch ist zu beachten, dass die QST-Messung grundsätzlich bei Patienten mit weitfortgeschrittener Erkrankung nur erschwert möglich ist. Für die Erhebung der Temperaturempfindlichkeit ist eine gewisse Compliance über Feedbackgabe vorauszusetzen. Dies ist bei fortgeschrittener Erkrankung motorisch und/ oder

verbal nur erschwert oder zeitlich verzögert möglich, was die Ergebnisse verfälscht. Veränderungen im sensiblen Nervensystem im späten Krankheitsstadium konnten von uns also nicht eruiert werden, da diese Patienten nicht Teil der Studie sein konnten.

4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

In dieser Studie konnte mit Hilfe verschiedener diagnostischer Verfahren eine Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems bei ALS gezeigt werden. Meist fand sich hierbei eine SFN. Ein signifikanter Unterschied konnte zwischen dem Geschlecht und der Art der Schädigung nachgewiesen werden, sodass bei Männern signifikant öfter eine Large fiber Neuropathy, sowie signifikant seltener das Ausbleiben einer Schädigung auftrat. Die alleinige Durchführung einer QST als Werkzeug für die Diagnosefindung SFN scheint im Vergleich mit der als Goldstandard geltenden Entnahme einer Hautbiospie keine ausreichend guten Ergebnisse zu bringen, da zu häufig falsch positive Ergebnisse erzielt werden. Solange jedoch die Möglichkeit der separaten Anfärbung der Aδ-Fasern noch fehlt, ist die QST ergänzend zur Hautbiopsie für die Differenzierung der small fibers nützlich. Im Falle weiterer Nachweise von erhöhter Aδ-Faser-Schädigungen bei ALS Erkrankten könnten diese wegweisend für die Diagnosestellung sein. Auch könnte sich hier ein Ansatzpunkt zum Verstehen des Pathomechanismus bzw. der Ausbreitung der ALS Erkrankung finden. Ggf. lässt sich durch weitere Studien auch ein anderes, nichtinvasives Diagnosetool für die SFN neben der, wenn auch nur minimal, aber dennoch invasiven Hautbiospie etablieren.

5. Zusammenfassung

Durch Nachweis verschiedener extramotorischer Beteiligungen bei an amyotropher Lateralsklerose (ALS) Erkrankten setzt sich in der rezenten Forschung zunehmend die Ansicht durch, dass die amyotrophe Lateralsklerose - entgegen der traditionellen Definition - eine Multisystemerkrankung mit motorischer Betonung darstellt. In dieser Studie wurde die Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems bei ALS Erkrankten untersucht. Die Diagnose ALS wurde bei allen 51 Personen (23 Frauen, 28 Männer) nach den Revised El Escorial Kriterien aus dem Jahr 2010 gestellt. Sensible Schädigungen wurde mittels Neurografie des Nervus suralis, sensibel evozierter Potentiale (SEP) des Nervus tibialis und Nervus medianus, quantitativer sensorischer Testung (QST), sowie histopathologisch entsprechend aufgearbeiteter Hautbiopsie untersucht. Die Neurografie detektiert Schädigungen der größeren Aβ-Fasern (large fibers), die SEP dienen zum Ausschluss einer primär zentralen sensiblen Schädigung. Biopsie und QST dienen speziell der Analyse der kleinen Aδ- und C- Nervenfasern der Haut (small fibers) hinsichtlich einer small fiber Neuropathie (SFN). Bei der QST handelt es sich um ein subjektives, nicht invasives Messverfahren, mit dem Reaktionen auf schmerzhafte und schmerzlose Reize quantitativ erfasst werden können. Sie stellt eine Erweiterung der klassischen klinisch-neurologischen Untersuchung des somatosensorischen Systems dar. Mittels kalibrierter Reize werden Reizschwellenwerte für verschiedene somatosensorische kutane Sinneseindrücke wie Berührungen, Vibration, mechanischen Schmerz und thermische Stimuli bestimmt, so ist eine detaillierte Funktionsuntersuchung aller sensiblen Nervenfasertypen (Aβ-, Aδ- und C-Fasern) und deren Projektion über entsprechende zentrale Bahnen ins Gehirn möglich. Für die Charakterisierung des Kollektivs allein mittels QST standen 51 Datensätze zur Verfügung, Hautbiopsien konnten bei 44 der 51 Patienten ausgewertet werden. Beim Großteil des Kollektivs konnte eine Mitbeteiligung des sensiblen Nervensystems nachgewiesen werden (72,7% bei Biopsie, Neurografie und SEP sowie 98% bei QST, Neurografie und SEP), 63,6% zeigten eine SFN in der entnommenen Biopsie. In der statistischen Analyse zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem männlichen Geschlecht und der Art der Schädigung. Im Falle einer Schädigung im sensiblen Nervensystem konnte bei Männern häufiger eine Mitbeteiligung des proximalen sensiblen Nervensystems (large fiber Neuropathie mittels pathologischer Neurographie) beobachtet werden.

Zudem gab es weniger Männer ohne sensibel Schädigung. Hinsichtlich Onset-Typ (bulbär, spinal), Krankheitsdauer, Patientenalter und klinischem Schweregrad (Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale revised) konnten in dieser Studie lediglich Tendenzen in bestimmten Fällen nachgewiesen werden, weitere statistisch signifikante Zusammenhänge fanden sich keine. In der genaueren Betrachtung der betroffenen Nervenfasertypen bei in der Biopsie nachgewiesener SFN, fiel auf, dass v.a. die Aδ-Fasern betroffen waren (86,4% versus C-Fasern 59,1%). Dieser Nachweis gelang, da die verschiedenen Untertests der QST jeweils bestimmte Nervenfasertypen repräsentieren. Eine histopathologische Unterscheidung zwischen den einzelnen small fibers, beispielsweise durch spezifische Färbungen, ist bislang noch nicht möglich. Im Vergleich zur Hautbiopsie (Goldstandard zur Diagnose einer SFN) konnte die QST als nichtinvasives Messverfahren keine gleichwertigen Ergebnisse erbringen. Mit einer Sensitivität von 1 (95%-Konfidenzintervall [0,877; 1]), gelingt es ihr zwar alle tatsächlichen SFN zu detektieren, jedoch zeigt sich das Testverfahren zu unspezifisch, was sich in einer Spezifität von nur 0,125 (95%-Konfidenzintervall [0,016; 0,384]) widerspiegelt. Der positive Vorhersagewert beträgt 66,7%, der negative Vorhersagewert 100%, somit werden mittels QST zu viele falsch positive Werte angenommen, und daher zu oft fälschlicherweise die Diagnose SFN gestellt. Solange jedoch keine als Goldstandard etablierte Möglichkeit besteht, Schädigungen der Aδ-Fasern gezielt nachzuweisen, ist die QST lediglich ergänzend zur Hautbiopsie für die Differenzierung der small fibers nützlich. Unsere Studie bietet die Grundlage für Folgestudien mit größerem Kollektiv, erweiterter Statistik, ergänzenden Testverfahren und Untersuchungen bzgl. der SFN, insbesondere der Aδ-Fasern. Ziel sollte dann sein, ein Testverfahren zu finden, welches die Diagnosefindung beschleunigt und ggf. sogar ein Screening bei Personen mit erhöhten Risikofaktoren möglich macht.

6. Literaturverzeichnis

1. Asai D J: Immunofluorescence Microscopy. Current Protocols Essential Laboratory Techniques, 10: 9.2. 1-9.2. 23 (2015)

2. Averback P, Crocker P: Regular involvement of Clarke's nucleus in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. Archives of Neurology, 39: 155-156 (1982)

3. Baltadzhieva R, Gurevich T, Korczyn A D: Autonomic impairment in amyotrophic lateral sclerosis. Current opinion in neurology, 18: 487-493 (2005)

4. Baumgartner U, Magerl W, Klein T, Hopf H C, Treede R D: Neurogenic hyperalgesia versus painful hypoalgesia: two distinct mechanisms of neuropathic pain. Pain, 96: 141-151 (2002)

5. Bischoff C, Schulte-Mattler W: Das EMG-Buch. Thieme, Stuttgart, S.333-337 (2011)

6. Blankenburg M, Boekens H, Hechler T, Maier C, Krumova E, Scherens A, Magerl W, Aksu F, Zernikow B: Reference values for quantitative sensory testing in children and adolescents: Developmental and gender differences of somatosensory perception. Pain, 149: 76-88 (2010)

7. Bradley W G, Good P, Rasool C G, Adelman L S: Morphometric and biochemical studies of peripheral nerves in amyotrophic lateral sclerosis. Annals of Neurology, 14: 267-277 (1983)

8. Brooks B: Amyotrophic lateral sclerosis clinimetric scales: guidelines for administration and scoring. Handbook of clinical neurologic scales.New York: Demos Vermande, 27-79 (1997)

9. Brooks B R, Miller R G, Swash M, Munsat T L: El Escorial revisited: Revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders, 1: 293-299 (2000)

10. Chou S M, Norris F H: Amyotrophic lateral sclerosis: lower motor neuron disease spreading to upper motor neurons. Muscle & nerve, 16: 864-869 (1993)

11. Copperman R: Letter: Decreased lacrimation in amyotrophic lateral sclerosis. JAMA, 230: 536 (1974)

12. Dalla Bella E, Lombardi R, Porretta-Serapiglia C, Ciano C, Gellera C, Pensato V, Cazzato D, Lauria G: Amyotrophic lateral sclerosis causes small fiber pathology. European Journal of Neurology, 23: 416-420 (2016)

13. Ebenezer G J, Hauer P, Gibbons C, McArthur J C, Polydefkis M: Assessment of epidermal nerve fibers: a new diagnostic and predictive tool for peripheral neuropathies. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 66: 1059-1073 (2007)

14. Fagius J, Wahren L K: Variability of sensory threshold determination in clinical use. Journal of the neurological sciences, 51: 11-27 (1981)

15. Fischer A A: Pressure algometry over normal muscles. Standard values, validity and reproducibility of pressure threshold. Pain, 30: 115-126 (1987)

16. Fischer L R, Culver D G, Tennant P, Davis A A, Wang M, Castellano-Sanchez A, Khan J, Polak M A, Glass J D: Amyotrophic lateral sclerosis is a distal axonopathy: evidence in mice and man. Experimental neurology, 185: 232-240 (2004)

17. Franchignoni,Franco, Mora,Gabriele, Giordano,Andrea, Volanti,Paolo, ChiÃ²,Adriano: Evidence of multidimensionality in the ALSFRS-R Scale: a critical appraisal on its measurement properties using Rasch analysis. (2013)

18. Frey M v: Untersuchungen über die Sinnesfunctionen der menschlichen Haut. Erste Abhandlung: Druckempfindung und Schmerz. Abhandlungen der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften: Mathematisch-physische Classe, 23: 171-266 (1896)

19. Fruhstorfer H, Gross W, Selbmann O: von Frey hairs: new materials for a new design. European Journal of Pain, 5: 341-342 (2001)

20. Fruhstorfer H, Lindblom U, Schmidt W C: Method for quantitative estimation of thermal thresholds in patients. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 39: 1071-1075 (1976)

21. Gastl R, Ludolph A C: Amyotrophe Lateralsklerose. Der Nervenarzt December 2007, Volume 78, Issue 12, pp 1449-1459, 78: 1449-1459 (2007)

22. Gibbons C H, Griffin J W, Polydefkis M, Bonyhay I, Brown A, Hauer P E, McArthur J C: The utility of skin biopsy for prediction of progression in suspected small fiber neuropathy. Neurology, 66: 256-258 (2006)

23. Gold B G: The pathophysiology of proximal neurofilamentous giant axonal swellings: implications for the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. Toxicology, 46: 125-139 (1987)

24. Goldberg J M, Lindblom U: Standardised method of determining vibratory perception thresholds for diagnosis and screening in neurological investigation. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 42: 793-803 (1979)

25. Hardiman O, van den Berg L H, Kiernan M C: Clinical diagnosis and management of amyotrophic lateral sclerosis. Nature Reviews Neurology, 7: 639-649 (2011)

26. Herrero J F, Laird J M, Lopez-Garcia J A: Wind-up of spinal cord neurones and pain sensation: much ado about something? Progress in neurobiology, 61: 169-203 (2000)

27. Hubers A, Ludolph A C, Rosenbohm A, Pinkhardt E H, Weishaupt J H, Dorst J: [Amyotrophic lateral sclerosis : Multisystem degeneration]. Nervenarzt, 87: 179-188 (2016)

28. Iglesias C, Sangari S, El Mendili M, Benali H, Marchand-Pauvert V, Pradat P: Electrophysiological and spinal imaging evidences for sensory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. BMJ Open, 5: e007659 (2015)

29. Isaacs J D, Dean A F, Shaw C E, Al-Chalabi A, Mills K R, Leigh P N: Amyotrophic lateral sclerosis with sensory neuropathy: part of a multisystem disorder?. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 78: 750-753 (2007)

30. Kawamura Y, Dyck P J, Shimono M, Okazaki H, Tateishi J, Doi H: Morphometric comparison of the vulnerability of peripheral motor and sensory neurons in amyotrophic lateral sclerosis. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 40: 667-675 (1981)

31. Kennedy W R, Wendelschafer-Crabb G, Polydefkis M, McArthur J C: Pathology and quantitation of cutaneous innervation. Peripheral neuropathy, Elsevier Inc., S. 869-895 (2005)

32. Kilo S, Schmelz M, Koltzenburg M, Handwerker H O: Different patterns of hyperalgesia induced by experimental inflammation in human skin. Brain, 117: 385-396 (1994)

33. Kollewe K, Andersen P M, Borasio G D, Hardiman O, Leigh P N, Pradat P F, Silani V, Tomik B, Dengler R: Klinische Leitlinien zur Behandlung der Amyotrophen Lateralsklerose - Evidenzbasierte Übersicht mit Therapieempfehlungen der Arbeitsgruppe der EALSC und der EFNS. Nervenheilkunde, 27: 302-316 (2008)

34. Kosek E, Ekholm J, Hansson P: Pressure pain thresholds in different tissues in one body region. The influence of skin sensitivity in pressure algometry. Scandinavian journal of rehabilitation medicine, 31: 89-93 (1999)

35. LaMotte R H, Shain C N, Simone D A, Tsai E F: Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms. Journal of neurophysiology, 66: 190-211 (1991)

36. Lauria G, Cornblath D R, Johansson O, McArthur J C, Mellgren S I, Nolano M, Rosenberg N, Sommer C, European Federation of Neurological Societies: EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. European Journal of Neurology, 12: 747-758 (2005)

37. Lauria G, Hsieh S T, Johansson O, Kennedy W R, Leger J M, Mellgren S I, Nolano M, Merkies I S J, Polydefkis M, Smith A G, Sommer C, Valls-Sole J, European Federation of Neurological Societies, Peripheral Nerve Society: European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. European Journal of Neurology, 17: 903-912 (2010)

38. Lauria G, Morbin M, Lombardi R, Borgna M, Mazzoleni G, Sghirlanzoni A, Pareyson D: Axonal swellings predict the degeneration of epidermal nerve fibers in painful neuropathies. Neurology, 61: 631-636 (2003)

39. Lauria G, Bakkers M, Schmitz C, Lombardi R, Penza P, Devigili G, Smith A G, Hsieh S, Mellgren S I, Umapathi T, Ziegler D, Faber C G, Merkies I S J: Intraepidermal nerve fiber density at the distal leg: a worldwide normative reference study. Journal of the Peripheral Nervous System, 15: 202-207 (2010)

40. Mannarelli D, Pauletti C, Locuratolo N, Vanacore N, Frasca V, Trebbastoni A, Inghilleri M, Fattapposta F: Attentional processing in bulbar- and spinal-onset amyotrophic lateral sclerosis: Insights from event-related potentials. Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration, 15: 30-38 (2014)

41. Maurer K, Eckert J: Praxis der Evozierten Potentiale. Enke, Stuttgart, S.5-56 (1999)

42. McCombe P A, Henderson R D: Effects of gender in amyotrophic lateral sclerosis. (2010)

43. MoellerBertram T, Schilling J M, Backonja M M, Nemenov M I: Sensory Small Fiber Function Differentially Assessed with Diode Laser (DL) Quantitative Sensory Testing (QST) in Painful Neuropathy (PN). Pain Medicine, 14: 417-421 (2013)

44. Mucke M, Cuhls H, Radbruch L, Baron R, Maier C, Tolle T, Treede R -, Rolke R: Quantitative sensory testing. Schmerz, 28: 635-648 (2014)

45. Mucke M, Cuhls H, Radbruch L, Baron R, Maier C, Tolle T, Treede R, Rolke R: Quantitative sensory testing (QST). English version. Der Schmerz, (2016)

46. Omori S, Isose S, Misawa S, Watanabe K, Sekiguchi Y, Shibuya K, Beppu M, Amino H, Kuwabara S: Pain-related evoked potentials after intraepidermal electrical stimulation to Aδ and C fibers in patients with neuropathic pain. (2017)

47. Palmieri A, Naccarato M, Abrahams S, Bonato M, D'Ascenzo C, Balestreri S, Cima V, Querin G, Dal Borgo R, Barachino L, Volpato C, Semenza C, Pegoraro E, Angelini C, Soraru G: Right hemisphere dysfunction and emotional processing in ALS: an fMRI study. Journal of neurology, 257: 1970-1978 (2010)

48. Papagianni A E, Siedler G, KÃ¡hn A, Sommer C, ÃœÃ§eyler N: T84. Reduced amplitudes of pain-related evoked potentials in patients with neuropathic pain and normal small nerve fiber function and morphology. (2018)

49. Pollari E, Goldsteins G, Bart G, Koistinaho J, Giniatullin R: The role of oxidative stress in degeneration of the neuromuscular junction in amyotrophic lateral sclerosis. Frontiers in Cellular Neuroscience, 8: 131 (2014)

50. Pugdahl K, Fuglsang-Frederiksen A, de Carvalho M, Johnsen B, Fawcett P R W, Labarre-Vila A, Liguori R, Nix W A, Schofield I S: Generalised sensory system abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis: a European multicentre study. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 78: 746-749 (2007)

51. Ringholz G, Appel S H, Bradshaw M, Cooke N, Mosnik D, Schulz P: Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS. Neurology, 65: 586-590 (2005)

52. Rolke R. Radbruch L.: Screening and diagnostic work-up of neuropathic pain. Nervenheilkunde, 31: 125-131 (2012)

53. Rolke R, Andrews Campbell K, Magerl W, Treede R: Deep pain thresholds in the distal limbs of healthy human subjects. European Journal of Pain, 9: 39-48 (2005)

54. Rolke R, Baron R, Maier C, Tölle T R, Treede R -, Beyer A, Binder A, Birbaumer N, Birklein F, Bötefür I C, Braune S, Flor H, Huge V, Klug R, Landwehrmeyer G B, Magerl W, Maihöfner C, Rolko C, Schaub C, Scherens A, Sprenger T, Valet M, Wasserka B: Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): Standardized protocol and reference values. Pain, 123: 231-243 (2006)

55. Rolke R, Magerl W, Campbell K A, Schalber C, Caspari S, Birklein F, Treede R -: Quantitative sensory testing: A comprehensive protocol for clinical trials. European Journal of Pain, 10: 77-88 (2006)

56. Rosenbohm A, Peter R S, Erhardt S, Lule D, Rothenbacher D, Ludolph A C, Nagel G, ALS Registry Study Group: Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis in Southern Germany. Journal of neurology, 264: 749-757 (2017)

57. Rydel A, Seiffer W: Untersuchungen über das Vibrationsgefühl oder die sog. „Knochensensibilität“ (Pallästhesie). Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten, 37: 488 (1903)

58. Sawada H: Clinical efficacy of edaravone for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. Expert opinion on pharmacotherapy, 18: 735-738 (2017)

59. Schreiber H, Gaigalat T, Wiedemuth-Catrinescu U, Graf M, Uttner I, Muche R, Ludolph A C: Cognitive function in bulbar- and spinal-onset amyotrophic lateral sclerosis. A longitudinal study in 52 patients. Journal of neurology, 252: 772-781 (2005)

60. Shimizu T, Hayashi H, Kato S, Hayashi M, Tanabe H, Oda M: Circulatory collapse and sudden death in respirator-dependent amyotrophic lateral sclerosis. Journal of the neurological sciences, 124: 45-55 (1994)

61. Shimizu T, Kato S, Hayashi M, Hayashi H, Tanabe H: Amyotrophic lateral sclerosis with hypertensive attacks: blood pressure changes in response to drug administration. Clinical Autonomic Research, 6: 241-244 (1996)

62. Shindo K, Shimokawa C, Watanabe H, Iida H, Ohashi K, Nitta K, Nagasaka T, Tsunoda S, Shiozawa Z: Chronological changes of sympathetic outflow to muscles in amyotrophic lateral sclerosis. Journal of the neurological sciences, 227: 79-84 (2004)

63. Sommer C, Lauria G: Skin biopsy in the management of peripheral neuropathy. Lancet Neurology, 6: 632-642 (2007)

64. Stöhr M: Atlas der klinischen Elektromyographie und Neurographie. Kohlhammer, Stuttgart; Berlin; Köln, S. S.146-S.155 (1998)

65. Stöhr M: Atlas der klinischen Elektromyographie und Neurographie. Kohlhammer, Stuttgart; Berlin; Köln, S. S.46-S.74 (1998)

66. Toepfer M, Folwaczny C, Klauser A, Riepl R L, Muller-Felber W, Pongratz D: Gastrointestinal dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotrophic Lateral Sclerosis & Other Motor Neuron Disorders, 1: 15-19 (1999)

67. Toepfer M, Schroeder M, Klauser A, Lochmuller H, Hirschmann M, Riepl R L, Pongratz D, Muller-Felber W: Delayed colonic transit times in amyotrophic lateral sclerosis assessed with radio-opaque markers. European journal of medical research, 2: 473-476 (1997)

68. Truini A, Biasiotta A, Onesti E, Di Stefano G, Ceccanti M, La Cesa S, Pepe A, Giordano C, Cruccu G, Inghilleri M: Small-fibre neuropathy related to bulbar and spinal-onset in patients with ALS. Journal of neurology, 262: 1014-1018 (2015)

69. Tsuji-Akimoto S, Hamada S, Yabe I, Tamura I, Otsuki M, Kobashi S, Sasaki H: Writing errors as a result of frontal dysfunction in Japanese patients with amyotrophic lateral sclerosis. Journal of neurology, 257: 2071-2077 (2010)

70. Uceyler N., Kahn A.K., Kewenig S., Sommer C L: Pain-related evoked potentials: Potent tool for the assessment of a-delta fibers, (var.pagings). 18 (SUPPL. 2) (pp S117-S118); Blackwell Publishing Inc. S.117-118, (2013)

71. Uenal H, Rosenbohm A, Kufeldt J, Weydt P, Goder K, Ludolph A, Rothenbacher D, Nagel G, ALS registry Study Group: Incidence and geographical variation of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in Southern Germany--completeness of the ALS registry Swabia. PLoS ONE [Electronic Resource], 9: e93932 (2014)

72. Vogel P: Kursbuch klinische Neurophysiologie : EMG - ENG - Evozierte Potentiale. - Buch. Thieme, Stuttgart u.a.], S.71-151 (2011)

73. WEINSTEIN S: Intensive and Extensive Aspects of Tactile Sensitivity as a Function of Body Part, Sex and Laterality. the First Int' l symp.on the Skin Senses, 1968, (1968)

74. Weis J, Katona I, Muller-Newen G, Sommer C, Necula G, Hendrich C, Ludolph A C, Sperfeld A -: Small-fiber neuropathy in patients with ALS. Neurology, 76: 2024-2029 (2011)

75. Wirths O, Weis J, Kayed R, Saido T C, Bayer T A: Age-dependent axonal degeneration in an Alzheimer mouse model. Neurobiology of aging, 28: 1689-1699 (2007)

76. Yarnitsky D, Sprecher E: Thermal testing: normative data and repeatability for various test algorithms. Journal of the neurological sciences, 125: 39-45 (1994)

77. Zalonis,Ioannis, Christidi,Foteini, Paraskevas,Georgios, Zabelis,Thomas, Evdokimidis,Ioannis, Kararizou,Evangelia: Can Executive Cognitive Measures Differentiate Between Patients with Spinal- and Bulbar-Onset Amyotrophic Lateral Sclerosis? Archives of Clinical Neuropsychology, 27: 348-354 (2012)

Anhang

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beschreibung des ALS-Kollektivs bzgl. Geschlecht und Art des Krankheitsonsets, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. ALS: Amyotrophe Lateralsklerose 6
Tabelle 2: Beschreibung des ALS-Kollektivs bzgl. Alter, Krankheitsdauer, Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R), intraepidermale Nervenfaserdichte (IENFD), Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. ALS: Amyotrophe Lateralsklerose 6
Tabelle 3: Auflistung der messbaren Parameter der quantitativ sensorischen Testung (QST) und dem damit entsprechenden, erfassten neurologischen Korrelat nach Rolke et al., 2006a und 2012 [57,59] sowie „Physiologie“ Hans-Christian Pape [54] 10
Tabelle 4: Geschlechts- und altersspezifische Normwerte für die intraepidermale Nervenfaserdichte (IENFD) in der Einheit Nervenfasern/ mm [46] 21
Tabelle 5: Untersuchte Merkmale im Kollektiv der an Amyotrophe Lateral Sklerose erkrankten Patienten und dementsprechend angewandte statistische Tests, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. SFN: Small-Fiber-Neuropathie; ALSFRS-R: Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised 23
Tabelle 6: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten Patienten hinsichtlich des Schweregrades der Small-Fiber-Neuropathie (SFN), Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 30
Tabelle 7: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten Patienten hinsichtlich Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Geschlecht, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 31
Tabelle 8: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten Patienten hinsichtlich Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Krankheitsonset, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 31
Tabelle 9: Übersichtstabelle über die berechneten p-Werte in den jeweils durchgeführten statistischen Test. ASLFRS-R: Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised; SFN: Small-Fiber-Neuropathie..... 34
Tabelle 10: Häufigkeitsverteilung im Kollektiv der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten bzgl. der erfassten pathologischen

Nervenfaserqualitäten in der quantitativ sensorischen Testung, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 37
Tabelle 11: Methodenvergleich zwischen entnommener Biopsie und quantitativ sensorischer Testung (QST) - absolute Häufigkeiten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-216 39
Tabelle 12: Methodenvergleich zwischen Neurografie und Untertest bzgl. Aβ-Fasern in der quantitativ sensorischen Testung (QST) - absolute Häufigkeiten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016..... 39

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zähltechnik zur Quantifizierung der intraepidermalen Nervenfasern (IENF) (Grafik nach [13,36]); Nerven schwarz, Dermis orange, Epidermis beige, am Übergang die Basalmembran 20
Abbildung 2: Überblick der Befunde im ALS-Kollektiv für n=44, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. N/A: nicht verfügbare Daten; SEP: somatosensibel evozierte Potentiale; SFN: Small-Fiber-Neuropathie; ALS: Amyotrophe Lateralsklerose 24
Abbildung 3: Art der Schädigung des sensiblen Nervensystems - Häufigkeitsverteilung innerhalb des ALS-Kollektivs n=44, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. ALS: Amyotrophe Lateralsklerose 25
Abbildung 4: Boxplot-Darstellung von sensibler Schädigung und Krankheitsdauer der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 27
Abbildung 5: Boxplot-Darstellung von Art der Schädigung im sensiblen Nervensystem und Krankheitsdauer der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 27
Abbildung 6: Boxplot-Darstellung von sensibler Schädigung und Lebensalter der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 28
Abbildung 7: Boxplot-Darstellung von Art der Schädigung im sensiblen Nervensystem und Lebensalter der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 28
Abbildung 8: Boxplot-Darstellung von sensibler Schädigung und erzieltem Punktewert im Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 29
Abbildung 9: Boxplot-Darstellung von Art der Schädigung im sensiblen Nervensystem und erzieltem Punktewert im Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 30

Abbildung 10: Boxplot-Darstellung von Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Krankheitsdauer der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016..... 32
Abbildung 11: Boxplot-Darstellung von Schweregrad der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und Lebensalter der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016..... 32
Abbildung 12: Boxplot-Darstellung von Schweregrad (Grad 0-3) der Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und erzieltem Punktewert im Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016 33
Abbildung 13: Überblick über die einzelnen Befunde im ALS-Kollektiv für n=51, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. N/A: nicht verfügbare Daten; SEP: somatosensibel evozierte Potentiale; SFN: Small-Fiber-Neuropathie, QST: quantitative sensorische Testung, ALS: Amyotrophe Lateralsklerose 35
Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der pathologischen Parameter in der quantitativ sensorischen Testung (QST) der untersuchten, an Amyotrophe Lateral Sklerose erkrankten, Patienten, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. CDT: Cold Detection Threshold; WDT: Warm Detection Threshold; CPT: Cold Pain Threshold; HPT: Heat Pain Threshold; TSL: Thermal Sensory Limen; PHS: Paradoxical Heat Sensation; PPT: Pressure Pain Threshold; MPT: Mechanical Pain Threshold; MPS: Mechanical Pain Sensitivity; WUR: Wind-Up Ratio; MDT: Mechanical Detection Threshold; VDT: Vibration Detection Threshold; DMA: Dynamic Mechanical Allodynia 36
Abbildung 15: Häufigkeitsverteilung der betroffenen Nervenfasern/ des betroffenen neurologischen Korrelats in der quantitativ sensorischen Testung (QST) der untersuchten, an Amyotrophe Lateralsklerose erkrankten, Patienten für n=44, Universitäts- und Rehabilitationsklinik Ulm 2013-2016. Zentrale S/D: Zentrale Sensibilisierung/ Disinhibition 38

Danksagung

Die Danksagung wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.