



References



1. Lucchinetti C, Bruck W, Noseworthy J 2001 Multiple sclerosis: recent developments in neuropathology, pathogenesis, magnetic resonance imaging studies and treatment. *Current opinion in neurology* 14:259-269
2. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG 2000 Multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 343:938-952
3. Bjartmar C, Trapp BD 2001 Axonal and neuronal degeneration in multiple sclerosis: mechanisms and functional consequences. *Current opinion in neurology* 14:271-278
4. Vukusic S, Confavreux C 2007 Natural history of multiple sclerosis: risk factors and prognostic indicators. *Current opinion in neurology* 20:269-274
5. Trapp BD, Nave KA 2008 Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annual review of neuroscience* 31:247-269
6. Ascherio A, Munger KL 2007 Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Annals of neurology* 61:288-299
7. Hauser SL, Oksenberg JR 2006 The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron* 52:61-76
8. Leibowitz U, Antonovsky A, Medalie JM, Smith HA, Halpern L, Alter M 1966 Epidemiological study of multiple sclerosis in Israel. II. Multiple sclerosis and level of sanitation. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 29:60-68
9. Giovannoni G, Ebers G 2007 Multiple sclerosis: the environment and causation. *Current opinion in neurology* 20:261-268
10. Fleming JO, Cook TD 2006 Multiple sclerosis and the hygiene hypothesis. *Neurology* 67:2085-2086
11. Leibowitz U, Sharon D, Alter M 1967 Geographical considerations in multiple sclerosis. *Brain* 90:871-886
12. Pierrot-Deseilligny C 2009 Clinical implications of a possible role of vitamin D in multiple sclerosis. *Journal of neurology* 256:1468-1479
13. Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GP, Bulman D, Hashimoto L, Paty DW, Hashimoto SA, Warren S, Hader W, Murray TJ, et al. 1993 A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Annals of neurology* 33:281-285
14. Sawcer S 2006 A new era in the genetic analysis of multiple sclerosis. *Current opinion in neurology* 19:237-241
15. Sawcer S 2008 The complex genetics of multiple sclerosis: pitfalls and prospects. *Brain* 131:3118-3131
16. Breij EC, van der Pol WL, van Winsen L, Jansen MD, Dijkstra CD, van de Winkel JG, Uitdehaag BM 2003 No association of Fc gamma RIIa, Fc gamma RIIIa and Fc gamma RIIIb polymorphisms with MS. *Journal of neuroimmunology* 140:210-215
17. Burwick RM, Ramsay PP, Haines JL, Hauser SL, Oksenberg JR, Pericak-Vance MA, Schmidt S, Compston A, Sawcer S, Cittadella R, Savettieri G, Quattrone A, Polman CH, Uitdehaag BM, Zwermer JN, Hawkins CP, Ollier WE, Weatherby S, Enzinger C, Fazekas F, Schmidt H, Schmidt R, Hillert J, Masterman T, Hogg P, Niino M, Kikuchi S, Maciel P, Santos M, Rio ME, Kwiecinski H, Zakrzewska-Pniewska B, Evangelou N, Palace J, Barcellos LF 2006 APOE epsilon variation in multiple sclerosis susceptibility and disease severity: some answers. *Neurology* 66:1373-1383
18. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW 1983 New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Annals of neurology* 13:227-231
19. Korteweg T, Tintore M, Uitdehaag B, Rovira A, Frederiksen J, Miller D, Fernando K, Filippi M, Agosta F, Rocca M, Fazekas F, Enzinger C, Matthews P, Parry A, Polman C, Montalban X, Barkhof F 2006 MRI criteria for dissemination in space in patients with clinically isolated syndromes: a multicentre follow-up study. *Lancet neurology* 5:221-227

20. Barkhof F, Filippi M, Miller DH, Scheltens P, Campi A, Polman CH, Comi G, Ader HJ, Losseff N, Valk J 1997 Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain* 120 (Pt 11):2059-2069
21. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den Noort S, Weinschenker BY, Wolinsky JS 2001 Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology* 50:121-127
22. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinschenker BG, Wolinsky JS 2005 Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Annals of neurology* 58:840-846
23. Kurtzke JF 1983 Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33:1444-1452
24. Cutter GR, Baier ML, Rudick RA, Cookfair DL, Fischer JS, Petkau J, Sydulko K, Weinschenker BG, Antel JB, Confavreux C, Ellison GW, Lublin F, Miller AE, Rao SM, Reingold S, Thompson A, Willoughby E 1999 Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain* 122 (Pt 5):871-882
25. Wiendl H, Hohlfeld R 2009 Multiple sclerosis therapeutics: unexpected outcomes clouding undisputed successes. *Neurology* 72:1008-1015
26. Rose JW, Foley JE, Carlson NG 2009 Monoclonal antibody treatments for multiple sclerosis. *Current treatment options in neurology* 11:211-220
27. Comi G 2008 Induction vs. escalating therapy in multiple sclerosis: practical implications. *Neurol Sci* 29 Suppl 2:S253-255
28. Huitinga I, Erkut ZA, van Beurden D, Swaab DF 2003 The hypothalamo-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci* 992:118-128
29. Sternberg EM 2001 Neuroendocrine regulation of autoimmune/inflammatory disease. *J Endocrinol* 169:429-435
30. Filippini G, Brusafferri F, Sibley WA, Citterio A, Ciucci G, Midgard R, Candelise L 2000 Corticosteroids or ACTH for acute exacerbations in multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev*:CD001331
31. Leussink VI, Jung S, Merschorf U, Toyka KV, Gold R 2001 High-dose methylprednisolone therapy in multiple sclerosis induces apoptosis in peripheral blood leukocytes. *Archives of neurology* 58:91-97
32. Spahn JD, Landwehr LP, Nimmagadda S, Surs W, Leung DY, Szeffler SJ 1996 Effects of glucocorticoids on lymphocyte activation in patients with steroid-sensitive and steroid-resistant asthma. *J Allergy Clin Immunol* 98:1073-1079
33. Hearing SD, Norman M, Probert CS, Haslam N, Dayan CM 1999 Predicting therapeutic outcome in severe ulcerative colitis by measuring in vitro steroid sensitivity of proliferating peripheral blood lymphocytes. *Gut* 45:382-388
34. Kirkham BW, Corkill MM, Davison SC, Panayi GS 1991 Response to glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: in vitro cell mediated immune assay predicts in vivo responses. *J Rheumatol* 18:821-825
35. Kirwan JR, Balint G, Szebenyi B 1999 Anniversary: 50 years of glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 38:100-102
36. Eisen AA, Norris JW 1969 Adrenal steroid therapy in neurological disease. Part I. *Can Med Assoc J* 100:27-30
37. Miller DM, Weinstock-Guttman B, Bethoux F, Lee JC, Beck G, Block V, Durelli L, LaMantia L, Barnes D, Sellebjerg F, Rudick RA 2000 A meta-analysis of methylprednisolone in recovery from multiple sclerosis exacerbations. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 6:267-273

38. Durelli L, Cocito D, Riccio A, Barile C, Bergamasco B, Baggio GF, Perla F, Delsedime M, Gusmaroli G, Bergamini L 1986 High-dose intravenous methylprednisolone in the treatment of multiple sclerosis: clinical-immunologic correlations. *Neurology* 36:238-243
39. Sellebjerg F, Barnes D, Filippini G, Midgard R, Montalban X, Rieckmann P, Selmaj K, Visser LH, Sorensen PS 2005 EFNS guideline on treatment of multiple sclerosis relapses: report of an EFNS task force on treatment of multiple sclerosis relapses. *Eur J Neurol* 12:939-946
40. Frohman EM, Shah A, Eggenberger E, Metz L, Zivadinov R, Stuve O 2007 Corticosteroids for multiple sclerosis: I. Application for treating exacerbations. *Neurotherapeutics* 4:618-626
41. Rhen T, Cidlowski JA 2005 Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *The New England journal of medicine* 353:1711-1723
42. van den Akker EL, Russcher H, van Rossum EF, Brinkmann AO, de Jong FH, Hokken A, Pols HA, Koper JW, Lamberts SW 2006 Glucocorticoid receptor polymorphism affects transrepression but not transactivation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91:2800-2803
43. Gross KL, Cidlowski JA 2008 Tissue-specific glucocorticoid action: a family affair. *Trends Endocrinol Metab* 19:331-339
44. Chrousos GP 1995 The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *The New England journal of medicine* 332:1351-1362
45. Huitinga I, Erkut ZA, van Beurden D, Swaab DF 2004 Impaired hypothalamus-pituitary-adrenal axis activity and more severe multiple sclerosis with hypothalamic lesions. *Annals of neurology* 55:37-45
46. Gold SM, Mohr DC, Huitinga I, Flachenecker P, Sternberg EM, Heesen C 2005 The role of stress-response systems for the pathogenesis and progression of MS. *Trends Immunol* 26:644-652
47. Heesen C, Mohr DC, Huitinga I, Bergh FT, Gaab J, Otte C, Gold SM 2007 Stress regulation in multiple sclerosis: current issues and concepts. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 13:143-148
48. Then Bergh F, Kumpfel T, Trenkwalder C, Rupprecht R, Holsboer F 1999 Dysregulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis is related to the clinical course of MS. *Neurology* 53:772-777
49. Heesen C, Gold SM, Raji A, Wiedemann K, Schulz KH 2002 Cognitive impairment correlates with hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysregulation in multiple sclerosis. *Psychoneuroendocrinology* 27:505-517
50. Grasser A, Moller A, Backmund H, Yassouridis A, Holsboer F 1996 Heterogeneity of hypothalamic-pituitary-adrenal system response to a combined dexamethasone-CRH test in multiple sclerosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 104:31-37
51. Fassbender K, Schmidt R, Mossner R, Kischka U, Kuhnen J, Schwartz A, Hennerici M 1998 Mood disorders and dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis: association with cerebral inflammation. *Archives of neurology* 55:66-72
52. Then Bergh F, Kumpfel T, Grasser A, Rupprecht R, Holsboer F, Trenkwalder C 2001 Combined treatment with corticosteroids and moclobemide favors normalization of hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysregulation in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized, double blind trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 86:1610-1615
53. Honda M, Orii F, Ayabe T, Imai S, Ashida T, Obara T, Kohgo Y 2000 Expression of glucocorticoid receptor beta in lymphocytes of patients with glucocorticoid-resistant ulcerative colitis. *Gastroenterology* 118:859-866
54. Christodouloupolous P, Leung DY, Elliott MW, Hogg JC, Muro S, Toda M, Laberge S, Hamid QA 2000 Increased number of glucocorticoid receptor-beta-expressing cells in the airways in fatal asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106:479-484
55. van den Akker EL, Koper JW, van Rossum EF, Dekker MJ, Russcher H, de Jong FH, Uitterlinden AG,

- Hofman A, Pols HA, Witteman JC, Lamberts SW 2008 Glucocorticoid receptor gene and risk of cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 168:33-39
56. van Rossum EF, Roks PH, de Jong FH, Brinkmann AO, Pols HA, Koper JW, Lamberts SW 2004 Characterization of a promoter polymorphism in the glucocorticoid receptor gene and its relationship to three other polymorphisms. *Clinical endocrinology* 61:573-581
57. Derijk RH, de Kloet ER 2008 Corticosteroid receptor polymorphisms: determinants of vulnerability and resilience. *Eur J Pharmacol* 583:303-311
58. Derijk RH, Schaaf MJ, Turner G, Datson NA, Vreugdenhil E, Cidlowski J, de Kloet ER, Emery P, Sternberg EM, Detera-Wadleigh SD 2001 A human glucocorticoid receptor gene variant that increases the stability of the glucocorticoid receptor beta-isoform mRNA is associated with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 28:2383-2388
59. Schaaf MJ, Cidlowski JA 2002 AUUUA motifs in the 3'UTR of human glucocorticoid receptor alpha and beta mRNA destabilize mRNA and decrease receptor protein expression. *Steroids* 67:627-636
60. Kumsta R, Entringer S, Koper JW, van Rossum EF, Hellhammer DH, Wust S 2007 Sex specific associations between common glucocorticoid receptor gene variants and hypothalamus-pituitary-adrenal axis responses to psychosocial stress. *Biol Psychiatry* 62:863-869
61. van Rossum EF, Koper JW, Huizenga NA, Uitterlinden AG, Janssen JA, Brinkmann AO, Grobbee DE, de Jong FH, van Duyn CM, Pols HA, Lamberts SW 2002 A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels. *Diabetes* 51:3128-3134
62. Russcher H, van Rossum EF, de Jong FH, Brinkmann AO, Lamberts SW, Koper JW 2005 Increased expression of the glucocorticoid receptor-A translational isoform as a result of the ER22/23EK polymorphism. *Mol Endocrinol* 19:1687-1696
63. van Rossum EF, Binder EB, Majer M, Koper JW, Ising M, Modell S, Salyakina D, Lamberts SW, Holsboer F 2006 Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene and major depression. *Biol Psychiatry* 59:681-688
64. Decorti G, De Iudicibus S, Stocco G, Martelossi S, Drigo I, Bartoli F, Ventura A 2006 Glucocorticoid receptor polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Gut* 55:1053-1054
65. Boyle B, Koranyi K, Patocs A, Liko I, Szappanos A, Bertalan R, Racz K, Balazs C 2008 Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene in Graves ophthalmopathy. *Br J Ophthalmol* 92:131-134
66. Stevens A, Ray DW, Zeggini E, John S, Richards HL, Griffiths CE, Donn R 2004 Glucocorticoid sensitivity is determined by a specific glucocorticoid receptor haplotype. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 89:892-897
67. Donn R, Payne D, Ray D 2007 Glucocorticoid receptor gene polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis. *Clinical endocrinology* 67:342-345
68. Besedovsky HO, del Rey A 1996 Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 17:64-102
69. Reder AT, Makowiec RL, Lowy MT 1994 Adrenal size is increased in multiple sclerosis. *Archives of neurology* 51:151-154
70. Purba JS, Raadsheer FC, Hofman MA, Ravid R, Polman CH, Kamphorst W, Swaab DF 1995 Increased number of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of patients with multiple sclerosis. *Neuroendocrinology* 62:62-70
71. Reder AT, Lowy MT, Meltzer HY, Antel JP 1987 Dexamethasone suppression test abnormalities in multiple sclerosis: relation to ACTH therapy. *Neurology* 37:849-853
72. Then Bergh F, Grasser A, Trenkwalder C, Backmund H, Holsboer F, Rupprecht R 1999 Binding characteristics of the glucocorticoid receptor in peripheral blood lymphocytes in multiple sclerosis. *Journal of neurology* 246:292-298

73. Michelson D, Stone L, Galliven E, Magiakou MA, Chrousos GP, Sternberg EM, Gold PW 1994 Multiple sclerosis is associated with alterations in hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 79:848-853
74. Erkut ZA, Endert E, Huitinga I, Swaab DF 2002 Cortisol is increased in postmortem cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients: relationship with cytokines and sepsis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 8:229-236
75. van Winsen LM, Muris DF, Polman CH, Dijkstra CD, van den Berg TK, Uitdehaag BM 2005 Sensitivity to glucocorticoids is decreased in relapsing remitting multiple sclerosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 90:734-740
76. Knight SC, Lance EM, Abbosh J, Munro A, O'Brien J 1975 Intensive immunosuppression in patients with disseminated sclerosis. III. Lymphocyte response in vitro. *Clin Exp Immunol* 21:23-31
77. Jensen MK 1968 Lymphocyte transformation in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 44:200-206
78. Dau PC, Peterson RD 1970 Transformation of lymphocytes from patients with multiple sclerosis. Use of encephalitogen of human origin, with a report of a trial of immunosuppressive therapy in multiple sclerosis. *Archives of neurology* 23:32-40
79. Wei T, Knight RA, Lightman SL 1997 Mitogenic response and steroid sensitivity in MS lymphocytes. *Acta Neurol Scand* 96:28-33
80. DeRijk RH, Eskandari F, Sternberg EM 2004 Corticosteroid resistance in a subpopulation of multiple sclerosis patients as measured by ex vivo dexamethasone inhibition of LPS induced IL-6 production. *Journal of neuroimmunology* 151:180-188
81. Hearing SD, Norman M, Smyth C, Foy C, Dayan CM 1999 Wide variation in lymphocyte steroid sensitivity among healthy human volunteers. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 84:4149-4154
82. Corrigan C 1992 Mechanism of glucocorticoid action in asthma: too little, too late. *Clin Exp Allergy* 22:315-317
83. Franchimont D, Louis E, Dupont P, Vrindts-Gevaert Y, Dewe W, Chrousos G, Geenen V, Belaiche J 1999 Decreased corticosteroid sensitivity in quiescent Crohn's disease: an ex vivo study using whole blood cell cultures. *Dig Dis Sci* 44:1208-1215
84. Mingrone G, DeGaetano A, Pugeat M, Capristo E, Greco AV, Gasbarrini G 1999 The steroid resistance of Crohn's disease. *J Investig Med* 47:319-325
85. Corrigan CJ 1999 Glucocorticoid unresponsiveness in severe ulcerative colitis. *Gut* 45:324-325
86. Bamberger CM, Bamberger AM, de Castro M, Chrousos GP 1995 Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. *J Clin Invest* 95:2435-2441
87. Bray PJ, Cotton RG 2003 Variations of the human glucocorticoid receptor gene (NR3C1): Pathological and in vitro mutations and polymorphisms. *Hum Mutat* 21:557-568
88. DeRijk RH, Schaaf M, de Kloet ER 2002 Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol* 81:103-122
89. van Rossum EF, Lamberts SW 2004 Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Prog Horm Res* 59:333-357
90. Detera-Wadleigh SD, Encio IJ, Rollins DY, Coffman D, Wiesch D 1991 A TthIII polymorphism on the 5' flanking region of the glucocorticoid receptor gene (GRL). *Nucleic Acids Res* 19:1960
91. Ikeda Y, Suehiro T, Tsuzura S, Shiinoki T, Kaneda T, Kumon Y, Hashimoto K 2001 A polymorphism in the promoter region of the glucocorticoid receptor gene is associated with its transcriptional activity. *Endocr J* 48:723-726
92. Rosmond R, Chagnon YC, Chagnon M, Perusse L, Bouchard C, Bjorntorp P 2000 A polymorphism of the 5'-flanking region of the glucocorticoid receptor gene locus is associated with basal cortisol secretion in men. *Metabolism* 49:1197-1199



REFERENCES

93. Wust S, Van Rossum EF, Federenko IS, Koper JW, Kumsta R, Hellhammer DH 2004 Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 89:565-573
94. Huizenga NA, Koper JW, De Lange P, Pols HA, Stolk RP, Burger H, Grobbee DE, Brinkmann AO, De Jong FH, Lamberts SW 1998 A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with and increased sensitivity to glucocorticoids in vivo. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 83:144-151
95. Koper JW, Stolk RP, de Lange P, Huizenga NA, Molijn GJ, Pols HA, Grobbee DE, Karl M, de Jong FH, Brinkmann AO, Lamberts SW 1997 Lack of association between five polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene and glucocorticoid resistance. *Hum Genet* 99:663-668
96. Weaver JU, Hitman GA, Kopelman PG 1992 An association between a BclI restriction fragment length polymorphism of the glucocorticoid receptor locus and hyperinsulinaemia in obese women. *J Mol Endocrinol* 9:295-300
97. Murray JC, Smith RE, Ardinger HA, Weinberger C 1987 RFLP for the glucocorticoid receptor (GRL) located at 5q11-5q13. *Nucleic Acids Res* 15:6765
98. van Rossum EF, Koper JW, van den Beld AW, Uitterlinden AG, Arp P, Ester W, Janssen JA, Brinkmann AO, de Jong FH, Grobbee DE, Pols HA, Lamberts SW 2003 Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clinical endocrinology* 59:585-592
99. Panarelli M, Holloway CD, Fraser R, Connell JM, Ingram MC, Anderson NH, Kenyon CJ 1998 Glucocorticoid receptor polymorphism, skin vasoconstriction, and other metabolic intermediate phenotypes in normal human subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 83:1846-1852
100. Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, Chagnon M, Perusse L, Lindell K, Carlsson B, Bouchard C, Bjorntorp P 2000 A glucocorticoid receptor gene marker is associated with abdominal obesity, leptin, and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Obes Res* 8:211-218
101. Nerad JL, Griffiths JK, Van der Meer JW, Endres S, Poutsika DD, Keusch GT, Bennish M, Salam MA, Dinarello CA, Cannon JG 1992 Interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-1 receptor antagonist, and TNF alpha production in whole blood. *J Leukoc Biol* 52:687-692
102. Lublin FD, Reingold SC 1996 Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 46:907-911
103. Franchimont D, Kino T, Galon J, Meduri GU, Chrousos G 2003 Glucocorticoids and Inflammation Revisited: The State of the Art. NIH Clinical Staff Conference. *Neuroimmunomodulation* 10:247-260
104. Rohleder N, Kudielka BM, Hellhammer DH, Wolf JM, Kirschbaum C 2002 Age and sex steroid-related changes in glucocorticoid sensitivity of pro-inflammatory cytokine production after psychosocial stress. *Journal of neuroimmunology* 126:69-77
105. Feng J, Zheng J, Bennett WP, Heston LL, Jones IR, Craddock N, Sommer SS 2000 Five missense variants in the amino-terminal domain of the glucocorticoid receptor: no association with puerperal psychosis or schizophrenia. *Am J Med Genet* 96:412-417
106. Moalli PA, Rosen ST 1994 Glucocorticoid receptors and resistance to glucocorticoids in hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma* 15:363-374
107. de Lange P, Koper JW, Huizenga NA, Brinkmann AO, de Jong FH, Karl M, Chrousos GP, Lamberts SW 1997 Differential hormone-dependent transcriptional activation and -repression by naturally occurring human glucocorticoid receptor variants. *Mol Endocrinol* 11:1156-1164
108. Karl M, Lamberts SW, Detera-Wadleigh SD, Encio IJ, Stratakis CA, Hurley DM, Accili D, Chrousos



- GP 1993 Familial glucocorticoid resistance caused by a splice site deletion in the human glucocorticoid receptor gene. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 76:683-689
109. Gaitan D, DeBold CR, Turney MK, Zhou P, Orth DN, Kovacs WJ 1995 Glucocorticoid receptor structure and function in an adrenocorticotropin-secreting small cell lung cancer. *Mol Endocrinol* 9:1193-1201
110. Norman M, Hearing SD 2002 Glucocorticoid resistance - what is known? *Curr Opin Pharmacol* 2: 723-729
111. Franchimont D, Martens H, Hagelstein MT, Louis E, Dewe W, Chrousos GP, Belaiche J, Geenen V 1999 Tumor necrosis factor alpha decreases, and interleukin-10 increases, the sensitivity of human monocytes to dexamethasone: potential regulation of the glucocorticoid receptor. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 84:2834-2839
112. Kam JC, Szeffler SJ, Surs W, Sher ER, Leung DY 1993 Combination IL-2 and IL-4 reduces glucocorticoid receptor-binding affinity and T cell response to glucocorticoids. *J Immunol* 151:3460-3466
113. Biola A, Lefebvre P, Perrin-Wolff M, Sturm M, Bertoglio J, Pallardy M 2001 Interleukin-2 inhibits glucocorticoid receptor transcriptional activity through a mechanism involving STAT5 (signal transducer and activator of transcription 5) but not AP-1. *Mol Endocrinol* 15:1062-1076
114. Andersson PB, Goodkin DE 1998 Glucocorticosteroid therapy for multiple sclerosis: a critical review. *J Neurol Sci* 160:16-25
115. Elovaara I, Kuusisto H, Paalavuo R, Sarkijarvi S, Lehtimaki T, Huhtala H, Vilpo J 2006 Effect of high-dose methylprednisolone treatment on CCR5 expression on blood cells in MS exacerbation. *Acta Neurol Scand* 113:163-166
116. Sloka JS, Stefanelli M 2005 The mechanism of action of methylprednisolone in the treatment of multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 11:425-432
117. Noseworthy JH 1999 Progress in determining the causes and treatment of multiple sclerosis. *Nature* 399:A40-47
118. Barcellos LF, Oksenberg JR, Begovich AB, Martin ER, Schmidt S, Vittinghoff E, Goodin DS, Pelletier D, Lincoln RR, Bucher P, Swerdlin A, Pericak-Vance MA, Haines JL, Hauser SL 2003 HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. *Am J Hum Genet* 72:710-716
119. Brassat D, Azais-Vuillemin C, Yaouanq J, Semana G, Reboul J, Cournu I, Mertens C, Edan G, Lyon-Caen O, Clanet M, Fontaine B 1999 Familial factors influence disability in MS multiplex families. *Neurology* 52:1632-
120. Chataway J, Mander A, Robertson N, Sawcer S, Deans J, Fraser M, Broadley S, Clayton D, Compston A 2001 Multiple sclerosis in sibling pairs: an analysis of 250 families. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 71:757-761
121. Russcher H, Smit P, van den Akker EL, van Rossum EF, Brinkmann AO, de Jong FH, Lamberts SW, Koper JW 2005 Two polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene directly affect glucocorticoid-regulated gene expression. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 90:5804-5810
122. Bonifati DM, Witche SF, Ermani M, Hoffman EP, Angelini C, Pegoraro E 2006 The glucocorticoid receptor N363S polymorphism and steroid response in Duchenne dystrophy. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 77:1177-1179
123. Kalkers NF, Bergers E, Castelijns JA, van Walderveen MA, Bot JC, Ader HJ, Polman CH, Barkhof F 2001 Optimizing the association between disability and biological markers in MS. *Neurology* 57:1253-1258
124. Swaab DF, Bao AM, Lucassen PJ 2005 The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev* 4:141-194



REFERENCES

125. van Winsen LL, Hooper-van Veen T, van Rossum EF, Polman CH, van den Berg TK, Koper JW, Uitdehaag BM 2005 The impact of glucocorticoid receptor gene polymorphisms on glucocorticoid sensitivity is outweighed in patients with multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 167:150-156
126. Neumann H 2003 Molecular mechanisms of axonal damage in inflammatory central nervous system diseases. *Current opinion in neurology* 16:267-273
127. van Waesberghe JH, Kamphorst W, De Groot CJ, van Walderveen MA, Castelijns JA, Ravid R, Lycklama a Nijeholt GJ, van der Valk P, Polman CH, Thompson AJ, Barkhof F 1999 Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability. *Annals of neurology* 46:747-754
128. Dai J, Buijs R, Swaab D 2004 Glucocorticoid hormone (cortisol) affects axonal transport in human cortex neurons but shows resistance in Alzheimer's disease. *Br J Pharmacol* 143:606-610
129. Schumann EM, Kumpfel T, Then Bergh F, Trenkwalder C, Holsboer F, Auer DP 2002 Activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis: correlations with gadolinium-enhancing lesions and ventricular volume. *Annals of neurology* 51:763-767
130. Ryan AW, Thornton JM, Brophy K, Daly JS, McLoughlin RM, O'Morain C, Abuzakouk M, Kennedy NP, Stevens FM, Feighery C, Kelleher D, McManus R 2005 Chromosome 5q candidate genes in coeliac disease: genetic variation at IL4, IL5, IL9, IL13, IL17B and NR3C1. *Tissue Antigens* 65:150-155
131. Willman CL, Sever CE, Pallavicini MG, Harada H, Tanaka N, Slovak ML, Yamamoto H, Harada K, Meeker TC, List AF, et al. 1993 Deletion of IRF-1, mapping to chromosome 5q31.1, in human leukemia and preleukemic myelodysplasia. *Science* 259:968-971
132. van de Wetering M, Oosterwegel M, Dooijes D, Clevers H 1991 Identification and cloning of TCF-1, a T lymphocyte-specific transcription factor containing a sequence-specific HMG box. *Embo J* 10:123-132
133. van Veen T, Crusius JB, Schrijver HM, Bouma G, Killestein J, van Winsen L, Salvador Pena A, Polman CH, Uitdehaag BM 2001 Interleukin-12p40 genotype plays a role in the susceptibility to multiple sclerosis. *Annals of neurology* 50:275
134. Morahan G, Huang D, Ymer SI, Cancilla MR, Stephen K, Dabadghao P, Werther G, Tait BD, Harrison LC, Colman PG 2001 Linkage disequilibrium of a type 1 diabetes susceptibility locus with a regulatory IL12B allele. *Nat Genet* 27:218-221
135. Ysraelit MC, Gaitan MI, Lopez AS, Correale J 2008 Impaired hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 71:1948-1954
136. van Winsen LM, Hooper-van Veen T, van Rossum EF, Koper JW, Barkhof F, Polman CH, Uitdehaag BM 2007 Glucocorticoid receptor gene polymorphisms associated with more aggressive disease phenotype in MS. *Journal of neuroimmunology* 186:150-155
137. Passetti F, Ferreira CG, Costa FF 2009 The impact of microRNAs and alternative splicing in pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 9:1-13
138. van den Akker EL, Nouwen JL, Melles DC, van Rossum EF, Koper JW, Uitterlinden AG, Hofman A, Verbrugh HA, Pols HA, Lamberts SW, van Belkum A 2006 Staphylococcus aureus nasal carriage is associated with glucocorticoid receptor gene polymorphisms. *J Infect Dis* 194:814-818
139. Stephens M, Donnelly P 2003 A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Genet* 73:1162-1169
140. van Rossum EF, Russcher H, Lamberts SW 2005 Genetic polymorphisms and multifactorial diseases: facts and fallacies revealed by the glucocorticoid receptor gene. *Trends Endocrinol Metab* 16:445-450
141. Whitaker JN, McFarland HF, Rudge P, Reingold SC 1995 Outcomes assessment in multiple sclerosis clinical trials: a critical analysis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 1:37-47



142. Noseworthy JH 1994 Clinical scoring methods for multiple sclerosis. *Annals of neurology* 36 Suppl:S80-85
143. Hobart J, Freeman J, Thompson A 2000 Kurtzke scales revisited: the application of psychometric methods to clinical intuition. *Brain* 123 (Pt 5):1027-1040
144. Sharrack B, Hughes RA, Soudain S, Dunn G 1999 The psychometric properties of clinical rating scales used in multiple sclerosis. *Brain* 122 (Pt 1):141-159
145. Rudick R, Antel J, Confavreux C, Cutter G, Ellison G, Fischer J, Lublin F, Miller A, Petkau J, Rao S, Reingold S, Syndulko K, Thompson A, Wallenberg J, Weinshenker B, Willoughby E 1996 Clinical outcomes assessment in multiple sclerosis. *Annals of neurology* 40:469-479
146. Rudick R, Antel J, Confavreux C, Cutter G, Ellison G, Fischer J, Lublin F, Miller A, Petkau J, Rao S, Reingold S, Syndulko K, Thompson A, Wallenberg J, Weinshenker B, Willoughby E 1997 Recommendations from the National Multiple Sclerosis Society Clinical Outcomes Assessment Task Force. *Annals of neurology* 42:379-382
147. Kalkers NF, de Groot V, Lazeron RH, Killestein J, Ader HJ, Barkhof F, Lankhorst GJ, Polman CH 2000 MS functional composite: relation to disease phenotype and disability strata. *Neurology* 54:1233-1239
148. Cohen JA, Fischer JS, Bolibrush DM, Jak AJ, Kniker JE, Mertz LA, Skaramagas TT, Cutter GR 2000 Intrarater and interrater reliability of the MS functional composite outcome measure. *Neurology* 54:802-806
149. Sharrack B, Hughes RA 1999 The Guy's Neurological Disability Scale (GNDS): a new disability measure for multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 5:223-233
150. Hoogervorst EL, van Winsen LM, Eikelenboom MJ, Kalkers NF, Uitdehaag BM, Polman CH 2001 Comparisons of patient self-report, neurologic examination, and functional impairment in MS. *Neurology* 56:934-937
151. Sharrack B, Hughes RA 1999 Scale development and Guy's Neurological Disability Scale. *Journal of neurology* 246:226
152. Fischer JS, Rudick RA, Cutter GR, Reingold SC 1999 The Multiple Sclerosis Functional Composite Measure (MSFC): an integrated approach to MS clinical outcome assessment. National MS Society Clinical Outcomes Assessment Task Force. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 5:244-250
153. Goodkin DE 1991 EDSS reliability. *Neurology* 41:332
154. Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, Goodman AD, Heidenreich FR, Jak AJ, Kniker JE, Kooijmans MF, Lull JM, Sandrock AW, Simon JH, Simonian NA, Whitaker JN 2001 Use of the multiple sclerosis functional composite as an outcome measure in a phase 3 clinical trial. *Archives of neurology* 58:961-967
155. Schwid SR, Goodman AD, Apatoff BR, Coyle PK, Jacobs LD, Krupp LB, Miller AE, Wende KE, Brownschidle CM, New York State Multiple Sclerosis Center 2000 Are quantitative functional measures more sensitive to worsening MS than traditional measures? *Neurology* 55:1901-1903
156. Kazis LE, Anderson JJ, Meenan RF 1989 Effect sizes for interpreting changes in health status. *Medical care* 27:S178-189
157. Ozakbas S, Ormeci B, Idiman E 2005 Utilization of the multiple sclerosis functional composite in follow-up: relationship to disease phenotype, disability and treatment strategies. *J Neurol Sci* 232:65-69
158. Bosma L, Kragt J, Brieva L, Khaleeli Z, Montalban X, Polman C, Thompson A, Tintore M, Uitdehaag B 2009 The search for responsive clinical endpoints in primary progressive multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 15:715-720
159. Goodin DS, Frohman EM, Garmany GP, Jr., Halper J, Likosky WH, Lublin FD, Silberberg DH, Stuart

- WH, van den Noort S 2002 Disease modifying therapies in multiple sclerosis: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology and the MS Council for Clinical Practice Guidelines. *Neurology* 58:169-178
160. Beck RW, Cleary PA, Anderson MM, Jr., Keltner JL, Shults WT, Kaufman DI, Buckley EG, Corbett JJ, Kupersmith MJ, Miller NR, et al. 1992 A randomized, controlled trial of corticosteroids in the treatment of acute optic neuritis. The Optic Neuritis Study Group. *The New England journal of medicine* 326:581-588
161. Patzold T, Schwengelbeck M, Ossege LM, Malin JP, Sindern E 2002 Changes of the MS functional composite and EDSS during and after treatment of relapses with methylprednisolone in patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 105:164-168
162. Ozakbas S, Cagiran I, Ormeci B, Idiman E 2004 Correlations between multiple sclerosis functional composite, expanded disability status scale and health-related quality of life during and after treatment of relapses in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 218:3-7
163. Hoogervorst EL, Kalkers NE, van Winsen LML, Uitdehaag BM, Polman CH 2001 Differential treatment effect on measures of neurologic exam, functional impairment and patient self-report in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 7:335-339
164. Guyatt GH, Norman GR, Juniper EF, Griffith LE 2002 A critical look at transition ratings. *J Clin Epidemiol* 55:900-908
165. Hobart JC, Riazi A, Lamping DL, Fitzpatrick R, Thompson AJ 2005 How responsive is the Multiple Sclerosis Impact Scale (MSIS-29)? A comparison with some other self report scales. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 76:1539-1543
166. Schwid SR, Goodman AD, McDermott MP, Bever CF, Cook SD 2002 Quantitative functional measures in MS: what is a reliable change? *Neurology* 58:1294-1296
167. Sharrack B, Hughes RA 1996 Clinical scales for multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 135:1-9
168. de Groot V, Beckerman H, Uitdehaag BM, de Vet HC, Lankhorst GJ, Polman CH, Bouter LM 2006 The usefulness of evaluative outcome measures in patients with multiple sclerosis. *Brain* 129:2648-2659
169. Paltamaa J, Sarasoja T, Leskinen E, Wikstrom J, Malkia E 2008 Measuring deterioration in international classification of functioning domains of people with multiple sclerosis who are ambulatory. *Phys Ther* 88:176-190
170. Ebers GC, Heigenhauser L, Daumer M, Lederer C, Noseworthy JH 2008 Disability as an outcome in MS clinical trials. *Neurology* 71:624-631
171. Amato MP, Portaccio E 2007 Clinical outcome measures in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 259:118-122
172. Chrousos GP, Charmandari E, Kino T 2004 Glucocorticoid action networks--an introduction to systems biology. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 89:563-564
173. Then Bergh F, Kumpfel T, Yassouridis A, Lechner C, Holsboer E, Trenkwalder C 2007 Acute and chronic neuroendocrine effects of interferon-beta 1a in multiple sclerosis. *Clinical endocrinology* 66:295-303
174. Jewell CM, Cidlowski JA 2007 Molecular evidence for a link between the N363S glucocorticoid receptor polymorphism and altered gene expression. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92:3268-3277
175. Hensiek AE, Seaman SR, Barcellos LF, Oturai A, Eraksoi M, Cocco E, Vecsei L, Stewart G, Dubois B, Bellman-Strobl J, Leone M, Andersen O, Bencsik K, Booth D, Celius EG, Harbo HF, Hauser SL, Heard R, Hillert J, Myhr KM, Marrosu MG, Oksenberg JR, Rajda C, Sawcer SJ, Sorensen PS, Zipp F, Compston DA 2007 Familial effects on the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology* 68:376-383

176. Huizenga NA, Koper JW, de Lange P, Pols HA, Stolk RP, Grobbee DE, de Jong FH, Lamberts SW 1998 Interperson variability but intraperson stability of baseline plasma cortisol concentrations, and its relation to feedback sensitivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to a low dose of dexamethasone in elderly individuals. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 83:47-54
177. Kantarci OH, de Andrade M, Weinshenker BG 2002 Identifying disease modifying genes in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 123:144-159
178. Gold SM, Raji A, Huitinga I, Wiedemann K, Schulz KH, Heesen C 2005 Hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity predicts disease progression in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 165:186-191
179. Kumpf T, Schwan M, Pollmacher T, Yassouridis A, Uhr M, Trenkwalder C, Weber F 2007 Time of interferon-beta 1a injection and duration of treatment affect clinical side effects and acute changes of plasma hormone and cytokine levels in multiple sclerosis patients. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 13:1138-1145
180. Heesen C, Gold SM, Huitinga I, Reul JM 2007 Stress and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis - a review. *Psychoneuroendocrinology* 32:604-618
181. Mohr DC, Pelletier D 2006 A temporal framework for understanding the effects of stressful life events on inflammation in patients with multiple sclerosis. *Brain, behavior, and immunity* 20:27-36
182. Golan D, Somer E, Dishon S, Cuzin-Disegni L, Miller A 2008 Impact of exposure to war stress on exacerbations of multiple sclerosis. *Annals of neurology* 64:143-148
183. Hart S, Fonareva I, Merluzzi N, Mohr DC 2005 Treatment for depression and its relationship to improvement in quality of life and psychological well-being in multiple sclerosis patients. *Qual Life Res* 14:695-703
184. Minneboo A, Jasperse B, Barkhof F, Uitdehaag BM, Knol DL, de Groot V, Polman CH, Castelijns JA 2008 Predicting short-term disability progression in early multiple sclerosis: added value of MRI parameters. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 79:917-923
185. Jasperse B, Vrenken H, Sanz-Arigita E, de Groot V, Smith SM, Polman CH, Barkhof F 2007 Regional brain atrophy development is related to specific aspects of clinical dysfunction in multiple sclerosis. *NeuroImage* 38:529-537
186. Szczepankiewicz A, Breborowicz A, Sobkowiak P, Popiel A 2008 No association of glucocorticoid receptor polymorphisms with asthma and response to glucocorticoids. *Advances in medical sciences* 53:245-250
187. van Veen T, Nielsen J, Berkhof J, Barkhof F, Kamphorst W, Bo L, Ravid R, Verweij CL, Huitinga I, Polman CH, Uitdehaag BM 2007 CCL5 and CCR5 genotypes modify clinical, radiological and pathological features of multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 190:157-164
188. Bergamaschi R, Quaglini S, Trojano M, Amato MP, Tavazzi E, Paolicelli D, Zipoli V, Romani A, Fuijani A, Portaccio E, Berzuini C, Montomoli C, Bastianello S, Cosi V 2007 Early prediction of the long term evolution of multiple sclerosis: the Bayesian Risk Estimate for Multiple Sclerosis (BREMS) score. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 78:757-759
189. Teunissen CE, Dijkstra C, Polman C 2005 Biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet neurology* 4:32-41
190. Uitdehaag BM, Hoekstra K, Koper JW, Polman CH, Dijkstra CD 2001 IFN-beta1b augments glucocorticoid-induced suppression of tumor necrosis factor-alpha production by increasing the number of glucocorticoid receptors on a human monocytic cell line. *J Interferon Cytokine Res* 21:133-135
191. Binder EB, Kunzel HE, Nickel T, Kern N, Pfennig A, Majer M, Uhr M, Ising M, Holsboer F 2009 HPA-axis regulation at in-patient admission is associated with antidepressant therapy outcome in male but not in female depressed patients. *Psychoneuroendocrinology* 34:99-109



REFERENCES

192. Galon J, Franchimont D, Hiroi N, Frey G, Boettner A, Ehrhart-Bornstein M, O'Shea JJ, Chrousos GP, Bornstein SR 2002 Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. *Faseb J* 16:61-71





Summary





Glucocorticoids (GC) are hormones produced by the adrenals under influence of various stress factors. Their production is controlled by the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis. GCs exert their function via glucocorticoid receptors (GRs), which are present on nearly every cell in the body. GCs influence a broad array of functions in the body, among others, they have anti-inflammatory effects. It has been suggested that GCs act as a mediator between the nervous system and the immune system. Furthermore previous studies have shown that in healthy persons as well in patients with various chronic inflammatory diseases, differences in GC sensitivity appear.

This thesis evaluates different aspects of glucocorticoid (GC) sensitivity in patients with multiple sclerosis (MS). To be more specific differences in peripheral GC sensitivity and polymorphisms in the glucocorticoid receptor (GR) gene leading to differences in GC sensitivity will be addressed.

Exogenous GCs are widely used for the treatment of chronic inflammatory diseases, such as multiple sclerosis (MS), because of their anti-inflammatory properties. In the second part of this thesis we evaluate various outcome measurements in their ability to detect changes after intravenous methylprednisolone (IVMP) therapy which is an exogenous GC.

In **chapter 1**, general information on MS is given. Epidemiologic and genetic factors, diagnosis, clinical course and treatment options are addressed. Exogene and endogene GCs and the regulation by the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis are discussed in more detail. Also the mechanisms through which GCs exert their effects via binding to the GR are described. This is to understand various factors that possibly influence GC sensitivity. We focussed on variability in the GR gene as one of the factors influencing GC sensitivity.

Chapter 2 Glucocorticoid sensitivity in MS

There is strong evidence for HPA-axis hyperactivity in MS-patients, which goes along with increased cortisol levels. Despite elevated cortisol levels, clinical signs of hypercortisolism in MS are unusual. Taken together, these findings suggest that increased HPA axis activity is accompanied by a reduction in the peripheral GC sensitivity in MS patients. In **chapter 2.1**, we evaluated this hypothesis. GC sensitivity was measured by the in vitro suppressive effect of GC on lipopolysaccharide (LPS) stimulated TNF- α production in a whole blood assay in 117 MS patients and 45 controls. Blood cells of MS patients, especially relapsing remitting (RR) MS patients, turned out to be less sensitive to GC compared to controls. This difference in sensitivity was not related to previous treatment with exogenous GC. This was expressed as the frequency of courses of IVMP as well as interval since the last course. The use of interferon β (IFN β) was found to be associated with a lower GC sensitivity. However, also after controlling for the use of IFN β , RRMS patients remained less sensitive. IFN β can influence the HPA axis activity, resulting in increased endogenous cortisol levels. In our study, IFN β treatment was associated with lower GC sensitivity. IFN β treatment is especially initiated in patients



with a clinically active disease course. This association is probably caused by an increased and ongoing inflammation in the CNS. This increased and ongoing inflammation may in turn be related to or – via a defective suppression by endogenous GC – even caused by a decreased GC sensitivity. We suggest that the observed effect of IFN β should perhaps not be attributed to IFN β itself but rather to selection bias in the sample. Indeed, after careful comparison of the disease characteristics of our RR and SP patients we observed a significant difference in exposure to IVMP treatment thereby supporting the latter explanation.

Various mechanisms may underlie differences in GC sensitivity. One mechanism could be genetically variation in the gene of the GR. In **chapter 2.2** we tested the hypothesis that carriers of single nucleotide polymorphisms (SNP) of the GR gene (N363S, ER22/23EK, and the *Bcl I*), which are associated with a decreased or increased GC sensitivity, have decreased respectively increased sensitivity of peripheral blood-cells *in vitro* in MS patients and controls. In controls we found an association between the N363S allele of the GR-gene and a reduced peripheral GC sensitivity *in vitro*. In MS patients neither the N363S, *Bcl I*, nor the ER22/23EK allele were found to be associated with GC sensitivity. Although this study was based on a small sample, this suggests that GC sensitivity is probably in part genetically influenced in healthy controls, but in MS patients also other factors play a role in GC sensitivity in MS patients. For example cytokines, IFN β , or other unknown factors which seem to have more influence than the genetic effect on GC sensitivity.

Chapter 3 Clinical implications of differences in the GC sensitivity

GC sensitivity and clinical effect after IVMP

GCs are widely used for the treatment of chronic inflammatory diseases. In several inflammatory or autoimmune diseases including rheumatoid arthritis (RA), asthma, M. Crohn, and ulcerative colitis, subgroups of patients who are clinically less responsive to GC have been distinguished. This has been associated with decreased GC sensitivity of blood cells. In chapter 3.1 we hypothesized that MS patients with who respond clinically (i.e. had a reduced disability level) to IVMP are sensitive to GCs and vice versa. To test this proposition, 27 MS patients, who were treated with IVMP, because of a relapse, were studied prospectively. GCs can inhibit the production of pro-inflammatory cytokines like tumor necrosis factor α (TNF- α). This suppressive effect of GCs on LPS stimulated TNF- α production was used to determine GC sensitivity. Before and after treatment *in vitro* LPS stimulated TNF- α production in blood cells and the effect of *in vitro* administered GC were measured. We evaluated whether *in vitro* as well as *in vivo* GC sensitivity before and after treatment with IVMP, was related to the clinical effect. Furthermore we analysed whether *in vitro* GC sensitivity before treatment could predict the clinical effect. We found that the suppression of TNF- α production after IVMP, and the *in vitro* suppressive effect of GC prior to treatment was related to subsequent clinical improvement after IVMP. These results suggest the existence of a partial GC resistance. This

partial GC resistance may contribute to the lack of clinical response to IVMP. In case this resistance also holds for endogenous GC, this may result in an inability to properly down regulate the inflammatory response. Consequently, this could lead to a more active disease. Such an active disease might urge the need for GC treatment but, as a consequence of this partial GC resistance, the effect of this treatment will probably be disappointing.

Glucocorticoid receptor gene variation and disease course

Endogenous GCs are considered to restrain the immune system in such a way that the probability of recovery from relapse is increased. In MS patients, lifelong decreased GC sensitivity, due to single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the GR gene, may result in ongoing inflammation which in turn may influence the clinical course. We investigated three SNPs (N363S, ER22/23EK and Bcl I C/G) of the GR gene, which have been previously associated with altered GC sensitivity *in vivo*, for their potential role in disease course and susceptibility. In earlier studies, the ER22/23EK is associated with higher cortisol levels after dexamethasone suppression tests (DST), indicating that carriers of this allele are relatively more resistant to the effects of GCs. Indeed, we found that the ER22/23EK polymorphism, was associated with a more aggressive MS phenotype, measured both clinically and on MRI. Even though MRI data were only available in a subgroup of patients, carriers of the polymorphism ER22/23EK, had a larger T1 weighted lesion volume compared to non carriers. This finding could be considered as a correlate of axonal loss. These findings suggest that for patients having the the ER22/23EK polymorphism both augmented inflammatory activity and more extensive neuronal degeneration may account for the increase in disability progression in MS (**chapter 3.2**).

In **chapter 3.3** we replicated previous studies in a larger population. We took into account the effect of other SNPs (9β -G and TthIII, besides the previous studied Bcl I C/G, ER22/23EK and N363S) by inferring haplotypes. A haplotype is a set of SNPs on a single chromatid that are statistically associated. It is thought that these associations, and the identification of a few alleles of a haplotype block, are representative for other polymorphic sites in its region. In 646 MS patients and 317 HCs we investigated whether haplotypes including the ER22/23EK polymorphism or the GR 9β polymorphism, which is also associated with a relative GC resistance, were associated with a more aggressive disease course. The association with disease progression was analyzed using Cox regression with time to Expanded Disability Status Score 6 as outcome.

None of the haplotypes was associated with disease susceptibility, age at onset or onset type. Haplotype 6 (TthIII, ER22/23EK, 9β -G), was associated with a more rapid disease progression. This seems to result from the presence of ER22/23EK and not from the 9β and TthIII SNPs.

The disease course of MS patients carrying the haplotype 6 (TthIII, ER22/23EK, 9β), is more aggressive. This is probably due to the presence of the SNP ER22/23EK. As such, the effects of these polymorphisms might be small. However, the combined effects of life long exposure and those resulting from the complex feed back circuits between the HPA axis and the immune system, render the impact of these polymorphisms on disease course plausible.



Chapter 4 Measurement of treatment effect after IVMP

In MS, the measurement of responsiveness to treatment is complicated. This is so because of the large variation of neurological symptoms. Furthermore, symptoms like fatigue and cognitive problems lack a precise clinical definition. This makes it difficult to find accurate outcome measures to distinguish which patients do clinically respond to IVMP, and who do not. Since long the Expanded Disability Status Score (EDSS) has been used to evaluate treatment effect in MS, or disease progression. Because the development of new treatments in the last two decades, as well as a growing awareness of the importance of patient-oriented measures, new outcome measures have been developed which aim to be more responsive to changes and clinically relevant to patients as well. In **chapter 4.1** we compared a physician-oriented (MS functional composite, (MSFC)) and patient-oriented (Guys neurological disability scale (GNDS)) clinical outcome measure with the EDSS concerning the ability to detect improvement after IVMP treatment. Sixty MS patients were treated with IVMP. On the first day of treatment patients were trained for the three domains of the MSFC: Timed 25-foot Walk (T25FW) assessing leg/ambulation, 9-Hole Peg (9-HPT) to assess the arm/hand function and cognition was tested by the 3" version of the paced auditory serial addition test (PASAT). On the second day baseline data were obtained for all measurements (MSFC, EDSS and GNDS). Follow-up data were obtained 6-8 weeks after IVMP treatment. Significant changes were found for both EDSS and GNDS. Twenty one patients showed a significant improvement in the EDSS, 28 patients showed a significant improvement in the GNDS. Remarkably, the improvements on the GNDS were mainly due to changes in the subcategories cognition, speech, fatigue and 'others' and less due to the effects on other categories. Forty-seven patients reported a subjective improvement in their condition. These findings show that the relative sensitivity to change is low for the MSFC. Even though we identified a number of variables that might affect the sensitivity to change for the respective scales (e.g. the importance of the selection of a good reference population for the MSFC, and the three point cut off point for change of the GNDS), we suggest that further studies should be performed to study their behaviour under different conditions.

The suggestion that corticosteroids might especially have an effect on subjective features of well being is certainly supported by the data collected in this study. It is obvious from our study that a treatment can have a differential effect on measurements of functional impairment, rating of neurologic exam and patient self-report.

The ability of different outcome measures detecting improvement is sparsely studied. In **chapter 4.2** we evaluated the predictive accuracy to distinguish a clinically meaningful change (from the viewpoint of the patient) of two quantitative tests (T25FW and the 9-HPT) and the EDSS. This study was based on a sample of 101 MS patients before and 6 weeks after IVMP. The influence of baseline disability, based on baseline EDSS score at responsiveness was studied. In addition patients were asked to rate their change as an anchor to assess the performance of the tests.

Putting the T25FW and the 9-HPT together turned out to be the optimal combination





of measures to predict patient's perceived change. In the higher EDSS range (EDSS 4.5 and higher) for all measures a significant change was more often perceived as clinically relevant than in the lower disability range.

The results from this study, although based on a relatively small sample, suggest that the EDSS is not the preferred method to detect patient perceived improvement in MS, especially in the lower EDSS range. Combining T25FW and 9-HPT can improve the sensitivity to detect clinically relevant changes without conceding with respect to specificity of this test. The use of combinations of outcome measures in MS should be further explored about their ability to detect clinically meaningful changes.

Chapter 5 Discussion and future perspectives

In **chapter 5** the results of this thesis are summarized and discussed, and placed in the light of the current knowledge about the pathogenesis of MS. Also, future perspectives are presented. As a final conclusion, blood cells of MS patients have a decreased GC sensitivity. We hypothesize that in general GC sensitivity is a at least partly genetically determined factor, which is additionally influenced by more fluctuating factors such as inflammation, IFN β treatment and other, yet unknown, factors.

The SNP ER22/23EK decreases GC sensitivity and has been associated with increased HPA axis activity, which is thought to reflect a disturbance in the negative feedback of the HPA axis. This combination results in an unfavourable situation in patients with chronic inflammation, like in MS. We found that the haplotype TthIII1, ER22/23EK, 9 β , is associated with a more aggressive disease course in MS. Further studies are warranted to investigate whether this haplotype can be used as prognostic factor among other factors, to help to identify patients who will develop an aggressive disease course.

Second, in this thesis we evaluated outcome scales to measure treatment responses to IVMP. We found additional evidence that the EDSS seems less responsive to changes that are clinical meaningful from the patients' perspective. We showed that combined measures, like the T25FW and the -HPT, allows us to distinguish a higher number of patients who show a clinically significant change, without leading to a concomitant loss of accuracy in terms of being relevant to the patient.

This may help to define more optimal outcome measures since both outcome scales that assess improvement after IVMP, as well as outcome scales that evaluate disease course (e.g. in trials), have to be clinical relevant for the patients.







Samenvatting







Verschillen in de gevoeligheid voor glucocorticoïden in multiple sclerosis

Glucocorticoïden (GC), waarvan de belangrijkste bij mensen het endogene cortisol is, zijn hormonen die geproduceerd worden door de bijnieren. De productie van GC staat onder controle van de hypofyse-hypothalamus-bijnierschors as (HHB as). Allerlei soorten stressoren hebben een invloed op deze as, en dus op de cortisol productie. GCen zetten uiteenlopende functies in gang door zich te binden aan glucocorticoïd receptoren (GR), die zich op bijna elke cel van het lichaam bevinden. Een van de vele functies waarbij GCen zijn betrokken, is het onderdrukken van ontstekingsreacties, zodat deze niet uit de hand lopen, als ze eenmaal in gang zijn gezet. Bij gezonde personen, maar ook bij patiënten met allerlei chronische ontstekingsziekten, zoals astma, reumatoïde artritis en darmziekten als colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn zijn er verschillen gevonden in GC gevoeligheid van bloedcellen/immuuncellen. In dit proefschrift worden verschillende aspecten van GC gevoeligheid bij patiënten met multiple sclerosis (MS) bestudeerd. In het eerste deel van dit proefschrift komen verschillen in gevoeligheid van bloedcellen voor GCen, en 'single nucleotide polymorphisms' (SNP) (kleine veranderingen in een gen) in het gen van de GR, die de GC gevoeligheid beïnvloeden, aan de orde.

Exogene GCen (bijvoorbeeld methylprednisolon) worden op grote schaal gebruikt als behandeling voor chronisch inflammatoire ziekten, zoals MS, vanwege hun anti-ontstekings effecten. Er zijn in de loop van de jaren verschillende meetinstrumenten ontwikkeld om het ziektebeloop bij MS te meten (waarbij het meestal om geleidelijke verslechtering gaat). Minder bekend is in hoeverre deze meetinstrumenten in staat zijn om verbetering aan te tonen. In het tweede deel van dit proefschrift onderzoeken we een aantal van deze meetinstrumenten en hun eigenschappen om veranderingen aan te tonen, na behandeling met hoge dosering intraveneus methylprednisolon (IVMP).

Hoofdstuk 1 geeft algemene informatie gegeven over de ziekte MS. Ik bespreek epidemiologische en genetische factoren, diagnose, en behandelmogelijkheden. Meer specifiek behandel ik exogene en endogene GCen en de regulatie door de HHB as, evenals de verschillende mechanismen die een rol spelen bij de interactie tussen GCen de GR. Dit om een basis te leggen voor meer inzicht in de factoren die van invloed te zijn op de GC gevoeligheid. We concentreren ons vervolgens op de variatie in het gen (veroorzaakt door kleine veranderingen in het gen (SNPs)) van de GR als een van de factoren die GC gevoeligheid beïnvloeden. MS verloopt bij de meeste patiënten relapsing -remitting (RRMS), dit betekent dat perioden van verslechtering (exacerbaties) zich afwisselen met stabiele perioden. Een kleinere groep patiënten heeft een progressief beloop, primair progressief (PPMS), waarbij patiënten geleidelijk achteruit gaan. Een groot deel van de patiënten met relapsing remitting MS, komen op een gegeven moment in de progressieve fase, secundair progressief MS (SPMS).



Hoofdstuk 2 Glucocorticoïd gevoeligheid in MS

Er zijn velerlei aanwijzingen dat er bij patiënten met MS sprake is van een verhoogde activiteit van de HHB as. Ondanks verhoogde cortisol spiegels in het bloed bij een patiënt met MS, is het echter ongebruikelijk dat de daarmee samenhangende klinische verschijnselen worden gevonden. Deze combinatie van gegevens leidt tot de hypothese dat er sprake is van verhoogde HHB as activiteit die samengaat met een verminderde gevoeligheid van bloedcellen in MS patiënten. In **hoofdstuk 2.1** toetsen we deze hypothese. Bij ontstekingen in het lichaam komt o.a. een eiwit vrij, dit heet TNF- α . GC onderdrukken deze productie. Als maat voor GC gevoeligheid werd het onderdrukkende effect van GCen op door lipopolysaccharide (LPS) (een soort bacterie schilletje) gestimuleerde TNF- α productie in een volbloed assay *in vitro* (in een reageerbuisje) bepaald. De bloedcellen van 117 MS patiënten, vooral RRMS patiënten, waren minder gevoelig voor GCen, vergeleken met bloedcellen van de 45 controle personen. Het bleek dat dit onafhankelijk was van eerdere behandeling met exogene GCen, in de vorm van IVMP. Dit laatste werd op twee manieren gemeten; door het aantal kuren dat patiënten in het verleden hadden ondergaan te nemen, en door het tijdsinterval tussen de laatste en huidige kuur te nemen. Het gebruik van interferon β , (IFN β) ging samen met een verminderde gevoeligheid voor GCen. Ook na correctie voor het gebruik van IFN β , bleven bloedcellen van RRMS patiënten minder gevoelig voor GCen. Behandeling met IFN β wordt gestart bij patiënten met een klinisch actief ziektebeloop. Dit actieve ziektebeloop wordt mogelijk veroorzaakt door een versterkte en een als maar doorgaande ontstekingsreactie in het centrale zenuwstelsel. Mogelijk is er een verband tussen deze voortdurende ontstekingsactiviteit en verminderde GC gevoeligheid. Sterker nog, de verminderde onderdrukking van de ontstekingsactiviteit door een verminderde gevoeligheid voor cortisol, zou misschien zelfs de oorzaak hiervan zou kunnen zijn. De bevinding dat bloedcellen van patiënten die met IFN β behandeld worden, minder gevoelig zijn voor GCen, is waarschijnlijk niet toe te schrijven aan een direct effect van IFN β , maar wellicht is deze bevinding een gevolg van selectie bias. Immers, na nadere vergelijking van de ziektekenmerken van de MS patiënten met en zonder IFN β , valt op dat de patiënten die behandeld worden met IFN β , significant vaker IVMP kuren hebben gekregen in het verleden. Dit wijst erop dat deze patiënten inderdaad een verhoogde ontstekingsactiviteit hebben, en dit geeft enige steun aan de laatste hypothese.

Er zijn verschillende factoren die variatie in GC gevoeligheid kunnen beïnvloeden. Eén daarvan is genetische variatie in het gen voor de GR. In **hoofdstuk 2.2** onderzoeken we verschillende SNPs in het GR-gen (N363S, ER22/23EK, en Bcl I), die samengaan met verminderde danwel verhoogde GC gevoeligheid. De hypothese is dat bloedcellen van dragers van SNPs waarvan beschreven is dat ze samen gaan met een verminderde gevoeligheid voor GC, ook aantoonbaar minder gevoelig zijn in de *in vitro* test zoals in hoofdstuk 2.1 beschreven. Omgekeerd, dat bloedcellen van dragers van een SNP die samengaat met een verhoogd gevoeligheid, ook *in vitro* verhoogd gevoelig zijn voor GC. We onderzochten dit voor zowel MS patiënten als voor controle personen. We vonden bij controle personen een samenhang tussen het hebben van één van de SNPs (de N363S) en een

verminderde GC gevoeligheid *in vitro*. Bij MS patiënten vonden we geen samenhang tussen de verschillende SNPs en de *in vitro* GC gevoeligheid. Hoewel deze studie gebaseerd is op een kleine steekproef, lijkt het erop dat GC gevoeligheid deels beïnvloed wordt door genetische factoren in controle personen. Wanneer het MS patiënten betreft, lijken andere factoren van grotere invloed te zijn. Hierbij kan gedacht worden aan cytokinen, INF β , of andere nog onbekende factoren, die het genetische effect op GC gevoeligheid overstemmen.

Hoofdstuk 3 Klinische implicaties van verschillen in GC gevoeligheid

GC gevoeligheid en klinisch effect na IVMP behandeling

GCen worden op grote schaal ingezet als behandeling van chronische ontstekingsziekten. Er zijn subgroepen gevonden van patiënten met verschillende chronisch ontstekingsziekten, zoals reumatoïde artritis, astma, darmziekten als de ziekte van Crohn en colitis ulcerosa, die minder gevoelig zijn voor exogene GCen. Hiervoor zijn aanwijzingen gevonden in *in vitro* studies, maar ook in klinische studies, waaruit blijkt dat een deel van de patiënten niet duidelijk verbetert na een behandeling. In **hoofdstuk 3.1** gaan we na of MS patiënten die goed reageren op behandeling met IVMP, in de zin van dat ze minder neurologische uitval hebben na de kuur, gevoeliger zijn voor GC zoals gemeten in hoofdstuk 2.1. Bovendien wilden we weten of we het klinische effect van een IVMP kuur konden voorspellen aan de hand van de *in vitro* gevoeligheid van bloedcellen vóór de kuur. We volgden prospectief 27 MS patiënten, die behandeld werden met IVMP, vanwege een exacerbatie (plotselinge verslechtering in het ziektebeloop). De mate van onderdrukking van GC op door *in vitro* LPS gestimuleerde TNF- α productie in volbloed, werd als maat voor GC gevoeligheid gebruikt. Dit werd voor en na de behandeling onderzocht. We waren nieuwsgierig naar de mate waarin *in vitro* als ook *in vivo* GC gevoeligheid voor en na behandeling met IVMP, samenging met het klinische effect. We vonden dat de mate van TNF- α productie na de behandeling, en het *in vitro* onderdrukkende effect voor de behandeling, inderdaad gerelateerd was aan klinische verbetering. De resultaten suggereren dat er patiënten zijn die een verminderde gevoeligheid hebben voor GC. Deze verminderde gevoeligheid kan een rol spelen in het verminderde effect van IVMP. Als deze verminderde gevoeligheid ook het (endogene) cortisol betreft, dan kan dit leiden tot een onvermogen van cortisol om de immuunrespons in toom te houden, waardoor een actiever ziekteproces ontstaat. Zo'n actiever ziekte proces, met meer exacerbaties, geeft dan weer aanleiding om met GC te behandelen. Echter, juist door de verminderde gevoeligheid, zal het effect van de behandeling vervolgens teleurstellend kunnen zijn.

Variatie in het gen voor de glucocorticoïd receptor en ziektebeloop.

Men denkt dat endogene GCen, waarvan cortisol de belangrijkste is, het immuunsysteem zodanig in toom houden dat zij een rol spelen bij het beteugelen van exacerbaties. Bij MS patiënten, kan een levenslang iets verminderde GC gevoeligheid, bijvoorbeeld door een kleine verandering in het gen (SNP) van de GR, leiden tot een alsmat doorgaande ontstekingsactiviteit. Dat kan vervolgens het beloop van de ziekte ongunstig beïnvloeden. We onderzochten 3 SNP's (N363S, ER22/23EK

en Bcl I C/G) in het gen van de GR, waarvan beschreven is dat ze de gevoeligheid voor GC *in vivo* beïnvloeden. We wilden weten of ze een invloed hadden op het ziektebeloop, en daarnaast of er een samenhang was met een veranderd risico om MS te krijgen. In eerdere studies werd er een samenhang gevonden tussen dragers van het ER22/23EK SNP en hogere cortisol spiegels na de dexamethason (dit is ook een exogeen GC) suppressie test (DST). Dit wijst erop dat mensen die drager zijn van dit SNP relatief resistent zijn voor de effecten van GC. We vonden inderdaad dat patiënten die drager waren van dit SNP, een aggressiever ziektebeloop hadden. Dit bleek uit een verminderde tijdsduur tussen begin van de ziekte en het moment waarop patiënten niet meer zelfstandig konden lopen. Voor een subgroep van patiënten hadden we de beschikking over MRI data. Draggers van het ER22/23EK hadden een grotere toename van (zogenoemde T1) lesies op MRI. Deze MRI bevindingen zouden beschouwd kunnen worden als een maat voor degeneratie (axonale schade). Dit wijst erop dat naast een verhoogde mate van ontstekingsactiviteit, er ook uitgebreidere degeneratieve afwijkingen (zich uitend als axonale schade op de MRI) een rol spelen bij de sneller ziektebeloop. Het is mogelijk dat het hebben van het ER22/23EK SNP, hier een invloed op heeft (hoofdstuk 3.2).

In **hoofdstuk 3.3** evalueerden we de in hoofdstuk 3.2 gevonden bevindingen in een grotere patiënten groep. Daarbij keken we ook naar het effect van andere SNP's (9 β -G and TthVIII, naast de eerder onderzochte SNP's Bcl I C/G, ER22/23EK en N363S). We maakten haplotypen, dit zijn kleine stukjes van het gen, waarop de SNP's als kleine vlaggetjes kunnen worden gezien (zie figuur 5 in de introductie). Op deze manier kijken we niet alleen naar de SNPs op zich, maar naar kleine gebieden op het gen tussen de SNP's, waarop nog meer genetische variatie mogelijk kan zijn. Van 646 MS patiënten en 317 controle personen werd bloed afgenomen en werden de haplotypen bepaald. Van de SNPs ER22/23EK en 9 β , is beschreven dat zij samen hangen met een verminderde GC gevoeligheid. We wilden weten of patiënten die drager waren van haplotypen waarin zich één van deze SNP's bevonden, een aggressiever ziektebeloop hadden. Opnieuw namen we de tijdsduur tussen de eerste ziekteverschijnselen en het tijdstip waarop een patiënt niet meer zelfstandig kan lopen, als maat voor ernst van het ziektebeloop. We keken ook of er een relatie was met een verhoogd risico om MS te krijgen en een van deze haplotypen. Hiervoor vonden we geen aanwijzingen. Ook was er geen samenhang tussen de leeftijd waarop de ziekte begon, of het type MS aan het begin, relapsing versus progressief. Het haplotype 6, (met daarop de SNPs TthVIII, ER22/23EK en 9 β -G), hing samen met een agressiever ziektebeloop. Hoewel het effect van de aanwezigheid van dit haplotype op zich klein is, is het niet onwaarschijnlijk dat een levenslange net iets verminderde gevoeligheid voor GCen, zeker binnen een ingewikkeld netwerk van interacties tussen de HHB as en het immuunsysteem, een invloed heeft op het ziektebeloop.

Hoofdstuk 4 Meetinstrumenten om behandelings-effect van IVMP te meten

Het is niet eenvoudig om bij MS patiënten het effect van een behandeling goed te meten. Dit komt omdat de klachten waarmee MS patiënten zich presenteren sterk uiteenlopend zijn, afhankelijk van waar in de hersenen of ruggemerg een nieuwe lesie ontstaat. Daarnaast zijn klachten als

moeheid en problemen met het geheugen niet eenvoudig in een test zijn vast te leggen. Dit maakt het moeilijk om een accurate test te ontwikkelen om veranderingen aan te tonen. Al in 1955 werd door Kurtzke de basis gelegd voor de expanded disability status scale (EDSS). Deze test wordt gebruikt om het behandelingseffect te evalueren of ziekte progressie te meten. Dit is sindsdien de meest gebruikte test in klinische trials. De EDSS is een meetinstrument dat gebaseerd is op de bevindingen tijdens het neurologisch onderzoek, maar ook de loopfunctie speelt een belangrijke rol. De laatste 20 jaar zijn er meer behandelingsmogelijkheden ter beschikking gekomen. Daarnaast kwamen er aanwijzingen dat de EDSS minder gevoelig leek om veranderingen aan te tonen. Tegelijkertijd werd men ook meer bewust van het belang van patiënt-georiënteerde meetinstrumenten. Dit heeft er onder andere toe geleid dat er nieuwe meetinstrumenten werden ontwikkeld. Zij hebben tot doel meer responsief te zijn, dat wil zeggen, beter in staat om een voor de patiënt klinisch relevante veranderingen aan te tonen. In **hoofdstuk 4.1**, hebben we een vanuit de 'dokter'-georiënteerde kwantitatieve test (de MS functional composite) en een patiënt-georiënteerde test (Guys neurological disability scale (GNDS)), vergeleken met de EDSS. We volgden 60 patiënten die behandeld werden met een IVMP kuur vanwege een exacerbatie. Zij werden getraind in de drie domeinen van de MSFC. Dit zijn de Timed 25-foot Walk (T25FW) om de loopfunctie te testen, de 9-Hole Peg (9-HPT) om de arm/hand functie te testen, en de 3" versie van de paced auditory serial addition test (PASAT) om de cognitie te testen. Op de tweede dag van de kuur werden de uitgangswaarden bepaald van de MSFC, EDSS en de GNDS. Na zes tot acht weken, als patiënten terug kwamen voor controle, werden de testen herhaald.

Dit onderzoek liet zien dat de GNDS een hogere sensitiviteit heeft voor het aantonen van verbetering vergeleken met de EDSS en de MSFC. Veranderingen in de GNDS subcategorieën hadden met name betrekking op subjectieve symptomen. Het idee dat GC met name een effect zouden hebben op subjectieve klachten wordt deels gesteund door de gegevens uit dit onderzoek.

Er zijn weinig studies gedaan naar de mogelijkheid van verschillende meetinstrumenten om verbetering aan te tonen. Vaker is de mate waarin deze meetinstrumenten in staat zijn om geleidelijk achteruitgang te detecteren onderzocht (om ziektebeloop te meten). In **hoofdstuk 4.2** onderzochten we voorspellende waarden om een klinisch relevante verandering aan te tonen van twee kwantitatieve testen (onderdelen van de MSFC) de T25FW en de 9-HPT (respectievelijk de loop en armhand functie) en de EDSS. We onderzochten 101 patiënten voor en zes weken na IVMP. Ook onderzochten we de invloed van de mate van handicap, in de vorm van EDSS score, op het moment waarop de uitgangswaarden werden verzameld (baseline), op de responsiviteit (de mate waarin een meetinstrument een verandering in de gezondheidstoestand aantoont) van de verschillende uitkomstmaten. We vroegen patiënten hun situatie zelf te beoordelen, en gebruikten dit gegeven als een 'gouden standaard' om de andere testen mee te vergelijken.

Een combinatie van de T25FW test en de 9-HPT test bleek de optimale combinatie te zijn om een verbetering, zoals door de patiënt werd ervaren, te voorspellen. In de groep patiënten

met hogere scores van handicap bleken alle testen beter te voorspellen of een patiënt een verbetering ervaren had, dan in de groep met de lagere handicap score.

Uit deze studie bleek, hoewel het om een relatief kleine groep ging, dat de EDSS niet de uitkomst maat van keuze is om verbetering na IVMP, zoals door de patiënt wordt ervaren, aan te tonen. Dit was nog minder het geval in de groep patiënten met weinig handicap bij baseline. Wanneer de de T25FW en de 9-HPT gecombineerd werden, verbeterde de voorspellende waarde om een, door de patiënt ervaren, verbetering aan te tonen, zonder dat het veel af deed aan de specificiteit van deze testcombinatie. We stellen dat het combineren van verschillende meetinstrumenten verder zou moeten worden onderzocht om na te gaan in hoeverre deze combinaties beter in staat zijn om door de patiënt ervaren verbetering te detecteren.

Hoofdstuk 5 Discussie en ideeën voor toekomstig onderzoek

In **hoofdstuk 5** worden de belangrijkste conclusies uit dit proefschrift samengevat en geplaatst deze binnen de huidige kennis over de pathogenese van MS. Ook geef ik aanbevelingen voor verder onderzoek. Een van de belangrijkste bevindingen is dat bloedcellen van MS patiënten, en in het bijzonder bloedcellen van RRMS patiënten, minder gevoelig zijn voor GCen vergeleken met bloedcellen van gezonde controle personen. Onze hypothese is dat GC gevoeligheid deels genetisch bepaald wordt, en dat dit daarnaast verandert onder invloed van factoren, zoals ontsteking, behandeling met IFN β en andere vooralsnog onbekende factoren.

De aanwezigheid van het ER22/23EK allel gaat gepaard met een verminderde GC gevoeligheid. Daarnaast is beschreven dat dragers van dit allel een verhoogd HHB als activiteit hebben, mogelijk ten gevolge van een verstoring van de negatieve feedback. Deze combinatie resulteert in een ongunstige situatie voor patiënten met een chronisch ontstekingsziekte, zoals MS. We vonden dat patiënten die drager zijn van het haplotype TthIII1, ER22/23EK, 9 β , een agressievere ziektebeloop hebben. Dit wil zeggen de tijd vanaf de eerste symptomen tot het moment dat patiënten met een hulpmiddel gaan lopen, korter is. Het is interessant om te onderzoeken in hoeverre dit haplotype mede een rol zou kunnen spelen als een prognostische factor, om patiënten te kunnen identificeren die een hoog risico hebben op een agressief beloop.

Ten tweede onderzochten we verschillende meetinstrumenten en hun mogelijkheid om behandel-effecten aan te tonen na een IVMP kuur. We vonden aanwijzingen dat de EDSS minder gevoelig is om een verbetering, vanuit de patiënt gezien, aan te tonen na IVMP. We konden aantonen dat combinaties van meetinstrumenten zoals de T25FW en de 9-HPT, accurater zijn voor het aantonen van klinische verbetering, zoals door de patiënt wordt ervaren, zonder dat dit leidt tot een afname van de specificiteit. Mogelijk leiden combinaties van meetinstrumenten tot nieuwe meetinstrumenten die zowel in staat zijn verbetering na IVMP aan te tonen die voor de patiënt klinisch relevant zijn, als ook veranderingen aan kunnen tonen in het ziektebeloop.



Dankwoord





Ik wil deze laatste pagina's gebruiken om iedereen te bedanken die op een of andere manier betrokken is geweest bij de tot standkoming van dit proefschrift, danwel hun interesse hebben getoond.

Allereerst wil ik alle MS patiënten die mee hebben gedaan aan het onderzoek bedanken. Ik heb enorm veel geleerd van hen over de ziekte MS.

Promotor en copromotor prof. dr. C.H. Polman en dr. B.M.J. Uitdehaag.

Beste Chris, je hebt een scherp observatievermogen, zowel op wetenschappelijk gebied als daarbuiten! Hartelijk dank voor de prettige samenwerking en het feit dat de deur altijd open stond.

Beste Bernard, ik bewonder je scherpe geest. Ik heb het altijd heel prettig gevonden om mijn interesse voor glucocorticoiden met jou te delen. Ik heb enorm veel van je geleerd. Er was altijd een combinatie van humor en wijsheid.

Prof. dr. J.J. Heimans, beste Jan. Jou dank ik voor de mogelijkheid die je bood om de opleiding tot neuroloog te volgen. Je verstaat de kunst om een veilig en prettig opleidingsklimaat te creëren.

Beste leden van de leescommissie, dr. I. Huitinga, dr. J.W. Koper, prof. dr. C.H. Dijkstra, prof. dr. J.J. Heimans, prof. dr. P.Lips, en prof. dr. R. Hupperts dank ik voor het beoordelen van het manuscript en de bereidheid plaats te nemen in de promotiecommissie.

Dan de mensen waarmee ik heb samengewerkt.

Prof. dr. C.D. Dijkstra, beste Christien, ik dank jou vooral voor de begeleiding in de eerste jaren van het onderzoek op het lab van de afdeling klinische immunologie. Ik heb veel geleerd van je inspirerende en positieve opmerkingen tijdens de werkbesprekingen van team blauw. Je straalt enthousiasme uit voor je vak, daarin ben je een voorbeeld voor mij. Daan Muris, dank voor je nauwgezette begeleiding tijdens het in vitro GC gevoeligheid onderzoek. Timo van de Berg, je was een klankbord vanwege je interesse in GC. Daarnaast dank ik de laboranten en promovendi die destijds werkzaam waren op het lab, voor de gezelligheid en de hulp. Esther Breij noem ik met name vanwege de gezamenlijke interesse in polymorfismen en Babs Fabriek vanwege de prettige samenwerking. Charlotte Teunissen, het klikte op persoonlijk en wetenschappelijk gebied tussen ons.

Dr. I. Huitinga, beste Inge, jouw passie voor de hypofyse hypothalamus bijnierschorsas is aanstekelijk! Ik heb erg genoten van de ontmoeting die je tot stand had gebracht met Christopher Heesen en Steven Gold.





DANKWOORD

Beste Liesbeth van Rossum en Jan Willem Koper, hartelijk dank voor de prettige samenwerking. Liesbeth, het brainstormen in Leiden heeft tot een mooi artikel geleid.

Prof. dr. Barkhof, beste Frederik, één keer heb ik een uitstapje gemaakt naar de radiologie, dank voor je snelle en scherpe commentaar op het artikel.

Jolijn Kragt en Erwin Hoogervorst, dank voor de samenwerking met betrekking tot het onderzoek naar uitkomstmaten. Jullie zijn de echte experts op dit gebied!
MS neurologen dr. Brechtje Jelles, en dr. Bob van Oosten, dank voor de leerzame momenten tijdens de MS besprekingen en tijdens de opleiding.

Alle MS onderzoekers, hartelijk dank voor de gezelligheid, de steun en de inspiratie! Judith Eikelenboom, ik heb veel plezier beleefd aan je humor, je aanstekelijke lach en je relativiseringsvermogen. Ik zal je advies 'geef jezelf ook eens een schouderklop 'op zijn tijd opvolgen. Joep Killestein, Erwin Hoogervorst, en Nynke Kalkers ik heb leuke herinneringen aan de uitjes tijdens de MS dagen en de congressen, waarbij we soms in duistere steegjes terecht kwamen (de Walputsteeg). Jolijn Kragt en Jessica Nielsen misschien komt het er van om nog een keer Salsa te dansen, Bas Jaspersen, doe je dan ook weer mee! Jack Zwemmer ik hoop dat je ook snel je dankwoord kan schrijven. Laura van de Voort jammer genoeg hadden we niet vaker tijd om te brainstormen, Madeleine Sombekkeen en Libertje Bosma, succes met jullie onderzoek, Machteld Vellinga dank voor je praktische tips met betrekking tot de promotie.

De andere onderzoekers, Eshter Pelgrim Korf en Niki Schoonenboom, het was prettig om met jullie de begin fase van het onderzoek te delen, Esther temidden van stapels MRI scans, en Niki zich ontwikkelend tot wetenschapper op gebied van biomarkers bij dementie.

Ina en Marijke hartelijk dank, jullie waren echt betrokken bij het onderzoek en toonde daarnaast altijd een warme belangstelling naar het wel en wee van de onderzoekers. Het ga jullie goed. Els van Deventer zonder jou komt geen enkel proefschrift tot stand, hartelijk dank voor je hulp. Alle mensen van de administratie ook hartelijk dank voor de medewerking! Vooral Salah voor het verzorgen van vele status.

Lieve vrienden, vooral in de aanloop naar het eind van dit proefschrift was het alsof ik in een carroussel rondwerfelde, zodat de omgeving waarin jullie je bevonden vervaagde tot een uit licht en kleuren bestaande zweem. De carrousel gaat hopelijk weer wat rustiger draaien en ik kijk ernaar uit om jullie weer vaker te zien!

Lieve Rob en Els, dank voor jullie warme belangstelling voor het onderzoek. Jullie gastvrijheid is uniek!





Paranimfen, Petra Beemsterboer, heel fijn dat je naast me staat tijdens de promotie! Ik bewonder de manier waarop je je droom waarmaakt. Laura, liefste zus, je hebt me altijd gesteund, het wordt een fantastisch feest!

Mijn ouders, Albert en Jeanette, ik dank jullie voor het vertrouwen dat jullie altijd in mij hebben en voor jullie onvoorwaardelijke steun. Jeanette, je hebt me altijd gestimuleerd om te doen wat ik echt leuk vond. Albert, van jou heb ik humor en voldoende zelfspot meegekregen.

Fabian, al sinds je een baby bent, geeft jou schaterende lach mij een enorme vreugde. Jouw toverstafje dat je in Fabianland gebruikte om te helpen dat het boekje afkwam heeft goed geholpen!

Jonatan, met je aanstekelijke slappe lach, ik heb vaak samen met je gelachen om moppen uit de Donald Duck en verhalen van Mees Kees, als ik je naar bed bracht. Daarna had ik dan weer genoeg energie om verder te werken aan het proefschrift.

Don allerliefste, in de tijd voor het afronden van dit proefschrift liepen mijn cortisol spiegels toch nog hoog op. Je hebt me altijd gesteund op alle manieren. Het gaf me een gerust gevoel als ik de weekenden aan het werk was, omdat ik wist dat de kinderen veel plezier met jou hadden. Wat kijk ik uit om samen met jou gezellig bij de open haard in ons nieuwe huis de avonden door te brengen!





Curriculum vitae





Lisa van Winsen werd op 19 januari 1969 in Hilversum geboren. Zij volgde VWO met Latijn op het st. Vitus college in Bussum, en deed in 1987 eindexamen. Daarna studeerde zij een jaar biomedische wetenschappen in Leiden, tot zij in 1988 ingeloot werd voor de studie geneeskunde in Leiden. In Siena (Italië) volgde zij de vakken dermatologie, geriatrie en KNO. Haar afstudeerstage naar stamcellen in navelstreng bloed, verrichtte zij onder leiding van prof. Kanhai en prof. Falkenburg respectievelijk verbonden aan de afdeling gyneacologie en verloskunde, en de afdeling experimentele hematologie van het Leids Universitair Medisch Centrum. Daarna deed zij een keuze stage in een missie ziekenhuis in Assin foso (Ghana). Na haar coschappen deed zij een wetenschappelijke stage onder begeleiding van prof. Brouwer en Bas Bloem naar genetische predispositie voor ontwikkelen van het foetaal diphantoine syndroom. Voor het coschap dermatologie keerde zij terug naar Siena. Haar eerste baan als AGNIO was op de afdeling interne (dr. Rustemeijer, dr. Van der Hoeve, dr. Voerman en dr. Noach) van het Amstelveen ziekenhuis, waar haar interesse voor het immuun systeem werd aangewakkerd. Na een AGNIO schap op de neurologie in het streekziekenhuis Hilversum (neurologen dr. Booy, dr. Laborie, dr. Bouma en dr. Herderschee), werd zij aangenomen in het VUMC, als AGNIO neurologie, waarna ze eveneens de gelegenheid kreeg om onderzoek te doen bij prof. Polman en dr. Uitdehaag naar glucocorticoid gevoeligheid in MS. Van 2003 tot 2009 werd zij opgeleid tot neuroloog (hoofd prof. Heimans). Vanaf 1 augustus 2009 is zij werkzaam als neuroloog op de afdeling neurologie in het Radboud Ziekenhuis (hoofd prof. Padberg), waar zij zich verder ontwikkelt in de bewegingsstoornissen in nauwe inspirerende samenwerking met prof. B. Bloem.

List of publications

- van Winsen LML, Manenschijn L, van Rossum EFC, Crusius JBA, Koper JW, Polman CH, Uitdehaag BMJ 'A glucocorticoid receptor gene haplotype (TthIII/ER22/23EK/9beta) is associated with a more aggressive disease course in multiple sclerosis.' *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jun;94(6):2110-4.
- Pettersson A, van Winsen L, van Oosten B, Kramers C, van de Ven A, Savelkoul P, van Agtmael M 'Whipple's disease in mentally retarded patients: report of two cases.' *Scand J Infect Dis.* 2007;39(11-12):1071-3. Epub 2007 Jun 21
- Fabriek BO, Møller HJ, Vloet RP, van Winsen LM, Hanemaaijer R, Teunissen CE, Uitdehaag BM, van den Berg TK, Dijkstra CD. 'Proteolytic shedding of the macrophage scavenger receptor CD163 in multiple sclerosis.' *J Neuroimmunol.* 2007 Jul;187(1-2):179-86. Epub 2007 May 29.
- van Winsen LM, Hooper-van Veen T, van Rossum EF, Koper JW, Barkhof F, Polman CH, Uitdehaag BM. 'Glucocorticoid receptor gene polymorphisms associated with more aggressive disease phenotype in MS.' *J Neuroimmunol.* 2007 May;186(1-2):150-5. Epub 2007 Mar 28.
- van Winsen LM, Hooper-van Veen T, van Rossum EF, Polman CH, van den Berg TK, Koper JW, Uitdehaag BM. 'The impact of glucocorticoid receptor gene polymorphisms on glucocorticoid sensitivity is outweighted in patients with multiple sclerosis.' *J Neuroimmunol.* 2005 Oct;167(1-2):150-6
- van Winsen LM, Muris DF, Polman CH, Dijkstra CD, van den Berg TK, Uitdehaag BM. 'Sensitivity to glucocorticoids is decreased in relapsing remitting multiple sclerosis.' *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Feb;90(2):734-40. Epub 2004 Nov 16
- Zwemmer JN, van Veen T, van Winsen L, van Kamp GJ, Barkhof F, Polman CH, Uitdehaag BM 'No major association of ApoE genotype with disease characteristics and MRI findings in multiple sclerosis.' *Mult Scler.* 2004 Jun;10(3):272-7.
- van Veen T, van Winsen L, Crusius JB, Kalkers NF, Barkhof F, Peña AS, Polman CH, Uitdehaag BM. '[Alpha]B-crystallin genotype has impact on the multiple sclerosis phenotype.' *Neurology.* 2003 Nov 11;61(9):1245-9
- Breij EC, van der Pol WL, van Winsen L, Jansen MD, Dijkstra CD, van de Winkel JG, Uitdehaag BM. 'No association of Fc gamma RIIa, Fc gamma RIIIa and Fc gamma RIIIb polymorphisms with MS.' *J Neuroimmunol.* 2003 Jul;140(1-2):210-5.
- van Veen T, Crusius JB, van Winsen L, Xia B, Barkhof F, Salvador Peña A, Polman CH, Uitdehaag BM. 'CTLA-4 and CD28 gene polymorphisms in susceptibility, clinical course and progression of multiple sclerosis.' *J Neuroimmunol.* 2003 Jul;140(1-2):188-93.
- van Veen T, Kalkers NF, Crusius JB, van Winsen L, Barkhof F, Jongen PJ, Peña AS, Polman CH, Uitdehaag BM. 'The FAS-670 polymorphism influences susceptibility to multiple sclerosis.' *J Neuroimmunol.* 2002 Jul;128(1-2):95-100.
- Hoogervorst EL, Kalkers NF, van Winsen LML, Uitdehaag BM, Polman CH. 'Differential treatment effect on measures of neurologic exam, functional impairment and patient self-report in multiple sclerosis.' *Mult Scler.* 2001 Oct;7(5):335-9.
- van Veen T, Crusius JB, Schrijver HM, Bouma G, Killestein J, van Winsen L, Salvador Peña A, Polman CH, Uitdehaag BM. 'Interleukin-12p40 genotype plays a role in the susceptibility to multiple sclerosis.' *Ann Neurol.* 2001 Aug;50(2):275. No abstract available
- Hoogervorst EL, van Winsen LM, Eikelenboom MJ, Kalkers NF, Uitdehaag BM, Polman CH. 'Comparisons of patient self-report, neurologic examination, and functional impairment in MS.' *Neurology.* 2001 Apr 10;56(7):934-7.
- LML van Winsen, JJM Driessen, WP Vandertop, F Barkhof en Ph Scheltens. 'Intravasaal lymfoom: de diagnostische problemen van een raadselachtig, fataal ziektebeeld.' *Ned Tijdschr Neurol* 2000;6:406-411
- Lim FT, van Winsen L, Willemze R, Kanhai HH, Falkenburg JH. 'Influence of delivery on numbers of leukocytes, leukocyte subpopulations, and hematopoietic progenitor cells in human umbilical cord blood.' *Blood Cells.* 1994;20(2-3):547-58; discussion 558-9.