4 Diskussion

4.1 Pathogenese des Idiopathischen Parkinsonsyndroms

Die pathophysiologischen Ursachen des IPS sind noch nicht eindeutig geklärt. In vorangegangenen Fall-Kontroll-Studien wurde die positive Familienanamnese als der entscheidenden Risikofaktor benannt (Marder 1996, De Michele 1995). Heute geht man mehrheitlich davon aus, daß eine Kombination aus bisher unbekannten Umweltfaktoren, genetischen und degenerativen Faktoren ursächlich für das IPS ist.

4.1.1 Pharmakogenetische Risikofaktoren

Veränderungen in der intrazellulären Signalweiterleitung durch genetische Varianten der Dopaminrezeptoren und des Dopamintransporters können Einfluß auf das therapeutische Ergebnis haben. Deshalb sind Gene, welche Proteine aus den Bereichen der dopaminerger Transmission, des Dopamintransports und Dopaminmetabolismus kodieren, gute Kandidaten für Assoziationsstudien. Viele genetische Studien im Bereich des IPS, so auch diese, befassen sich mit potentiell prädisponierenden Genen und Faktoren für das IPS und den Nebenwirkungen unter der Substitutionstherapie.

Für das IPS ist bereits eine Anzahl an Kandidatengenen beschrieben worden. Sie sind ein wichtiger Schritt zum Verständnis der erblichen Komponente der Parkinsonerkrankung, wurden aber bisher nur in kleinen Patientenkollektiven nachgewiesen (Riess 1999). Bisher konnten mindestens zehn Genloci für das familiäre Parkinsonsyndrom chromosomal kartiert werden. Als Arzneimittel-metabolisierende Enzyme wurden unterschiedliche P450-Cytochrom-Gene und Monoamino-Oxidase (MAO) A- und MAO B-Gene untersucht. Eine positive Assoziation mit IPS wurde für Apolipoprotein E4 (Marder 1996), Superoxid-Dismutase (Bandmann 1995), MAO (Kurth 1993) und Desriboquin-Hydroxylase (Armstrong 1992) beschrieben. In einer Metaanalyse der Assoziationsstudien zwischen 1966 bis 1999 durch Tan mit über 30 verschiedenen Genvarianten sind neben vielen widersprüchlichen Ergebnissen signifikante Assoziationen zwischen dem IPS und den N-Acetyl-Transferase (NAT) 2-, MAO B-, Gluthation-Transferase (GST) 1- und Glutamat-t-Ribonukleinsäure (tRNAGlu)- Varianten beschrieben worden (Tan 2000).

In der vorliegenden Arbeit sind Allelhäufigkeiten bei 183 Patienten untersucht worden. Die gefundenen Ergebnisse werden im folgenden mit den Resultaten anderer Autoren verglichen.

4.1.2 40bp-VNTR des Dopamintransporgens und IPS

Im Vergleich der Allelhäufigkeiten für Parkinsonpatienten und Kontrollgruppen in unserer Untersuchung zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Allelfrequenzen. Wie in vorangegangenen Fall-Kontroll-Studien mit Parkinsonpatienten wurden das 10r-Allel (10 *repeats*) und 9r-Allel des DAT am häufigsten nachgewiesen. In Tab.31 werden die Allelhäufigkeiten des 40bp-VNTR der unterschiedlichen Studien gegenübergestellt.

Allele	**n**	**5 *repeats***	**6r**	**7r**	**8r**	**9r**	**10r**	**11r**	**12r**
Fragmentlänge		280bp	320bp	360bp	400bp	440bp	480bp	520bp	560bp
Eigene Studie									
PP %	183	-	-	-	-	42,7	93,4	0,6	0,6
Le Couteur et al. (1997)[1]:									
PP %	100	-	-	-	0	25,5	72,0	0,25	-
GP %	200	-	-	-	0,25	28,0	71,5	0,25	-
Leighton et al. (1997)[2] :									
PP %	203	-	0,2	1,0	-	6,9	90,1	1,7	-
GP %	230	-	0	0,7	-	7,6	90,2	1,5	-
Mercier et al. (1999)[4]									
PP %	75			0,6		32,0	66,0	1,3	
GP %	78		0		0,6	33,3	65,4	0,6	
Higuchi et al. (1995)[3] :									
PP %	70	-	-	3,6	-	0,7	93,6	2,1	-
GP %	70	-	-	3,6	-	5,7	89,3	1,4	-
Plantè-Bordeneuve (1997)[4]:									
PP-IPS %	60	0	-	-	-	26,2	70	1,7	0
PP familiär %	18	2,8	-	-	-	27,8	66,7	0	0
GP %	60	0	-	-	-	28,3	70,9	0,8	2,8
Vanderbergh et al. (1992)[5]:									
GP %	136	0,8	-	1,2	1,9	24	70	1,6	-
Li et al. (1994)[6]:									
GP %	98	-	-	-	1	6	92	1	-
Sano et al. (1993)[7] :									
GP %	107	-	-	-		4,2	93	1,9	-
Lin et al. (2003)[8]									
PP	193	-	0,5	0,5	0,3	8,3	88,6	1,8	-
GP	254	-	0,2	1	-	5,9	91,5	1,4	-

Probanden, n: Anzahl, bp: Basenpaare, r: *repeat*, PP: Parkinsonpatienten, GP: Gesunde
[1]Kaukasier (Australien), [2]Chinesen, [3]Japaner, [4]Kaukasier, [5]US-Amerikaner kaukasischer (n = 52) und afrikanischer Herkunft (n = 84), [6]Chinesen, [7]Japaner, [8]Taiwanesen

Tab. 31: Allelhäufigkeit des 40b-VNTR des DAT von Parkinsonpatienten und gesunden Probanden, eigenen Ergebnisse und publizierte Studien anderer Autoren

LeCouteur beschrieb 1997 eine positive Assoziation zwischen dem 40bp-VNTR und dem IPS in einer kaukasischen Bevölkerungsgruppe in Australien (Durchschnittsalter 70 +/-12Jahre) ohne nachweisbaren familiären Parkinsonismus. Es bestanden signifikante Unterschiede in der Allelhäufigkeit zwischen Patienten (n = 100) und Probanden (n = 200) ($\chi^2 = 7{,}1$, $p < 0{,}05$): das 11r-Allel der 40bp-Sequenz war deutlich häufiger bei Patienten als bei Probanden zu finden (OR = 10,2, KI = 1,2 - 87,9, $p < 0{,}0025$). Es wäre hiernach mit einem zehnfach erhöhten Risiko für das IPS verbunden (2,5 % der Patienten, 0,25 % der Probanden) und könnte bis zu 5 % der Parkinsonfälle erklären. Andere Berichte geben die Häufigkeit des 11r-Allels mit 0 - 1,6 % in der Normalbevölkerung an. Auch in der vorliegenden Studie konnten wir die beschriebene Häufigkeit von 5 % für das 11r-Allel nicht reproduzieren. Nur 0,6 % der Patienten waren heterozygot für das 11r-Allel. Die Ursache dafür mag in den ethnischen Unterschieden liegen, da die von LeCouteur untersuchte australische Bevölkerung eine relativ junge Population von Immigranten unterschiedlichster Herkunft repräsentiert.

Vandenbergh beschrieb 1992 in einer Studie mit gesunden US-Amerikanern kaukasischer Herkunft (n = 52) und afrikanischer Herkunft (n = 84) die Verteilung der 40bp-VNTR Allele des DAT1 wie folgt: Die Mehrzahl der Probanden trugen das 9r- oder 10r-Allel. Unter den Trägern des 9r- und/oder des 10r-Alles betrug die Frequenz des 9r-Allels 0,35 bei Patienten kaukasischer Abstammung und 0,24 bei Patienten afrikanischer Abstammung ($\chi^2 = 1{,}7$, $p = 0{,}19$). Die genetische Heterogenität betrug 45 % für Probanden kaukasischer Abstammung und 42,5 % für Probanden afrikanischer Abstammung ($\chi^2 < 1$, $p > 0{,}7$). Somit war kein signifikanter Unterschied der Allelfrequenzen zwischen den beiden Ethnien feststellbar. Vandenbergh beschreibt weiterhin, dass er das 3r-Allel (Länge: 200bp) in 0,8 % seiner Probanden nachweisen konnte. Dieses Allel wurde bisher in keiner anderen Studie, auch nicht in der vorliegenden Studie, nachgewiesen (Vandenbergh 1992).

Leighton (1997) und Higuchi (1995) untersuchten unabhängig voneinander den 40bp-VNTR des DAT in China, ohne eine Assoziation zum IPS herstellen zu können. In der untersuchten chinesischen Population von Leighton, rekrutiert in Hongkong (Patienten n = 203, Probanden n = 230, Durchschnittsalter 69 +/- 11 Jahre), war das 10r-Allel mit 90 % das häufigste bei Patienten und Probanden. Dies entspricht etwa den Ergebnissen von **Li** (1994) mit 92 % in China, **Sano** (1993) mit 93% in Japan und **Higuchi** (1995) mit 93,6 % in Japan.

Eine Veröffentlichung von **Zhang** beschreibt 2001 in einer chinesischen Gruppe mit 85 Probanden und 28 Parkinsonpatienten eine signifikante Assoziation des 7r-Allels und eine

schwächere Assoziation des 10r-Allels zum IPS bei Parkinsonpatienten, die bei Erstdiagnose über 50 Jahre alt waren (seniles IPS), wohingegen das *early-onset Parkinson Syndrome* hauptsächlich mit dem 9r-Allel verbunden sei (Zhang 2001). Demnach wäre der 40bpVNTR des DAT nicht nur mit dem IPS verbunden, sondern auch mit dem Alter bei Krankheitsbeginn.
Von **Mercier** waren 1999 in einer französischen Bevölkerungsgruppe (Patienten ohne familären Parkinsonismus n = 75, gesunde Probanden n = 78, Durchschnittsalter 70 +/-11 Jahre) die 10r- und 9r-Allele am häufigsten nachgewiesen worden ohne signifkante Unterschiede der Allel- oder Genotypfrequenz zwischen Probanden und Patienten (Mercier 1999). Eine weitere Studie von **Planté-Bordeneuve** 1997 konnte in einer englisch/französischen Patientengruppe (Kaukasier) im Vergleich zu gesunden Probanden (n = 60) ebenfalls keine Assoziation zwischen dem 11r-Allel des 40bp-VNTR und dem IPS (n = 60) oder dem familiären Parkinsonismus (n = 18) nachweisen. In einer taiwanesischen Gruppe (Patienten n = 193, Probanden n = 254) konnte **Lin** 2003 zunächst keine Unterschiede in der Allel- (χ^2 = 5,239, p = 0,387) oder Genotypfrequenz (χ^2 = 11,873, p = 0,157) nachweisen. Allerdings waren Patienten um 0,67-mal häufiger Träger des homozygote Genotyps des 10r-Allels als Probanden (χ^2 = 4,569, OR= 0,67, 95 % KI: 0,45-0,97, p = 0,033). Dies galt nur für männliche Patienten. Ob der homozygote Genotyp (10r/10r) für Männer als protektiver Faktor zu werten ist, bedarf weiterer Untersuchungen (Lin 2003).

Die unterschiedlichen Ergebnisse suggerieren, dass sich die Pathogenese und Ätiologie des IPS bei verschiedenen Rassen unterscheidet. Tatsächlich ist auch die Prävalenz des Parkinsonsyndroms bei Asiaten niedrig – nur etwa halb so groß wie bei Kaukasiern - wobei man berücksichtigen muß, daß sich auch die Exposition zu möglichen Risikofaktoren unterscheidet (Tanner 1989). Zusätzlich tragen nur 70 % der Kaukasier und Personen afrikanischen Ursprungs das 10r-Allel (Vandenbergh 1992). Pathogenese, Ätiologie und mögliche genetische Prädisposition des IPS scheinen somit sowohl ethnische als auch geographische Unterschiede aufzuweisen. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten aber auch Folgen methodischer Unterschiede sein oder in den unterschiedlichen Auswahlkriterien der Studienteilnehmer liegen.

Eine weitere genetische Variante des DAT ist ein *single nucleotide polymorphism* (SNP, 1215A/G) und wurde von **Morino** 2000 mit einer positiven Assoziation zum IPS in einer japanischen Bevölkerungsgruppe beschrieben: das 1215G Allel sei deutlich seltener bei Parkinsonpatienten nachweisbar. Ähnliche positive Ergebnisse veröffentlichte Nishimura in 2002

über den 1215A/G-Genotyp ebenfalls bei einer japanischen Gruppe. Lin (2002) konnte in China keine Assoziation nachweisen.

4.1.3 DRD3 *Bal*I und DRD3 *Msp*I und IPS

Im Vergleich der Allelhäufigkeiten der untersuchten genetischen Varianten des DRD3 für Parkinsonpatienten und Kontrollen konnten wir keine signifikanten Unterschiede in den Genotyp- und Alellfrequenzen finden. Nachfolgend wird die Verteilung der Genotypen dargestellt und mit den Ergebnissen anderer Studien verglichen. Bezüglich einer Assoziation zwischen Mutationen im Bereich der DRD3 *Msp*I-Varianten und IPS lagen keine Literaturangaben vor.

DRD3 *Bal*I Genotypen (%)	**Anzahl** n	**wt** (Serin)	**heterozygot**	**mut** (Glycin)
Eigene Studie Parkinsonpatienten	183	50,3	39,2	10,5
Nanko et al. (1994):				
Parkinsonpatienten	71	56	30	14
Gesunde Probanden	90	53	39	8
Higuchi et al. (1995):		Allel 1		Allel 2
Parkinsonpatienten	70	66,4		33,6
Gesunde Probanden	70	74,3		25,7
Shaik et al. (1996)				
Schizophrene Patienten	133	43	52	5
Gesunde Probanden	109	30	52	18
Crocq et al. (1992)				
Schizophrene Patienten (UK)	68	37	18	13
Gesunde Probanden	68	25	34	9
Schizophrene Patienten (Frankreich)	73	37	26	10
Gesunde Probanden	71	26	41	4
Crocq et al. (1996)				
Gesunde Probanden aus Frankreich	101	41,6	50,5	7,9
Gesunde Probanden aus dem Kongo	56	1,8	19,6	78,6
DRD3 *Msp*I Genotypen (%)	**Anzahl** n	**wt**	**heterozygot**	**mut**
Eigene Studie Parkinsonpatienten	183	25,3	50	24,7
Crocq et al. (1996)				
Gesunde Probanden aus Frankreich	85	27,1	51,8	21,2
Gesunde Probanden aus dem Kongo	52	13,5	21,2	65,4

wt: homozygoter Wildtyp, mut: homozygoter mutierter Genotyp, UK: *United Kingdom*

Tab. 32: Genotyphäufigkeiten des DRD3 *Bal*I und DRD3 *Msp*I von Parkinsonpatienten, psychiatrischen Patienten und gesunden Probanden in der eigenen Studie und in publizierten Studien

Die Untersuchungen an Parkinsonpatienten von Nanko und Higuchi fanden keine signifikanten Veränderungen der Genotypfrequenz des DRD3 *Bal*I in Hinblick auf das IPS in Ostasien (Nanko 1994). Die Untersuchung von **Nanko** in Japan mit 71 Parkinsonpatienten (Alter 64,9 +/- 6,5 Jahre) und 90 gesunden Probanden (Alter 27,8 +/- 6,4 Jahre) ergab auch dann keine positive Assoziationen, wenn man die Patienten unterteilte in solche, die vor oder nach dem 60. Lebensjahr an IPS erkrankt waren. Die Probandengruppe war allerdings wesentlich jünger als die Patientengruppe und hatte mehrheitlich nicht das Alter erreicht, in dem das Risiko an IPS zu erkranken deutlich zunimmt (Nanko 1994). **Higuchi** untersuchte 70 japanische Parkinsonpatienten (Alter 67,1 +/- 9,8 Jahre) und 70 gleichaltrige Probanden ohne eine Assoziation zum mutierten Genotyp (Glycin) feststellen zu können (Patienten 33,6 % versus Probanden 25,7 %). Für diese Untersuchung wurde eine neue PCR-Methode angewandt mit Amplifizierung eines 112bp-Fragments und Einsatz der Restriktionsendonuklease *HaeIII*. Bei der relativ kleinen Patientenzahl sind keine statistisch signifikanten Assoziationen nachweisbar, obwohl die Frequenz des mutierten Glycin-Allels bei den Parkinsonpatienten höher zu sein schien als bei den Probanden (Higuchi 1995).

Zwei weitere Assoziationstudien der DRD3 *Bal*I-Variante an schizophrenen Patienten in Frankreich und Wales (Kaukasier), durchgeführt von **Crocq,** mit insgesamt 141 schizophrenen Patienten und 136 Probanden, ergaben eine deutliche Assoziation (Crocq 1992). Der homozygote Genotyp kam signifikant häufiger bei schizophrenen Patienten vor als bei gesunden Probanden (p = 0,0001) mit einem relativ erhöhten Risiko an Schizophrenie zu erkranken (2,61) für Träger des homozygoten Genotyps (11 oder 22) (95 % KI 1,6 - 4,26). Die Allelhäufigkeiten unterschieden sich nicht signifikant für Patienten und Probanden. Viele nachfolgende Studien konnten dieses Ergebnis nicht reproduzieren.
In einer späteren Untersuchung von **Shaik** wurde bei schizophrenen Patienten (n = 133) das Serin-Allel signifikant häufiger (6 %) gefunden als bei gesunden Probanden (56 %) (n = 109). Der Wildtyp (Ser/Ser) kam bei Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden häufiger vor (43 % versus 30 %) als der mutierte Genotyp (5 % versus 18 %). In einer Metaanalyse mit vorangegangenen Studien konnte Shaik eine schwach signifikante Assoziation zwischen dem Wildtyp und Schizophrenie feststellen (OR 1,25, 95 % KI 1,05 - 1,49, p = 0,01) (Shaik 1996).

Crocq untersuchte die Allel- und Genotypfrequenzen des DRD3 *Bal*I und *Msp*I an gesunden Probanden in einer kaukasischen Bevölkerung (Elsaß) und in einer afrikanischen Bevölkerung (Kongo). Dabei zeigte sich für den *Bal*I, daß die Häufigkeiten innerhalb der französischen Population denen anderer Studien an kaukasischen Bevölkerungsgruppen glichen, aber das Allel 1 (Serin) in der afrikanischen Gruppe deutlich seltener vorkam (0,12) und das Allel 2 (Glycin) vermehrt exprimiert wurde (0,88). Die Expression der DRD3 *Bal*I Variante zeigte somit ethnische Unterschiede: das Allel 1 wird in kaukasischen und ostasiatischen Populationen häufiger exprimiert als in afrikanischen (Crocq 1996).

Ebenso wurde das DRD3 *Msp*I Allel 2 von Crocq signifikant häufiger in der afrikanischen Gruppe nachgewiesen als in der kaukasischen (χ^2 = 20,5, $p < 0,0001$). Im Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Studie an Patienten und Probanden kaukasischer Abstammung mit denen der französischen Probandengruppe von Crocq stimmen die Häufigkeiten der Genotyp- und Allelfrequenzen überein. Weitere Ergebnisse bezüglich der DRD3 *Msp*I Variante stehen nicht zu Verfügung. Ein Vergleich zu asiatischen Bevölkerungsgruppen bleibt somit aus (Crocq 1996).

4.1.4 DRD4 12-bp *repeat* und 13-bp Deletion und IPS

DRD4-Rezeptorvarianten wurden aufgrund ihrer hohen genetischen Variationsbreite vielfach als Suszeptibilitätsgen für das IPS und andere neuropsychiatrische Erkrankungen untersucht. Besondere Beachtung kam bisher der *48-bp tandem repeat* (VTNR)-Sequenz in Exon 3 dieses Rezeptors zu: der lange Genotyp (mehr Wiederholungen) soll nach Ricketts (1998) in der kaukasischen Bevölkerung mit IPS assoziiert sein. Dagegen fanden Studien in Asien durch Nanko (1993), Higuchi (1995) oder Wan (1999) keine Assoziation. Gleiches gilt für eine Untersuchung des 48-bp VNTR in einer kaukasischen Gruppe durch Kronenberg (1999).

Für die 13-bp Deletion- und 12-bp *repeat*-Varianten sind die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollgruppe weder in unserer Untersuchung noch in anderen Studien signifikant. Bezüglich einer möglichen Assoziation zwischen Mutationen im Bereich der DRD4 12-bp *repeat* Variante und dem IPS lagen keine Literaturangaben vor. Die Verteilung der Genotypen der 13-bp Deletion der untersuchten Parkinsonpatienten wird nachfolgend den Ergebnissen anderer Studien gegenübergestellt.

DRD4 13-bp Deletion Genotyp (%)				
Eigene Studie	n	Deletion	heterozygot	Insertion
Parkinsonpatienten	183	0	2,9	97,1
Higuchi et al. (1995)				
Parkinsonpatienten	70	0	0	100
Gesunde Probanden	70	0	0	100
Rietschel et al. 1996				
Schizophrene Patienten unter Clozapin	149	0	4,43	95,57
Nöthen et al. (1994)		13bp-Deletion		Wildtyp
GP	464	2		98
Schizophrene Patienten	236	1		99
Bipolare Störung	198	2		98
Tourette syndrom	180	1		99

n: Anzahl, bp: Basenpaare

Tab. 33: Genotyphäufigkeiten der genetischen Varianten des DRD4 von Parkinsonpatienten in der eigenen Studie und in publizierten Studien anderer Autoren

Higuchi konnte in Japan die 13bp-Deletion weder bei Parkinsonpatienten (n = 70) noch bei gesunden Probanden (n = 70) nachweisen. Die homozygote Deletion der 13-bp Sequenz konnte weder in unserer noch in der Studie von Rietschel mit psychiatrischen Patienten (n = 149) in Deutschland nachgewiesen werden. In der Studie von Nöthen an psychiatrischen Patienten wurde ein Patient beschrieben, der homozygot für die 13bp-Deletion war, jedoch unter keiner psychiatrischen Erkrankung oder IPS litt (Higuchi 1995, Nöthen 1994, Rietschel 1996).

Eine positive Assoziation des seltenen Allels ohne Wiederholung der 12-bp *repeat* Variante und delusionalen Erkrankungen wurde durch Catalano in einer Gruppe psychiatrischer Patienten (n = 138) beschrieben. In den Studien von Hong mit 80 psychiatrischen Patienten und 42 Probanden in einer chinesisch/taiwanesischen Gruppe und in einer Studie von Rietschel mit 149 schizophrenen Patienten in Deutschland konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden (Rietschel 1996, Hong 1998, Catalano 1993).

4.1.5 DRD1 G/A–94 (*Bfa*I) und IPS

In dieser Arbeit fiel die G/A–94 Variante im Rahmen der DRD1-Sequenzierung als bisher nicht bekannte Mutation im Exon 2 auf und wurde mittels PCR-RFLP für alle Parkinsonpatienten untersucht. Eine signikante Korrelation zum IPS konnte nicht nachgewiesen werden. Über diese genetische Variante des DRD1 liegen derzeit keine veröffentlichten Daten vor.

4.2 Weitere Risikofaktoren für die Pathogenese des IPS

Insgesamt bestehen bei den untersuchten Parkinsonpatienten im Vergleich zu den Parkinsonpatienten und gesunden Probanden anderer Studien keine signifikanten Unterschiede der Allelfrequenz der DRD1-, DRD3-, DRD4- und DAT-Genvarianten. Dies deutet darauf hin, daß die untersuchten Varianten keine bedeutende Rolle in der Pathogenese des IPS spielen.

Neben diesen genetischen Varianten können oxidativ entstandene Radikale (Superoxid, Stickstoffmonoxid) aus dem Stoffwechsel des zentralen Nervensystems – u.a. dem Metabolismus des Dopamins - zum Untergang dopaminerger Neurone führen indem z.B. die Radikalbildung erhöht oder die Radikalentgiftung (z.B. Radikalfängerenzyme) bei Parkisonpatienten gestört ist (Gerlach 1996).

Ferner könnten gestörte Speicher- und Regulationsmechanismen der intrasynaptischen Dopaminkonzentration durch eine gestörte Rückkopplung oder verminderte Dopaminspeicherkapazität zum IPS beitragen. Studien mit dem Monoamino-Oxidase-Inhibitor *Selegilin*, der den Abbau von Dopamin hemmt, eröffneten die Möglichkeit den Untergang nigraler Neurone zu verlangsamen (Tertrud 1989, *The Parkinson Study Group* 1989).

Eine mögliche Überfunktion der NMDA-Rezeptoren mit vermehrtem Calcium-Einstrom und Acetylcholinfreisetzung kann im Sinne der Toxinhypothese als Ursache für das IPS verantwortlich sein. Die therapeutische Substitution von glutamatergen Substanzen (z.B. Amantadin) beim IPS wirkt außerdem antagonistisch am N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor und könnte zwar nicht der Erkrankung, jedoch sicher den Nebenwirkungen entgegenwirken (Papa 1996).

Ferner kann eine Störung der intrazellulären Kalziumhämostase eine unkontrollierte Stimulierung von Enzymen bedingen, z.B. Calpaine, Proteinkinasen, Phospholipase A2, Endonukleasen und Stickstoffsynthetase, die dann wiederum zu Membranschädigungen der Dopaminzelle führen. Calciumantagonisten (z.B. Nimodipin) könnten demnach ebenfalls neuroprotektiv wirken (Kupsch 1996).

Beim IPS kommt es darüber hinaus zu einem Mangel an weiteren Neurotransmittern, wie z.B. Noradrenalin und Serotonin (Neundörfer 1990). Die Noradrenalinentleerung beim IPS kann zu bestimmten Defiziten führen wie Gangstörungen oder mentale Dysfunktionen (verminderte Aufmerksamkeit, Depression), wobei sowohl eine direkte Wirkung auf Zielstrukturen als auch modulatorische Effekte auf die Dopaminfreisetzung in Frage kommen.

Ein Mangel an neurotrophen Faktoren wie der *Fibroblast Growth Factor* oder der *Brain Derived Neurotrophic Factor* wird ebenfalls in der Pathogenese des IPS diskutiert (Gasser 1994). Neue Therapieansätze der Firma Amgen befassen sich mit Stoffen (z.B. GDNF), die über einen implantierten Katheter mit Pumpe in das Gehirn von Parkinsonpatienten appliziert werden und dort die dopaminergen Nervenzellen erhalten und teilweise auch zum Wachsen bringen sollen.

4.3 Pathogenese der L-Dopa induzierte Dyskinesien

4.3.1 Soziodemographische Risikofaktoren

Dyskinesien werden gewöhnlich nach mehreren Jahren unter L-Dopa beobachtet. In dieser Studie traten sie bei etwa 45 % aller Patienten auf, eine Prävalenz, die mit vorangegangenen Studien übereinstimmt (Poewe 1994, Lang 1998*,**).

In der Literatur gelten als klinische Risiken für L-Dopa-induzierte Nebenwirkungen: geringes Lebensalter bei Erstdiagnose, langes Zeitintervall zwischen dem Start der L-Dopa-Therapie und dem Auftreten der ersten Symptome, Dauer der Parkinsonerkrankung und der L-Dopa-Therapie, kumulative L-Dopa-Dosis, Geschlecht und die fortschreitende Degeneration des Striatums. Demnach werden Dyskinesien häufiger von Patienten angegeben, die sehr jung erkrankten und *motor blocks* eher von Patienten, die schon lange unter der Krankheit leiden (Denny 1999). Eine gelegentlich beschriebene geschlechtsspezifische Prädisposition mit Überwiegen des weiblichen Geschlechts ist nicht sicher nachgewiesen (Poewe 1994).

Statistisch kann in dieser Arbeit bestätigt werden, daß Patienten mit längerer Krankheitsdauer, höheren Punktwerten auf der Hoehn-Yahr-Skala und längerer Behandlungsdauer mit L-Dopa und somit höherer kumulativer Dosis, ein erhöhtes Risiko hatten, Dyskinesien zu entwickeln. Sie waren durchschnittlich jünger bei Erstmanifestation des IPS als solche Patienten ohne Dyskinesien. Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten wir in der vorliegenden Untersuchung nicht feststellen.

4.3.2 Pharmakodynamische Risikofaktoren

Veränderungen in der intrazellulären Signalweiterleitung der Rezeptoren bei genetischen Varianten der Rezeptor- oder Transportgene könnten Einfluß auf das therapeutische Ergebnis haben. Zu dieser Fragestellung wurden bereits mehrere Studien veröffentlicht.

Birkmayer u. Riederer (1985) vermuten, dass eine zu hohe L-Dopa-Dosierung über negative Rückkopplungsmechanismen die körpereigene Dopaminsynthese ruhig stellt, welche die Balance zwischen dopaminerger und cholinerger striataler Aktivität regulieren. Solche Störungen in der Feet-Back-Regulation der dopaminergen Synapse scheinen eine wichtige Ursache für die Entwicklung von Fluktuationen und Dyskinesien zu sein (Ludin 1998).
Die Langzeittherapie mit L-Dopa scheint außerdem die Absorption von L-Dopa zu beschleunigen (Murata 1997).

4.3.3 Signifikante Assoziation des 40-bp VNTR des DAT mit Dyskinesien

Das 9r-Allel des 40bp-VNTR des DAT-Gens wurde signifikant häufiger bei Patienten mit Dyskinesien nachgewiesen als bei Patienten ohne (54,7 % versus 32,9 %, p = 0,006). Das Risiko dieser Patienten nahm signifkant mit der Dauer der Substitutionstherapie zu und wurde am deutlichsten bei Patienten, die eine L-Dopa-Tagesdosis von über 300 mg erhielten (Abb.14). Es liegen keine Ergebnisse anderer Studien zum Vergleich vor.

4.3.4 DRD3-, DRD4-, DRD1- und DRD2-Genvarianten und Dyskinesien

In der vorliegenden Untersuchung konnte kein Zusammenhang zwischen genetischen Varianten des DRD3, DRD4 und DRD1 und Dyskinesien unter L-Dopa bei Parkinsonpatienten gefunden werden. Die untersuchten Varianten scheinen mit der Pathogenese der Dyskinesien nicht in einem ursächlichen Zusammenhang zu stehen (Tab.19). Weitere Literaturangaben zum Vergleich lagen nicht vor. Die Sequenzierung des D1-Rezeptors zeigte eine neue Mutation (G/A-94bp, *Bfa*I) im Exon 2, die ebenfalls nicht ursächlich mit Dyskinesien in Verbindung gebracht werden konnte.

Für die L-Dopa-induzierten Langzeitnebenwirkung sind bereits Assoziationen zwischen genetischen Varianten des DRD2 und Dyskinesien bzw. Psychosen beschrieben worden (Wang 2001, Makoff 2000): Eine Assoziationen zwischen einem *intronic short tandem repeat* (STR) Polymorphismus des DRD2 und einem verminderten Risiko für L-Dopa induzierte Dyskinesien wurde durch Oliveri (1999) beschrieben. Entsprechendes wurde für den *Taq1A* RFLP mit einem Baseaustausch (C/T) am Ende des DRD2 bezüglich Dyskinesien und Psychosen von Wang beschrieben (Wang 2001). Drei weitere Varianten des DRD2 wurden von Oliveri bezüglich einer Assoziation mit L-Dopa induzierten Dyskinesien untersucht: D1.1 (*Ddel* RFLP) in der 5‘-

nichtkodierenden Region (UTR), D1.7 (*Bsp*I) in der 3‘UTR und D1.8 (*Pvu*I) im Kodon 421 auf Chromosom 5q35.1 ohne eine positive Assoziation mit Dyskinesien feststellen zu können (Oliveri 1999).

4.4 Pathogenese der L-Dopa induzierten Psychosen

4.4.1 Soziodemographische Risikofaktoren

Etwa ein Drittel aller Patienten mit IPS erleben Psychosen als Nebenwirkung ihrer dopaminergen Therapie (Cummings 1992). Das Erscheinungsbild ist dabei sehr heterogen. Risikofaktoren wie die kumulative L-Dopa-Dosis, früh auftretendes IPS und der Schweregrad der Erkrankung wurden lange für die Langzeitnebenwirkungen von L-Dopa verantwortlich gemacht.

Tatsächlich werden von manchen Autoren weder die kumulative Dosis, noch die Dauer der Substitutionstherapie oder das Alter bei Erstdiagnose als verläßliche Risikofaktoren für Psychosen angesehen (Sanchez-Ramos 1996, Graham 1997). Nach einer Studie von Graham sind Halluzinationen weder an das Alter bei Erstdiagnose noch an die Dosis der dopaminergen Therapie gebunden (Goetz 1982, Rondot 1984). Immerhin sind auch Patienten mit kurzer Krankheitsdauer und niedrig dosierter dopaminerger Therapie betroffen. Graham fand in ihrer klinischen Studie, daß Halluzinationen sehr heterogen erscheinen, die betroffenen Patienten jedoch im wesentlichen in zwei Gruppen einzuteilen seien: Zum einen Patienten, deren Parkinsonerkrankung weniger als fünf Jahre andauerten bevor Halluzinationen auftraten (*early onset hallucinations*), zum anderen solche, die länger als fünf Jahre erkrankt waren und therapiert wurden, bevor Halluzinationen auftraten (*late-onset hallucination*).

Erstere zeigten gleichzeitig eine rapide Progression der motorischen Komponente und früh auftretende Fluktuationen im Verlauf der Therapie, aber keine kognitiven Störungen. Letztere zeigten zusätzlich erhebliche Veränderungen der posturalen Stabilität, globale kognitive Störungen und depressive Affekte. Die Gruppen unterschieden sich weder in Bezug auf das Alter bei Erstmanifestation noch in der Ausprägung der Symptome oder in der Dosierung von L-Dopa oder Dopaminagonisten. Die Studie trennt allerdings nicht L-Dopa-induzierte Psychosen von solchen durch andere Antiparkinsonika.

In unserer Studie traten bei 27 % der Patienten Psychosen auf; eine Prävalenz, die mit vorangegangenen Studien übereinstimmt (Poewe 1994, Lang 1998* **, Cummings 1991). Als Risikofaktoren für Psychosen unter L-Dopa zeichneten sich die Dauer der Erkrankung, Dauer der Therapie und hohe Punktwerten auf der Hoehn-Yahr-Skala ab. Das Alter bei Erstmanifestation und das Geschlecht schienen keine Rolle zu spielen.

4.4.2 Pharmakodynamische Risikofaktoren

In der Folge von L-Dopa-Substitution beschriebene Psychosen sind schwieriger zuzuordnen als Dyskinesien. Potentiell können alle Antiparkinsonika Halluzinationen hervorrufen, es besteht jedoch keine einhellige Meinung darüber, welche Medikamente dies am ehesten tun. Eine Assoziation zwischen kognitiven Störungen und Halluzinationen wird in einigen Studien beschrieben (Vieregge 1996, Kippervasser 1996), in anderen bestritten (Danielcyk 1992, Fischer 1990, Meco 1990). In unserer Datenerhebung wurde möglichst genau ermittelt, ob Psychosen durch L-Dopa oder durch Dopaminagonisten induziert wurden.

Da die besondere Psychosebereitschaft offensichtlich an das IPS gebunden ist, nahm man lange Zeit an, daß die nigro-striatäre Degeneration dopaminerger Neurone in ursächlichem Zusammenhang mit der Bereitschaft zu Psychosen stehe. Experimentelle und auch klinische Untersuchungen lassen allerdings vermuten, daß speziell limbische Areale (mesolimbisch/mesocortical) als Locus der Psychosenentstehung in Frage kommen. Es handelt sich dabei um ein weiteres dopaminerges Neuronensystem, das von der ventral-tegmentalen Zone des Hirnstamms zum Nucleus amygdala, Nucleus accumbens und Tuberculum olfactorium bzw. zum Cingulum und frontalen Cortex führt und für die affektive Steuerung und die Gedächtnisfunktion verantwortlich sein soll. Diese topographische Trennung könnte erklären, warum Dyskinesien und Psychosen nach dopaminerger Stimulierung nicht notwendigerweise gleichzeitig vorkommen. Damit wäre es auch möglich, etwaige unterschiedliche Verläufe dieser Nebeneffekte zu trennen (Factor 1995, Wolters 1994).

4.4.3 Signifikante Assoziation des 40bp-VNTR des DAT mit Psychosen

Das 9r-Allel mit neun Wiederholungen zeigte eine signifikante Assoziationen zu L-Dopa-induzierten Psychosen: Patienten mit Psychosen waren deutlich häufiger Träger des 9r-Allel des Dopamintransporters als alle anderen Patienten (60,0 % mit Psychosen versus 36,8 % ohne

Psychosen, p = 0,008). Sie haben somit ein signifikant höheres Risiko, Psychosen (wie auch Dyskinesien) unter L-Dopa zu entwickeln. Das Risiko dieser Patienten nahm signifkant mit der Dauer der Substitutionstherapie zu und wurde am deutlichsten bei Patienten, die eine Tagesdosis von über 300 mg L-Dopa erhielten (Abb. 14).

Allele Fragmentlänge:	**n**	**9r-Allel (%)** 440-bp	**10r-Allel (%)** 480-bp	**11r-Allel (%)** 520-bp	**12r-Allel (%)** 560-bp
Eigene Studie					
Parkinsonpatienten	183	42,7	93,4	0,6	0,6
mit Psychosen	48	58,7	91,3	0,0	0,0
ohne Psychosen	126	37,4	93,5	0,8	0,8
Wang et al. 2004					
PP mit Psychosen	45	4	93	2	0
PP ohne Psychosen	45	7	90	3	0

n: Anzahl, bp: Basenpaare, r: *repeats*

Tab. 34: Genotyphäufigkeiten des 40bp-VNTR des DAT von Parkinsonpatienten mit und ohne Psychosen in der eigenen Studie und publizierten Studien anderer Autoren

Eine Studie von Wang in Südchina bildete aus 400 Parkinsonpatienten nach sorgfältger Anamnese und Untersuchung 45 Paare, passend nach Erkrankungsdauer, Alter bei Erstdiagnose, Dauer der L-Dopa-Therapie und Geschlecht. Davon erhielten 43 Paare nur L-Dopa und zwei Paare zusätzlich Dopaminagonisten. Es konnte jedoch kein Zusammenhang zu bestimmeten Allel- oder Genotypfrequenzen des DAT-Gens zwischen Pakinsonpatienten mit Halluzinationen (n = 45) und ohne (n = 45) festgestellt werden (Wang 2004).

Die widersprüchlichen Ergebnisse können auf anderen ethnischen Varianten des 40bp-VNTR beruhen. In der Diskussion der genetischen Varianten bezüglich des IPS wurden die ethnischen Unterschiede bereits ausführlich beschrieben. Zusätzlich kann es bei Assoziationsstudien zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen aufgrund von statistischen Fehlern, kleinen Patientengruppen u.ä.. So wurden in der vorliegenden Studie keine Paare zum direkten Vergleich gebildet. Die Untersuchung von Wang bezieht sich außerdem nach strikter Selektion auf eine recht kleine Patientengruppe. Wang beschränkt sich außerdem auf halluzinierende Parkinsonpatienten unter L-Dopa. Wir haben Patienten mit sonstigen Psychosen nicht von Patienten mit Halluzinationen getrennt, aber ebenfalls getrennte Analysen angestellt für Patienten, die nur L-Dopa (ohne Dopaminagonisten o.ä.) erhalten haben. Für beide Studien kann nicht sicher ausgeschlossen werden, ob die Patienten ohne Halluzinationen im weiteren Verlauf Psychosen oder Halluzinationen entwickelt hätten. Im Vergleich der klinischen Daten fällt auf,

daß die halluzinierenden Patienten in Wangs Studie eine deutlich längere Erkrankungsdauer hatten (132 +/- 64 Monate) als unserer Patienten (80 +/- 22 Monate) und, daß Wangs Vergleichsgruppe ohne Halluzinationen eine kürzere Therapiedauer aufwies (38,5 versus 60,7 Monate) und niedrigere kumulative L-Dopa-Dosen erhalten hatte (502 g versus 760 g) als die halluzinierende Gruppe.

4.4.4 DRD3-, DRD4-, DRD1- und DRD2-Genvarianten und Psychosen

Wir konnten keine signifikante Assoziation zwischen den Varianten von DRD1, DRD3 und DRD4, und dem Auftreten von Psychosen beobachten. Sie scheinen mit der Pathogenese der Psychosen nicht in einem ursächlichen Zusammenhang zu stehen (Tab.20). Die erstmals beschriebene Variante des DRD1 (G/A-94, *Bfa*I) zeigte ebenfalls keinen Zusammenhang zu L-Dopa-induzierten Psychosen.

In den Studien von **Wang** in Südchina (n = 45) oder **Makoff** mit einer kaukasischen Patientengruppe (n = 155) ergab sich ebenfalls keine Assoziation zwischen den DRD3 *Bal*I- und *Msp*I-Varianten und L-Dopa-induzierten Psychosen. Makoff unterschied dabei zusätzlich zwischen Patienten, die früh unter L-Dopa (< 5 Jahren Erkrankungsdauer) Halluzinationen entwickelten und solchen, die später Halluzinationen entwickelten. Die Kontrollgruppen hatten jeweils eine durchschnittlich deutlich längere Erkrankungsdauer (Wang 2004, Makoff 2000).
Nanko konnte in Japan (n = 11) ebenfalls keine Assoziation zwischen dem DRD3 *Bal*I und Psychosen unter L-Dopa feststellen (Nanko 1994).

In der Studie von **Goetz** in den U.S.A. in einer kaukasischen Gruppe von Parkinsonpatienten war der homozygot mutierte Genotyp des DRD3 *Bal*I bei Patienten mit Halluzinationen (n = 44) häufiger nachweisbar als bei Patienten ohne Halluzinationen (n = 44). In der Untersuchung wurden die Patienten mit und ohne Halluzinationen nach Alter und dopaminerger Medikation paarweise geordnet und diese wiederum nach Art der dopaminergen Medikation in Gruppen unterteilt. Es handelte sich dabei um einen Borderline-Effekt (p = 0,047), der im Vergleich zum Wildtyp und heterozygoten Genotyp nicht signifikant (p = 0,45) erschien. (Goetz 2001).

DRD3 *Bal*I Genotypen (%)				
Genotypen	**n**	**wt** Ser/Ser	**heterozygot** Ser/Gly	**mut** Gly/Gly
Eigene Studie:				
Parkinsonpatienten	183	50,3	39,2	10,5
Mit Psychosen	48	55,3	38,8	6,4
Ohne Psychosen	126	48,0	40,8	11,2
Goetz et al. 2001:				
Parkinsonpatienten	87	35,9	55,7	9,3
Mit Psychose	44	27,6	59,8	13,8
Ohne Pychose	43	43,7	50,6	4,6
Makoff et al. 2000				
Parkinsonpatienten	155			
Mit Psychose	84	35	35	13
Ohne Psychose	71	29	30	9
Nanko et al. 1994				
Parkinsonpatienten	70	56	30	14
Mit Psychose	11	56	36	18
Probanden	81	53	39	8
Wang et al. 2004				
Mit Psychose	45	47	40	13
Ohne Psychose	45	53	40	7
DRD3 *Msp*I Genotypen (%)		**wt**	**heterozygot**	**mut**
Eigene Studie:				
Parkinsonpatienten	183	25,3	50,0	24,7
Mit Psychosen	48	22,7	59,1	18,2
Ohne Psychosen	126	27,3	46,3	26,4
Wang et al. 2004				
Mit Halluzinationen	45	38	53	9
Ohne Halluzinationen	45	36	56	8

n: Anzahl, Ser: Serin, Gly: Glycin, wt: Wildtyp, mut: mutierter Genotyp

Tab. 35: Genotyphäufigkeiten der DRD3 *Bal*I-Varianten von Parkinsonpatienten mit und ohne Psychosen in der eigenen Studie und in publizierten Studien anderer Autoren (Makoff nicht L-Dopa-spezifisch)

Makoff untersuchte die Häufigkeit von drei Rezeptorvarianten: DRD3 *BalI* RFLP, DRD2 -*141C/del* der Promotorregion (Arinami 1997) und DRD2 *Taq1A* RFLP (Grandy 1993) bei Parkinsonpatienten mit Halluzinationen. Die Studie zeigte eine Assoziation zwischen Psychosen unter dopaminerger Therapie und dem C Allel des *Taq1A* RFLP am Ende des DRD2. Die gleiche Studie fand keine Assoziation zu der DRD3 *Bal*I Variante (Makoff 2000).

Im Gegensatz zu den unsicheren Assoziationen der DRD3- und DRD4-Genvarianten mit dem IPS wurde bereits mehrfach über einen Zusammenhang zwischen den untersuchten Varianten des DRD3 und DRD4 und psychiatrischen Erkrankungen berichtet: In einer Studie von **Griffon** zeigte sich eine schwache Assoziation zwischen dem homozygot mutierten Genotyp des DRD3

*Msp*I und Schizophrenie (Griffon 1996). Eine weitere Untersuchung des DRD3 *Bal*I bei schizophrenen Patienten zeigte ebenfalls eine positive Korrelation (Shaikh 1996).

Besonders der DRD4 ist aufgrund seiner hohen Variabilität für die Untersuchung von neuropsychiatrischen Krankheiten ein wichtiger Ansatzpunkt.

DRD4 12-bp *repeat* Genotypen (%)				
Genotypen	**n**	**wt** 2x12-bp/2x12-bp	**heterozygot**	**mut** 1x12-bp/1x12-bp
Eigene Studie:				
Parkinsonpatienten	183	86,6	13,5	0
Mit Psychosen	48	88,7	11,3	0
Ohne Psychosen	126	83,5	16,5	0
Catalano et al. 1993				
Mit delusionaler Psychose	59	73	27	0
Kontrollen	75	92	8	0
Schizophrene Patienten	79	96	4	0

DRD4 13-bp Deletion Genotyp (%)				
Genotypen	**n**	**mut** Deletion	**heterozygot**	**wt** Insertion
Eigene Studie:				
Parkinsonpatienten	183	0	2,9	97,1
Mit Psychosen	48	0	4,2	95,8
Ohne Psychosen	126	0	2,2	97,8
Nöthen et al. 1994		**Allel 2** Deletion		**Allel 1** Insertion
Kontrollen	464	2		98
Schizophrene Patienten	236	1		99
Bipolar affekt. Erkrankung	198	2		98
Tourette Syndrom	182	1		99

n: Anzahl, wt: Wildtyp, mut: mutierter Genotyp

Tab. 36: Genotyphäufigkeiten der DRD4 12-bp *repeat* und 13-bp Deletions Varianten von Parkinsonpatienten mit und ohne Psychosen in der eigenen Studie und in publizierten Studien anderer Autoren

Eine Untersuchung von Catalano beschrieb eine signifikante Assoziation des heterozygoten Genotyps der DRD4 12-bp repeat Varianten und delusionalen Psychosen. Der homozygote Genotyp des 1x12-bp-Allels konnte nicht nachgewiesen werden. Das kürzere Allel (ohne Wiederholung des 12-bp Fragments) scheint somit die Genexpression zu verändern. Die funktionelle Bedeutung ist bisher nicht bekannt. Weder Catalano noch Nöthen konnten eine Assoziation zwischen psychiatrischen Erkrankungen und der 13-bp Deletions-Variante

nachweisen. Veröffentlichungen bezüglich einer Assoziation zu L-Dopa-induzierten Nebenwirkungen lagen nicht vor (Catalano 1993, Nöthen 1994).

4.5 Pathogenese der L-Dopa-induzierten Fluktuationen

4.5.1 Soziodemographische Risikofaktoren

In unserem Patientenkollektiv gaben 53,8 % aller Patienten Motorfluktuationen unter der Therapie an. Dies entspricht der Prävalenz in vorangegangenen Studien (Poewe 1994, Lang 1998* **, Cummings 1991). In der Literatur gelten allgemein als klinische Risiken für L-Dopa-Nebenwirkungen: geringes Lebensalter bei Erstdiagnose, langes Zeitintervall zwischen dem Auftreten der ersten Symptome und Beginn der L-Dopa-Therapie, Dauer der Parkinsonerkrankung und der L-Dopa-Therapie, kumulative L-Dopa-Dosis und Geschlecht. Von Denny (1999) wurden in einer klinischen Studie zu den Langzeitnebenwirkungen von L-Dopa speziell die frühzeitige Gabe von L-Dopa und lange Dauer der Therapie als Risikofaktor für Motorfluktuationen identifiziert.

In der vorliegenden Untersuchung hatten Patienten mit längerer Krankheitsdauer, höheren Punktwerten auf der Hoehn-Yahr-Skala und längerer Behandlungsdauer mit L-Dopa und somit höherer kumulativer Dosis ein erhöhtes Risiko Motorfluktuationen zu entwickeln. Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten wir in der vorliegenden Untersuchung nicht feststellen. Patienten mit Motorfluktuationen waren bei Erstmanifestation des IPS durchschnittlich jünger als Patienten ohne solche (55,6 Jahre versus 60,4 Jahre, p = 0006) wie in Tab.21 ersichtlich. Dieses Ergebnis entspricht den Veröffentlichungen von Hughes (1993) und Shaw (1980).

4.5.2 Pharmokodynamische Risikofaktoren

Die pharmakodynamische Antwort auf L-Dopa verändert sich im Lauf der Langzeittherapie. Es entwickelt sich ein im Verlauf schmaler werdendes therapeutisches Fenster: unterhalb der kleinsten Dosis ziehen die Patienten keinen Nutzen mehr aus der Therapie, oberhalb entwickeln sich schwere Nebenwirkungen. Möglicherweise ist das Auftreten von Fluktuationen durch die verringerte Fähigkeit des Nervensystems zu erklären, L-Dopa umzuwandeln, die Amplitude der Plasmaverläufe zu glätten und zu einer angemessenen motorischen Antwort zu führen. Als Folge

des progressiven dopaminergen Zelluntergangs nimmt möglicherweise die Speicherkapazität für das aus dem exogen zugeführten L-Dopa synthetisierte Dopamin ab. Mit Verkleinerung der Speicherkompartimente, aus denen normalerweise langsam Dopamin freigesetzt wird, muß die Frequenz der exogenen L-Dopa-Zufuhr gesteigert werden um das Wiederauftreten von Parkinsonsymptomen zu vermeiden. Somit unterschiede sich die sich die Pathogenese der Fluktuationen von der der Dyskinesien und Psychosen.

4.5.3 40bp-VNTR des DAT und Motorfluktuationen

Im Gegensatz zu den L-Dopa-induzierten Dyskinesien und Psychosen, die in der vorliegenden Untersuchung eine signifikante Korrelation zu Mutationen des Dopamintransportergens gezeigt haben, konnte keine Assoziation zu Motorfluktuationen unter L-Dopa festgestellt werden. Dies läßt ebenfalls vermuten, daß in der Entstehung von Psychosen und Dyskinesien im Vergleich zu Motorfluktuationen unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen wirken. Weitere Veröffentlichungen liegen mit dieser Fragestellung nicht vor.

4.5.4 DRD3-, DRD4-, und DRD2-Genvarianten und Motorfluktuationen

Es wurden keine Assoziationen zwischen den funktionellen Varianten des DRD3 und DRD4 und den beschriebenen Motorfluktuationen unter L-Dopa in dieser Untersuchung gefunden. Die Ergebnisse werden nachfolgend anderen Studien mit gleicher Fragestellung gegenübergestellt.

Die Gruppe um Wang fand weder eine Assoziation zwischen den *Bal*I- noch den *Msp*I-Varianten und Motorfluktuationen bei Parkinsonpatienten. Dabei wurden 140 Patienten mit IPS in China untersucht und 40 Paare gebildet entsprechend der Dauer ihrer Therapie.

DRD3 *Bal*I Genotypen (%)				
	n	**wt**	**heterozygot**	**mut**
Eigene Studie				
Parkinsonpatienten	183			
Mit Fluktuationen	93	54,9	38,5	6,6
Ohne Fluktuationen	80	45,0	42,5	12,5
Wang et al. 2001				
PP mit Fluktuationen	40	20	16	4
PP ohne Fluktuationen	40	21	16	3

DRD3 *Msp*I Genotyp (%)				
	n	**wt**	**heterozygot**	**mut**
Eigene Studie				
Parkinsonpatienten	183			
Mit Fluktuationen	93	26,4	47,1	26,4
Ohne Fluktuationen	80	24,7	53,2	22,1
Wang et al. 2001				
PP mit Fluktuationen	40	15	21	4
PP ohne Fluktuationen	40	14	22	4

n: Anzahl, wt: Wildtyp, mut: mutierter Genotyp, PP: Parkinsonpatienten

Tab. 37: Genotyphäufigkeiten der DRD3 *Bal*I und *Msp*I-Varianten bei Parkinsonpatienten mit und ohne Fluktuationen in der eigenen Studie und in publizierten Studien anderer Autoren

Eine positive Assoziation zwischen genetischen Varianten des DRD2 und dem Risiko, L-Dopa-induzierte Nebenwirkungen zu entwickeln, wurde von Makoff beschrieben (Makoff 2000). Ähnliche Ergebnisse über eine Assoziation zwischen der *Taq1A*-Variante des DRD2 und Motorfluktuationen bei Parkinsonpatienten wurden in weiteren Studien gefunden (Oliveri 1999, Wang 2001). Die DRD2 *TaqIA* Variante zeigte in der Studie von Wang keine Assoziation zum IPS, es bestand aber eine positive Assoziation des Genotyps A1A1 für Motorfluktuationen unter L-Dopa.

4.5.5 Signifikante Assoziation des DRD1 G/A-94 und Motorfluktuationen

Nach den Ergebnissen dieser Untersuchung besteht für Parkinsonpatienten eine schwach signifikante Assoziation zwischen Motorfluktuationen unter L-Dopa und dem homozygoten Wildtyp der Variante G/A-94 (*Bfa*I). Dies wird nur deutlich, wenn man den Wildtyp der Gruppe aus heterozygotem und homozygot mutiertem Genotyp gegenüberstellt. Es liegen keine veröffentlichten Daten zum Vergleich in der Literatur vor.

4.6 Bedeutung der genetischen Varianten des DAT

Die individuellen Schwankungen des DAT-Spiegels im Gehirn können viele Ursachen haben u.a. die Degeneration der dopaminergen Neuronen, Hyperinnervation, Medikamenten-induzierte Veränderungen, Alter des Patienten oder genetische Varianten des DAT-Gens (Abb.3). Während die kodierende Sequenz des DAT relativ wenig Varianten aufweist, zeigt der 3'-nicht-kodierende Abschnitt unterschiedliche Varianten.

Die variierende Genexpression des DAT kann zu einer vermehrten Aufnahme von Dopamintransportersubstraten wie Dopamin und MPTP in die Nervenendigungen führen, die die Schädigung der striatalen dopaminergen Neurone im Laufe der L-Dopa-Therapie verstärken. Andererseits kann es durch eine herabgesetzte Aktivität des DAT zu einer erhöhten extrazellulären Dopaminkonzentration kommen, die dann zur oxidativen Schädigung der Neuronen durch toxische Metabolite führt (Uhl 1993, Tipton 1993, LeCouteur 1997). Ein solcher Mechanismus wäre unabhängig von anderen Neurotoxinen und Umweltfaktoren.

Der 40 bp-VNTR des DAT wurde bereits mehrfach auf Assoziationen zum idiopathischen Parkinsonsyndrom und diversen neuropsychiatrischen Erkrankungen, die mit dem dopaminergen System in Verbindung stehen,untersucht – mit den unterschiedlichsten Ergebnissen.

Funktionelle Daten vorausgegangener in-vitro-Studien postulieren, daß das 10r-Allel des Dopamintransportergens im Vergleich zum 9r-Allel mit einer gesteigerten Transkriptionsaktivität verbunden sei, obwohl es in einer nicht-kodierenden Region des Gens liegt (Miller 2002, Michelhaugh 2001). Laut LeCouteur hätten die längeren Allele des VNTR (viele *repeats*), so z.B. das 11r-Allel, mehr Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren und führten somit zu einer veränderten Genexpression führen (LeCouteur 1997). In Untersuchungen des Insulingens schienen die längsten Wiederholungssequenzen eines 40bp-VNTR ebenfalls den größten Effekt auf die Genexpression zu haben (Leighton 1997).

Der 40bp-VNTR liegt außerhalb der kodierenden Sequenz des DAT-Gens und kann somit nicht die Proteinstruktur verändern. In vorangegangenen Untersuchungen wurde jedoch nachgewiesen, dass er die Proteinexpression verändert, indem er die Struktur oder Abbau der mRNA moduliert.

In einer Sequenzanalyse von Fuke (2001) wurden die einzelnen *repeat*-Einheiten des 40bp-VNTR analysiert. Dabei ergab sich, dass sich die einzelnen *repeat*-Einheiten des 40bp-VNTR voneinander unterscheiden, indem sie zwei bis fünf Nukleotidsubstitutionen beinhalten. Die In-vitro-Expression war am größten, wenn das 10r-Allel vorlag. Somit scheint die Expression des

DAT vom Genotyp des 40bp-VNTR abhängig zu sein. Ähnliche Veränderungen wurden bereits für einen VNTR des Insulingens und in der Promotorregion des Serotonintransportergens (44bp-VNTR) beschrieben.

Der DAT ist weiterhin wichtig für die Aufrechterhaltung der dopaminergen Neurotransmission. Änderungen des Expressionsrate des 40-bpVNTR können wesentliche Änderungen der dopaminergen Leitungsbahnen bedeuten. In DAT *knockout*-Mäusen ist die Dopamin-*Clearance* verlängert und resultiert in einer spontanen Hyperaktivität der Mäuse. Die Reduktion des Dopamin-*reuptake* verursacht adaptive Veränderungen: verminderter Dopamingehalt der präsynaptischen Nervenendigungen (Speicherkapazität), signifikante Downregulation des D1- und D2-Rezeptorexpression und Verlust der Tyrosinhydroxylase. Durch Verlust der Tyrosin-Hydroxylase vermindert sich wahrscheinlich zusätzlich die Anzahl der Dopamintransporter. Ähnliche Veränderungen bewirken Kokain und Amphetamine, die den DAT blockieren und somit die Wiederaufnahme des freigesetzten Dopamins in präsynaptischen Endigungen verhindern (Fuke 2001, Miller 2002).
Der DAT gilt als sensibler Marker für den Verlust präsynaptischer dopaminerger Nervenendigungen im Striatum. Messungen des DAT-Dichte im Striatum von Probanden mittels Single Photon Emissions Computertopographie ergaben allerdings widersprüchliche Ergebnisse: Individuen mit dem heterozygoten 9r/10r Genotyp hatten entweder höhere oder niedrigere DAT-Spiegel im Vergleich zu Individuen mit homozygotem Genotyp für das 10r-Allel des VNTR oder zeigten keine Unterschiede (Martinez 2001). Laut Heinz zeigen homozygote Individuen für das 10r-Allel eine höhere DAT-Verfügbarkeit auf als heterozygote (9r/10r) - ähnlich den Ergebnissen von Fuke (Heinz 2000). Eine entsprechende Veröffentlichung von Jaobsen beschreibt dagegen eine verminderte Genexpression des DAT bei homozygoten Indivuduen des 10r-Allel im Vergleich zu homozygoten Indivuduen des 9r-Allel und heterozygoten Genotypen, was mit unseren Ergebnissen übereinstimmt (Jacobsen 2000). Die Unterschiede beruhen möglicherweise auf Variablen in den untersuchten Patientengruppen oder ihrer Exposition zu Medikamenten, Alkohol o.a..

Eine weitere Untersuchung von Miller untersuchte in-vitro (mittels Gentransfer und Messung der Luziferase Aktivität) den nicht-kodierenden Abschnitt des DAT. Vektoren, die das 9r-Allel enthielten, bedingten eine wesentlich höhere Luziferase-Produktion als analoge Vektoren mit

dem 10r-Allel. Auch hier wird die Vermutung geäußert, dass die unterschiedliche Länge des nicht-kodierenden Abschnitt im DAT-Gen die DAT-Dichte im Gehirn beeinflusst (Miller 2002).

Der 40bp-VNTR des Dopamintransportergens könnte somit funktionell mit dem IPS oder den L-Dopa-induzierten Nebenwirkungen assoziiert sein: Die unterschiedliche Genexpression abhängig vom Genotyp des 40bp-VNTR könnte die synaptische Transmission von Dopamin beeinflussen. Wie er dies tut, bleibt weiterhin unklar (Fuke 2001, Miller 2002).
Nach unseren Ergebnissen und der signifikanten Assoziation des 9r-Allels zu Dyskinesien und Psychsen unter der L-Dopa-Therapie könnte die vermehrte Expression des Dopamintransporters durch das 9r-Allel die Zellschädigung der striatalen Neurone im Lauf der Behandlung vermehren, indem es die präsynaptische Aufnahme von Dopamintransportersubstraten wie Dopamin und MPTP steigert. Inwiefern dies zur Entstehung von Psychosen und Dyskinesien beiträgt, bleibt unklar (Tipton 1993, Uhl 1993), da von anderer Seite postuliert wird, dass die längeren Allele (10r und 11r), mehr Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren aufweisen und somit zu einer vermehrten Genexpression des DAT führen.
Dagegen stehen unserer Ergebnisse in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Jacobsen (DAT-Dichtemessung mittels SPECT) mit vermehrter Genexpression des DAT bei Vorliegen des 9r-Alles (Jacobsen 2000). Gleichfalls zeigen in-vitro Untersuchungen des DAT, dass Vektoren, die das 9r-Allel tragen, zu einer erhöhten Luziferase-Produktion führen (Miller 2002). Um diese Untersuchungen zu bestätigen und den möglichen Mechanismus zu definieren, bedarf es weiterer Studien auch in anderen Populationen sowie tierexperimenteller Studien.

Neben dem VNTR wurden unterschiedliche SNP (*single nukleotide polymorphism*) innerhalb des nicht-kodierenden Abschnitts des DAT im menschlichen und im Primatengen des DAT untersucht. Diese erhöhen die genetischen Variationsmöglichkeiten des DAT und können zur individuellen Prädisposition zusätzlich beitragen. Um diese Ergebnisse zu verifizieren, bedarf es weiterer experimenteller Modelle, die die dopaminergen Neurone *in-vivo* möglichst genau widerspiegeln (Miller 2002).
Der DAT scheint außerdem funktionell mit dem Cytochrom P450 CYP2D6 (Debrisoquin-4-Hydroxylase) verbunden zu sein. In einer Untersuchung von Armstrong mit Parkinsonpatienten (n = 53) und gesunden Probanden (n = 72) war bei 15 verschiedenen Genotypen des CYP2D6 das häufigste mutierte Allel (CYP2D6B) doppelt so häufig bei Parkinsonptienten als bei den

Kontrollen nachweisbar (Risk Ratio 2,7 KI 95% 1,14-6,41, p = 0,0063). Somit scheinen Varianten des CYP2D6-Gens mit variierender Stoffwechselaktivität mit dem IPS assoziiert sein (Armstrong 1992). Auch von Mercier wurde ein funktioneller Zusammenhang zwischen dem DAT und CYP2D6 beschrieben, weil spezifische und selektive Marker mit hoher Affinität zum DAT im menschlichen Gehirn ebenfalls an P450 2D6 binden und weil das MPP^+ (1-methyl-1-phenylpyridinium, der aktive Metabolit des MPTP) sowohl ein kompetitiver Inhibitor des DAT als auch des Cytochrom P450 2D6 ist. Ob es einen Zusammenhang zwischen dem DAT und CYP2D6 in Bezug auf das IPS oder L-Dopa-induzierte Nebenwirkungen gibt, bleibt offen (Mercier 1999).

4.7 Weitere Riskofaktoren für L-Dopa-induzierte Dyskinesien, Psychosen und Motorfluktuationen

Die Pathogenese der L-Dopa-induzierten Dyskinesien, Psychosen nd Motorfluktuationen ist noch nicht geklärt. Möglicherweise unterscheiden sich diese in ihrer Topographie (nigrostriatales versus mesolimbisch-/mesocorticales System), Pharmakokinetik und –dynamik (Motorfluktuationen), Interaktion mit anderern Neurotransmittern oder Medikamenten (Psychosen) und selektiver Assoziation zu einzelnen Rezeptorphänotypen. Speziell für die L-Dopa-induzierten Psychosen werden die üblichen soziodemographischen Risiken kritisch diskutiert. Bisher gibt es keine Beweise, daß die L-Dopa-Therapie fördernd auf die Behinderung oder Mortalität von Parkinsonpatienten wirkt oder mit L-Dopa-induzierten Nebenwirkungen assoziiert ist (Feuerstein 1977, Mena 1986).

Die L-Dopa-induzierten Nebenwirkungen könnten als pharmakodynamische Konsequenz der pharmakokinetischen Oszillationen im zentralen Dopamingehalt auftreten (Cedarbaum 1990): Die L-Dopa-Dosis, die notwendig ist, um Nebenwirkungen zu induzieren, nimmt im Verlauf der Therapie ab, wohingegen die Dosis für den Antiparkinsoneffekt im wesentlichen unverändert bleibt. Wenn die physiologischen Synthese- und Speicherkapazitäten den fluktuierenden L-Dopa-Plasmaspiegel nicht mehr abfangen können, kommt es über Schwankungen in der L-Dopa-Anflutung zu Motorfluktuationen und Dyskinesien. Eine kontinuierliche-L-Dopa-Applikation, Dopaminagonisten, COMT- und MAO-Inhibitoren können fluktuierende L-Dopa-Spiegel vermindern (Hardie 1989). Eine mögliche Ursache für das Auftreten von speziell Motorfluktuationen im direkten zeitlichen Zusammenhang mit der Einnahme von L-Dopa kann

die verminderte Speicherkapazität für Dopamin durch die nigrostriatale Degeneration sein (Zappia 1997). Rodriguez (1994) widerspricht dieser These, weil neben L-Dopa auch Apomorphin, die beide nicht biotransformiert und nicht gespeichert werden müssen, bei Parkinsonpatienten identische dyskinetische Effekte zeigen können.

Weiterhin führt die Denervierung der präsynaptischen dopaminergen Neurone (Deafferentation) beim IPS führt zu einer verminderten Dopaminversorgung, so daß kompensatorisch die Zahl und/oder Empfindlichkeit der postsynaptischen dopaminergen Rezeptoren steigt (Denervierungshypersensitivität). Bei der Substitution von L-Dopa oder einem direkten Agonisten kommt es dann zu einer übermäßigen Stimulierung (Alexander 1993, Calon 2000). Möglicherweise degenerieren die präsynaptischen dopaminergen Neurone unterschiedlich schnell in den einzelnen Systemen, so daß dieselbe L-Dopa-Dosis z.B. im nigrostriatalen System eine gute Beweglichkeit erzeugt und im mesolimbo-mesokortikalem System bereits Halluzinationen (Factor 1995, Wolters 1994, Lee 1978, Calon 2000).
Ältere Daten über die striatale Dopaminrezeptordichten bei IPS-Patienten beschreiben diese widersprüchlich als erhöht (Lee 1978), normal (Cortes 1989) oder erniedrigt (Rinne 1991**). Die Veranlagung einiger Patienten, L-Dopa-induzierte Nebenwirkungen zu entwickeln, könnte sich in den phänotypischen Unterschieden der Rezeptoren und ihrer Verteilung reflektieren.
Eine PET Studie (Positronen Emissions Tomographie) von Turjanski untersuchte die Bindung von Dopaminrezeptoren bei Parkinsonpatienten mit und ohne Dyskinesien unter L-Dopa und machte die verminderte striatale Bindungskapazität des DRD1 im Gegensatz zum DRD2 im Striatum von Parkinsonpatienten unter L-Dopa deutlich: bei L-Dopa-substituierten Parkinsonpatienten war die DRD2 Bindungskapazität im Nucleus caudatum um 16 % gemindert, aber im Putamen normal. Die Bindungskapazität des DRD1 war dagegen sowohl im Putamen als auch im Caudatum um etwa 10 % gemindert und zeigte eine negative Korrelation zur Dauer der Erkrankung und L-Dopa-Exposition (Turjanski 1997). Eine Assoziation mit Dyskinesien bleibt aber fraglich.
Die höhere Prävalenz von Psychosen unter Dopaminagonisten könnte neben genetischen Varianten der Rezeptoren auch eine selektive Stimulierung einzelner Rezeptorgruppen als Ursache haben. Dabei wirken selektive Agonisten unterschiedlich stark psychogen: Apomorphin, das eine hohe Affinität zu D4 und nur mäßige zu D2 und D3 Rezeptoren hat (D4 >>D3, D2), wirkt weniger psychogen als Pergolid oder Bromocriptin, die umgekehrt eine hohe Affinität zu

D2- und D3- und nur eine mäßige zu D4-Rezeptoren haben (D2, D3 >>D4) (Sokoloff 1990, Seeman 1993, Lees 1993, Cummings 1991, Graham 1997). Unterstützt wird diese These durch die erfolgreiche Therapie schizophrener Patienten mit Neuroleptika und von Medikamenten-induzierten Halluzinationen bei Parkinsonpatienten durch Neuroleptika, die einen D2-antagonistischen Effekt haben.

Studien am NMDA-Rezeptor zeigten, daß eine Überfunktion zur Entstehung der L-Dopa-induzierten Dyskinesien beiträgt. Dafür spricht, daß NMDA-Antagonisten im Tierversuch und in klinischen Studien Dyskinesien vermindern (Papa 1996, Verhagen 1998).
Ferner wirkt das serotinerge Sytem hemmend auf das dopaminerge System und Serotoninrezeptor-Antagonisten erhöhen die Wirkung von Antiparkinsonika. Im Tierversuch wurde unter Serotoninantagonisten eine Minderung der L-Dopa-induzierten Dyskinesien dokumentiert. Ferner stimuliert Serotonin z.B. über GABA-erge Neurone die Glutamatausschüttung und somit das limbische System reichlich (Wolters 1999). Birkmayer und Riederer postulieren, dass ein serotinerg-/dopaminerges Ungleichgewicht im Nucleus ruber wichtig für die Pathogenese der L-Dopa-induzierten Psychosen sei (Goetz 2001, Birkmayer 1974). Da affektive Erkrankungen mit einer erniedrigten Serotoninkonzentration im Gehirn assoziiert sind (Van Praag 1994) und die Langzeitsubstitution von L-Dopa die Konzentration von Serotonin im Hirnstamm vermindert, kann eine Denervierungsüberempfindlichkeit (wie schon für die Dopaminrezeptoren beschrieben) auch der postsynaptischen 5HT-Rezeptoren resultieren, so daß es nach Substitution von L-Dopa oder Agonisten zu einer übermäßigen Stimulierung des serotinergen Systems kommt mit Halluzinationen (Nausieda 1982). Dafür spricht, daß erstens 5HTR-*Reuptake*-Inhibitoren Psychosen induzieren können, und zweitens Halluzinationen bei Parkinsonpatienten durch die Gabe von atypischen Neuroleptika mit hoher Affinität zum D4-Rezeptor wie Ondansetron (Zoldan 1995), Clozapin (Hippius 1989) oder Olanzapin (Wolters 1996) - alle mit 5HT-antagonistischen und D2-antagonistischen Eigenschaften- verbessert werden können.
Andere neurochemische Hinweise lieferte die Beobachtung, daß eine vermehrte GABA-Rezeptorendichte im Caudatum und Pallidum bei dyskinetischen MPTP-Affen unter L-Dopa-Therapie gemessen wurde (Bedard 1994).
Eine Verbindung zum adrenergen System ist ebenfalls möglich, da α-2-Rezeptorantagonisten die L-Dopa-induzierten Dyskinesien mildern.

Eine Verminderung der Opoidrezeptoren im Putamen und Thalamus konnte bei dyskinetischen Parkinsonpatienten unter L-Dopa-Therapie im Gegensatz zu nicht dyskinetischen Patienten beobachtet werden (Piccini 1996).

Oxidative Metabolite aus dem ZNS- und Dopaminstoffwechsel, wie freie Radikale, Hydrogenperoxid, Quinone oder Neuromelanin, schädigen dopaminerge Neurone und protrahieren den Verlauf der Krankheit (William 1999). Vor allem MPTP wird selektiv über den DAT transportiert. Dieser zytotoxische Effekt des L-Dopa wird unter bestimmten Bedingungen *in-vitro* als möglicher pathogenetischer Faktor der L-Dopa-induzierten Nebenwirkungen postuliert. Eine Vorbehandlung mit Dopaminaufnahmeinhibitoren wie Kokain oder Derivaten des Diphenyl kann möglicherweise vor dem neurotoxischen Effekt schützen (Horn 1990).

Streß wurde in klinischen Studien als Risikofaktor für L-Dopa-induzierte Psychosen angesehen. Im Tiermodell wurde die These durch erhöhte Serumspiegel des Streßhormons Cortikosteron bei L-Dopa behandelten Ratten unterstützt (Feldon 1992).