

VERGLEICH VON DREI GENETISCHEN SUSZEPTIBILITÄTSMARKERN ZWISCHEN
PATIENTEN MIT IDIOPATHISCHEM PARKINSON-SYNDROM UND DEREN
DIREKTEN VERWANDTEN MIT HILFE DES TRANSMISSION DISEQUILIBRIUM
TESTS FOR SIBLINGS

Philipp Pilz

Aus der Neurologischen Klinik und Poliklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

Direktor: Professor Dr. med. Dr. h.c. Thomas Brandt

VERGLEICH VON DREI GENETISCHEN SUSZEPTIBILITÄTSMARKERN ZWISCHEN
PATIENTEN MIT IDIOPATHISCHEM PARKINSON-SYNDROM UND DEREN
DIREKTEN VERWANDTEN MIT HILFE DES TRANSMISSION DISEQUILIBRIUM
TESTS FOR SIBLINGS

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Philipp Pilz
aus
Pforzheim

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. T. Gasser

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. H. Hampel

Prof. Dr. C. Haass

Prof. Dr. O. Steinlein

Prof. Dr. Dr. h.c. R. Putz

Dekan:

Professor Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung:

06.07.2006

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. ZUSAMMENFASSUNG	7
2. EINLEITUNG	8
2.1. DEFINITION DES PARKINSON-SYNDROMS	8
2.2. KLASSIFIKATION DER PARKINSON-SYNDROME	8
2.3. HÄUFIGKEIT UND VORKOMMEN	10
2.4. DIAGNOSE	10
2.4.1. Technische und apparative Unterstützung bei der Diagnosestellung	12
2.5. ÄTIOLOGIE	13
2.5.1. Risikofaktoren	13
2.6. HINWEISE FÜR GENETISCHE BETEILIGUNG IN DER ÄTIOLOGIE DES MORBUS PARKINSON	14
2.6.1. Zwillingsstudien	15
2.6.2. Familienstudien	15
2.6.2.1. PARK1 (α -synuclein, 4q21)	16
2.6.2.2. PARK2 (Parkin, 6q25)	17
2.6.2.3. PARK3 (2p13)	18
2.6.2.4. PARK4 (α -synuclein, 4q21)	19
2.6.2.5. PARK5 (UCH-L1, 4p)	19
2.6.2.6. PARK6 (1p35-36)	20
2.6.2.7. PARK7 (DJ-1, 1p36)	21
2.6.2.8. PARK8 (LRRK2, 12p11.2-q13.1)	21
2.6.2.9. PARK9 (Kufor-Rakeb-Syndrom, 1p36)	22
2.6.2.10. PARK10 (1p32)	22
2.6.2.11. NURR1 (NR4A2, 2q22-23)	23
2.6.3. Kandidatengen-Studien	23
2.6.3.1. Beteiligung des Apolipoprotein (Apo)E4 Allels	23
2.6.3.2. Andere die dopaminerge Übertragung oder den zentralnervösen Metabolismus beeinflussende Gene	24
2.7. ZIEL DER ARBEIT	25
3. PATIENTEN UND METHODEN	27
3.1. PATIENTEN	27
3.2. KONTROLLGRUPPE	28
3.3. METHODEN	30
3.3.1. Gewinnung der Blutproben	30
3.3.2. Extraktion der DNA	31
3.3.3. Molekulargenetische Untersuchung der DNA	32
3.3.3.1. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	32
3.3.3.2. Genotypisierung von α -Synuclein	34
3.3.3.3. Genotypisierung von Apolipoprotein E (ApoE)	34
3.3.3.4. Genotypisierung der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 (UCHL 1)	34
3.3.4. Statistik	35
3.3.4.1. Der transmission disequilibrium test (TDT)	35
3.3.4.2. Der sib-transmission disequilibrium test (sib-TDT)	37
4. ERGEBNISSE	37
4.1. ERGEBNISSE ZUM POLYMORPHISMUS IN DER PROMOTOR-REGION DES α -SYNUCLEIN-GENS ...	37
4.1.1. Zusammenhang zwischen Länge des α -synuclein-REPI-Repeats und Erkrankungsalter innerhalb der Patientengruppe	37
4.1.2. Vergleich der Länge des α -synuclein-REPI-Repeats zwischen Patienten und Kontrollgruppe	38
4.2. ERGEBNISSE ZUR GENOTYPISIERUNG VON APOLIPOPROTEIN E (APOE)	38
4.2.1. Zusammenhang zwischen ApoE-Allelen und Erkrankungsalter innerhalb der Patientengruppe	39
4.2.2. Vergleich der Allelhäufigkeiten zwischen Patienten und Kontrollgruppe	39

4.3. ERGEBNISSE ZUR GENOTYPISIERUNG DER C-TERMINALEN UBIQUITINHYDROLASE L1 (UCHL 1)	40
4.3.1. Zusammenhang zwischen dem Wildtyp bzw. dem Polymorphismus der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 und dem Erkrankungsalter innerhalb der Patientengruppe	40
4.3.2. Vergleich der Allelhäufigkeiten zwischen Patienten und Kontrollgruppe	41
5. DISKUSSION	42
5.1. DISKUSSION DER METHODIK	42
5.2. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	45
5.3. SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK	47
5.3.1. Genetische Beratung	47
5.3.2. Therapeutische Konsequenzen	48
5.3.2.1. Beeinflussung der Proteinaggregation	48
5.3.2.2. Beeinflussung des oxidativen Stresses	49
5.3.2.3. Immunmodulatorische Strategien	49
5.3.2.4. Möglichkeiten einer Immunisierung mittels Impfung	50
6. LITERATURVERZEICHNIS	51
7. DANKSAGUNG	68
8. LEBENS LAUF	69

Vergleich von drei genetischen Suszeptibilitätsmarkern zwischen Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom und deren direkten Verwandten mit Hilfe des transmission disequilibrium tests for siblings

1. ZUSAMMENFASSUNG

M. Parkinson ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen überhaupt. Aufgrund der demografischen Entwicklung mit immer höherer Lebenserwartung wird die Erkrankung noch weiter an Bedeutung zunehmen. Dabei wird auch der sozioökonomische Faktor immer wichtiger.

Bis heute ist die Ätiologie der Erkrankung unklar. In den letzten Jahren zeigten sich Hinweise, dass ein kleiner Teil der Erkrankung monogenetisch nach Mendelschem Muster vererbt wird. Des Weiteren scheinen bei sporadisch auftretendem Parkinson-Syndrom Umweltfaktoren von Bedeutung zu sein.

Um die genetische Beteiligung bei der Pathogenese der Erkrankung weiter zu erhärten, wurden in der vorliegenden Arbeit drei bereits kartierte Genveränderungen bei Patienten erstmals mit den Geninformationen gesunder Verwandter (Eltern und/oder Geschwister) mittels eines neu entwickelten statistischen Verfahrens, dem transmission disequilibrium test for siblings (sib-TDT) verglichen. Dabei zeigte sich für einen der drei untersuchten Marker, das Apolipoprotein Epsilon-Allel, ein signifikanter Unterschied. Dies kann zum einen als erneuter klarer Hinweis für eine genetische Beteiligung bei der Ätiologie von M. Parkinson gesehen werden. Zum anderen unterstreicht das negative Ergebnis für die beiden anderen Marker aber auch die in den letzten Jahren veröffentlichten widersprüchlichen Ergebnisse über den detaillierten genetischen Hintergrund der Erkrankung.

Die Tür bei der Forschung nach der Ursache dieser wichtigen neurodegenerativen Erkrankung ist erst aufgestoßen. Aber schließlich wird man durch bessere Kenntnis der Beteiligung genetischer Faktoren neue therapeutische Strategien entwickeln können, die am Ende vielleicht zu einer Heilung der Erkrankung oder zu einer Prävention der Symptombildung führen wird.

2. EINLEITUNG

Auch heute noch ist in den meisten Fällen die Ätiologie der Parkinsonschen Erkrankung ungeklärt. Zahlreiche Ursachen, die zur Entstehung dieser Erkrankung beitragen, wurden in den letzten Jahren postuliert und zum Teil wieder verworfen. Gerade auf dem Gebiet der neurogenetischen Forschung wurden in der letzten Zeit enorme Fortschritte gemacht, und es sprechen nun einige Befunde dafür, dass Veränderungen im menschlichen Erbgut an der Genese der Parkinsonschen Erkrankung beteiligt sind. Um diese Hypothese zu belegen, wurden in der vorliegenden Arbeit drei Genorte, die in verschiedenen, vergangenen Studien starke Hinweise für eine genetische Beteiligung zeigten, bei Patienten mit jungem Erkrankungsbeginn erstmalig im Vergleich zu gesunden Verwandten (Eltern und/oder Geschwister) dieser Patienten untersucht und mit einem speziellen statistischen Testverfahren ausgewertet.

2.1. Definition des Parkinson-Syndroms

Der Begriff "Parkinson-Syndrom" umfasst ein klinisches Erscheinungsbild mit den Kardinalsymptomen Akinese (bzw. Bradykinese), Rigor und Ruhetremor mit einer Frequenz von 4-6Hz [Lance JW, Schwab RS et al 1963]. Daneben findet man einen Verlust der Haltereфлекse und in unterschiedlicher Ausprägung vegetative, psychische und zusätzliche motorische Beeinträchtigungen.

2.2. Klassifikation der Parkinson-Syndrome

Es werden im Allgemeinen drei Gruppen von Parkinson-Syndromen unterschieden: das am häufigsten vorkommende idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS), die sekundären Parkinson-Syndrome, bei denen die Schädigungsursache eindeutig bekannt ist, und Parkinson-Syndrome im Rahmen von anderen neurodegenerativen Erkrankungen. [Gerstenbrand F, Poewe WH 1990], [Ellenberg JH, Koller WC et al. 1995], [Watts RL, Koller WC 1997].

Tabelle 1 zeigt die Klassifikation der Parkinson-Syndrome mit den jeweiligen Untergruppen.

Idiopathisches Parkinson-Syndrom	Sekundäre Parkinson-Syndrome	Parkinson-Syndrome im Rahmen von anderen neurodegenerativen Erkrankungen
Morbus Parkinson	Pseudo-Parkinsonismus <ul style="list-style-type: none"> • zerebrale Arteriosklerose (lakunäre Infarkte; subcortikale arteriosklerotische Enzephalopathie, Multiinfarktsyndrom) • Normaldruck-Hydrozephalus • Posttraumatisch • Hirntumor • Creutzfeldt Jakob Erkrankung 	Multisystem-Atrophien <ul style="list-style-type: none"> • sporadische olivo-pontocerebelläre Atrophie (sOPCA) • striato-nigrale Degeneration (SND) • Shy-Drager-Syndrom Progressive supranukleäre Blickparese (PSP) Hallervorden Spatz Syndrom Pallidonigrale Degeneration Corticobasale ganglionäre Degeneration (CBGD) Morbus Pick Morbus Alzheimer
	Medikamentös <ul style="list-style-type: none"> • klassische Neuroleptika • Reserpin • klassische Antiemetika (D₂-Rezeptor-Blocker) 	
	Toxisch <ul style="list-style-type: none"> • Mangan • Kohlenmonoxid • MPTP • Zyanid • Kohlenstoff-Disulfid 	
	Metabolisch <ul style="list-style-type: none"> • Morbus Wilson • Hypo- oder Hyperparathyreoidismus • erworbene hepatozerebrale Degeneration 	
	Postenzephalitisch Psychogen	

Tabelle 1: Klassifikation der Parkinson-Syndrome

2.3. Häufigkeit und Vorkommen

M. Parkinson ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen überhaupt. Weltweit liegt die Prävalenz bei 10 bis 405 / 100.000 Einwohner [Zhang Z, Roman GC 1993]. Mehr als 1% der über 50-jährigen sind von der Krankheit betroffen, 3% der über 60-Jährigen und schon 10% der über 80-Jährigen [Adams RD, Victor M. 1993], [Rajput ML, Rajput AH 2002].

M. Parkinson ist die dritthäufigste neurologische Erkrankung, die in Ambulanzen der hoch zivilisierten Länder auftritt. Nur Kopfschmerzen und Epilepsien sind noch etwas häufiger. Bei älteren Patienten rangiert M. Parkinson rasch an erster Stelle mit immerhin 17% aller Patienten über 65 Jahren, die sich in einer neurologischen Ambulanz vorstellen. Davon abgesehen ist Parkinson hinter der Alzheimerschen Erkrankung der zweithäufigste neurologische Zustand, durch den Patienten über 65 Jahre professionelle Pflege zu Hause oder in Heimen benötigen. In den USA sind 2-7% aller in Pflegeheimen untergebrachten Patienten an M. Parkinson erkrankt.

Schätzungen über die gesundheitsökonomische Belastung der Erkrankung steigen stetig an. Errechnete eine Untersuchung 1992 für die USA Kosten in Höhe von 5,6 Mrd. US-\$ pro Jahr, so lag diese Schätzung 1997 schon bei 25 Mrd. US-\$ pro Jahr [Siderowf A, Holloway RG 2002].

Daher hat M. Parkinson eine äußerst große medizinische und soziale Bedeutung.

2.4. Diagnose

Eine eindeutige Diagnosestellung des M. Parkinson ist ausschließlich pathologisch möglich [Jellinger K 1987]. Dabei findet sich histologisch ein selektiver Verlust der melaninhaltigen dopaminergen Neurone in der Pars compacta der Substantia nigra, insbesondere im ventrolateralen Anteil [Fearnley JM, Lees AJ 1991]. Das zweite wichtige histologische Merkmal sind die so genannten Lewy-Körperchen [Gibb WRG, Lees AJ 1988]. Dabei handelt es sich um eosinophile, zytoplasmatische Einschlusskörper, deren Zusammensetzung immer noch nicht vollständig aufgeklärt ist. Man weiß heute aber, dass neben α -synuclein, das die fibrilläre Hauptkomponente der Lewy-Körper darstellt, unter anderem folgende Proteine enthalten sind: Neurofilamente, Ubiquitin, UCH-L1, α 2-Makroglobulin, α B-Kristallin, β -Amyloid-Precursor-Protein, Mikrotubuli-assoziiertes Protein Tau, Tyrosin-Hydroxylase, Glutathion-S-Transferase, Topomyosin, Tubulin, synphilin 1 sowie das Protein 14-3-3.

[Review in: Pollanen MS, Dickson DW et al 1993], [Spillantini MG, Schmidt ML et al 1997], [Wakabayashi K, Engelender S et al 2000], [Uhl A, Berg D et al 2002]. Lewy-Körper sind auch an anderen Orten, im Hirnstamm und auch in der Hirnrinde beschrieben worden. Sie finden sich auch bei 10% der gesunden älteren Menschen und bei anderen Erkrankungen des zentralen Nervensystems. Sie sind also ein quantitatives, nicht ein qualitatives Merkmal der Parkinson-Krankheit [Poeck K, Hacke W 1998]. Durch den Untergang der dopaminergen Zellen in der Substantia nigra kommt es in der Folge zu einem Ausfall der Neurone, die auf das Striatum projizieren, das selbst intakt bleibt. [Agid Y, Javoy-Agid F, Ruberg M 1987]. Eine klinische Manifestation der Erkrankung ist ab einem nigralen Nervenzellverlust von etwa 50% zu erwarten [Fearnley JM, Lees, AJ 1991] bzw. bei einer Verringerung des Dopamins im striatalen Projektionsgebiet der nigralen Neurone um 60-80% [Leenders KL, Salmon EP et al 1990]. Die klinische Diagnose des M. Parkinson ist mit Unsicherheiten behaftet. In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass die Diagnosesicherheit nur bei 56% bis 80% liegt [Martilla RJ, Rinne UK 1976], [Hughes AJ, Daniel SE et al 1992], [Rajput AA, Rozdilsky B et al 1991]. Dennoch hat man sich international auf einen Diagnosealgorithmus nach den Kriterien der United Kingdom Parkinson's Disease Brain Bank geeinigt, der seither mehrfach revidiert wurde [Gibb WRG, Lees AJ 1988], [Ward CD, Gibb WRG 1990], [Marjama-Lyons JM, Koller WC 2001], [Hughes AJ, Daniel SE et al 1992]. Danach müssen bei einem Patienten mit einer Anamnese von mindestens einem Jahr das Symptom Bradykinese vorliegen UND zusätzlich entweder Rigor ODER Ruhetremor. Außerdem gilt ein gutes Ansprechen der Symptomatik auf eine L-DOPA Behandlung als deutlicher Hinweis auf einen M. Parkinson. Andersherum sind einige klinische Symptome klassischerweise als Hinweis gegen einen Morbus Parkinson zu sehen. Dazu gehören insbesondere [Marjama-Lyons JM, Koller WC 2001]:

- Demenzielle Entwicklung innerhalb eines Jahres
- Abruptes Einsetzen der Parkinson-Symptome
- Sehr schnelles oder fehlendes Voranschreiten der Symptomatik
- Vertikale Blickparese nach unten
- Schwere oder früh auftretende autonome Dysfunktionen
- Zeichen der Schädigung des ersten Motoneurons oder zerebelläre Symptome
- Sehr frühe posturale Instabilität innerhalb des ersten Jahres

2.4.1. Technische und apparative Unterstützung bei der Diagnosestellung

Das Diagnosekriterium "Ansprechen der Parkinson Symptomatik auf L-DOPA oder einen Dopaminagonisten" ist gerade bei kurzer Krankheitsdauer und damit verbundener geringer Symptomatik oft schwer heranzuziehen. Um schnell eine relativ sichere Aussage über das Ansprechen der Symptome auf dopaminerge Stimulation machen zu können, gibt es in spezialisierten Zentren die Möglichkeit, mit bildgebenden Verfahren wie PET (positron emission tomography) [Leenders KL 1990] und SPECT (single photon emission computer tomography) [Schwarz J, Tatsch K et al 1992] die Dichte der postsynaptischen D₂-Dopaminrezeptoren des Corpus striatum zu messen. Wenn bei einem Patienten mit Parkinson-Symptomen im IBZM-(Iodobenzamid)-SPECT eine normale Dichte der D₂-Dopamin-Rezeptoren gefunden wird, so kann man mit 86%-iger Wahrscheinlichkeit ein positives Ansprechen auf dopaminerge Therapie vorhersagen. Gleichmaßen kann ein Therapieversagen bei erniedrigter D₂-Dopaminrezeptordichte mit der gleichen Wahrscheinlichkeit prognostiziert werden.

Weniger aufwendig sind akut-pharmakologische Tests, wie der L-DOPA- und der Apomorphin-Test. Dabei wird einmalig eine hohe Dosis von L-DOPA oral verabreicht [Esteguy M, Bonnet AM et al 1985], [Hughes AJ, Lees AJ, Stern GM 1991] bzw. Apomorphin subkutan injiziert [Barker R, Duncan J, Lees AJ 1989], [Oertel WH, Gasser T et al 1989], [Hughes AJ, Lees AJ et al 1990], [D'Costa DF, Abbott RJ et al 1991] und die Wirkung auf die Parkinson Symptomatik dokumentiert. Der Gesamtvoraussagewert des Apomorphin-Tests bei den Patienten dieser Studien lag bei 90% bezüglich des Ansprechens auf dopaminerge Therapie.

Zusätzlich können auch klassische bildgebende Verfahren wie die Computertomografie (CT) und die Magnetresonanztomografie (MRT) zur Diagnosefindung beitragen. Dabei dient die CT vor allem, einen Normaldruckhydrozephalus, vaskuläre Erkrankungen oder Raumforderungen darzustellen. Dies könnten Ursachen für ein sekundäres Parkinson-Syndrom sein. Die MRT ist der CT in Bezug auf strukturelle Läsionen weit überlegen. In den T2-gewichteten Bildern ist dabei besonders auf hypointense Areale im dorsolateralen und posterioren Putamen zu achten bzw. auf eine schmale Hyperintensität am lateralen Rand des Putamens, der der Capsula interna anliegt [Testa D, Savoiardo M et al 1993], [Lang AE, Curran T et al 1994], [Konagaya M, Konagaya Y et al 1995], [Schwarz J, Weis S et al 1996]. Beide Zeichen deuten auf eine Multisystematrophie. Daneben dient die MRT der

Identifikation von vaskulären und nicht-vaskulären Läsionen in anderen Basalganglienregionen oder an anderen Stellen des zentralen Nervensystems.

2.5. Ätiologie

Wie in den vorangestellten Kapiteln beschrieben wurde, ist die Pathophysiologie von M. Parkinson durch den Ausfall der dopaminergen Nervenzellen in der Substantia nigra und die dadurch gestörte Projektion auf das Striatum ausreichend geklärt. Die Ursache für den Zelluntergang ist aber bis heute unklar. Es existieren mehrere Hypothesen zur Entstehung der Parkinsonschen Krankheit (Übersichten in: [Hirsch EC 1994], [Mizuno Y, Ikebe SI et al 1995], [Cortopassi GA, Wang E 1995], [Ozawa T 1995], [Harding AE 1994]):

- Apoptose
- Endogene und exogene Neurotoxine
- Genetische Suszeptibilität
- Immunprozesse
- Mitochondriale Beteiligung
- Oxidativer Stress
- Umweltfaktoren
- Vorzeitige Zellalterung

Dabei ist wichtig, dass die Pathomechanismen, die diesen Hypothesen zugrunde liegen, wahrscheinlich miteinander in Zusammenhang stehen und sich gegenseitig bedingen.

2.5.1. Risikofaktoren

Zahlreiche Risikofaktoren wurden mit der Entstehung der Parkinsonschen Erkrankung in Zusammenhang gebracht (Tabelle 2) [Tanner CM 2002]. Einer der bedeutendsten Zusammenhänge besteht dabei zwischen dem Alter des Patienten und dem Auftreten der Erkrankung. Daneben spielt eine positive Familienanamnese eine Rolle. Heute weiß man, dass ca. 10-20% aller Parkinson-Patienten Verwandte mit dem gleichen Erkrankungsbild haben. Männliches Geschlecht ist ein weiterer potenzieller Risikofaktor. Die Erkrankung ist

unter Männern etwa 1,2 - 1,5 mal häufiger [Rajput ML, Rajput AH 2002]. In anderen Prävalenz-Studien zeigten die Autoren eine höhere Fallzahl innerhalb der weißen Bevölkerung. Ob das auf einen Bias bei den jeweiligen Patienteneinschlüssen in den Studien, auf die unterschiedlichen Überlebensraten der Bevölkerungsgruppen oder auf ein tatsächliches Risiko für Parkinson zurückgeht, konnte nicht ermittelt werden. Auch Charaktereigenschaften eines Menschen scheinen eine Prädisposition für das Auftreten der Erkrankung zu sein (Tabelle 2).

Dass Umweltfaktoren wesentlich zu der Entstehung der Erkrankung beitragen wird schon sehr lange diskutiert. Dabei werden als Risikofaktoren häufig landwirtschaftliche oder industrielle Toxine angeführt.

Schließlich wurde auch vermutet, dass wiederholte Kopfverletzungen und Schädel-Hirn-Traumata möglicherweise einen Risikofaktor für M. Parkinson bedeuten mit einer Steigerung des Risikos je schwerer die Verletzungen waren.

Risikofaktoren für die Entstehung von M. Parkinson	
• Hohes Alter	
• Positive Familienanamnese	
• Männliches Geschlecht	
• Kaukasische Bevölkerung	
• Persönlichkeit	<ul style="list-style-type: none"> ○ introvertiert, scheu, nervös, stark verantwortungsbewusst, pedantisch
• Umweltfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> ○ Toxine, Herbizide, Pestizide, Schwermetalle, Nähe zu Industrieanlagen, ländliche Umgebung, Quellwasser
• Kopfverletzungen	

Tabelle 2: Risikofaktoren für M. Parkinson

2.6. Hinweise für genetische Beteiligung in der Ätiologie des Morbus Parkinson

Über viele Jahre hinweg wurde die Beteiligung von genetischen Faktoren in der Ätiologie des M. Parkinson kontrovers diskutiert. Um den Beweis anzutreten, dass genetische

Suszeptibilität eine Rolle bei dieser Erkrankung spielt, gibt es grundsätzlich drei Studienrichtungen, die eine solche Hypothese belegen können [Wood N 1997]:

1. Zwillingsstudien
2. Familienstudien
3. Kandidatengen-Studien

2.6.1. Zwillingsstudien

Hier wurde ursprünglich berichtet, dass der genetische Beitrag zur Ätiologie des M. Parkinson unerheblich sei, da ähnliche Konkordanzraten sowohl bei ein- (8%) als auch zweieiigen (5%) Zwillingen auftraten [Ward CD, Duvoisin RC et al 1983], [Marsden CD 1987]. Diese Arbeiten wurden aber aufgrund ihrer Methode kritisiert, so dass unter Berücksichtigung der möglich aufgetretenen Fehler eine erneute Analyse der Daten durchgeführt wurde. Dabei wurde berichtet, dass die genetische Hypothese weder bewiesen noch widerlegt werden könne [Johnson WG, Hodge SE et al 1990]. In weiteren Studien wurde das Alter, in dem die Zwillinge an Parkinson erkrankten mit berücksichtigt und damit zusammenhängend die Idee des präklinischen M. Parkinson formuliert. Durch die Entwicklung von PET mit Liganden wie 18-F-DOPA [Sawle GV, Wroe SJ et al 1992] wurde es möglich, auch in vivo die Funktion der nigro-striatalen Bahnen im Gehirn zu erfassen, noch bevor eine klinische Manifestation der Erkrankung feststellbar ist. Die Resultate solcher Studien [Burn DJ, Mark MH, Playford ED et al 1992], [Holthoff VA, Vieregge P et al 1994] zeigten, dass tatsächlich einige der als klinisch unauffällig eingestuft Zwillinge eine reduzierte Aufnahme des Liganden 18-F-DOPA zeigten und damit als Patienten mit präklinischem Parkinson eingestuft werden könnten.

2.6.2. Familienstudien

Es existieren zahlreiche Arbeiten, die belegen, dass es autosomal dominante und rezessiv vererbte Formen des M. Parkinson gibt [Degl'Innocenti F, Maurello MT et al 1989], [Golbe LI, Di Iorio G et al 1990], [Gasser T, Wszolek ZK et al 1994], [Waters CH, Miller CA 1994]. Mittlerweile wurden auch genaue Genorte für diesen Vererbungsmodus gefunden. Einen Überblick über die seit 1997 insgesamt 11 dokumentierten Genorte und Loci gibt Tabelle 3.

Gen/Locus	Lokalisation	Vererbungsmodus
PARK1 = α -synuclein	4q21-23	Autosomal-dominant
PARK2 = „Parkin“	6q25	Autosomal-rezessiv
PARK3	2p13	Autosomal-dominant
PARK4 = PARK1 = α -synuclein	4q21-23	Autosomal-dominant
PARK5 = UCH-L1	4p14	Autosomal-dominant
PARK6 = PINK1	1p35-36	Autosomal-rezessiv
PARK7 = DJ-1	1p36	Autosomal-rezessiv
PARK8 = LRRK2	12p11.2-q13.1	Autosomal-dominant
PARK9 = Kufor-Rakeb-Syndrom	1p36	Autosomal-rezessiv
PARK10	1p32	Kein Mendelscher Erbgang
NR4A2 = NURR1	2q22-23	Autosomal-dominant

Tabelle 3: Gene für die familiären Formen des Parkinson-Syndroms

2.6.2.1. PARK1 (α -synuclein, 4q21)

Für eine italienische Großfamilie [Golbe LI, Di Iorio G et al 1990] wurde der Defekt auf das Chromosom 4q21-23 (PARK1) lokalisiert [Polymeropoulos MH, Higgins JJ et al 1996]. In der zuletzt genannten Arbeit wurde eine Mutation (Alanin53Threonin, A53T, siehe unten) in dieser und in drei Familien griechischen Ursprungs gefunden. Man geht davon aus, dass diesem Phänomen ein „founder effect“ zugrunde liegt aufgrund der historischen Verknüpfung beider Regionen. Das Krankheitsbild bei den betroffenen Patienten entspricht weitgehend demjenigen der typischen Lewy Körper assoziierten Parkinsonschen Erkrankung. Hervorzuheben ist jedoch das frühe Alter von durchschnittlich 46 Jahren, mit dem die Patienten erkrankten. Sporadischer M. Parkinson zeigt einen durchschnittlichen Krankheitsbeginn mit 59,7 Jahren [Di Rocco A, Molinari SP et al 1996]. Außerdem fällt auf, dass die Erkrankung innerhalb dieser Familie einen sehr schnellen progressiven Verlauf bis zum Tod hatte und dass ein relativ großer Anteil der betroffenen Angehörigen eine gleichzeitig vorliegende Demenz zeigte [Golbe LI, Di Iorio G et al 1996]. Die Mutation in diesen Familien besteht in einem Einzelbasenaustausch an Position 209 des Gens für das Protein α -synuclein mit einem resultierenden Austausch der Aminosäure Alanin durch

Threonin an der Position 53 des Proteins (Ala53Thr) [Polymeropoulos MH, Lavedan C et al 1997]. Diese Mutation führt möglicherweise zu einer Aggregation des Proteins α -synuclein. Das Protein spielt eine erhebliche Rolle für synaptische Plastizität im menschlichen Gehirn [George JM, Jin H et al 1995]. Darüber hinaus zeigten α -synuclein-transgene Drosophila Fliegen und experimentelle Modelle an Mäusen progressive motorische Dysfunktion und einen Verlust dopaminerger Neurone [Feany MB, Bender WW 2000], [Masliah E, Rockenstein E et al 2000]. α -synuclein und dessen Mutationen kann somit erheblich zur Pathogenese der Lewy Körper assoziierten Parkinsonschen Erkrankung beitragen [Spillantini MG, Schmidt ML et al 1997], [Lee S, Kim Y et al 2003].

Neben diesem Aminosäureaustausch wurde in einer deutschen Familie eine weitere Mutation gefunden, nämlich Ala30Pro [Krüger R, Kuhn W et al 1998]. Interessanterweise zeigte sich klinisch bei diesen betroffenen Patienten ein dem sporadisch auftretenden Parkinson-Syndrom nahezu identisches Bild. Mittlerweile wurden auch weitere Parkinson Familien mit wahrscheinlich dominantem Erbgang auf den PARK1 Ort hin untersucht (Übersicht in [Gasser T 1998]). In keiner dieser Familien wurde die Mutation gefunden, so dass zusammengefasst festgestellt werden kann, dass eine Mutation im α -synuclein Gen in nur seltenen Fällen die Ursache eines familiären M. Parkinson ist, aber in den oben beschriebenen Fällen sehr vieles dafür spricht, dass eine wesentliche Komponente der Pathogenese die Mutation im α -synuclein Gen darstellt.

2.6.2.2. PARK2 (Parkin, 6q25)

Auch ein Gen für eine autosomal-rezessiv vererbte Form des Parkinson-Syndroms wurde kartiert [Matsumine H, Saito M et al 1997] und identifiziert [Kitada T, Asakawa S et al 1998]. Diese Form des Parkinson-Syndroms, die oft bereits im 2. oder 3. Lebensjahrzehnt zur Erkrankung führt, insgesamt jedoch eine enorme Variationsbreite des Erkrankungsalters zeigt, unterscheidet sich neuropathologisch vom idiopathischen Parkinson-Syndrom durch das Fehlen der charakteristischen Lewy-Körper [Mori H, Kondo T et al 1998]. In den funktionellen Bildgebungen war die Aufnahme von Dopamin-Tracern bihemisphärisch sowohl im Putamen als auch im Nucleus caudatus vermindert [Portman AT, Giladi N et al 2001], [Khan NL, Brooks DJ et al 2002a], während sich beim nicht-familiär auftretenden M. Parkinson die verringerte Aufnahme des Dopamins initial unilateral und vorwiegend im Putamen manifestiert [Leenders KL, Palmer AJ et al 1986], [Leenders KL, Salmon EP et al

1990]. Das ursächliche Gen dieser Form von Parkinson-Syndrom liegt auf dem langen Arm von Chromosom 6 und wurde „Parkin“ genannt, das Protein-Produkt ist eine E3-Ubiquitin-Ligase [Shimura H, Hattori N et al 2000]. Ubiquitin wird, wie α -synuclein, in Lewy-Körpern gefunden [Schlossmacher MG, Frosch MP et al 2002]. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass eine besondere Form des α -synuclein (PARK 1, siehe oben) das Substrat für „Parkin“ ist [Shimura H, Schlossmacher MG et al 2001]. Somit wurde eine Verbindung dieser beiden Parkinson-Gene über das Ubiquitin-System hergestellt. Neuere Untersuchungen zeigen darüber hinaus, dass das autosomal-rezessive juvenile Parkinson-Syndrom eine relativ häufige Ursache der Parkinson-Krankheit mit frühem Erkrankungsalter darstellt [Abbas N, Lücking, CB et al 1999].

2.6.2.3. PARK3 (2p13)

Durch die Untersuchung von sechs deutschstämmigen Familien mit autosomal-dominant vererbtem Parkinson-Syndrom konnte ein weiterer Genlocus auf Chromosom 2p13 kartiert werden [Gasser T, Müller-Myhsok B et al 1998]. Die Annahme eines Suszeptibilitätslocus in dieser Region wurde unterstützt durch die Beobachtung eines gemeinsamen Haplotyps in zwei der untersuchten Familien innerhalb der gekoppelten Region. Zwar konnte bisher ein genealogischer Zusammenhang zwischen diesen Familien nicht gesichert werden, doch stammen sie aus einer relativ eng umschriebenen geographischen Region in Norddeutschland bzw. Süddänemark, so dass eine gemeinsame Gründer-Mutation („founder effect“) wahrscheinlich ist. Aufgrund von Haplotyp-Untersuchungen wurde für diesen Genort eine Penetranz von wahrscheinlich unter 40% angenommen. Aufgrund dieser Beobachtung ist eine Bedeutung des Genortes auch für Patienten mit familiärem Parkinson-Syndrom ohne klare Mendel'sche Vererbung oder sogar für das sporadische Parkinson-Syndrom denkbar. Der klinische Phänotyp in diesen Familien ist demjenigen des sporadischen idiopathischen Parkinson-Syndroms sehr ähnlich. Genauere Analysen der Gene in der oben genannten Region konnten bisher keine kausalen Mutationen nachweisen [West AB, Zimprich A et al 2001].

2.6.2.4. PARK4 (α -synuclein, 4q21)

Ein weiterer Genort wurde in einer im mittleren Westen der USA lebenden Familie (Spellman-Muenter-Familie) mit autosomal-dominant vererbtem Parkinson-Syndrom auf dem kurzen Arm von Chromosom 4 kartiert [Farrer M, Gwinn-Hardy K et al 1999]. Zusätzlich zu einer schweren, rasch progredienten Parkinson-Symptomatik mit sehr frühem Erkrankungsbeginn (im Mittel 33,6 Jahre) zeigen die Betroffenen dieser Familie weitere klinische Auffälligkeiten, wie z.B. eine ausgeprägte demenzielle Entwicklung, autonome Dysfunktionen, früher Gewichtsverlust, Myoklonien und epileptische Anfälle [Muenter MD, Forno LS et al 1998].

Vor kurzem wurde gezeigt, dass die Lokalisation des Gens in dieser Familie auf den kurzen Arm von Chromosom 4 auf einem Typisierungsfehler beruhte. Erneute Kopplungsuntersuchungen zeigten, dass die Erkrankung mit dem α -synuclein-Gen auf dem langen Arm von Chromosom 4 ko-segregiert. Weitere Untersuchungen konnten nachweisen, dass es sich bei der hier krankheitsverursachenden Mutation um eine Triplikation eines zweimegabasenlangen Fragments handelt, welches das α -synuclein-Gen enthält [Singleton AB, Farrer M et al 2003].

2.6.2.5. PARK5 (UCH-L1, 4p)

Telometrisch von dem im vorigen Abschnitt genannten Locus PARK4 auf dem kurzen Arm von Chromosom 4 liegt das Gen für die C-terminale Ubiquitinhydrolase L1 (UCH-L1). UCH-L1 ist eines der am häufigsten vorkommenden Proteine im menschlichen Gehirn [Wilkinson KD et al 1989], [Wilkinson KD Deshpande S, et al 1992] mit bis zu 2% der gesamten Protein-Masse. Mittels immunhistochemischer Methoden wurde UCH-L1 auch als Bestandteil der Lewy-Körperchen nachgewiesen [Lowe J, McDermott H et al 1990]. Da dieses Enzym in der Ubiquitin-vermittelten Proteindegradation eine Rolle spielt, wurde das Gen als „Kandidatengen“ untersucht. Bei zwei Betroffenen einer kleinen deutschstämmigen Familie (alle anderen Mitglieder der Familie starben vor Beginn dieser Untersuchung) wurde eine Mutation an Position 93 dieses Gens gefunden, die zu einem Austausch der Aminosäure Isoleucin zu Methionin an dieser Stelle führt (Ile93Met) [Leroy E, Boyer R et al 1998]. Diese Mutation bewirkt eine reduzierte enzymatische Aktivität der Ubiquitinhydrolase in vitro. Die

Funktion dieses Enzyms in vivo unter normalen Bedingungen und seine Funktion in dem molekularen Zusammenhang, der zu nigraler Zelldegeneration führt, ist aber noch unklar. In weiteren Familien konnte diese Mutation jedoch nicht nachgewiesen werden [Maraganore DM, Farrer MJ et al 1999], [Wintermeyer P, Krüger R et al 2000], [Mellick GD, Silburn PA 2000], [Lincoln S, Vaughan J 1999]. Stattdessen fanden Maraganore et al. einen Polymorphismus in diesem Gen, der einen Austausch der Pyrimidinbase Cytosin zur Purinbase Adenin an Position 54 im Exon 3 des Gens führt (C54A), was einen Aminosäureaustausch Serin durch Tyrosin im Codon 18 bewirkt (S18Y) [Maraganore DM, Farrer MJ et al 1999]. Da dieser Polymorphismus bei diesen Patienten signifikant seltener zu finden war, lautete die Schlussfolgerung der Untersuchung, dass der Aminosäureaustausch einen protektiven Effekt in Bezug auf die Entstehung der Erkrankung haben könnte [Liu Y, Fallon L et al 2002]. Der beobachtete Effekt war besonders groß bei Parkinson Patienten mit frühem Erkrankungsalter. Die Möglichkeit, dass das Enzym tatsächlich eine pathogenetische Rolle spielt, wird untermauert durch die Entdeckung, dass ein vererbter neurologischer Phänotyp in Mäusen durch eine Mutation im entsprechenden Gen dieser Tiere hervorgerufen wird [Saigoh K, Wang Y-L et al 1999].

Es gibt aber auch hier Veröffentlichungen, die dieser Theorie widersprechen. In einer Studie mit 114 Parkinson-Patienten in Frankreich zum Beispiel konnte keine Assoziation mit dem S18Y-Polymorphismus nachgewiesen werden [Levecque C, Destee A et al 2001].

2.6.2.6. PARK6 (PINK1, 1p35-36)

Im Jahr 2001 wurde in einer großen italienischen Familie, der Marsala-Familie, eine Assoziation der Parkinsonschen Erkrankung mit Chromosom 1 veröffentlicht [Valente EM, Bentivoglio AR et al 2001]. Diese Form der Parkinsonschen Erkrankung hat einen frühen Erkrankungsbeginn und wird autosomal-rezessiv vererbt. Bis auf eine sehr langsame Progredienz ähnelt diese Form klinisch dem sporadisch auftretenden M. Parkinson. Insbesondere zeigt sich ein gutes Ansprechen auf L-Dopa [Valente EM, Brancati F et al 2002]. In der funktionellen Bildgebung zeigen sich Parallelen zu der „Parkin“-Variante mit symmetrisch bihemisphärischer Minderaufnahme von Dopamin in Putamen und Nucleus caudatus [KhanNL, Valente EM et al 2002b]. Bislang gibt es keine postmortalen, neuropathologischen Daten. Seit der Entdeckung wurde in mehreren kleineren europäischen Familien eine Assoziation der Erkrankung mit PARK6 nachgewiesen.

Vor kurzem konnte das ursächliche Gen, PINK1, identifiziert werden [Valente EM et al 2004]

2.6.2.7. PARK7 (DJ-1, 1p36)

Eine Verbindung der Parkinsonschen Erkrankung mit einem anderen Genort auf Chromosom 1p36 wurde erstmals bei einer genetisch isolierten Subpopulation im Südwesten der Niederlande identifiziert und zeigte eine „early-onset“-Form mit autosomal-rezessivem Erbgang [Van Duijn CM, Dekker MC et al 2001]. Kurze Zeit später wurde dies bei einer italienischen Familie bestätigt [Bonifati V, Breedveld GJ et al 2002]. Klinisch zeigt sich die genannte Form mit einer langsamen Progredienz der Symptomatik und sehr variablem Schweregrad. Zusätzlich zu Parkinson-Symptomen zeigten sich bei Mitgliedern der holländischen Patienten und bei einem Betroffenen aus der italienischen Gruppe psychiatrische Zusatzerkrankungen [Van Duijn CM, Dekker MC et al 2001], [Dekker MC, Bonifati V et al 2003].

Auch bei diesem Genlocus zeigt sich in den funktionellen bildgebenden Darstellungen des Gehirns eine symmetrische Minderaufnahme von Dopamin in Putamen und Nucleus caudatus, wie schon bei den „Parkin“- und PARK6-assoziierten Formen von Parkinson beschrieben [Dekker MC, Bonifati V et al 2003].

Gerade kürzlich wurde nun eine erste Veröffentlichung herausgegeben, die eine homozygote Deletion im DJ-1 Gen in der holländischen Familie zeigte und eine homozygote L166P-Mutation in der italienischen Familie [Bonifati V, Rizzu P et al 2003]. Die Funktion des DJ-1 Gens ist nach wie vor unbekannt, aber es gibt Hinweise, dass es eine Rolle bei der Zellantwort auf oxidativen Stress spielen könnte. Das durch die Mutation veränderte Protein könnte so helfen, größeren oxidativen Schaden an der Zelle zu vermeiden.

2.6.2.8. PARK8 (LRRK2, 12p11.2-q13.1)

In der Samigahara Familie aus Japan wurde im Jahr 2002 die Verbindung eines autosomal-dominant vererbten Parkinson-Syndroms mit Chromosom 12p11.2-q13 beschrieben [Funayama M, Hasegawa K et al 2002]. Klinisch zeigte sich ein Bild wie beim sporadischen Parkinson Syndrom mit einem guten Ansprechen auf eine L-Dopa-Therapie. Weitere Untersuchungen an europäischen Familien konnten den oben beschriebenen Genort

bestätigen. Als Ursache für diese Form des Parkinsonsyndroms wurden vor kurzem Mutationen im Gen für LRRK2 (Leucine rich repeat-kinase 2) gefunden [Zimprich A, Biskup S et al 2004], [Paisan-Ruiz C, Jain S et al 2004]. Es handelt sich dabei wahrscheinlich um eine relativ häufige Form des dominant-vererbten Parkinsonsyndroms mit spätem Krankheitsbeginn. Pathologisch zeigen sich unterschiedliche Befunde, von einer typischen Lewy-Körper-Parkinsonerkrankung bis zu Tau-Ablagerungen.

2.6.2.9. PARK9 (Kufor-Rakeb-Syndrom, 1p36)

Der erste Bericht über ein neurodegeneratives Krankheitsbild mit sehr frühem Erkrankungsbeginn und autosomal-rezessivem Vererbungsmodus datiert aus dem Jahr 1994 [Najimal-Din AS, Wriekat A et al 1994]. Der Name leitet sich von der geografischen Gegend ab, in der diese Erkrankung erstmals beschrieben wurde. Neben klassischen Parkinson-Symptomen zeigte der Phänotyp von PARK9 aber auch andere neurologische Symptome wie Spastik, Demenz und supranukleäre Blickparesen. Bisher gibt es keine neuropathologischen Daten. Im Jahre 2001 gelang es, die Kopplung zu Chromosom 1p36 zu zeigen [Hampshire DJ, Roberts E et al 2001].

2.6.2.10. PARK10 (1p32)

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Genen und Loci mit klarem Mendelschem Erbgang ist das genetische Modell, das dem PARK10-Locus zugrunde liegt, weniger klar [Hicks AA, Petursson H et al 2002]. Klinisch entspricht die Form derjenigen des sporadisch auftretenden Parkinson-Syndroms mit spätem Krankheitsbeginn. Bildgebung oder neuropathologische Untersuchungen existieren nicht. In einer breit angelegten Untersuchung von 51 Familien in Island, in denen jeweils mehr als ein Parkinson-Patient lebte, konnte eine signifikante Verbindung zum Genort 1p32 nachgewiesen werden.

2.6.2.11. NURR1 (NR4A2, 2q22-23)

Kürzlich erschien eine Veröffentlichung über zwei Mutationen im NR4A2- oder NURR1-Gen [Le WD, Xu P et al 2003]. Die Variante lässt sich klinisch nicht vom sporadischen Parkinson-Syndrom unterscheiden. Radiologische oder neuropathologische Daten liegen nicht vor. Das NURR1-Gen ist an der Differenzierung und Erhaltung dopaminerger Neurone beteiligt.

Aufgrund dieser Funktion wurde das Gen schon früher als Kandidaten-Gen für M. Parkinson in die Diskussion gebracht [Zetterstrom RH, Williams R et al 1996], [Le WD, Conneely OM et al 1999]. Es wurden zwei Mutationen des Gens nachgewiesen, zum einen eine Deletion des Tyrosins an Stelle 291 und zum anderen ein Austausch von Tyrosin zu Guanin an Stelle 245. Beide Mutationen führen zu deutlich verringerten Mengen an NR4A2-messenger-RNA in der Zellkultur. Der weitere Mechanismus ist noch nicht bekannt.

Auch hier muss erwähnt werden, dass Arbeiten in größeren Assoziationsstudien widersprüchliche Ergebnisse für dieses Gen bei Patienten mit Parkinsonscher Erkrankung lieferten [Tan E, Chung H et al 2003], [Zheng K, Heydari B et al 2003].

2.6.3. Kandidatengen-Studien

Bis heute konzentrieren sich molekulargenetische Untersuchungen in Bezug auf die Parkinsonsche Erkrankung besonders stark auf so genannte "Kandidaten-Gene", und hierbei vor allem auf Gene, die an Dopaminsynthese und -metabolismus beteiligt sind. Zahlreiche dieser Gene wurden in kleineren und größeren Assoziationsstudien untersucht, häufig mit widersprüchlichen Ergebnissen:

2.6.3.1. Beteiligung des Apolipoprotein (Apo)ε4 Allels

In den letzten Jahren wurde immer wieder diskutiert, ob und in wie weit die beiden neurodegenerativen Erkrankungen Alzheimer Demenz und Parkinson Syndrom Ähnlichkeiten besitzen. Basierend auf klinischen und pathologischen Befunden [Hulette C, Mirra S et al 1995], [Hofman A, Schulte W et al 1989], geht man heute davon aus, dass die Parkinson'sche Erkrankung und die Alzheimer'sche Erkrankung zumindest teilweise einen ähnlichen pathogenetischen Hintergrund haben [Welch WJ, Gambetti P 1998]. Genetische Studien

haben bei M. Alzheimer das Apolipoprotein (Apo) ϵ 4 Allel schon seit mehreren Jahren als wichtigen Suszeptibilitätsmarker identifiziert [Schellenberg GD 1995]. Bisher jedoch blieben Untersuchungen des ApoE-Allels beim Parkinson Syndrom widersprüchlich [Koller WC, Glatt SL et al 1995], [Inzelberg R, Paleacu D et al 1998], [Zarepari S, Kaye J et al 1997], [The French Parkinson's disease Genetics Study Group 1997], [De la Fuente-Fernandez R, Sellers A et al 1998], [Egensperger R, Bancher C et al 1996]. In einer kürzlich erschienenen Studie [Krüger R, Vieira-Saecker A et al 1999] wurde ein hoch signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit Parkinson Syndrom und einer entsprechenden Kontrollgruppe festgestellt, wenn das α -synuclein-Allel und das ApolipoproteinE 4-Allel nicht getrennt sondern in Kombination miteinander untersucht wurde. Außerdem wurde in derselben Studie noch einmal auf die bedeutend stärkere Signifikanz hingewiesen, die auftrat bei Patienten mit frühem Krankheitsbeginn (< 50 Jahre).

2.6.3.2. Andere die dopaminerge Übertragung oder den zentralnervösen Metabolismus beeinflussende Genorte

- Gehäuftes Auftreten eines Cytochrom P450 (CYP2D6) Allels bei Parkinson-Patienten [Armstrong M, Daly AK et al 1992], [Smith CAD, Gough AC et al 1992]. Cytochrom P450 beschreibt eine Enzymfamilie, die an der Entgiftung verschiedener Stoffwechselprodukte beteiligt ist. Die Hypothese ist, dass eine reduzierte Funktion dieser Enzyme zu einer verstärkten Schädigung des Gewebes durch Umwelttoxine oder Vorstufen solcher Toxine führen kann. Dieser Locus wurde aber als Hauptdeterminante für genetische Suszeptibilität bei familiärem M. Parkinson ausgeschlossen [Gasser T, Wszolek ZK et al 1994], [Planté-Bordeneuve V, Davis MB et al 1994], [Mazzetti SP, Le Guern E et al 1994], [Gasser T et al 1996].
- Die Assoziation eines Allels des Tyrosinhydroxylase (TH)-Gens und sporadischem M. Parkinson [Kurth JH, Kurth MC 1992] konnte nie bestätigt werden und wurde für familiären M. Parkinson widerlegt [Gasser T, Wszolek ZK et al 1994], [Planté-Bordeneuve V, Taussig D et al 1995]
- Eine Allel-Assoziation zwischen M. Parkinson und einem Monoaminoxidase B (MAO-B)-Polymorphismus wurde ebenfalls widerlegt [Ho S, Kapadi AL et al 1995]

- Keine Assoziation konnte festgestellt werden zwischen M. Parkinson und Monoaminoxidase A (MAO-A) [Kurth JH, Kurth MC et al 1993], während andere Arbeitsgruppen diese Assoziation feststellten [Hotamisligil GS, Girmen AS 1994].
- Widersprüchliche Ergebnisse lieferten Untersuchungen über Varianten der N-Acetyltransferase in Assoziation mit familiärem M. Parkinson [Agundez JA et al 1998], [Bandmann O et al 1998], [Harhangi BS et al 1999], [van der Walt JM, Martin ER et al 2003]
- In einer Untersuchung mit drei großen Familien wurden Assoziationen mit anderen Kandidaten-Genorten (Glutathion Peroxidase, Katalase, Amyloid Precursor Protein, Superoxid-Dismutase 1 und brain-derived neurotrophic factor) ausgeschlossen [Gasser T, Wszolek ZK et al 1994]
- Higuchi et al [Higuchi S, Muramatsu T et al 1995] verglich die Allel-Häufigkeiten für die Dopamin-Rezeptoren D₂, D₃ und D₄ und für den Dopamin-Transporter (DAT) bei Patienten mit denen von Kontrollen und fand keinen Hinweis darauf, dass diese eine Rolle in der Ätiologie des M. Parkinson spielen.
- Eine ganze Reihe von mitochondrialen Polymorphismen wurden ebenfalls untersucht, darunter eine tRNA^{gln}(bp4336), ein "missense" an bp3397 und eine 9 bp-Insertion in der 12S rRNA [Shoffner J, Mrown MD et al 1993]. All diese Veränderungen wurden etwas häufiger in einer kleinen Zahl der Patienten gefunden im Vergleich zu Kontrollen. Daraufhin untersuchten Bandmann et al [Bandmann O, Sweeney MG et al 1997] die Gehirne von 100 verstorbenen Parkinson Patienten und fand dabei keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zu einer entsprechenden Kontrolle; die Polymorphismus-Rate der Patienten war nahezu identisch mit denen der Vergleichsgruppe. Erst kürzlich schließlich wurde in einer Arbeit der mitochondriale Mechanismus, der zu Nervenzellverlust bei M. Parkinson führen kann, zusammengefasst. [Fiskum G, Starkov A et al 2003]

2.7. Ziel der Arbeit

Anhand der oben dargestellten Sachverhalte wird deutlich, dass in bisherigen Studien zur Untersuchung eines genetischen Hintergrundes für die sporadische Parkinson'sche Erkrankung bestenfalls unklare, oft sogar sich widersprechende Ergebnisse veröffentlicht wurden.

Es gibt zwei Hauptprobleme bei den beschriebenen Fall-Kontroll-Studien:

- a) die Auswahl der Kontrollgruppe
- b) das Problem des "multiplen Testens"

Es ist vollkommen unmöglich, eine Kontrollpopulation zu ermitteln, die das Vorhandensein zufälliger Variationen von Allel-Häufigkeiten an Genorten mit Polymorphismen ausschließt. Bisher wurden Studien dieser Art mit Kontrollgruppen durchgeführt, die einem randomisierten match der Patientengruppe entsprach. In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals Verwandte (Eltern und/oder Geschwister) der Patienten als gesunde Kontrolle untersucht.

Da normalerweise mehr als eine Hypothese an den jeweiligen Gruppen getestet wird, gilt es als weitgehend sicher, dass man einen gewissen Prozentsatz falsch positiver Ergebnisse in diesen Studien erhält, abhängig von der Zahl der durchgeführten Tests.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, eine kürzlich neu entwickelte statistische Methode, den transmission disequilibrium test for siblings (sibTDT), dazu zu nutzen, die Rolle von vermeintlichen Suszeptibilitäts-Genorten in der Ätiologie des idiopathischen M. Parkinson zu untersuchen. Für die bestmögliche Erfassung der Fälle von M. Parkinson mit genetischem Ursprung, wurden nur Patienten mit einem Erkrankungsbeginn vor dem 50. Lebensjahr in die Studie mit aufgenommen. Zur weitgehenden Reduktion des Problems des "multiplen Testens" wurden drei der Suszeptibilitätsgenorte, die sich aufgrund der schon vorliegenden Studien als besonders starke Marker für einen genetischen Hintergrund bei der Entstehung der Parkinson'schen Erkrankung erwiesen haben, untersucht. Das sind im Einzelnen:

- a) das Gen für das Protein α -Synuclein auf 4q21 (PARK 1)
- b) das Apolipoprotein epsilon 4 allel
- c) die Ubiquitin C-terminale Hydrolase L1 (UCHL1)

3. PATIENTEN UND METHODEN

3.1. Patienten

Für die vorliegende Arbeit wurden 74 Patienten (Durchschnittsalter 59,64 Jahre; Standardabweichung 7,93 Jahre, 60,81% männlich; 39,19% weiblich) mit der Diagnose "Idiopathisches Parkinson Syndrom" aus der Neurologischen Klinik der Ludwig-Maximilian-Universität in Großhadern, München herangezogen; Abbildung 1

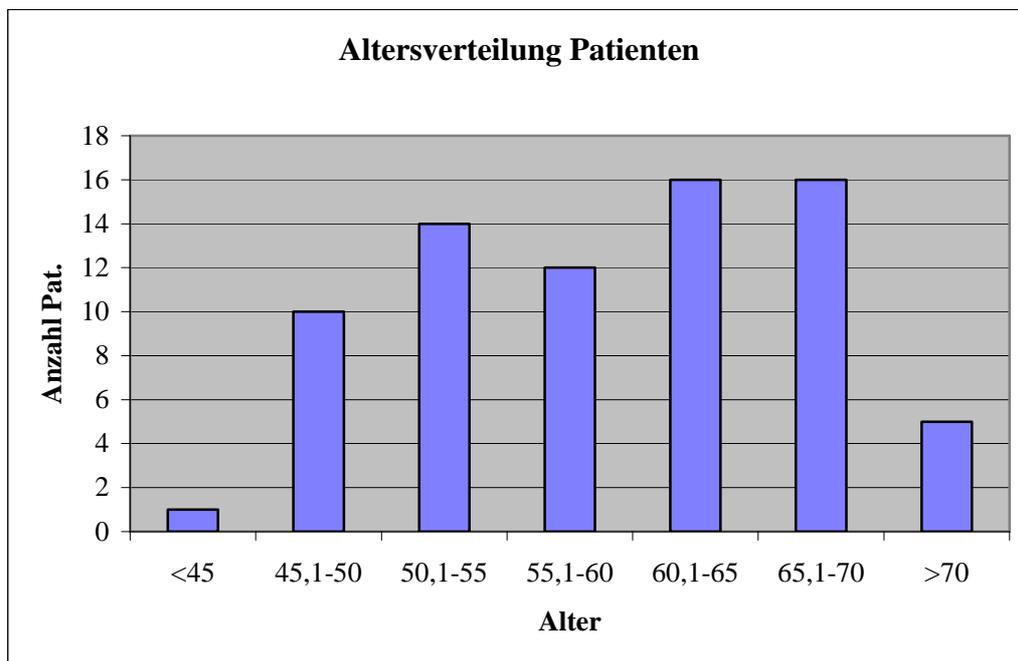


Abbildung 1: Altersverteilung der Patienten

Ein- und Ausschlusskriterien für diese Studie waren:

- a) Alter bei nachweisbarem Krankheitsbeginn („Age at onset“) < 50 Jahre (mittleres Erkrankungsalter in dieser Arbeit 44,02 Jahre; Standardabweichung 4,64 Jahre);
Abbildung 2
- b) Keine anderen neurologischen Erkrankungen
- c) Mindestens ein Geschwister bzw. mindestens ein Elternteil, das als Mitglied der Kontrollgruppe ebenfalls an der Studie teilnehmen möchte

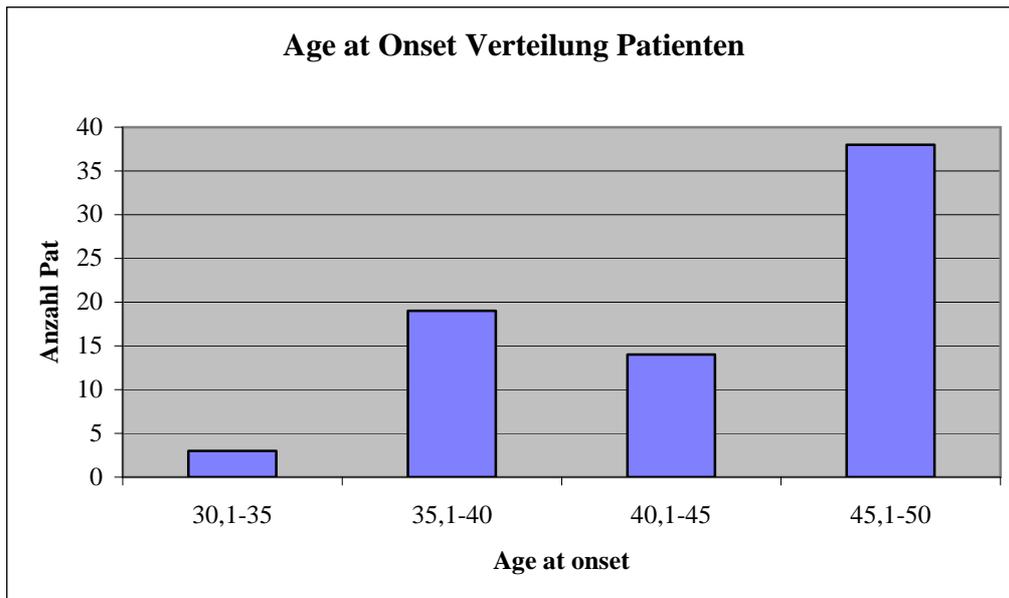


Abbildung 2: Alter bei Erkrankungsbeginn der Patienten

3.2. Kontrollgruppe

Für die entsprechende Kontrollgruppe, bestehend aus Geschwistern und/oder Eltern der betroffenen Patienten, erklärten sich insgesamt 149 Personen bereit, an der Studie teilzunehmen. (Durchschnittsalter 62,69 Jahre; Standardabweichung 12,27 Jahre, 44,97% männlich; 55,03% weiblich); Abbildung 3

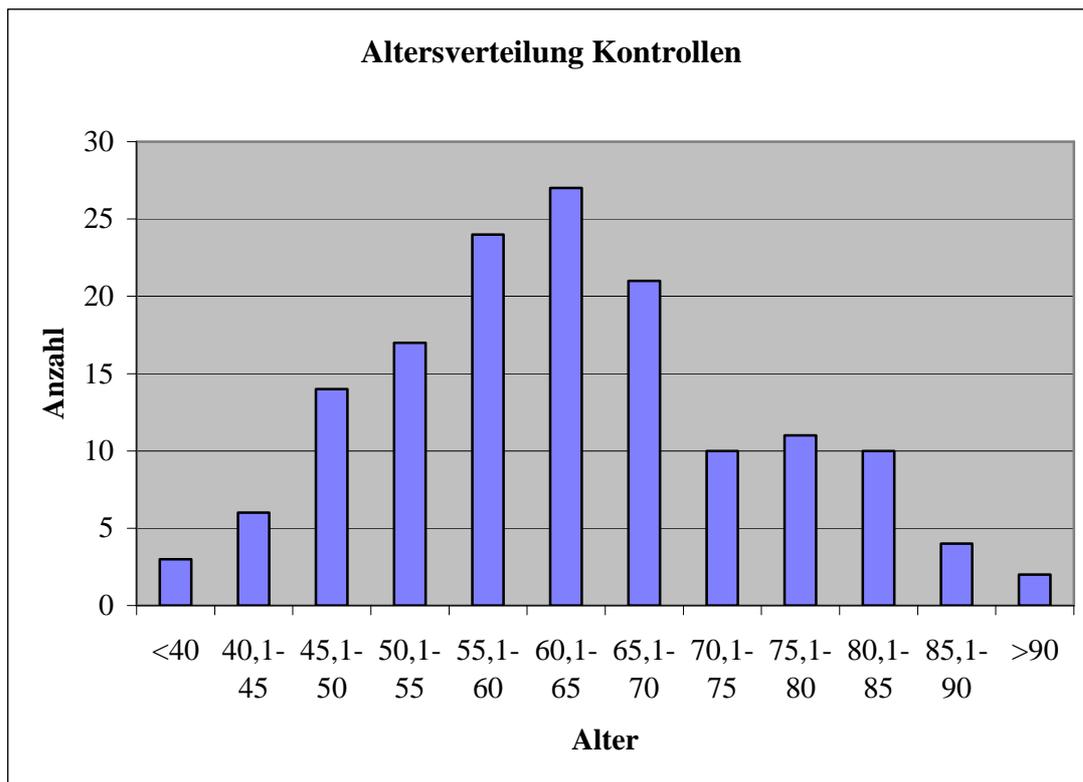


Abbildung 3: Altersverteilung der Kontrollgruppe

Ein- und Ausschlusskriterien für die Kontrollgruppe waren:

- a) keine bekannte neurologische Erkrankung
- b) insbesondere kein Hinweis auf das Vorliegen eines Parkinson Syndroms.

Punkt b) wurde bestätigt durch ein mit allen Angehörigen durchgeführtes standardisiertes Telefoninterview [Tanner CM, Gilley DW et al 1990]. Dieser Fragebogen wurde mittlerweile auch in deutscher Sprache validiert [Pramstaller PP, Falk M et al 1999]. Danach wurden den Angehörigen am Telefon neun Fragen gestellt, die dem Aufdecken eines nicht bekannten Parkinson Syndroms dienten. Zusätzlich wurden bei allen Kontrollen zwei Fragen nach einer existierenden Diagnose eines M. Parkinson bzw. dessen Behandlung gestellt. (Tabelle 4)

Frage 1	Haben oder hatten Sie Probleme beim Aufstehen von einem Stuhl?
Frage 2	Ist Ihre Handschrift im Verhältnis zu früher kleiner geworden?
Frage 3	Hat Ihnen jemand gesagt, dass Ihre Stimme leiser ist als früher?
Frage 4	Sind oder waren Sie beim Gehen unsicher?
Frage 5	Hatten Sie jemals das Gefühl, dass Ihre Füße am Boden kleben?
Frage 6	Hat Ihnen jemand gesagt, dass Ihr Gesicht weniger Ausdruck hat als früher?
Frage 7	Zittern Ihre Arme oder Beine?
Frage 8	Fällt es Ihnen schwerer als früher, Knöpfe an Ihrem Hemd oder Ihrer Bluse zu knöpfen?
Frage 9	Streifen Sie Ihre Füße beim Gehen nach oder machen Sie kleinere Schritte als früher?
Zusatzfrage 1	Hat Ihnen jemand gesagt, dass Sie an der Parkinson'schen Krankheit leiden?
Zusatzfrage 2	Haben Sie jemals die Medikamente Madopar®, Nacom®, Isicom®, Sinemet® oder Striaton® genommen?

Tabelle 4: Telefonfragebogen für die Angehörigen

Wie von Pramstaller et al. vorgeschlagen, wurde auch in unserem Fall der "cut-off" bei drei "Ja"-Antworten gezogen. Das bedeutet, dass alle Angehörigen, die drei oder mehr der angegebenen neun Fragen mit "Ja" beantworteten, nicht in die Studie mit aufgenommen wurden. Außerdem wurden all diejenigen ausgeschlossen, die mindestens eine der Zusatzfragen positiv beantworteten.

Sowohl von Patienten als auch von Kontrollen lagen schriftliche Einverständniserklärungen für die Teilnahme an der Studie vor.

3.3. Methoden

3.3.1. Gewinnung der Blutproben

Die für die Untersuchungen notwendigen DNAs der Patienten und Kontrollen wurden aus den Lymphozyten des Blutes der Studienteilnehmer gewonnen. Für die Patientengruppe lagen im Labor der Gruppe "Neurogenetik" der Abteilung Neurologie der Ludwig-Maximilians Universität in Großhadern in den meisten Fällen die notwendige DNA im Labor bereits vor.

Für die übrigen Patienten und vor allem deren Angehörigen sind wir nach folgendem Schema vorgegangen:

Nach telefonischem und schriftlichem Kontakt konnten die Personen wählen, ob sie eine Blutentnahme in der Neurologischen Klinik des Klinikums Großhadern oder von ihrem jeweiligen Hausarzt vornehmen lassen wollten. In letzterem Fall schickten wir je zwei beschriftete EDTA-Röhrchen zusammen mit Informationen zu den beabsichtigten Untersuchungen für den Patienten und den betreuenden Arzt sowie einer Einverständniserklärung dafür, dass wir das zurückgeschickte Blut für genetische Forschungszwecke benutzen dürfen, den Personen zu. Diese Erklärung wurde zusammen mit den beiden Blutröhrchen an das Labor der Arbeitsgruppe "Neurogenetik" an der Universität München zurückgesandt.

3.3.2. Extraktion der DNA

Die DNA wurde entsprechend der Standardmethoden aus den Lymphozyten der vorliegenden Blutproben extrahiert. Dazu wurde das erhaltene EDTA-Blut mit Erylysepuffer, bestehend aus in destilliertem Wasser gelöstem Ammoniumchlorid, Kaliumhydrogencarbonat und EDTA-Lösung, aufgefüllt und danach für fünfzehn Minuten ins Gefrierfach gestellt. Danach wurde zentrifugiert (1700rpm, 10min, 4°C) und der Überstand abgegossen. Durch erneutes Auffüllen des Röhrchens mit Erylysepuffer und Schütteln konnte das Pellet gelöst werden. Nach zehn Minuten im Gefrierfach wurde erneut zentrifugiert (1700rpm, 10min, 4°C), dann der Überstand abgegossen und das Röhrchen auf einem Tuch gut abgetropft. Daraufhin wurde das Pellet in 5ml SE-Puffer (NaCl 4,38g/l, EDTA-Lösung 100ml/l, destilliertes Wasser) zunächst gelöst und dann 500µl 10%iger SDS-Puffer sowie 10µl Proteinase K (10mg/ml) hinzu gegeben und das Gemisch vorgetext, bevor es über Nacht bei 37°C aufbewahrt wurde. Am nächsten Tag gaben wir 2,5ml NaCl-Lösung dazu und vortexten, bis es schäumte und zentrifugierten (2700rpm, 10min, 4°C). Der Überstand wurde daraufhin in ein mit 15ml 100%igem Alkohol gefülltes 50ml-Röhrchen gegossen und geschwenkt bis die DNA ausfiel. Letztere musste an den Rand gefischt werden und der Alkohol wurde abgegossen. Zwei Mal wurde erneut mit 10ml 70%igem Alkohol aufgefüllt und das Pellet gewaschen. Schließlich überführten wir das gewaschene Pellet in eine DNA-Tube und ließen es zum Trocknen offen aber abgedeckt stehen. Dann lösten wir das übrig gebliebene Pellet noch je nach Größe in

200-500µl TE-Puffer (Tris-Base mit Molekulargewicht 121,1; 12,114g/l, 20ml EDTA, destilliertes Wasser), und konnten dann die DNA bei 4°C lagern.

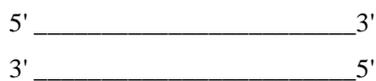
3.3.3. Molekulargenetische Untersuchung der DNA

Mittels geeigneter PCR-Primer wurde eine Vervielfältigung der DNA-Fragmente vorgenommen, die den entsprechenden zu untersuchenden Genort tragen.

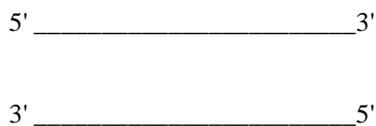
3.3.3.1. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ist ein Verfahren, mit dem hochspezifisch und – sensitiv einzelne DNS-Abschnitte millionenfach vervielfältigt werden können [Saiki RK, Gelfand, DH et al 1988]. Dadurch werden diese Genabschnitte mit den Testmethoden der nicht-radioaktiven Sequenzierung und Restriktionsenzymanalyse untersuchbar [Kösel S, Graeber MB 1994]. Das Prinzip der Polymerase-Ketten-Reaktion ist in Abbildung 4 dargestellt:

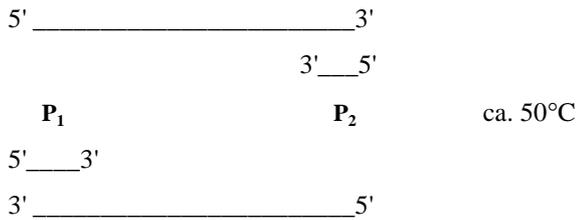
1. Denaturierung



ca. 90°-95°C



2. Annealing der Primer



3. Primerextension

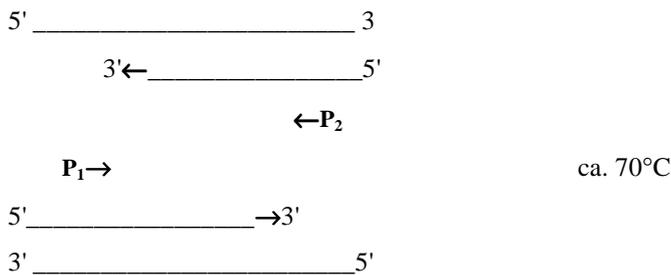


Abbildung 4: Die Polymerase-Ketten-Reaktion. Im Laufe der Polymerase-Ketten-Reaktion werden in der Denaturierungsphase die beiden komplementären Stränge der DNS bei hoher Temperatur (ca. 90-95°C) voneinander getrennt. Bei Temperaturen um 50°C und darunter findet die Anlagerung (Annealing) der Primer (P₁ und P₂) an die ihnen komplementäre Sequenz der Einzelstränge statt. Die thermostabile DNS-Polymerase bewirkt die komplementäre Polymerisation (Extension) – beginnend an den Primern – in die 5'→3'-Richtung bei ca. 70°C. Das Ergebnis sind zwei neue Doppelstränge. Diese drei Phasen werden zyklisch wiederholt, was zu einer exponentiellen Vervielfältigung des Bereiches der Template-DNS führt, der von den 5'-Enden der beiden Primer eingeschlossen wird. Die Temperaturen und die Dauer der einzelnen Phasen hängen von den Primern und der eingesetzten DNS ab.

Anschließend wurden die Fragmente mit dem entsprechenden Restriktionsenzym verdaut und mittels Agarose-Gel-Elektrophorese separiert.

3.3.3.2. Genotypisierung von α -Synuclein

Für den Polymorphismus in der Promotor-Region des α -synuclein-Gens wurde der Allelstatus mittels Polymerase Ketten Reaktion (PCR) untersucht. Dazu bediente man sich der beiden flankierenden Primer

- NACP-Rep1-F (5' GCAATAGAGTAGACAAAAGGATGG 3'), und
- NACP-Rep1-R (5'CTACATGACTGGCCCAAGATTAA 3')

Drei verschiedene Allele wurden identifiziert mit unterschiedlicher Anzahl von Basenpaaren (bp):

- Allel 1 (259 bp)
- Allel 2 (261 bp)
- Allel 3 (263 bp)

3.3.3.3. Genotypisierung von Apolipoprotein E (ApoE)

Für die Amplifizierung des ApoE-Gens mit den enthaltenen Aminosäuren an Positionen 112 und 158 wurden folgende flankierende Primer benutzt

- ApoE-F (5' CGGGCACGGCTGTCCAAGGA 3'), und
- ApoE-R (5' GGGCCCCGGCCTGGTACAC 3')

Nach Restriktionsverdau wurden dabei Restriktionsfragmente separiert, korrespondierend zu den Allelen

- ϵ 2, ϵ 3 und ϵ 4

3.3.3.4. Genotypisierung der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 (UCHL 1)

Folgende flankierende Primer wurden für die PCR eingesetzt:

- UCHL1-F (5' CTCCTCCCAGGCTCGGGT 3'), und
- UCHL1-R (5' CTCAAGCTGGGGAGCGGC 3')

Der oben beschriebene C54A-Polymorphismus mit Aminosäureaustausch Serin durch Tyrosin (S18Y) bedeutet eine Stelle für das RsaI-Restriktionsenzym. Daher wurde das entstehende PCR-Produkt durch die Endonuclease RsaI verdaut. Die Entstehungsprodukte waren:

- Der Wildtyp (wt, ein einzelnes DNA-Fragment mit einer Länge von 307 Basenpaaren (bp))
- Das veränderte Allel (S18Y, bestehend aus zwei DNA-Fragmenten mit Längen von 226 und 81 Basenpaaren (bp))

3.3.4. Statistik

Die Daten wurden analysiert mit Hilfe des transmission disequilibrium test for siblings (sibTDT).

3.3.4.1. Der transmission disequilibrium test (TDT)

Durch den transmission disequilibrium test (TDT) werden Familien untersucht, in denen die Eltern für das zu untersuchende, potenziell mit der Erkrankung assoziierte Allel heterozygot sind, und wertet die Frequenz aus, mit der dieses oder die Alternativform davon auf betroffene Nachkommen übertragen wird [Spielman RS, McGinnis RE et al 1993].

Das Problem bei so genannten komplexen genetischen Erkrankungen, die also nicht auf genau einen bestimmten Genort bezogen werden können, ist, dass nicht-betroffene Familienmitglieder normalerweise nur sehr viel geringere Informationen liefern für eine genetische Beziehung als betroffene Personen. Daher wäre es in einer solchen Situation essentiell, Familien mit mehreren betroffenen Verwandten (z.B. affected sib pairs, ASPs) zu untersuchen. Diese Art der Herangehensweise wurde auch erfolgreich angewandt bei genetischen Varianten, die ein hohes relatives Risiko zu einer Erkrankung beitragen,

beispielsweise der HLA-Komplex bei autoimmunologischen Erkrankungen. Beispiele hierfür sind neben anderen:

- Sjögren-Syndrom, assoziiert mit HLA-B8, HLA-Dw3 [z.B. Miyagawa S, Dohi K et al 1992]
- Narkolepsie, assoziiert mit HLA-DR2 [z.B. Lin L, Hungs M et al 2001]
- Zöliakie, assoziiert mit HLA-DR3, HLA-DR7 [z.B. Fernandez-Arquero M, Figueredo MA et al 1995]
- Juveniler Diabetes mellitus, assoziiert mit HLA-Dw21, HLA-DR3, HLA-DR4 [z.B. Field LL, Tobias R 1997]
- Psoriasis, assoziiert mit HLA-B13, HLA-B17, HLA-B37, HLA-Cw6 [z.B. Woodrow JC, Ilchysyn A 1985]

Für Genorte aber, die nur einen kleinen Beitrag zum relativen Risiko für eine genetisch verursachte Erkrankung liefern, ist diese Methode sehr limitiert. Computersimulationen haben gezeigt, dass bei einem Versuch mit der ASP-Methode, solch eine Beziehung bei einer komplex-genetischen Erkrankung zu beweisen, mehrere hundert geeignete Familien notwendig wären [Cox NJ, Spielman RS 1989]. Eine derart hohe Familienzahl ist für viele Erkrankungen, unter anderem auch für die Parkinsonsche Erkrankung nicht realistisch. Eine alternative Herangehensweise ist eine Methode, bei der familieninterne Untersuchungen gar nicht notwendig sind, so genannte Populationsassoziationen. Dabei werden die Allelhäufigkeiten von Patienten mit denen von nicht betroffenen, meist nach Alter und Geschlecht gepaarten Bevölkerungskontrollen verglichen. Diese Art der Studie ist sehr beliebt bei der Untersuchung komplexer Erkrankungen, wie auch schon weiter oben beschrieben (neben vielen anderen bei: [Breslow JL 1988], [Cox NJ, Bell GI 1989], [Comings DE, Comings BG et al 1991]).

Das Problem hierbei liegt darin, dass Assoziationen auch ohne "Linkage", also ohne echte genetische Verbindung vorgetäuscht werden können, z.B. durch besondere Bevölkerungszusammensetzungen bzw. Heterogenität innerhalb der Bevölkerung.

Der TDT vereint nun die Vorteile der beiden genannten Ansätze, Trennung in Familien und das nicht Benötigen mehrerer betroffener Verwandter.

3.3.4.2. Der sib-transmission disequilibrium test (sib-TDT)

Der TDT benötigt Daten von betroffenen Personen und deren Eltern. Bei einigen Erkrankungen mit spätem Krankheitsbeginn, unter anderem auch beim Parkinson Syndrom, sind aber Daten der Eltern schwierig beziehungsweise unmöglich zu erhalten. Stattdessen kommen Geschwister dieser Patienten in Frage. Ein Test, der unabhängig davon, ob nun nur Eltern, nur Geschwister oder Daten von beiden zur Verfügung stehen, ist der sib-TDT oder S-TDT [Spielman RS, Ewens, WJ 1998]. Denn mit diesem Test ist es möglich, über die Daten der Geschwister die Allele der Eltern zu rekonstruieren.

Dieser Test kam zur Anwendung bei der Auswertung der Daten in der vorliegenden Arbeit.

4. ERGEBNISSE

4.1. Ergebnisse der Untersuchung des Polymorphismus in der Promotor-Region des α -synuclein-Gens

Dieser Polymorphismus beeinflusst wahrscheinlich die Expression des α -synuclein Gens und könnte wie bereits oben beschrieben über eine dadurch verstärkte Aggregation des Proteins zu einem Verlust dopaminerger Neurone führen [Feany MB, Bender WW 2000], [Masliah E, Rockenstein E et al 2000].

4.1.1. Zusammenhang zwischen Länge des α -synuclein-REP1-Repeats und Erkrankungsalter innerhalb der Patientengruppe

Es sollte untersucht werden, ob die Länge des α -synuclein-REP1-Repeats das Erkrankungsalter beeinflusst.

In diesem Subtest fand sich kein Hinweis für einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Erkrankungsalter der Patienten und dem Auftreten eines der Allele von 259, 261 oder 263 Basenpaaren.

4.1.2. Vergleich der Länge des α -synuclein-REP1-Repeats zwischen Patienten und Kontrollgruppe

Es soll die Hypothese untersucht werden, ob bestimmte Allele des α -synuclein-REP1-Polymorphismus das Risiko an der Parkinson'schen Krankheit zu erkranken modifizieren. Dazu wurde die Häufigkeit der einzelnen Repeat-Längen zwischen Patienten und Kontrollen verglichen.

<u>Repeat-Länge</u>	<u>Patienten (n=74)</u>	<u>Kontrollen (n=149)</u>	<u>Total</u>
256bp	0	2	2
259bp	28	71	99
261bp	104	194	298
<u>263bp</u>	<u>16</u>	<u>31</u>	<u>47</u>
Total	148	298	446

Aus den Rohdaten wurde nun mit Hilfe des TDT (Implementation in TRANSMIT) auf die Kopplung und Assoziation des α -synuclein-Polymorphismus mit den verschiedenen Basenpaarlängen getestet. Daraus ergibt sich folgendes Ergebnis:

<u>Allel</u>	<u>Beobachtete Transmission</u>	<u>Erwartete Transmission</u>	<u>p-Wert</u>
256bp	2	2,7275	0,2699
259bp	60	58,559	0,6321
261bp	168	166,96	0,7890
<u>263bp</u>	<u>22</u>	<u>23,75</u>	<u>0,4660</u>
Total	252	252	

Damit zeigt sich im Vergleich zwischen Patienten und Kontrollgruppen kein signifikanter Unterschied in der Transmission der α -synuclein-Polymorphismen.

4.2. Ergebnisse zur Genotypisierung von Apolipoprotein E (ApoE)

Basierend auf der Hypothese, dass M. Alzheimer und die Parkinson'sche Erkrankung möglicherweise einen ähnlichen pathogenetischen Hintergrund haben [Welch WJ, Gambetti P

1998], rückte das ApoE-Allel gerade beim Parkinson Syndrom mit jungem Erkrankungsalter in den Mittelpunkt des Interesses.

4.2.1. Zusammenhang zwischen ApoE-Allelen und Erkrankungsalter innerhalb der Patientengruppe

Es sollte untersucht werden, ob die verschiedenen Ausprägungen des Apo-E-Allels das Erkrankungsalter beeinflusst.

In diesem Subtest fand sich kein Hinweis für einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Erkrankungsalter der Patienten und der Häufigkeit eines bestimmten ApoE-Allels bei den Patienten.

4.2.2. Vergleich der Allelhäufigkeiten zwischen Patienten und Kontrollgruppe

Es soll die Hypothese untersucht werden, ob bestimmte Allele des Apolipoprotein-Gens das Risiko an der Parkinson'schen Krankheit zu erkranken modifizieren. Dazu wurde die Häufigkeit der einzelnen Allele zwischen Patienten und Kontrollen verglichen.

<u>Allel</u>	<u>Patienten (n=74)</u>	<u>Kontrollen (n=149)</u>	<u>Total</u>
Apoε2	12	10	22
Apoε3	111	253	364
<u>Apoε4</u>	<u>25</u>	<u>35</u>	<u>60</u>
Total	148	298	446

Aus den Rohdaten wurde nun mit Hilfe des TDT (Implementation in TRANSMIT) auf die Kopplung und Assoziation des Apolipoprotein-Locus beziehungsweise einzelner Allele dieses Locus getestet. Daraus ergibt sich folgendes Ergebnis:

Allel	Beobachtete Transmission	Erwartete Transmission	p-Wert
Apoε2	9	14,665	0,0031
Apoε3	215	202,2	0,0001
Apoε4	28	35,131	0,0066
Total	252	252	

Damit zeigt sich im Vergleich zwischen Patienten und Kontrollgruppen ein signifikanter Unterschied in der Transmission der ApolipoproteinE-Allele. Die Transmissionen aller drei Allele weichen signifikant von den Erwartungswerten ab. Das Allel Apoε3 wird signifikant häufiger an die Erkrankten weiter gegeben, während Apoε2 und Apoε4 signifikant seltener an Betroffene vererbt werden. Dieses Ergebnis unterstreicht einen möglichen Zusammenhang der Parkinson'schen Erkrankung mit M. Alzheimer.

4.3. Ergebnisse zur Genotypisierung der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 (UCHL 1)

Die C-terminale Ubiquitinhydrolase L1 (UCH-L1) ist wie schon oben beschrieben eines der am häufigsten vorkommenden Proteine im menschlichen Gehirn [Wilkinson KD et al 1989], [Wilkinson KD, Deshpande S et al 1992] und Bestandteil der Lewy-Körperchen [Lowe J, McDermott H et al 1990]. Der Polymorphismus (S18Y) führt zu einer reduzierten enzymatischen Aktivität der Ubiquitinhydrolase in vitro und damit zur Hypothese, dass dies möglicherweise einen protektiven Effekt vor allem bei Parkinson Patienten mit frühem Erkrankungsalter in Bezug auf die Entstehung der Erkrankung haben könnte [Liu Y, Fallon L et al 2002].

4.3.1. Zusammenhang zwischen dem Wildtyp bzw. dem Polymorphismus der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 und dem Erkrankungsalter innerhalb der Patientengruppe

Es sollte untersucht werden, ob die Allelform der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 das Erkrankungsalter beeinflusst.

In diesem Subtest fand sich kein Hinweis für einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Erkrankungsalter der Patienten und der Häufigkeit eines der Allele bei den Patienten.

4.3.2. Vergleich der Allelhäufigkeiten zwischen Patienten und Kontrollgruppe

Es soll die Hypothese untersucht werden, ob der Polymorphismus S18Y der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 einen protektiven Effekt auf die Krankheitsentstehung der Parkinson'schen Krankheit hat, indem diese Variante innerhalb der Kontrollgruppe häufiger zu finden ist im Vergleich zur Patientengruppe.

Allel	Patienten (n=74)	Kontrollen (n=149)	Total
Wildtyp	112	228	340
S18Y	36	70	106
Total	148	298	446

Aus den Rohdaten wurde nun mit Hilfe des TDT (Implementation in TRANSMIT) auf die Kopplung und Assoziation der beiden Ausprägungen der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 getestet. Daraus ergibt sich folgendes Ergebnis:

Allel	Beobachtete Transmission	Erwartete Transmission	p-Wert
Wildtyp	193	188.08	0.1627
S18Y	59	63.92	0.1627
Total	252	252	

Damit zeigt sich im Vergleich zwischen Patienten und Kontrollgruppen kein signifikanter Unterschied in der Transmission der beiden Allele der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1. Es fand sich eine nicht signifikant geringere Transmission des Polymorphismus S18Y an die Betroffenen als erwartet, womit der protektive Effekt durch den S18Y-Polymorphismus nicht bewiesen werden konnte.

5. DISKUSSION

5.1. Diskussion der Methodik

Wie schon in der Einleitung dieser Arbeit erwähnt ist die Diagnose „Morbus Parkinson“ nicht einfach zu stellen. Auch heute noch lässt sich eine sichere Aussage erst postmortal stellen [Jellinger K 1987]. Alle in dieser Arbeit eingeschlossenen Patienten wurden in speziellen Zentren mit fundiert ausgebildeten Ärzten mit jahrelanger Erfahrung auf dem Gebiet der Basalganglienerkrankungen diagnostiziert. Trotzdem liegt nach verschiedenen Autoren die Diagnosesicherheit mit bis zu 80% (neben anderen: [Rajput AA, Rozdilsky B, Rajput A 1991]) weit unterhalb derer vieler anderer Erkrankungen. Studien wie die der vorliegenden Arbeit werden sich also auch in Zukunft immer mit dem Problem falsch eingeschlossener Patienten auseinandersetzen müssen. Gerade bei den Parkinson-Syndromen spielen sekundäre Ursachen eine erhebliche Rolle, wobei bis heute unklar ist, welche Umweltfaktoren erhebliche oder weniger erhebliche Beiträge zur Entstehung der Erkrankung beitragen. In der vorliegenden Arbeit kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die Diagnosesicherheit am oberen Ende der von verschiedenen Autoren belegten Zahlen liegt.

Ein weiteres großes Problem beim Einschluss war die Frage, wie alt die Patienten bei nachgewiesenem Beginn der Parkinson'schen Erkrankung sein sollten, um einen möglichst hohen Anteil an genetisch (mit-)bedingtem Parkinson in der Studie zu haben. Wir zogen eine durch verschiedene vorausgegangene Arbeiten als sinnvoll erwiesene Grenze von weniger als 50 Jahren für den Erkrankungsbeginn (neben anderen: [Polymeropoulos MH, Higgins JJ et al 1996], [Krüger R, Vieira-Saecker A et al 1999]). Trotzdem muss gesagt werden, dass diese Grenze willkürlich zwischen den so genannten „early onset“ und „late onset“-Patienten gewählt ist. Bisher ist in keiner Arbeit klar geworden, welche Altersgrenze gezogen werden sollte, damit ein möglichst hoher Anteil an genetisch bedingtem Parkinson Syndrom im Patientenkollektiv enthalten ist.

Dazu kommt, dass es nahezu unmöglich ist, den exakten Krankheitsbeginn nachzuweisen. M. Parkinson ist eine langsam progrediente neurodegenerative Erkrankung. Eine klinische Manifestation der Erkrankung ist wie schon erwähnt erst ab einem nigralen Nervenzellverlust von etwa 50% zu erwarten [Fearnley JM, Lees, AJ 1991] bzw. bei einer Verringerung des Dopamins im striatalen Projektionsgebiet der nigralen Neurone um 60-80% [Leenders KL, Salmon EP et al 1990]. Das bedeutet für unser Patientenkollektiv, dass die Erkrankung schon

Jahre bis Jahrzehnte vor den ersten klinischen Manifestationen begonnen hat. Die individuelle Schwelle für Erstsymptome kann für jeden einzelnen Patienten wiederum verschieden sein, so dass man nie einen einheitlichen Krankheitsbeginn eruieren kann. Über eine detaillierte Anamnese wurde bei den Patienten in vorliegender Arbeit das Problem so weit wie möglich reduziert. In unklaren Fällen wurden Daten dieser Patienten mit ihren Kontrollen nicht in die Bewertung einbezogen.

In der vorliegenden Arbeit wurden 74 Patienten eingeschlossen. Diese Zahl erscheint primär relativ gering ist jedoch durch zahlreiche Einflussfaktoren bedingt:

- Das Erkrankungsalter wurde bewusst niedrig mit <50 Jahren gewählt, um den genetischen Einfluss bei der Erkrankungsentstehung möglichst hoch zu halten, denn eine genetische Komponente in der Erkrankungsentstehung ab einem Erkrankungsbeginn mit einem Alter >50 Jahre konnte nicht nachgewiesen werden [Tanner CM, Ottman R et al 1999]. Die meisten Patienten, die sich in einer speziellen Ambulanz oder stationär vorstellen, sind bei Beginn der Erkrankung älter als 50 Jahre und konnten damit in dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden.
- Es durften keinerlei sonstige neurologische Erkrankungen vorliegen. Dabei wurden auch nicht klar diagnostizierte, nur in der Anamnese als neurologische Symptome aufgefallene Äußerungen als Ausschlusskriterium gewertet.
- Der Patient selbst musste damit einverstanden sein, dass Blut zu genetischen Forschungszwecken genutzt wird.
- Der Patient musste mindestens ein Geschwister- und/oder Elternteil haben, das sich ebenfalls bereit erklären musste, an dieser Untersuchung teilzunehmen und bereit war, Blut zu genetischen Forschungszwecken zur Verfügung zu stellen.
- Diese Kontrollgruppe durfte keinerlei Symptome, die als Zeichen für ein beginnendes Parkinson-Syndrom gedeutet werden könnten, aufzeigen.

Diese Faktoren zeigen, dass nur ein kleiner Bruchteil von betroffenen Patienten in diese Arbeit mit aufgenommen werden konnten.

Erstmals in Assoziationsstudien über M. Parkinson wurden als Kontrollgruppe nicht-betroffene direkte Verwandte der Patienten herangezogen. Der entscheidende Vorteil liegt darin, dass innerhalb jeder Familie der „genetische Hintergrund“ identisch ist. Dadurch ist die

zufallsbedingte Variabilität der genetischen Information innerhalb einer Familie reduziert. Genetische Unterschiede zwischen den Familienmitgliedern können daher mit höherer Wahrscheinlichkeit auf ihren unterschiedlichen Erkrankungsstatus zurückgeführt werden. Leider ließ sich in den wenigsten Fällen ein kompletter Stammbaum der jeweiligen Familien abbilden, da Mitglieder der Familie nicht mehr lebten, nicht auffindbar waren oder an der Studie nicht teilnehmen wollten. Durch einen statistisch relativ neuen Test, den sib-TDT konnte jedoch dieser Nachteil in die Berechnungen mit einbezogen werden, indem die fehlenden Informationen über Familienmitglieder statistisch hochgerechnet wurden [Spielman RS, Ewens, WJ 1998].

Durch ein Telefoninterview, das mit jedem einzelnen der Geschwister oder Eltern der Patienten durchgeführt wurde [Tanner CM, Gilley DW et al 1990], [Pramstaller PP, Falk M et al 1999], konnte ein Parkinson-Syndrom bei den intrafamiliären Kontrollpersonen mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Obwohl dieser Fragebogen sehr valide in allen eingesetzten Tests war, ist nicht auszuschließen, dass bei einigen der Verwandten zum Zeitpunkt der Befragung ein subklinisches Parkinson-Syndrom vorlag, das durch den Fragebogen und den von uns gewählten „cut-off“ von drei Fragen, nicht erfasst werden konnte.

In der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene Loci des Genoms der Patienten mit denen der Verwandten verglichen, nämlich den Polymorphismus in der Promotor-Region des α -synuclein-Gens, die Allele ϵ 2-4 des Apolipoprotein E (ApoE) und den S18Y-Polymorphismus der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 (UCHL 1). Alle drei Loci wurden in verschiedenen Arbeiten zum Teil kontrovers als Ursache für die Entstehung des Morbus Parkinson diskutiert (siehe oben). Dennoch gibt es neben den genannten, wie oben beschrieben, zahlreiche andere Genorte, die mit der Parkinsonschen Erkrankung in Verbindung gebracht werden. Zum Vermeiden des Fehlers des multiplen Testens musste in der vorliegenden Arbeit bei der geringen Fallzahl auf weitere Untersuchungen verzichtet werden. Das bedeutet, die drei untersuchten Genorte stehen exemplarisch für eine Vielzahl anderer Loci und vor allem für mittlerweile in der Zahl stark gewachsene Kombinationsmöglichkeiten dieser Loci miteinander.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich nur für einen der untersuchten Genorte ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und nicht betroffenen Verwandten. Für die Apolipoprotein E-Allele konnte nachgewiesen werden, dass Parkinson-Patienten, wie schon in verschiedenen Arbeiten zuvor gezeigt werden konnte (unter anderem [Zarepari S, Kaye J et al 1997], [Inzelberg R, Paleacu D et al 1998], [Tang G, Xie H et al 2002]) deutliche Unterschiede in den Allelhäufigkeiten $\epsilon 2-4$ aufweisen im Vergleich zu entsprechenden Kontrollgruppen. Auch wenn gesunde Verwandte wie in der vorliegenden Arbeit als noch aussagekräftigere Kontrollgruppe herangezogen werden, bestätigt sich dieses Ergebnis. Das Apo $\epsilon 3$ -Allel wird signifikant häufiger an die erkrankten Personen weiter gegeben.

Es muss darauf hingewiesen werden, dass die Fallzahl von Patienten- und Kontrollgruppe in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zu bereits abgeschlossenen Studien relativ gering ist. Dies ist jedoch vornehmlich darauf zurückzuführen, dass in vorliegender Arbeit bewusst ausschließlich Patienten und deren direkte Verwandte als Kontrollgruppe eingeschlossen wurden. Daher ist es sehr wahrscheinlich, dass in voran gegangenen Studien ohne einheitlichen genetischen Hintergrund der Fälle und Kontrollen falsch positive Ergebnisse zu finden sind. Dies unterstreicht auch die widersprüchlichen Ergebnisse der oben genannten Studien (zusätzlich zu oben genannten: [Koller WC, Glatt SL et al 1995], [Parsian A, Racette B et al 2002]). In der vorliegenden Arbeit konnte dieser Fehler durch die beschriebene, bessere Methodik weitgehend eliminiert werden.

Das vorliegende Ergebnis ist bemerkenswert. Denn der Apolipoprotein Genlocus gilt schon seit Längerem als sicherer Suszeptibilitätsfaktor für den M. Alzheimer, einer weiteren chronisch-neurodegenerativen Erkrankung [Tanaka S 2002], [Schellenberg GD 1995]. Vorstellbar ist also ein zumindest teilweise gleicher oder ähnlicher pathologischer Weg der Krankheitsentstehung, denn neben dem genetischen Hintergrund wurden auch schon andere Parallelen der beiden Erkrankungen erforscht und publiziert. [Giasson BI, Ischiropoulos H et al 2002], [Shastry BS 2003]. Die Vorstellung einer ähnlichen Entstehung zweier Erkrankungen, die aufgrund der demografischen Entwicklung an Bedeutung noch deutlich zunehmen werden, und die damit bestehende Chance einer zukünftigen kausalen Therapie ist gerade aus sozioökonomischer Sicht von außerordentlicher Bedeutung. Dennoch ist es momentan noch zu früh, erste Anzeichen für einen solchen parallelen Krankheitspathway als Beweis für eine kausale Beziehung der Parkinsonschen Erkrankung und des M. Alzheimer zu sehen.

Zwei der untersuchten Genorte zeigten zwischen Patienten und Kontrollgruppen keinen relevanten Unterschied der Allelhäufigkeiten, wobei darauf hin gewiesen werden muss, dass sich ein (nicht signifikanter) Trend bei den Ergebnissen zur Untersuchung der beiden Ausprägungsformen der C-terminalen Ubiquitinhydrolase L1 bemerkbar macht. Eventuell würden höhere Fallzahlen in einer Studie einen protektiven Effekt des S18Y-Polymorphismus signifikant belegen. Trotzdem passt das Ergebnis zu den verschiedensten Assoziations-, Familien- und Zwillingsstudien, die in den letzten Jahren publiziert wurden, in denen widersprüchliche Ergebnisse schon Gewohnheit wurden. Entscheidend ist dabei, nicht den Schluss zu ziehen, man komme durch genetische Ursachenforschung für das Parkinson-Syndrom nicht näher an das tatsächliche Muster der Krankheitsentstehung. Vielmehr zeigt sich darin deutlich, dass kein genetischer Suszeptibilitätsfaktor für sich bis auf die seltenen Formen der Parkinsonschen Erkrankung, die nach klassischem Mendel'schen Erbgang verlaufen, die Erkrankung erklären wird. Vielmehr ist es der Beweis, dass einzelne Mutationen oder Polymorphismen eine Beteiligung für die Entstehung darstellen. Sehr wahrscheinlich wird dabei, dass erst das Zusammenspiel verschiedener genetischer Veränderungen zur Manifestation der Erkrankung führen kann. Aber selbst damit scheint die Komplexität der Erkrankung nicht hinreichend begründet. Zahlreiche Studien belegen zusätzlich dazu, dass Umweltfaktoren neben genetischen Faktoren sowohl eine krankheitsverursachende als auch eine protektive Rolle in der Entstehung von M. Parkinson spielen [Allam MF, Del Castillo AS et al 2003], [Warner TT, Schapira AH 2003], [Di Monte DA, Lavasani M et al 2002], [Shastry BS 2001]. Andere Autoren gehen so weit, Umweltfaktoren als Hauptursache der Erkrankung zu sehen und diskutieren sogar eine alleinige Beteiligung dieser Faktoren [De la Fuente-Fernandez R, Calne DB 2002]. Diese Hypothese erscheint jedoch vor dem dargestellten Hintergrund nicht haltbar. Stattdessen deutet alles darauf hin, dass wir erst am Anfang des Verständnisses der Genetik bei M. Parkinson stehen, und es deutet sich eine ganz neue Sichtweise der Erkrankung an [Langston JW, Ballard P et al 1983], [Ben-Shlomo Y 1996].

5.3. Schlussfolgerung und Ausblick

Im Jahre 1817 definierte James Parkinson erstmals die Erkrankung und gab ihr seinen Namen [Parkinson J 1817]. Er beschrieb damals, die Ursache der Erkrankung sei unbekannt. Seither ist viel geschehen und wir haben uns von dieser Aussage schon weit entfernt. Vielmehr stehen wir heute an einem Punkt, an dem diskutiert werden muss, ob die Klassifikation der Parkinson-Syndrome, so wie am Anfang der Arbeit dargestellt, noch haltbar ist. Stattdessen benötigt man vielmehr eine neue Klassifikation, die der Erkenntnisse der Genetik zusammen mit den klinischen Manifestationen standhält. Es gibt momentan genügend Beweise, dass genetische Einflussfaktoren zumindest bei einem Teil der Patienten eine wichtige Rolle spielen. Höchstwahrscheinlich werden auch in naher Zukunft weitere Gene und Loci gefunden werden, die im Verdacht stehen, mit der Erkrankung ursächlich in Zusammenhang zu stehen. Trotzdem wird nur ein geringer Anteil der Fälle durch einen klassischen Mendelschen Erbgang erklärbar bleiben. Aber gerade Studien dieser Art und Kandidaten-Studien, die sich mit dem Dopamin-Stoffwechsel und anderen Metabolismus-Vorgängen im zentralen Nervensystem befassen, werden das Verständnis der Pathophysiologie und der Pathogenese von nigraler Degeneration und der Bildung von Lewy-Körperchen erweitern und somit schließlich dazu beitragen, die Ätiologie der Parkinsonschen Erkrankung in ihrer Gesamtheit zu verstehen.

Daraus ergeben sich wesentliche Konsequenzen.

5.3.1. Genetische Beratung

Natürlich ist durch den Fortschritt und die Veröffentlichungen auf dem Gebiet der Neurogenetik in Bezug auf das Parkinson-Syndrom das Interesse an genetischer Beratung und Risikovorhersage gestiegen. Gerade in Familien mit gehäuftem Auftreten der Erkrankung bzw. mit sogar nachgewiesenem Mendelschen Vererbungsmodus spielt dieser Aspekt eine wichtige Rolle. Der Wert einer genetischen Testung bleibt aber weiter sehr fraglich. Zum einen ist der M. Parkinson zwar zweifelsohne eine Erkrankung, die zu fortschreitender Einschränkung des individuellen Lebens führt, zum anderen ist es jedoch keine tödliche Erkrankung. Darüber hinaus weiß man heute noch viel zu wenig über Penetranz der entsprechenden Mutationen und dem jeweiligen Vererbungsmodus, so dass das Fundament,

auf dem eine so schwerwiegende Aussage für das Individuum nach Gentestung steht, noch viel zu instabil ist.

Trotz dieser Überlegungen werden genetische Untersuchungen in den angesprochenen Familien aus wissenschaftlicher Sicht ausgesprochen wichtig sein, um bekannte Genabschnitte für Kandidaten-Studien weiter einschränken zu können und um neue, für die Erkrankung verantwortliche Gene zu identifizieren.

5.3.2. Therapeutische Konsequenzen

Auch in Bezug auf mögliche Therapien öffnen sich durch die Kenntnisse in der genetischen Forschung neue Tore. Bisher beschränkten sich therapeutische Ansätze vorwiegend auf symptomatische Verfahren. Durch das bessere Verständnis der neurodegenerativen Prozesse auf molekularer Ebene lassen sich neuroprotektive und kurative Strategien entwickeln. So könnten die abnorme Aggregation von Proteinen im zentralen Nervensystem oder gesteigerter oxidativer Schaden aufgehalten, evtl. sogar rückgängig gemacht werden. Im besten Fall ließe sich auch eine Prävention ableiten, wenn in frühen Stadien der Erkrankung therapiert würde. Genau so wichtig ist es, ein detaillierteres Verständnis über schädliche, zur Erkrankung beitragende Umweltfaktoren zu erlangen. In der Zukunft kann eine Therapie dann individuell je nach genetischer Voraussetzung, den jeweiligen Umweltfaktoren und des Pharmakometabolismus des Patienten eingesetzt werden.

Im Einzelnen soll nun noch auf spezielle zukünftige Therapieansätze eingegangen werden.

5.3.2.1. Beeinflussung der Proteinaggregation

Schon seit Längerem ist bekannt, dass es durch Überexpression von bestimmten Proteinen, wie z.B. dem α -synuclein zu Apoptose und konsekutiv zu neuronalem Zelltod kommt. Diese Hypothese wurde sowohl in vitro als auch in vivo hinlänglich bewiesen [El-Agnaf OM, Jakes R et al 1998], [Feany MB, Bender WW 2000], [Masliah E, Rockenstein E et al 2000]. Erst kürzlich zeigte sich die Erkenntnis, dass nicht die oben genannten Proteinaggregate selbst, sondern so genannte Protofibrillen diese Zytotoxizität verursachen [Conway KA, Lee S-J et al 2000], [Conway KA, Rochet JC et al 2001], [Singleton AB, Farrer M et al 2003B].

Eine zukünftige Strategie, um in den pathogenetischen Prozess, der zur Erkrankung M. Parkinson führt, eingreifen zu können, wäre das Verhindern einer Akkumulation dieser Protofibrillen. Dies kann z.B. über genetische Bausteine erfolgen, die mittels viraler Vektoren an die Zielstellen eingebaut werden. Ein anderer Mechanismus wäre über den Weg von Enzymen, wie z.B. Kinasen oder Phosphatasen, da vor allem phosphoryliertes α -synuclein zur Aggregation tendiert [Borie C, Gasparini F et al 2002].

5.3.2.2. Beeinflussung des oxidativen Stresses

In vitro Versuche haben gezeigt, dass es zu einer Aggregation von α -synuclein kommt, wenn man es mit beispielsweise Coeruloplasmin und H_2O_2 inkubiert [Kim KS, Choi SY et al 2002]. Demgegenüber konnte der Prozess verhindert werden, wenn antioxidante Stoffe wie Carnosin, Homocarnosin oder Anserin beigegeben wurden. Über diesen Mechanismus könnte auch Vitamin E ein viel versprechender Stoff sein, da es die Oxidierung von membranösen Lipiden supprimieren kann [Zhang SM, Hernan MA et al 2002]. Ein anderer Antioxidant ist das Coenzym Q10, das vor allem auch die Funktion der Mitochondrien innerhalb der Zellen stärkt. Hier wurde erst kürzlich von einem positiven Ergebnis in ersten Studien am Menschen berichtet [Shults CW, Oakes D et al 2002]. Dabei zeigte sich über einen Zeitraum von sechs Monaten mit oraler Gabe eines Coenzym-Q10-Präparats, dass das Fortschreiten der Erkrankung reduziert werden konnte. Nach diesen ersten ermutigenden Ergebnissen werden zurzeit neue, größer angelegte Studien mit Antioxidanten initiiert.

5.3.2.3. Immunmodulatorische Strategien

Innerhalb der verschiedenen Konzepte der Pathogenese von M. Parkinson gibt es deutliche Hinweise für eine Beteiligung des Immunsystems. In Gehirnen von betroffenen Patienten sowie in deren Liquor zeigten sich erhöhte Werte von inflammatorischen Zytokinen, wie z.B. Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukin- (IL-)1 β , IL2 und IL6 [Blum-Degen D, Müller Th et al 1995]. Dieser Hinweis auf eine chronisch-entzündliche Reaktion wird durch das Vorhandensein von immunkompetenten Mikrogliazellen in den Läsionsgebieten von Patientengehirnen unterstützt [Boka G, Anglade P et al 1994]. Aufgrund dieser Erkenntnisse liegt es nahe, neue immunmodulatorische Ansätze für die Therapie der Erkrankung

einzusetzen. Dazu bedient man sich der Funktion so genannter Immunophiline. Das sind ubiquitär vorkommende Proteine, die in verschiedener Art und Weise an der Regulation von neuronalen Funktionen beteiligt sind und insbesondere als Rezeptoren, bzw. Bindeglieder für immunsuppressive Medikamente dienen [Avramut M, Zeevi A et al 2001]. Mittlerweile wurden niedermolekulare Immunophilin-Liganden entwickelt, die die Blut-Hirn-Schranke überwinden und nachgewiesene neuroregenerative Effekte zeigen [Guo X, Dawson VL et al 2001].

5.3.2.4. Möglichkeiten einer Immunisierung mittels Impfung

In Tierversuchen mit Modell-Mäusen für die Alzheimersche Erkrankung konnte gezeigt werden, dass Tiere, die mit Amyloid A β 42 geimpft wurden, eine geringere Ausprägung an Amyloidplaques im Gehirn aufwiesen [Schenk D, Barbour R et al 1999]. Die Hypothese dabei ist, dass geringe Mengen an in der Peripherie gebildeten Anti-A β -Antikörper über die Blut-Hirn-Schranke in das Gehirn gelangen und dort Mikrogliazellen zur Phagozytose aktivieren, indem sie sich an gebildetem Amyloid-Plaque anheften. Da β -Amyloid-Precursor-Proteine auch innerhalb der Lewy-Körperchen in aggregiertem Zustand vorkommen, könnte diese Strategie auch in der Behandlung des M. Parkinson wirksam sein [Masliah E, Hashimoto M 2002].

Es ist also noch ein sehr weiter Weg bis zum vollen Verständnis der Ursachen der Parkinsonschen Erkrankung. Es wurden in den letzten Jahren rasante Fortschritte gemacht durch neue und verbesserte Methoden gerade auf dem Gebiet der Molekulargenetik mit dem Ergebnis, dass zahlreiche Gene bzw. deren Mutationen in Zusammenhang mit dem Parkinsonsyndrom gebracht werden konnten.

Auch die vorliegende Arbeit stellt einen Baustein zum Gesamtverständnis dar und zeigt insbesondere durch den bisher nicht genutzten Einsatz der „idealeren“ Kontrollgruppe einen interessanten Ansatz für die zukünftige Parkinson-Forschung.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abbas N, Lücking, CB et al (1999)
A wide variety of mutations in the parkin gene are responsible for autosomal recessive parkinsonism in Europe
Human Molecular Genetics 8(4): 567-574
2. Adams RD, Victor M. (1993)
Principles of Neurology
McGraw-Hill, New York: 975-982
3. Agid Y, Javoy-Agid F et al (1987)
Biochemistry of Neurotransmitters in Parkinson's disease
Movement disorders 2; Marsden CD, Fahn S (eds.): Butterworth London: 124-165
4. Agundez JA et al (1998)
Slow allotypic variants of the NAT2 gene and susceptibility to early-onset Parkinson's disease
Neurology 51:1587-1592
5. Allam MF, Del Castillo AS et al (2003)
Parkinson's disease and risk factors
Reviews in Neurology Apr 16-30; 36(8): 749-755
6. Armstrong M, Daly AK et al (1992)
Mutant debrisoquine hydroxylation genes in Parkinson's disease
Lancet 339: 1017-1018
7. Avramut M, Zeevi A et al (2001)
The immunosuppressant drug FK 506 is a potent trophic agent for human fetal neurons
Brain Research Dev Brain Research 132:151-157
8. Bandmann O et al (1998)
Association of slow acetylator genotype for N-acetyltransferase 2 with familial Parkinson's disease
Lancet 350:1136-1139
9. Bandmann O Sweeney MG, et al (1997)
Mitochondrial DNA polymorphisms in pathologically proven Parkinson's disease
Journal of Neurology 244: 262-265
10. Barker R, Duncan J et al (1989)
Subcutaneous apomorphin as a diagnostic test for dopaminergic responsiveness in parkinson syndromes
Lancet 1: 675
11. Ben-Shlomo Y (1996)
How far are we in understanding the cause of Parkinson's disease?
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 61:4-16

12. Blum-Degen D, Müller Th et al (1995)
Interleukin-1-beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's and de novo Parkinson's disease patients
Neuroscience Letters 202: 17-20
13. Boka G, Anglade P et al (1994)
Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease
Neuroscience Letters 172: 151-154
14. Bonifati V, Breedveld GJ et al (2002)
Localization of autosomal-recessive early-onset parkinsonism to chromosome 1p36 (PARK7) in an independent dataset
Annals of Neurology 51: 253-256
15. Bonifati V, Rizzu P et al (2003)
Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive parkinsonism
Science 299: 256-259
16. Borie C, Gasparini F et al (2002)
Association study between iron-related genes polymorphisms and Parkinson's disease
Journal of Neurology 249: 801-804
17. Breslow JL (1988)
Apolipoprotein genetic variation and human disease
Physiol Rev 68(85): 132
18. Burn DJ, Mark MH et al (1992)
Parkinson's disease in twin studied with 18-F-DOPA and positron emission tomography
Neurology 42: 1894-1900
19. Comings DE, Comings BG et al (1991)
The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders
JAMA 266: 1793-1800
20. Conway KA, Lee S-J et al (2000)
Acceleration of oligomerization, not fibrillization, is a shared property of both alpha-synuclein mutations linked to early-onset Parkinson's disease: implications for pathogenesis and therapy
Proc National Academy of Sciences USA 97: 571-576
21. Conway KA, Rochet JC et al (2001)
Kinetic stabilization of the alpha-synuclein protofibril by a dopamine-alpha-synuclein adduct
Science 294: 1346-1349
22. Cortopassi GA, Wang E (1995)
Modelling the effects of age-related mtDNA mutation accumulation Complex I deficiency, superoxide and cell death
Biochim.Biophys.Acta 1271: 171-176
23. Cox NJ, Bell GI (1989)
Disease associations: chance, artifact or susceptibility genes?

Diabetes 38: 947-950

24. Cox NJ, Spielman RS (1989)
The insulin gene and susceptibility to IDDM
Genetic Epidemiology 6: 65-69
25. D'Costa DF, Abbott RJ et al (1991)
The apomorphine test in parkinsonian syndromes
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 54: 870-872
26. De la Fuente-Fernandez R, Calne DB (2002)
Evidence for environmental causation of Parkinson's disease
Parkinsonism Related Disorders; Mar 8(4): 235-241
27. De la Fuente-Fernandez R, Sellers A et al (1998)
Apolipoprotein E genotypes and age at onset of Parkinson's disease
Annals of Neurology 44: 294-295
28. Degl'Innocenti F, Maurello MT et al (1989)
A parkinsonian kindred
Italian Journal of Neurological Sciences 10: 307-310
29. Dekker MC, Bonifati V et al (2003)
Clinical features and neuroimaging of PARK7-linked parkinsonism
Movement Disorders 18(7): 751-757
30. Di Monte DA, Lavasani M et al (2002)
Environmental factors in Parkinson's disease
Neurotoxicology Oct 23(4-5): 487-502
31. Di Rocco A, Molinari SP et al (1996)
Parkinson's disease: progression and mortality in the L-DOPA era
Advances in Neurology 69: 3-11
32. Egensperger R, Baner C et al (1996)
The apolipoprotein E epsilon 4 allele in Parkinson's disease with Alzheimer lesions
Biochemical and Biophysical Research Community 224: 484-486
33. El-Agnaf OM, Jakes R et al (1998)
Aggregates from mutant and wild-type alpha-synuclein proteins and NAC peptide induce
apoptotic cell death in human neuroblastoma cells by formation of beta-sheet and amyloid-
like-filaments
FEBS letters 440:71-75
34. Ellenberg JH, Koller WC et al (1995)
Etiology of Parkinson's Disease
New York, NY: Marcel Dekker: 1-54
35. Esteguy M, Bonnet AM et al (1985)
Le test à la L-DOPA dans la maladie de Parkinson

Revue Neurologique 141 (suppl.): 413-415

36. Farrer M, Gwinn-Hardy K et al (1999)

A chromosome 4p haplotype segregating with Parkinson's disease and postural tremor
Human Molecular Genetics 8(1): 81-85

37. Feany MB, Bender WW (2000)

A Drosophila model of Parkinson's disease
Nature 404: 394-398

38. Fearnley JM, Lees AJ (1991)

Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity
Brain 114: 2283-2301

39. Fernandez-Arquero M, Figueredo MA et al (1995)

HLA-linked genes acting as additive susceptibility factors in celiac disease
Human Immunology 42(4): 295-300

40. Field LL, Tobias R (1997)

Unravelling a complex trait: the genetics of insulin-dependent diabetes mellitus
Clinical Investigations in Medicine 20(1): 41-49

41. Fiskum G, Starkov A et al (2003)

Mitochondrial mechanisms of neural cell death and neuroprotective interventions in
Parkinson's disease
Annals of the New York Academy of Science 991: 111-119

42. Funayama M, Hasegawa K et al (2002)

A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1
Annals of Neurology 51: 296-301

43. Gasser T (1998)

Genetics of Parkinson's Disease
Annals of Neurology 44(Suppl 1): 53-57

44. Gasser T et al (1996)

The CYP2D6B-allele is not over-represented in a population of German patients with
idiopathic Parkinson's disease
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 61: 518-520

45. Gasser T, Müller-Myhsok B et al (1998)

A susceptibility locus for Parkinson's disease maps to chromosome 2p13
Nature Genetics 18: 262-265

46. Gasser T, Wszolek ZK et al (1994)

Genetic linkage studies in autosomal dominant parkinsonism: evaluation of seven candidate genes

Annals of Neurology 36: 387-396

47. George JM, Jin H et al (1995)

Characterization of a novel protein regulated during the critical period for song learning in the zebra finch

Neuron 15: 361-372

48. Gerstenbrand F, Poewe WH (1990)

The classification of Parkinson's disease

In: Stern GM (ed.): Parkinson's disease, Chapman and Hall Ltd., London: 315-331

49. Giasson BI, Ischiropoulos H et al (2002)

The relationship between oxidative/nitrative stress and pathological inclusions in Alzheimer's and Parkinson's diseases

Free Radices in Biology and Medicine Jun 15; 32(12): 1264-1275

50. Gibb WRG, Lees AJ (1988)

The relevance of the Lewy body to the Pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease

Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 51: 745-752

51. Golbe LI, Di Iorio G et al (1990)

A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease

Annals of Neurology 27: 276-282

52. Golbe LI, Di Iorio G et al (1996)

Clinical genetic analysis of Parkinson's disease in the Contursi kindred (abstract)

Annals of Neurology 40: 767-775

53. Guo X, Dawson VL et al (2001)

Neuroimmunophilin ligands exert neuroregeneration and neuroprotection in midbrain dopaminergic neurons

European Journal of Neuroscience 13:1683-1693

54. Hampshire DJ, Roberts E et al (2001)

Kufor-Rakeb-syndrome, pallido-pyramidal degeneration with supranuclear upgaze paresis and dementia, maps to 1p36

Journal of Medical Genetics 38: 680-682

55. Harding AE (1994)

Mitochondrial Disease and Neurodegeneration

Neurodegenerative Diseases, Hrsg.: Jolles G, Stutzmann JM, Academic Press Limited:

London: 123-140

56. Harhangi BS et al (1999)

N-acetyltransferase-2 polymorphism in Parkinson's disease: the Rotterdam study
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 67:518-520

57. Hicks AA, Petursson H et al (2002)
A susceptibility gene for late-onset idiopathic Parkinson's disease
Annals of Neurology 52: 549-555

58. Higuchi S, Muramatsu T et al (1995)
Polymorphisms of dopamine receptors and transporter genes and Parkinson's disease
Journal of Neural Transmission 10: 107-113

59. Hirsch EC (1994)
Parkinsonism and Cell Vulnerability
Neurodegenerative Diseases, Hrsg.: Jolles G, Stutzmann JM, Academic Press Limited:
London: 155-167

60. Ho S, Kapadi AL et al (1995)
An allelic association study of monoamine oxidase B in Parkinson's disease
Annals of Neurology 37: 403-405

61. Hofman A, Schulte W et al (1989)
History of dementia and Parkinson's disease in 1st degree relatives of patient's with
Alzheimer's disease
Neurology 39: 1589-1592

62. Holthoff VA, Vieregge P et al (1994)
Discordant twins with Parkinson's disease: positron emission tomography and early signs of
impaired cognitive circuits
Annals of Neurology 36: 176-182

63. Hotamisligil GS, Girmen AS (1994)
Hereditary variations in monoamine oxidase as a risk factor for Parkinson's disease
Movement Disorders 9: 305-310

64. Hughes AJ, Daniel SE et al (1992)
Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study
of 100 cases
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 55:181-194

65. Hughes AJ, Lees AJ et al (1990)
Apomorphine test to predict the dopaminergic responsiveness in Parkinsonian syndromes
Lancet 336: 32-34

66. Hughes AJ, Lees AJ et al (1991)
Challenge tests to predict the dopaminergic response in untreated Parkinson's disease
Neurology 41: 1723-1725

67. Hulette C, Mirra S et al (1995)
A prospective cliniconeuropathologic study of Parkinson's disease features in Alzheimer's disease
Neurology 45: 1991-1995
68. Inzelberg R, Paleacu D et al (1998)
Apolipoprotein E and Parkinson's disease
Annals of Neurology 44: 294 (letter)
69. Jellinger K (1987)
The pathology of parkinsonism
Movement disorders 2; Marsden CD, Fahn S (eds.): Butterworth London: 124-165
70. Johnson WG, Hodge SE et al (1990)
Twin studies and the genetics of Parkinson's disease - a reappraisal
Movement disorders 5: 187-194
71. Khan NL, Brooks DJ et al (2002a)
Progression of nigrostriatal dysfunction in a parkin kindred: an (18F)dopa PET and clinical study
Brain 125: 2248-2256
72. KhanNL, Valente EM et al (2002b)
Clinical and subclinical dopaminergic dysfunction in autosomal recessive PARK6-linked parkinsonism: an 18F DOPA PET study (abstract)
Neurology 58 (7 Suppl. 3): A410-411
73. Kim KS, Choi SY et al (2002)
Aggregation of α -synuclein induced by the Cu, Zn-superoxide dismutase and hydrogen peroxide system
Free Radic Biolog Medicine 32: 544-550
74. Kitada T, Asakawa S et al (1998)
Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism
Nature 392: 605-608
75. Koller WC, Glatt SL et al (1995)
Apolipoprotein E genotypes in Parkinson's disease with and without dementia
Annals of Neurology 37: 242-245
76. Konagaya M, Konagaya Y et al (1995)
Clinical and magnetic resonance imaging study of extrapyramidal symptoms in multiple system atrophy
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 57: 1528-1531

77. Kösel S, Graeber MB (1994)
Use of neuropathological tissue for molecular genetic studies: parameters affecting DNA extraction and polymerase chain reaction
Acta Neuropathologica 88: 19-25
78. Krüger R, Kuhn W et al (1998)
Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease
Nature Genetics 18: 106-108
79. Krüger R, Vieira-Saecker A et al (1999)
Increased susceptibility to sporadic Parkinson's disease by a certain combined α -synuclein/apolipoprotein E genotype
Annals of Neurology 45: 611-617
80. Kurth JH, Kurth MC (1992)
Allele frequencies of tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease patients
Movement Disorders 7: 290
81. Kurth JH, Kurth MC et al (1993)
Association of a monoaminooxidase B allele with Parkinson's disease
Annals of Neurology 33: 368-372
82. Lance JW, Schwab RS et al (1963)
Action tremor and the cogwheel phenomenon in Parkinson's disease
Brain 86: 95-110
83. Lang AE, Curran T et al (1994)
Striatonigral degeneration: Iron deposition in putamen correlates with the slitlike void signal of magnetic resonance imaging
Canadian Journal of Neurological Science 21: 311-318
84. Langston JW, Ballard P et al (1983)
Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis
Science 219: 979-980
85. Le WD, Conneely OM et al (1999)
Selective agenesis of mesencephalic dopaminergic neurons in Nur-1 deficient mice
Exp Neurology 159: 451-458
86. Le WD, Xu P et al (2003)
Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease
Nature Genetics 33: 85-89
87. Lee S, Kim Y et al (2003)
Cell cycle aberrations by alpha-synuclein over-expression and cyclin B immunoreactivity in Lewy bodies

Neurobiological Aging 24(5):687-696

88. Leenders KL (1990)

Characterisation of Parkinson's disease using positron emission photography

Dostert P, Riederer R. et al. (eds.): Early markers in Parkinson's and Alzheimer's disease; Springer: 59-69

89. Leenders KL, Palmer AJ et al (1986)

Brain dopamine metabolism in patients with Parkinson's disease measured with positron emission tomography

Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 49: 853-860

90. Leenders KL, Salmon EP et al (1990)

The nigrostriatal dopaminergic system assessed in vivo by positron tomography in healthy volunteer subjects and patients with Parkinson's disease

Arch Neurol 47: 1290-1298

91. Leroy E, Boyer R et al (1998)

The ubiquitin pathway in Parkinson's disease

Nature 395: 451-452

92. Levecque C, Destee A et al (2001)

No genetic association of the ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 gene S18Y polymorphism with familial Parkinson's disease

Journal of Neural Transmission 108(8-9): 979-984

93. Lin L, Hungs M et al (2001)

Narcolepsy and the HLA region

Journal of Neuroimmunology 117(1-2): 9-20

94. Lincoln S, Vaughan J (1999)

Low frequency of pathogenic mutations in the ubiquitin carboxyterminal hydrolase gene in familial Parkinson's disease

NeuroReport 10: 427-429

95. Liu Y, Fallon L et al (2002)

The UCH-L1 gene encodes two opposing enzymatic activities that affect alpha-synuclein degradation and Parkinson's disease susceptibility

Cell, Oct 18; 111(2): 209-218

96. Lowe J, McDermott H et al (1990)

Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase (PGP 9.5) is selectively present in ubiquitinated inclusion bodies characteristic of human neurodegenerative diseases

Journal of Pathology 161: 153-160

97. Maraganore DM, Farrer MJ et al (1999)

Case-control study of the ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 gene in Parkinson's disease
Neurology 53: 1858-1860

98. Marjama-Lyons JM, Koller WC (2001)
Parkinson's disease: update in diagnosis and symptom management
Geriatrics 56: 24-35

99. Marsden CD (1987)
Parkinson's disease in twins
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 50: 105-106

100. Martilla RJ, Rinne UK (1976)
Epidemiology of Parkinson's disease in Finland
Acta Neurologica Scandinavica 53: 81-102

101. Masliah E, Hashimoto M (2002)
Development of new treatments for Parkinson's disease in transgenic animal models: a role for beta-synuclein
Neurotoxicology 23: 461-468

102. Masliah E, Rockenstein E et al (2000)
Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders
Science 287: 1265-1269

103. Matsumine H, Saito M et al (1997)
Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile Parkinsonism to chromosome 6q25.2-27
American Journal of Human Genetics 60: 588-596

104. Mazzetti SP, Le Guern E et al (1994)
Familial Parkinson's disease and polymorphism at the CYP2D6 locus
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 57: 871-872

105. McIntyre LM, Martin ER et al (2000)
Circumventing multiple testing: a multilocus Monte Carlo approach to testing for association
Genetic Epidemiology 19(1): 18-29

106. Mellick GD, Silburn PA (2000)
The ubiquitin carboxy-terminal hydrolase-L1 gene S18Y polymorphism does not confer protection against idiopathic Parkinson's disease
Neuroscience Letters 293: 127-130

107. Miyagawa S, Dohi K et al (1992)
Absence of HLA-B8 and HLA-DR3 in Japanese patients with Sjogren's syndrome positive for anti-SSA(Ro)

Journal of Rheumatology 19(12): 1922-1924

108. Mizuno Y, Ikebe SI et al (1995)

Role of mitochondria in the etiology and pathogenesis of Parkinson's disease
Biochem.Biophys.Acta 1271: 265-274

109. Mori H, Kondo T et al (1998)

Pathologic and biochemical studies of juvenile parkinsonism linked to chromosome 6q
Neurology 51: 890-892

110. Muentner MD, Forno LS et al (1998)

Hereditary form of parkinsonism—dementia
Annals of Neurology 43(6): 768-781

111. Najimal-Din AS, Wriekat A et al (1994)

Pallido-pyramidal degeneration, supranuclear upgaze paresis and dementia: Kufor-Rakeb-syndrome
Acta Neurologica Scandinavia 89: 347-352

112. Oertel WH, Gasser T et al (1989)

Apomorphine test for dopaminergic responsiveness
Lancet 1: 1376-1377

113. Ozawa T (1995)

Mechanism of somatic mitochondrial DNA mutations associated with age and disease
Biochemical and Biophysical Acta 1271: 177-189

114. Paisan-Ruiz C, Jain S et al (2004)

Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease
Neuron 44(4): 595-600

115. Parkinson J (1817)

An essay on the shaking palsy
London: Sherwood Neely, and Jones

116. Parsian A, Racette B et al (2002)

Parkinson's disease and apolipoprotein E: possible association with dementia but not age at onset
Genomics March 79(3): 458-461

117. Planté-Bordeneuve V, Davis MB et al (1994)

Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism in familial Parkinson's disease
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 57: 911-913

118. Planté-Bordeneuve V, Taussig D et al (1995)

A clinical and genetic study of familial cases of Parkinson's disease

Journal of Neurological Sciences 133: 164-172

119. Poeck K, Hacke W (1998)

Neurologie

Springer-Verlag: 514

120. Pollanen MS, Dickson DW et al (1993)

Pathology and biology of the Lewy body

Journal of Neuropathology Exp Neurology 52: 183-191

121. Polymeropoulos MH, Higgins JJ et al (1996)

Mapping for a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23

Science 274: 1197-1199

122. Polymeropoulos MH, Lavedan C et al (1997)

Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease

Science 276: 2045-2047

123. Portman AT, Giladi N et al (2001)

The nigrostriatal dopaminergic system of familial early onset parkinsonism with parkin mutations

Neurology 56: 1759-1762

124. Pramstaller PP, Falk M et al (1999)

Validation of a mail questionnaire for parkinsonism in two languages (German and Italian)

Journal of Neurology 246: 79-86

125. Rajput AA, Rozdilsky B et al (1991)

Accuracy of clinical diagnosis in parkinsonism

Canadian Journal of Neurological Sciences 18: 275-278

126. Rajput ML, Rajput AH (2002)

Epidemiology of parkinsonism

Demos In: Factor SA, Weiner WJ, eds. Parkinson's Disease Diagnosis and Clinical Management. New York, NY: 31-40

127. Saigoh K, Wang Y-L et al (1999)

Intragenic deletion in the gene encoding ubiquitin carboxy-terminal hydrolase in gad mice

Nature Genetics 23: 47-51

128. Saiki RK, Gelfand, DH et al (1988)

Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase

Science 239: 487-491

129. Sawle GV, Wroe SJ et al (1992)

The identification of presymptomatic parkinsonism: clinical and 18-F-DOPA positron emission tomography studies in an Irish kindred
Annals of Neurology 32: 609-617

130. Schellenberg GD (1995)
Genetic dissection of Alzheimer's disease, a heterogenous disorder
Proc Natl Acad Sci USA 92: 8552-8559

131. Schenk D, Barbour R et al (1999)
Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse
Nature 400: 173-177

132. Schlossmacher MG, Frosch MP et al (2002)
Parkin localizes to the Lewy bodies of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies
American Journal of Pathology 16: 1655-1667

133. Schwarz J, Tatsch K et al (1992)
123-I-iodobezamide-SPECT predicts dopaminergic responsiveness patients with de novo parkinsonism
Neurology 42: 556-561

134. Schwarz J, Weis S et al (1996)
Signal changes on MRI and increase of reactive microastrogliosis and iron in the putamen of two patients with multiple system atrophy
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 60: 98-101

135. Shastry BS (2001)
Parkinson disease: etiology, pathogenesis and future of gene therapy
Neuroscience Research; Sep 41(1): 5-12

136. Shastry BS (2003)
Neurodegenerative disorders of protein aggregation
Neurochemistry Jul 43(1): 1-7

137. Shimura H, Hattori N et al (2000)
Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase
Nature Genetics 25: 302-305

138. Shimura H, Schlossmacher MG et al (2001)
Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implication for Parkinson's disease
Science 293: 263-269

139. Shoffner J, Mrown MD et al (1993)
Mitochondrial variants observed in Alzheimer's disease and Parkinson's disease patients

Genomics 17: 171-184

140. Shults CW, Oakes D et al (2002)

Effects of coenzyme Q10 in early parkinson disease; evidence of slowing of the functional decline

Archives of Neurology 59: 1541-1550

141. Siderowf A, Holloway RG (2002)

Economic impact of Parkinson's disease: implications for interventions;

Demos In: Factor SA, Weiner WJ, eds. Parkinson's Disease: Diagnosis and Current Management. New York, NY: 639-646

142. Singleton AB, Farrer M et al (2003)

(alpha)-Synuclein Locus Triplication Causes Parkinson's Disease.

Science 302(5646): 841

143. Smith CAD, Gough AC et al (1992)

Association between the CYP2D6-debrisoquine hydroxylase polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease

Lancet 339: 1375-1377

144. Spielman RS, Ewens, WJ (1998)

A Sibship Test for Linkage in the Presence of Association: The Sib Transmission/ Disequilibrium Test

American Journal of Human Genetics 62: 450-458

145. Spielman RS, McGinnis RE et al (1993)

Transmission Test for Linkage Disequilibrium: The Insulin Gene Region and Insulin-dependent Diabetes Mellitus (IDDM)

American Journal for Human Genetics 52: 506-516

146. Spillantini MG, Schmidt ML et al (1997)

α -synuclein in Lewy bodies

Nature 388: 839-840

147. Tan E, Chung H et al (2003)

Genetic analysis of Nurr1 haplotypes in Parkinson's disease

Neuroscience Letters 347(3): 139-142

148. Tanaka S (2002)

Gene diagnosis of Alzheimer's disease and Parkinson's disease

Rinsho Byori Oct 50(10): 965-969

149. Tang G, Xie H et al (2002)

Genetic study of apolipoprotein E gene, alpha-1 antichymotrypsin gene in sporadic Parkinson disease

American Journal of medical Genetics May 8; 114(4): 446-449

150. Tanner CM (2002)

Etiology: the role of environment and genetics

Demos In: Factor SA, Weiner WJ, eds. Parkinson's Disease Diagnosis and Clinical Management. New York, NY: 265-280

151. Tanner CM, Gilley DW et al (1990)

A brief screening questionnaire for parkinsonism (Abstract)

Annals of Neurology 28: 267-368

152. Tanner CM, Ottman R et al (1999)

Parkinson disease in twins: an etiologic study

JAMA 281(4): 341-346

153. Testa D, Savoiaro M et al (1993)

Multiple system atrophy: Clinical and MR observations in 42 cases

Italian Journal of Neurological Science 14: 211-216

154. The French Parkinson's disease Genetics Study Group (1997)

Apolipoprotein E genotype in familial Parkinson's disease

Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 63: 394-395

155. Ubl A, Berg D et al (2002)

14-3-3 protein is a component of Lewy bodies in Parkinson's disease – mutation analysis and association studies of 14-3-3

Molecular Brain Research 108: 33-39

156. Valente EM et al (2004)

Hereditary Early-Onset Parkinson's Disease Caused by Mutations in PINK1

Science 304: 1158-1160

157. Valente EM, Bentivoglio AR et al (2001)

Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36

American Journal of Human Genetics 68: 895-900

158. Valente EM, Brancati F et al (2002)

PARK6-linked parkinsonism occurs in several European families

Annals of Neurology 51:14-18

159. van der Walt JM, Martin ER et al (2003)

Genetic polymorphisms of the N-acetyltransferase genes and risk of Parkinson's disease

Neurology 60(7): 1189-1191

160. Van Duijn CM, Dekker MC et al (2001)

Park7, a novel locus for autosomal-recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36
American Journal of Human Genetics 69: 629-634

161. Wakabayashi K, Engelender S et al (2000)
Synphilin-1 is present in Lewy bodies in Parkinson's disease
Annals of Neurology 47: 521-523

162. Ward CD, Duvoisin RC et al (1983)
Parkinson's disease in 65 pairs of twins and in a set of quadruplets
Neurology 33: 815-824

163. Ward CD, Gibb WRG (1990)
Research diagnostic criteria for Parkinson's disease
Advances in Neurology 53: 245-249

164. Warner TT, Schapira AH (2003)
Genetic and environmental factors in the cause of Parkinson's disease
Annals of Neurology 53 Suppl. 3: 16-23; discussion : 23-25

165. Waters CH, Miller CA (1994)
Autosomal dominant Lewy body parkinsonism in a four-generation family
Annals of Neurology 35: 59-64

166. Watts RL, Koller WC (1997)
Movement Disorders: Neurologic Principles and Practice
New York, NY: The McGraw Hill Companies

167. Welch WJ, Gambetti P (1998)
Chaperoning brain diseases
Nature 392: 23-24

168. West AB, Zimprich A et al (2001)
Refinement of the PARK3 locus on chromosome 2p13 and the analysis of 14 candidate genes
European Journal of Human Genetics 9: 659-666

169. Wilkinson KD, Deshpande S et al (1992)
Comparisons of neuronal (PGP 9.5) and non-neuronal ubiquitin C-terminal hydrolases
Biochem Soc. Trans. 20: 631-637

170. Wilkinson KD et al (1989)
The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase
Science 246: 670-673

171. Wintermeyer P, Krüger R et al (2000)
Mutation analysis and association studies of the UCHL1 gene in German Parkinson's disease patients

NeuroReport 11(10): 2079-2082

172. Wood N (1997)
Genetic aspects of parkinsonism
Baillière's Clinical Neurology Vol. 6, No. 1: 37-53

173. Woodrow JC, Ilchysyn A (1985)
HLA antigens in psoriasis and psoriatic arthritis
Journal of medical Genetics 22(6): 492-495

174. Zarepari S, Kaye J et al (1997)
Modulation of the age at onset of Parkinson's disease by apolipoprotein E genotypes
Annals of Neurology 42(4): 655-658

175. Zetterstrom RH, Williams R et al (1996)
Cellular expression of the immediate early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigro-striatal dopamine system
Brain Research and Molecular Brain Research 41:111-120

176. Zhang SM, Hernan MA et al (2002)
Intakes of Vitamin E and C, carotenoids, vitamin supplements, and PD risk
Neurology 59: 1161-1169

177. Zhang Z, Roman GC (1993)
Worldwide occurrence of Parkinson's disease: an updated review
Neuroepidemiology 12: 195-208

178. Zheng K, Heydari B et al (2003)
A common NURR1 polymorphism associated with Parkinson disease and diffuse Lewy body disease
Archives of Neurology 60(5): 722-725

179. Zimprich A, Biskup S et al (2004)
Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology
Neuron 44(4): 601-607

7. DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Thomas Gasser danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und für seine wissenschaftliche Betreuung.

Herrn Prof. Dr. Müller-Myhsok danke ich besonders für die wichtige Unterstützung beim statistischen Teil der vorliegenden Arbeit.

Ganz besonders danke ich allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für Neurogenetik und den Mitarbeitern der Parkinson-Ambulanz der Neurologischen Klinik des Klinikums Großhadern, München.

8. LEBENSLAUF

Geburtsdatum 19.05.1975
Geburtsort Pforzheim

Studium und Beruf

Nov 1995 - Apr 1996 Studium der Betriebswirtschaftslehre an der Julius-Maximilian Universität Würzburg

Mai 1996 - Apr 1999 Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilian Universität Würzburg

Mai 1999 - Okt 2001 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian Universität München

Okt 2001 - Feb 2002 1. Tertial des Praktischen Jahres (PJ) in der Chirurgischen Abteilung des Regionalspitals Emmental in Langnau, Schweiz

Feb 2002 - Mai 2002 2. Tertial des Praktischen Jahres (PJ) in der Abteilung für Innere Medizin im Baragwanath Hospital, Johannesburg, Südafrika

Mai 2002 - Sep 2002 3. Tertial des Praktischen Jahres (PJ) in der Neurologischen Abteilung Städtisches Krankenhaus Harlaching, München

Nov 2002 Abschluss der Ärztlichen Prüfung

Feb 2003 – Jul 2004 Arzt im Praktikum (AiP) in der Neurologischen Abteilung Städtisches Krankenhaus Harlaching, München

Seit Jul 2004 Assistenzarzt in der Neurologischen Abteilung Städtisches Krankenhaus Harlaching, München

Schulbildung

Aug 1981 - Jun 1985 Grundschule Pforzheim und Kefenrod

Aug 1985 - Jun 1994 Wolfgang-Ernst-Gymnasium Büdingen mit Abitur

Aug 1991 - Jul 1992 Monroe-Woodbury Highschool in Monroe, New York

Stipendium

Nov 2000 - März 2003 Online-Stipendiat bei e-fellows.net