

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Charakteristika der untersuchten Patienten

In die Studie wurden 196 Patienten mit Morbus Parkinson aufgenommen. Davon hatten 183 Patienten ein idiopathisches Parkinsonsyndrom (IPS) und 165 Patienten wurden mit L-Dopa substituiert. Der durchschnittliche Hoehn-Yahr-Wert lag bei den 183 Patienten bei 2,3 (Standardabweichung, SD: 0,9), das durchschnittliche Alter zu Beginn der Erkrankung war 58,3 Jahre (SD: 11,4) und die durchschnittliche Dauer der Erkrankung betrug 8,5 Jahre (SD: 5,5). Die durchschnittliche L-Dopa-Tagesdosis ergab 426,4 mg (SD: 231,6). Die durchschnittliche kumulative Dosis betrug 792×10^3 mg (minimale Dosis: $7,0 \times 10^3$ mg, maximale Dosis: 3.325×10^3 mg) und die durchschnittliche kumulative L-Dopa-Dosis bis zum ersten Auftreten von Dyskinesien betrug $386,8 \times 10^3$ mg (SD: $0,25 - 2244 \times 10^3$ mg), bis zum ersten Auftreten von Psychosen $678,1 \times 10^3$ mg (SD: $0,25 - 3029 \times 10^3$ mg) und bis zum ersten Auftreten von Motorfluktuationen $340,8 \times 10^3$ mg (SD: $0,5 - 1752 \times 10^3$ mg).

Bei 79 Patienten (45,9 %) traten im Verlauf der Therapie Dyskinesien auf, bei 48 Patienten (27,6 %) Psychosen und bei 93 (53,8 %) Motorfluktuationen. Davon gaben 28 Patienten sowohl Dyskinesien als auch Psychosen an. Die nachfolgende Tab.16 zeigt die klinischen Charakteristika der Gesamtgruppe und der Untergruppen derjenigen Patienten, die unter der L-Dopa-Therapie Dyskinesien, Psychosen und On-Off-Fluktuation entwickelten.

Patienten mit Dyskinesien und Motorfluktuationen waren deutlich jünger bei Erkrankungsbeginn als solche ohne: Patienten mit Dyskinesien erkrankten durchschnittlich im Alter von 55,6 Jahren (SD: 10,9 Jahre) im Vergleich zu Patienten ohne Dyskinesien, die mit 60,4 Jahren erkrankten (SD: 12,4 Jahre, $p = 0,006$). Patienten mit Motorfluktuationen erkrankten im Mittel mit 54,4 Jahren (SD: 10,9), Patienten ohne Motorfluktuationen dagegen mit 62,8 Jahre (SD: 12,0, $p = 0,006$). Für Patienten mit Psychosen unter L-Dopa ließ sich kein signifikanter Unterschied bezüglich des Krankheitsbeginns nachweisen (Patienten mit Psychosen: Erkrankungsbeginn 57,7 Jahre, SD 12,1 J. , Patienten ohne Psychosen: Erkrankungsbeginn: 58,9 Jahre, SD 11,2 J., $p = 0,006$).

	Dyskinesien n = 172		Psychosen n = 174		On-Off-Fluktuationen n = 173		
	alle Patienten N = 183	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
Alter (Jahre)	67+/-10,6	67,0+/-10,7	66,8+/-10,8	68,7+/-10,9	66,2+/-10,6	65,4+/-10,8	68,6+/-10,4
Geschlecht (% männlich)	58,4	53,3	59,4	64,5	59,84	63,7	50
Inzidenzalter (Jahre)	58,3+/-11,4	55,6+/-11,0	61,1+/-11,3 ¹	57,7+/-12,1	58,9+/-11,2	54,4+/-11,0	63,3+/-10,1 ¹
Erkrankungsdauer (Jahre)	8,5+/-5,5	11,3+/-5,5	5,7+/-3,8 ¹	11,0+/-5,3	7,3+/-5,2 ²	10,9+/-5,6	5,3+/-3,2 ²
Hoehn-Yahr (Punktwert)	2,3+/-0,9	2,7+/-0,9	2,0+/-0,9 ²	2,9+/-0,8	2,1+/-0,9 ²	2,7+/-0,9	1,9+/-0,9 ²
L-Dopa –Therapiedauer (Jahre)	54,7 (0,5-242,8)	54 (4,6-242,8)	33,5 (0,5-161,6) ²	60,7 (6,2-233,9)	38,5 (0,5-242,8) ³	60,4 (2,8-242,8)	27 (0,5-105) ²
L-Dopa-Dosierung (kumulativ in 10 ³ mg)	792,1 (7-3325)	801,5 (63-3325)	381 (7-3078) ²	760 (67-3325)	502 (7-3222) ⁴	801,5 (38-3325)	302 (7-2125) ²

Die Zahlen entsprechen den Mittelwerten mit Standardabweichung (SD) oder der Streubreite der ermittelten Werte. Der Vergleich der Werte zwischen Patienten mit und ohne Nebenwirkungen war signifikant (¹p = 0,006, ²p < 0,001, ³p = 0,003, ⁴p = 0,002)

Tab. 16: Klinische Charakteristika und Risikofaktoren für L-Dopa-induzierte Nebenwirkungen bei Parkinsonpatienten.

Patienten mit Dyskinesien, Psychosen und Motorfluktuationen hatten einen signifikant längeren Krankheitsverlauf, erzielten höhere Punktwerte in der Hoehn-Yahr-Skala und wurden länger mit L-Dopa behandelt als alle anderen Patienten. Dies spiegelt sich auch in der deutlich höheren kumulativen L-Dopa-Dosis wider. Das Geschlecht der Patienten konnte nicht als Risikofaktor benannt werden. Es war allein bei der Subgruppe mit On-Off-Fluktuationen grenzwertig signifikant. Diese Ergebnisse spiegeln sich auch in der Korrelationsanalyse wider. Die folgende Tab. 17 zeigt den *Spearman* Korrelationskoeffizienten der klinischen Risikofaktoren für das Auftreten der L-Dopa-induzierten Nebenwirkungen für die von uns untersuchten Patienten.

Klinische Prädiktoren	Dyskinesien	Psychosen	On-Off	Hoehn-Yahr
	r	r	r	r
Dauer der Erkrankung	0,6 ¹	0,3 ¹	0,6 ¹	0,5 ¹
Inzidenzalter	-0,3 ¹	n.s.	-0,4 ¹	n.s.
Dauer der L-Dopa-Therapie	0,2 ²	0,2 ²	0,4 ¹	0,4 ¹
L-Dopa-Dosierung (kumulativ)	0,4 ¹	0,3 ¹	0,4 ¹	0,5 ¹
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s.: nicht signifikant, ¹p<0,001, ²p<0,002; r: *Spearman* Korrelations-Koeffizient für die retrospektive Untersuchung

Tab. 17: Korrelationsanalyse für Langzeitnebenwirkungen und dem Hoehn-Yahr Wert für unterschiedliche klinische Risikofaktoren

3.2 Häufigkeit der Genotypen des DRD3-, DRD4- und DAT-Gens für alle Parkinsonpatienten

In dieser Studie wurden fünf bekannte Varianten des DRD3, DRD4 und des Dopamintransporters mittels PCR-RFLP untersucht. In Tab.18 sind die Allelhäufigkeiten dieser Varianten zusammengestellt.

	Anzahl	Allele	Genotyphäufigkeiten (%)				
D3-Rezeptor-Varianten	183	<i>Ball</i>	11	12	22		
		1: Serin, 2: Glycin	50,3 %	39,2 %	10,5 %		
	183	<i>MspI</i>	11	12	22		
		1: <i>Msp</i> , 2: kein <i>Msp</i>	25,3 %	50,0 %	24,7 %		
D4-Rezeptor-Varianten	183	12-bp <i>repeat</i>	11	12	22		
		1: 2x12bp, 2: 1x12bp	86,6 %	13,5 %	0 %		
	183	13-bp Deletion	11	12	22		
		1: Deletion, 2: Insertion	0 %	2,9 %	97,1 %		
DAT1-Variante¹	183	<i>repeats:</i> 10r, 9r, 11r, 12r	10r/10r 56,2%	10r/9r 36 %	9r/9r 6,7%	10r/11r 0,6%	10r/12r 0,6%

¹Der Genotyp spiegelt die Anzahl der 40bp-Wiederholungen wider, 22 = 9r/9 r, 13 = 10 r/11 r etc., r: *repeat*

Tab. 18: Frequenzhäufigkeit der D3- und D4-Rezeptor- und DAT-Genvarianten aller Patienten

3.3 DRD3- und DRD4-Varianten und Dyskinesien

Die 183 Parkinsonpatienten wurden in zwei Gruppen eingeteilt: solche mit Dyskinesien unter L-Dopa-Therapie (n = 79) und solche ohne Dyskinesien (n = 93) als Kontrollgruppe. In Tab.19 sind die Allelhäufigkeiten in den Subgruppen für die mittels PCR-RFLP untersuchten genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 zusammengestellt.

	Anzahl n	Variante	Genotyp	Dyskinesien (%)	
				ja	nein
DRD3 Varianten	183	<i>BalI</i>	11	53,8	47,9
		Allel 1: Serin	12	39,7	40,4
		Allel 2: Glycin	22	6,4	11,7
	183	<i>MspI</i>	11	24,3	26,4
		Allel 1: <i>MspI</i>	12	50,0	50,5
		Allel 2: kein <i>MspI</i>	22	25,7	23,1
DRD4 Varianten	183	12bp repeat			
		1: 2x12bp	12	11,3	16,5
		2: 1x12bp	22	88,7	83,5
	183	13bp Deletion			
		1: Deletion	12	4,2	2,2
		2: Insertion	22	95,8	97,8

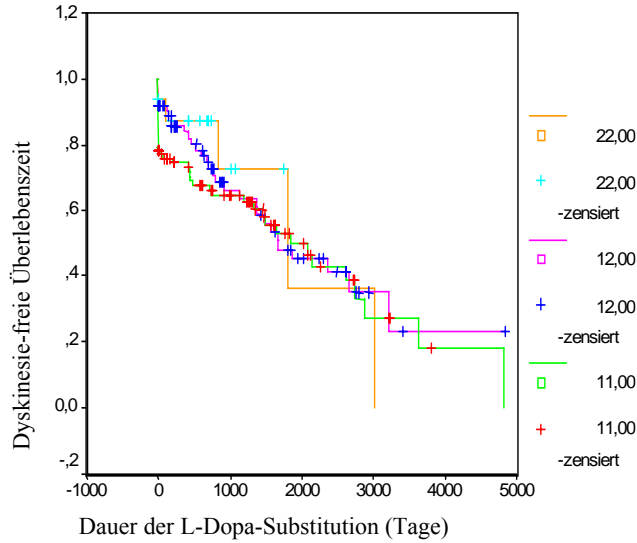
n: Anzahl, bp: Basenpaare

Tab.19: Häufigkeit der genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 für die Subgruppe mit L-Dopa induzierten Dyskinesien und der Kontrollgruppe ohne solche

Im Vergleich der Genotyphäufigkeiten zwischen Patienten mit und ohne Dyskinesien konnten keine signifikanten Unterschiede für die untersuchten genetische Varianten des DRD3 (*BalI*, *MspI*) und des DRD4 (12-bp *repeat*, 13-bp Deletion) festgestellt werden.

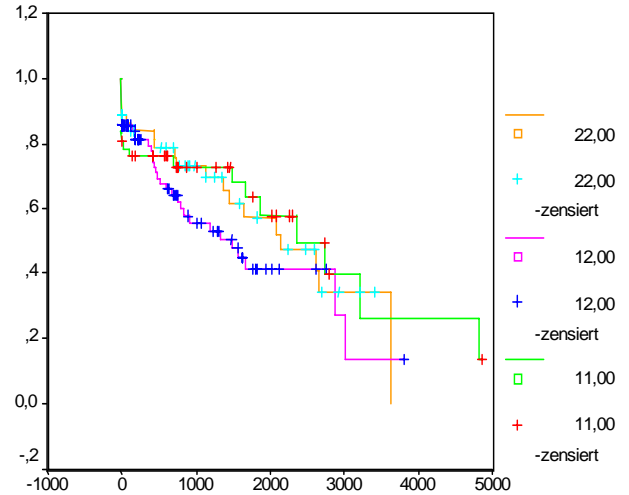
Um das Auftreten der Dyskinesien in Abhängigkeit von der L-Dopa-Behandlungsdauer zu analysieren, wurde eine Kaplan-Meyer-Statistik für die einzelnen Varianten berechnet. In Abb.10 ist die zeitliche Abhängigkeit zwischen dem Auftreten von Dyskinesien und der Dauer der L-Dopa-Substitution (L-Dopa-Therapie in Tagen) für die unterschiedlichen Genotypen der jeweiligen Varianten dargestellt. Anhand des Verlaufs der Stufenlinien der Genotypen zueinander können Aussagen gemacht werden, ob Dyskinesien vermehrt bei bestimmten Genotypen auftreten.

Abb. 10: Abhängigkeit der Dyskinesien von der L-Dopa-Behandlungsdauer, dargestellt als Überlebensfunktion in einer Kaplan-Meyer-Statistik für die Genotypen des DRD3 und DRD4
(zensierte Beobachtung: Es wird berücksichtigt, dass Patienten aus der Studie ausscheiden (z.B. Arztwechsel, Tod))



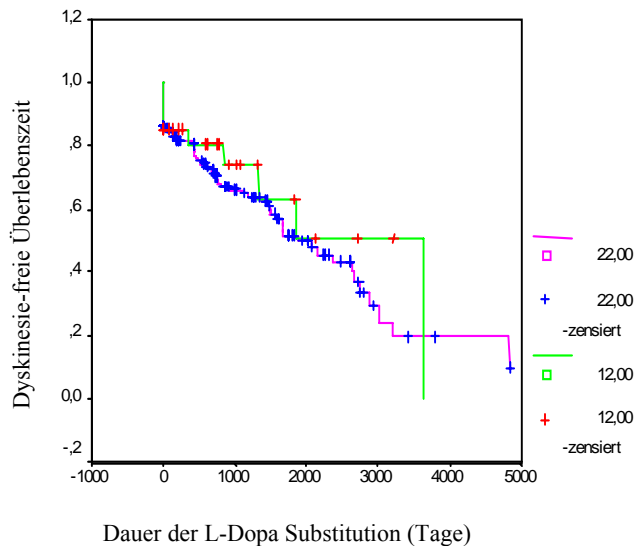
22: homozygot mutierter Genotyp,
12: heterozygoter Genotyp,
11: homozygoter Wildtyp

Abb. 10a: Dyskinesien und DRD3 *Bal*



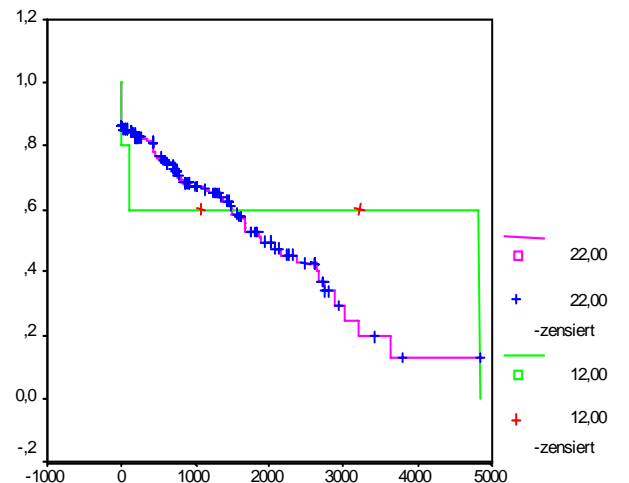
22: homozygot mutierter Genotyp,
12: heterozygoter Genotyp,
11: homozygoter Wildtyp

Abb. 10b: Dyskinesien und DRD3 *MspI*



22: Wildtyp,
12: heterozygoter Genotyp

Abb. 10c: Dyskinesien und DRD4 12bp *repeat*



22: Wildtyp,
12: heterozygoter Genotyp

Abb. 10d: Dyskinesien und DRD4 13bp Deletion

3.4 DRD3- und DRD4-Varianten und Psychosen

Analog zu den Dyskinesien in 3.3 wurden die Parkinsonpatienten in zwei Gruppen aufgeteilt: solche mit Psychosen unter L-Dopa-Therapie (n = 48) und solche ohne als Kontrollgruppe (n = 126). In Tab. 20 sind die Allelhäufigkeiten in den Subgruppen für die mittels PCR-RFLP untersuchten genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 zusammengestellt.

	Anzahl n	Variante	Genotyp	Psychosen %	
				ja	nein
DRD3 Varianten	183	Ball	11	55,3	48,0
		Allel 1: Serin	12	38,8	40,8
		Allel 2: Glycin	22	6,4	11,2
	183	MspI	11	22,7	27,3
		Allel 1: MspI	12	59,1	46,3
		Allel 2: kein MspI	22	18,2	26,4
DRD4 Varianten	183	12bp repeat			
		1: 2x12-bp	12	11,3	16,5
	2: 1x12-bp	22	88,7	83,5	
	183	13bp Deletion			
		1: Deletion	12	4,2	2,2
	2: Insertion	22	95,8	97,8	

Tab. 20: Häufigkeit der genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 für die Subgruppe mit L-Dopa induzierten Psychosen und der Kontrollgruppe ohne solche

Für die untersuchten genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 konnten, ähnlich wie für die Dyskinesien, keine Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne Psychosen unter L-Dopa festgestellt werden.

Analog zum Vorgehen für Dyskinesien (Abschnitt 3.3) wurde eine Kaplan-Meyer-Statistik für die einzelnen Varianten berechnet. Auf eine graphische Darstellung wird an dieser Stelle verzichtet, weil keine relevanten Unterschiede in der zeitliche Abhängigkeit zwischen dem Auftreten von Psychosen und der Dauer der L-Dopa-Substitution (L-Dopa-Therapie in Tagen) für die unterschiedlichen Genotypen dargestellt werden konnten.

3.5 DRD3- und DRD4-Varianten und Motorfluktuationen

Wie für die Dyskinesien und Psychosen wurden die Parkinsonpatienten in zwei Gruppen aufgeteilt: solche mit Motorfluktuationen unter L-Dopa-Therapie (n = 93) und solche ohne als Kontrollgruppe (n = 80). In Tab. 21 sind die Allelhäufigkeiten in den Subgruppen für die mittels PCR-RFLP untersuchten genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 zusammengestellt.

	Anzahl n	Variante	Genotyp	Motorfluktuationen	
				ja	Nein
DRD3 Varianten	183	BaII	11	54,9	45,0
		Allel 1: Serin	12	38,5	42,5
		Allel 2: Glycin	22	6,6	12,5
	183	MspI	11	26,4	24,7
		Allel 1: MspI	12	47,1	53,2
		Allel 2: kein MspI	22	26,4	22,1
DRD4 Varianten	183	12bp repeat			
		1: 2x12-bp	12	15,3	13,2
		2: 1x12-bp	22	84,7	86,8
	183	13bp Deletion			
		1: Deletion	12	3,5	2,6
		2: Insertion	22	96,5	97,4

Tab. 21: Häufigkeit der genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 für die Subgruppe mit L-Dopa-induzierten Motorfluktuationen und der Kontrollgruppe ohne solche

Wie für die Dyskinesien und Psychosen wurde eine Kaplan-Meyer-Statistik für die einzelnen Varianten berechnet. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Genotypen für die untersuchten genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 in bezug auf Motorfluktuationen unter L-Dopa festgestellt werden. Auf eine graphische Darstellung an dieser Stelle konnte verzichtet werden.

3.6 Signifikante Veränderungen am Dopamintransporter

Die 183 Parkinsonpatienten wurden, wie in den vorangegangenen Kapiteln bereits beschrieben, jeweils in zwei Gruppen eingeteilt: solche mit Dyskinesien bzw. Psychosen oder Motorfluktuationen unter L-Dopa-Therapie und solche ohne Nebenwirkungen als Kontrollgruppe. In den nachfolgenden Tabellen sind die Allelhäufigkeiten in den Subgruppen für die mittels PCR-RFLP untersuchten Varianten des DAT zusammengestellt.

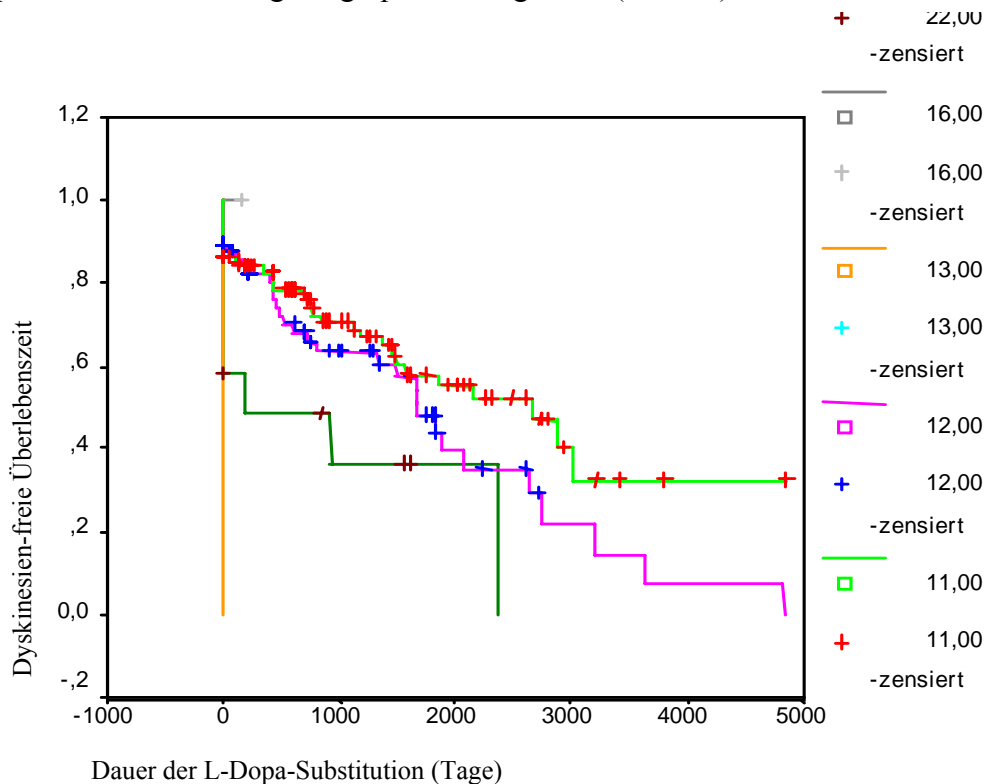
3.6.1 40bp-VNTR des Dopamintransportergens und Dyskinesien

	Anzahl n	Genotyp	Dyskinesien (%)		
			Ja	nein	
40bp-VNTR	183	repeats:	9r/9r	10,4	4,3
		10r, 9r, 11r, 12r	10r/9r	42,9	30,4
		Der Genotyp spiegelt die Anzahl	10r/10r	45,5	64,1
		der Wiederholungen (repeats)	10r/11r	1,3	0,0
		wieder	9r/12r	0,0	1,1

Tab. 22: Häufigkeit der genetischen Varianten des Dopamintransportergens für die Subgruppe mit L-Dopa-induzierten Dyskinesien (n = 79) und der Kontrollgruppe (n = 93) ohne solche

Die Patienten, die unter dyskinetischen Episoden litten, waren häufiger homo- oder heterozygote Träger des 9r-Allels als alle anderen Patienten (53,2 % im Vergleich zu 34,8 %, $p < 0,02$, Chi Quadrat-Test χ^2). Der Unterschied wurde noch deutlicher, wenn man nur die Patienten ($n = 165$) in die Analyse einbezieht, die auch L-Dopa erhalten haben. In dem Fall trat bei Patienten mit Dyskinesien unter L-Dopa das 9r-Allel in 54,7 % aller Fälle auf, aber nur in 32,9 % der Patienten ohne Dyskinesien ($p = 0,006$, *odds ratio* OR: 2,5; 95 % Konfidenzintervall KI: 1,3 - 4,7).

In der Kaplan-Meyer-Statistik (analog zum Vorgehen für die genetischen Varianten des DRD3 und DRD4 in 3.3) wird die zeitliche Abhängigkeit zwischen dem Auftreten von Dyskinesien und der Dauer der L-Dopa-Substitution (L-Dopa-Therapie in Tagen) für die unterschiedlichen Genotypen des DAT nachfolgend graphisch dargestellt (Abb.11).



22: Genotyp 9r/9r, 16: 10r/12r, 13: 10r/11r, 12: 10r/9r, 11: 9r/9r; zensierte Beobachtung: Es wird berücksichtigt, dass Patienten aus der Studie ausscheiden (z.B. Arztwechsel, Tod)

Abb. 11: Abhängigkeit der Dyskinesien von der L-Dopa-Behandlungsdauer, dargestellt als Überlebensfunktion in einer Kaplan-Meyer-Statistik für die Genotypen der DAT

3.6.2 40bp-VNTR des Dopamintransportergens und Psychosen

	Anzahl n	Variante	Genotyp	Psychosen %	
				ja	nein
40bp-VNTR	183	<i>repeats:</i> 10r, 9r, 11r, 12r	9r/9r	8,7	6,5
Der Genotyp spiegelt die Anzahl der Wiederholungen (repeats) wieder			10r/9r	50,0	30,9
			10r/10r	41,3	61,0
			10r/11r	0,0	0,8
			9r/12r	0,0	0,8

Tab. 23: Häufigkeit der genetischen Varianten des DAT für die Subgruppe mit L-Dopa-induzierten Psychosen (n = 48) und der Kontrollgruppe (n = 126)

Das 9r-Allel des 40-bp VNTR des Dopamintransporters kam gehäuft bei Patienten vor, die unter psychotischen Episoden litten (58,7 % versus 37,4 %, $p < 0,02$, χ^2). Dieser Unterschied wurde noch deutlicher, wenn nur Patienten berücksichtigt wurden (n = 165), die nur L-Dopa erhalten haben. Bei diesen Patienten mit Psychosen wurde das 9r-Allel bei 60,0 % der Patienten nachgewiesen und nur bei 36,8 % der Patienten ohne Psychosen ($p = 0,008$, OR: 2,6; 95 % KI: 1,3 - 5,3). In Abb.12 wird die zeitliche Abhängigkeit zwischen dem Auftreten von Psychosen und der Dauer der L-Dopa-Substitution für die unterschiedlichen Genotypen dargestellt.

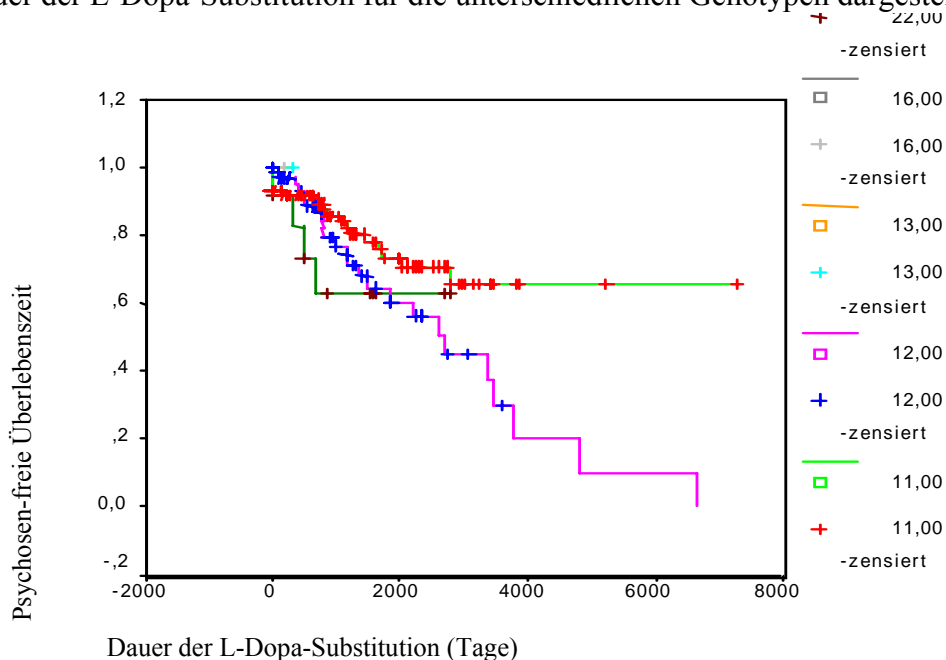


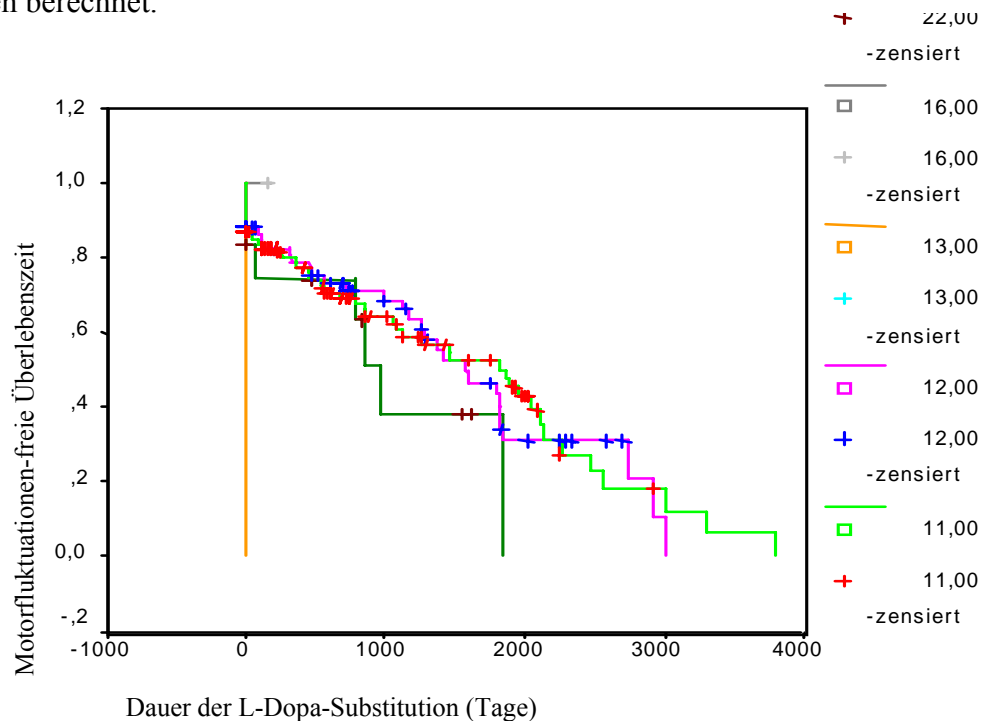
Abb. 12: Abhängigkeit der Psychosen von der L-Dopa-Behandlungsdauer (L-Dopa-Therapie in Tagen); dargestellt als Überlebensfunktion in einer Kaplan-Meier-Statistik für die Genotypen der DAT

3.6.3 40bp-VNTR des Dopamintransportergens und Motorfluktuationen

	Anzahl n	Variante	Genotyp	Motorfluktuationen	
				ja	nein
40bp-VNTR	183	<i>repeats:</i> 10r, 9r, 11r, 12r	9r/9r	7,9	6,3
			10r/9r	38,2	34,2
			10r/10r	52,8	58,2
			10r/11r	1,1	0,0
			9r/12r	0,0	1,3
Der Genotyp spiegelt die Anzahl der Wiederholungen (repeats) wieder					

Tab. 24: Häufigkeit der genetischen Varianten des DAT für die Subgruppe mit L-Dopa induzierten Motorfluktuationen (n = 93) und der Kontrollgruppe (n = 80) ohne solche

Für die Motorfluktuationen konnte das 9r-Allel nicht signifikant gehäuft nachgewiesen werden. Wie für die Dyskinesien und Psychosen wurde eine Kaplan-Meyer-Statistik für die einzelnen Genotypen berechnet.



Genotyp 22: 9r/9r, 16: 10r/12r, 13: 10r/11r, 12: 10r/9r, 11: 9r/9r; zensierte Beobachtung: Es wird berücksichtigt, dass Patienten aus der Studie ausscheiden (z.B. Arztwechsel, Tod)

Abb. 13: Abhängigkeit der Motorfluktuationen von der L-Dopa-Behandlungsdauer (L-Dopa-Therapie in Tagen); dargestellt als Überlebensfunktion in einer Kaplan-Meyer-Statistik für die Genotypen der DAT

3.6.4 Analyse der signifikanten Ergebnisse des 40-bp VNTR (DOT40)

Die signifikanten genetischen Varianten des Dopamintransportergens bei Parkinsonpatienten mit Langzeitnebenwirkungen werden in Tab. 25 im Vergleich der Genotypfrequenzen deutlicher. Es zeigt sich, daß die meisten Patienten homozygot für das 10r-Allel des 40-bp VNTR des Dopamintransporters oder heterozygot für das 10r- und 9r-Allel waren. Die in den Abschnitten 3.6.1 und 3.6.2 bereits beschriebene signifikante Häufung des 9r-Allels bei Patienten mit Dyskinesien und Psychosen sind in Tab. 25 noch einmal zusammengefasst.

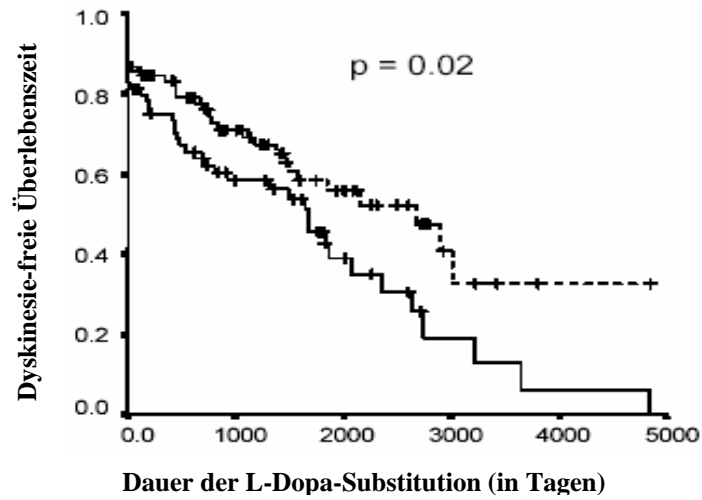
Für die Gruppe von Patienten ($n = 28$), die sowohl unter Dyskinesien als auch Psychosen litten, wurde das 9r-Allel in 64,3 % der Fälle nachgewiesen – im Gegensatz zu 39,0 % bei allen anderen Patienten ($p < 0,02$, χ^2). Untersuchte man wiederum nur die Patienten, die nur L-Dopa erhalten hatten und sowohl Dyskinesien als auch Psychosen entwickelt hatten, trat das 9r-Allel in 66,7 % aller Fälle auf gegenüber 38,6 % ($p = 0,007$) ohne solchen Nebenwirkungen.

Genotypen	alle Patienten (%)	Dyskinesien		Psychosen		Dysk. & Psych.		Fluktuationen	
		mit %	ohne %	mit %	ohne %	mit %	ohne %	mit %	ohne %
9r/9r	6,7	10,4	4,3	8,7	6,5	14,3	5,7	7,9	6,3
10r/9r	36,0	42,9	30,4	50,0	30,9	50,0	33,3	38,2	34,2
10r/10r	56,2	45,5	64,1	41,3	61,0	35,7	59,6	52,8	58,2
10r/11r	0,6	1,3	0,0	0,0	0,8	0,0	0,7	1,1	0,0
10r/12r	0,6	0,0	1,1	0,0	0,8	0,0	0,7	0,0	1,3

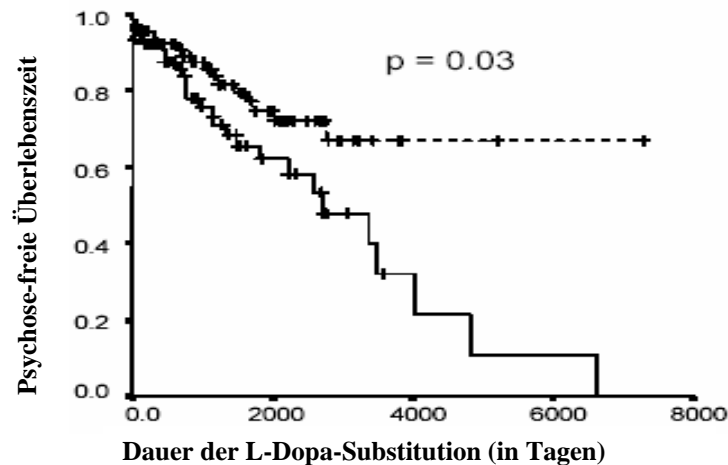
r: repeat (Anzahl der Wiederholungen)

Tab. 25: Frequenz des 40-bpVNTR des Dopamintransportergens für alle Patienten aufgeteilt nach dem Auftreten von Dyskinesien, Psychosen und Motorfluktuationen

Die Wahrscheinlichkeit, Dyskinesien und Psychosen unter L-Dopa zu entwickeln, erhöht sich bei Trägern des 9r-Allels zusätzlich signifikant in Abhängigkeit von der Zahl der Behandlungstage mit L-Dopa ($p = 0,02$ für Dyskinesien und $p = 0,03$ für Psychosen, *log rank test*). Dieser Trend wurde besonders deutlich für Patienten, die mit L-Dopa-Dosen über 300 mg pro Tag behandelt wurden. Vergleicht man die Träger des 9r-Allels mit Trägern anderer Allele des 40-bp VNTR im zeitlichen Verlauf wird der Unterschied noch deutlicher. Die Ergebnisse werden in der folgenden Kaplan-Meier-Statistik veranschaulicht (Abb.14).



Personen unter Risiko						
9r-Allel	91	39	20	4	1	0
Ohne 9r-Allel	69	28	11	3	1	0



Personen unter Risiko						
9r-Allel	90	26	2	1	0	0
Ohne 9r-Allel	70	16	2	1	0	0

Die P-Werte wurden mittels *log-rank test* ermittelt.

Abb. 14: Vergleich der kumulativen Wahrscheinlichkeiten frei von Dyskinesien bzw. Psychosen zu bleiben zwischen Patienten mit homozygotem/heterozygotem Genotyp des 9r-Allels des 40bp-VNTR des Dopamintransporters (untere Kurve) und allen anderen Patienten (obere Kurve) in Abhängigkeit von der Dauer der L-Dopa-Therapie in Tagen.

3.7 Mutationsanalyse durch DNS-Sequenzierung des DRD1

Bei zwölf Patienten mit besonders frühen und schweren Nebenwirkungen unter der L-Dopa-Therapie wurde eine DNS-Sequenzierung des DRD1 durchgeführt. Alle diese Patienten entwickelten innerhalb der ersten drei Jahre der Substitutionstherapie L-Dopa-induzierte Nebenwirkungen ohne zusätzlich Dopaminagonisten eingenommen zu haben. Drei Patienten berichteten über Psychosen, neun über Dyskinesien und sechs über Motorfluktuationen. Die Mutationsanalyse umfaßte die gesamte kodierende Sequenz des D1-Rezeptors. In Tab. 26 sind die klinischen Charakteristika der Patienten zusammengestellt. In dem sequenzierten D1-Rezeptor wurden eine bekannte und eine neue genetische Variante im Exon 2 nachgewiesen. Im Sequenzierungsschema (Abb.8) wurden diese Varianten gekennzeichnet.

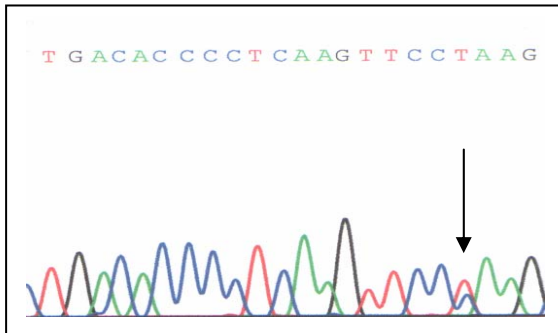
	Dyskinesien	Psychosen	On-Off
	n = 9	n = 3	n = 6
L-Dopa-Therapiedauer (Monate)	20,9	13,7	23
Auftreten der Nebenwirkung innerhalb von 1 Jahr (n)	3	2	2
Geschlecht	5 w, 4 m	2 w, 1 m	3 m, 3 w

m: männlich, w: weiblich, n: Anzahl

Tab. 26: Klinische Charakteristika der sequenzierten Patienten mit Langzeitnebenwirkungen

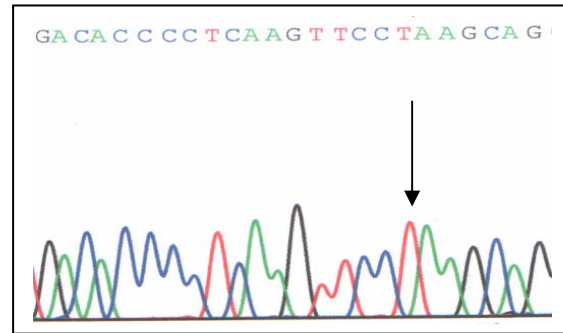
3.7.1 DRD1 A/G-48bp

Eine bekannte genetische Variante befand sich in 5'→3'-Richtung 48bp vor dem Start der kodierende Sequenz des DRD1. Es handelt sich um eine Punktmutation, die einen Nukleotidaustausch von Adenin zu Guanin bedingt. In 3'→5' Richtung (komplementär) entspricht dies einem Aminosäureaustausch von Thymin zu Cytosin (s. Abb.15). Diese Varianten wurde bereits beschrieben, eine funktionelle Bedeutung konnte bisher nicht mit Sicherheit ermittelt werden.



T: Thymin, G: Guanin, A:Adenin, C: Cytosin

Abb.15a: DNS-Sequenz des komplementären DNS-Strangs der Variante A/G -48bp des DRD1 mit heterozygot mutiertem Genoty



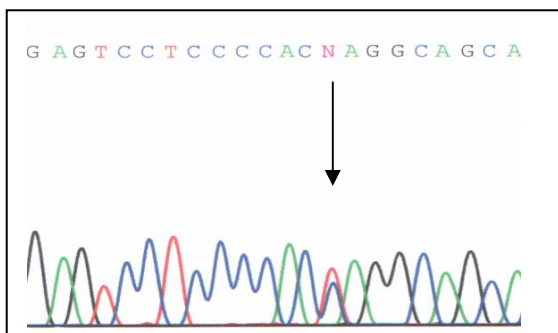
T: Thymin, G: Guanin, A:Adenin, C: Cytosin

Abb.15b: DNS-Sequenz des komplementären DNS-Strangs der Variante A/G -48bp des DRD1 mit homozygotem Wildtyp

3.7.2 DRD1 G/A-94bp

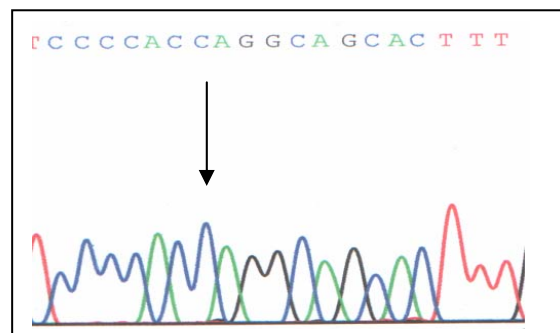
Eine bisher nicht beschriebene Punktmutation befindet sich in 5'→3'-Richtung 94bp vor dem Start der kodierenden Sequenz des DRD1. Es handelt sich um eine genetische Variante mit einem Basenaustausch von Guanin gegen Adenin (*G/A-94bp*) und entsprechend in 3'→5'-Richtung (komplementär) einem Austausch von Thymin durch Cytosin (s. Abb.16). Aufgrund der Position vor dem Startkodon bedingt diese Mutation keine Aminosäuresubstitution.

In der Sequenzierungsanalyse trat der heterozygot mutierte Typ bei drei der zwölf selektierten Patienten auf. Der homozygot mutierte Typ wurde unter den zwölf Patienten nicht gefunden. Diese neue genetische Variante wurde nachfolgend bei allen untersuchten Parkinsonpatienten aus der neurologischen Klinik der Humboldt Universität zu Berlin (Charité) mittels PCR-RFLP untersucht (n = 158). Sie wurde nach der Restriktionsendonulease *BfaI* als DRD1 *BfaI* bezeichnet bzw. entsprechend ihrer Lokalisation als G/A-94bp.



T: Thymin, G: Guanin, A:Adenin, C: Cytosin

Abb.16a: DNS-Sequenz des komplementären DNS-Strangs der **neuen Variante** des DRD1 G/A -94bp (*BfaI*) mit heterozygotem Genotyp



T: Thymin, G: Guanin, A:Adenin, C: Cytosin

Abb.16b: DNS-Sequenz des komplementären DNS-Strangs der **neuen Variante** des DRD1 G/A -94bp (*BfaI*) mit homozygotem Wildtyp

3.8 Häufigkeit der Genotypen des DRD1 G/A-94 (*Bfa*I)

Von den 164 mittels PCR und Restriktionsverdau untersuchten Patienten lag bei 72,6 % der homozygote Wildtyp ohne Nukleotidaustausch vor, bei 24,4 % der heterozygote Genotyp und bei 3,0 % der homozygot mutierte Genotyp.

	Anzahl	Allele	Genotyphäufigkeiten (%)		
DRD1-<i>Bfa</i>I	164	G/A-94 bp(<i>Bfa</i> I)	11	12	22
		Allel 1: Guanin			
		Allel 2: Adenin	72,6 %	24,4 %	3,0 %

Tab. 27: Häufigkeit der DRD1 Rezeptorvarianten aller Patienten

3.9 DRD1 G/A-94 (*Bfa*I) und Dyskinesien, Psychosen oder Motorfluktuationen

Die Patienten wurden zur Auswertung jeweils in zwei Gruppen aufgeteilt: solche mit Dyskinesien, Psychosen oder Motorfluktuationen und solche ohne als Kontrollgruppe. Bei sieben Patienten konnten die Daten bezüglich der L-Dopa-induzierten Nebenwirkungen nicht sicher erhoben werden. Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Genotyphäufigkeiten in den jeweiligen Subgruppen.

	Anzahl n	Genotyp	Dyskinesien (%)		
			ja	nein	
DRD1-<i>Bfa</i>I	158	G/A -94 bp (<i>Bfa</i> I)	11	70,3	74,2
		1: Guanin	12	26,6	22,6
		2: Adenin	22	3,1	3,2

Tab. 28: Allelhäufigkeit der Varianten des DRD1 für die Subgruppe mit L-Dopa-induzierten Dyskinesien und der Kontrollgruppe ohne solche

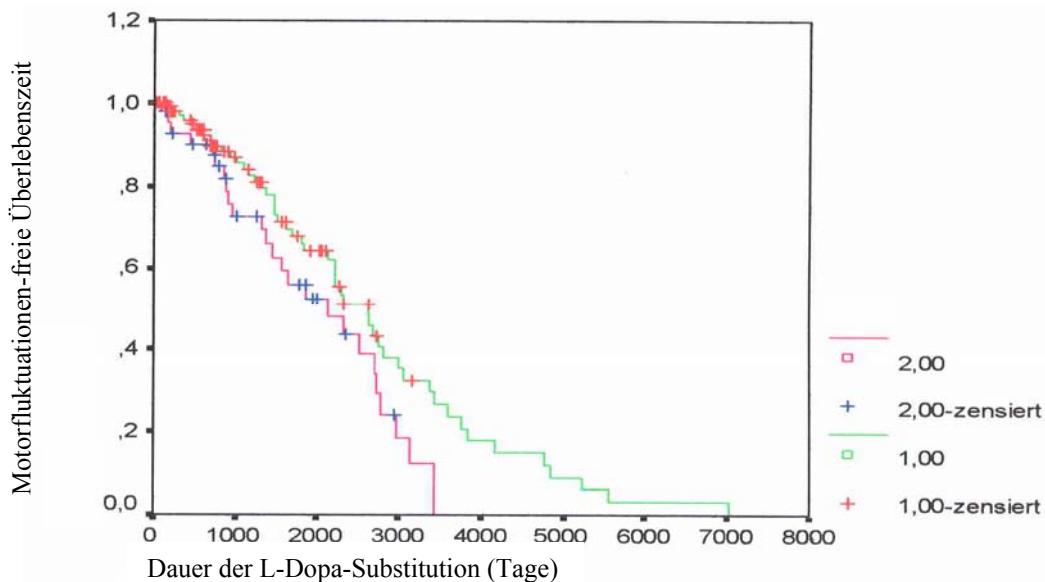
	Anzahl n	Variante	Genotyp	Psychosen %	
				ja	nein
DRD1-<i>Bfa</i>I	158	G/A -94 bp (<i>Bfa</i> I)	11	79,1	70,2
		1: Guanin	12	18,6	26,3
		2: Adenin	22	2,3	3,5

Tab. 29: Allelhäufigkeit der Varianten des DRD1 für die Subgruppe mit L-Dopa-induzierten Psychosen und der Kontrollgruppe ohne solche

	Anzahl n	Variante	Genotyp	Motorfluktuationen %	
				ja	Nein
DRD1-BfaI	158	G/A -94 bp (<i>BfaI</i>)	11	65,3	79,5
		1: Guanin	12	30,7	18,1
		2: Adenin	22	4,0	2,4

Tab. 30: Allelhäufigkeit der Varianten des DRD1 für die Subgruppe mit L-Dopa-induzierten Motorfluktuationen und der Kontrollgruppe ohne solche

Es zeigte sich eine Assoziation zwischen dem DRD1 G/A-94 und Motorfluktuationen unter L-Dopa, wenn man dem homozygoten Wildtyp (65,3 %) den homozygot und heterozygot mutierten Genotyp (34,7 %) gegenüberstellt. Das Risiko (OR: 2,06), unter L-Dopa Motorfluktuationen zu entwickeln, war für den Wildtyp doppelt so hoch wie für Träger des mutierten Allels (Patienten mit heterozygotem oder homozygot mutiertem Genotyp). Dieser Effekt zeigte jedoch nur eine schwach signifikante Assoziation ($p = 0,045$, χ^2 -Test) mit einem approximierten Konfidenzintervall der Odd's Ratio von 1,013 – 4,208. Es handelt sich somit um einen Borderline-Effekt. Eine Assoziation zu Dyskinesien oder Psychosen unter L-Dopa konnte für die Variante des DRD1 G/A-94 nicht nachgewiesen werden.



2: homozygoter Wildtyp, 1: homozygoter und heterozygoter Mutationstyp; zensierte Beobachtung: Es wird berücksichtigt, dass Patienten aus der Studie ausscheiden (z.B. Arztwechsel, Tod)

Abb. 17: Abhängigkeit der Motorfluktuationen von der L-Dopa-Behandlungsdauer (L-Dopa-Therapie in Tagen); dargestellt als Überlebensfunktion in einer Kaplan-Meier-Statistik für die Genotypen des DRD1 G/A-94 (*BfaI*)

3.10 Zusammenfassung der Ergebnisse

In unserer Untersuchung des Dopamintransportergens zeigt sich, daß die Mehrzahl der Patienten homozygot für das 10r-Allel des 40bp-VNTR des Dopamintransportergens sind oder heterozygot für das 9r-Allel ohne Nachweis einer möglichen Assoziation zum IPS.

Dagegen kann ein statistisch gesicherter Zusammenhang zwischen dem 9r-Allel und Dyskinesien und Psychosen unter der L-Dopa-Therapie hergestellt werden. Dies wird besonders deutlich, wenn man nur die Patienten untereinander vergleicht, die ausschließlich L-Dopa erhalten haben. Bei einer Gruppe von 28 Patienten, die sowohl Dyskinesien als auch Psychosen entwickelten, wird dieser Unterschied ebenfalls besonders deutlich – erneut auffällig, wenn nur die Patienten untereinander verglichen wurden, die ausschließlich L-Dopa erhalten haben. Zusätzlich vergrößert sich das statistische Risiko mit zunehmender Therapiedauer und zunehmender kumulativer L-Dopa-Dosis. Für Motorfluktuationen unter L-Dopa läßt sich jedoch kein signifikant erhöhtes Risiko für Träger des 9r-Allels darstellen.

Für die neue Variante des DRD1 (G/A-94, *BfaI*) besteht eine schwach signifikante Assoziation zwischen dem Wildtyp und L-Dopa-induzierten Motorfluktuationen, nicht jedoch zu Dyskinesien oder Psychosen.