

Aus dem Medizinischen Zentrum für Nervenheilkunde  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Jürgen-Christian Krieg

- Abteilung für Neurologie -  
Leiter: Prof. Dr. Wolfgang H. Oertel

## **Der Phenylalanin-Belastungstest in der Differentialdiagnose verschiedener Dystonie-Formen**



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin  
dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt  
von

**Marcel Goertz**  
aus Rheydt

Marburg 2003

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg am  
08.05.2003

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Maisch

Referent: PD Dr. Oliver Bandmann

Co-Referent: Prof. Dr. Helmut Bertalanffy

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

	<b>Seite</b>
<b>1. Allgemeiner Teil</b>	<b>1</b>
1.1 Zusammenfassung	1
1.2 Verwendete Abkürzungen	2
1.3 Abbildungsverzeichnis	4
1.4 Liste der Tabellen	7
<b>2. Einleitung</b>	<b>8</b>
2.1 Definition und Einteilung der Dystonien	8
2.1.1 Klinische und genetische Aspekte der fokalen idiopathischen Torsionsdystonie (F-ITD)	10
2.1.2 Klinische und genetische Aspekte der generalisierten idiopathischen Torsionsdystonie (G-ITD)	11
2.1.3 Klinische und genetische Aspekte der L-Dopa responsiven Dystonie (DRD)	12
2.2 Der Tetrahydrobiopterin-Syntheseweg	18
2.3 Andere Tetrahydrobiopterin-Mangelsyndrome	19
2.4 Zielsetzung	20
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>22</b>
3.1 Das Patientenkollektiv	22
3.1.1 Die Anzahl der Patienten	22
3.1.2 Alters- und Geschlechterverteilung der Patienten	22
3.1.3 Betroffene Familienmitglieder	23
3.2 Durchführung des Phenylalanin-Belastungstests	23
3.3 Durchführung der Messung der Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin	24
3.4 Datenauswertung und Beurteilung der Analysen	28
3.5 Auswertung des Phenylalanin-Belastungstests	29
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>30</b>
4.1 Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit F-ITD	30
4.1.1 Verlauf der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit F-ITD	30

4.1.2	Verlauf der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit F-ITD	31
4.1.3	Analyse der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit F-ITD	32
4.2	Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit G-ITD	33
4.2.1	Verlauf der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit G-ITD	33
4.2.2	Verlauf der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit G-ITD	34
4.2.3	Analyse der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit G-ITD	35
4.3	Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit DRD	36
4.3.1	Verlauf der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit DRD	36
4.3.2	Verlauf der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit DRD	37
4.3.3	Analyse der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit DRD	38
4.4	Mittelwerte der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich	39
4.5	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	43
4.5.1	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte vor Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	43
4.5.2	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte 1 Stunde nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	44
4.5.3	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte 2 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	45
4.5.4	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte 4 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	46
4.6	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	47
4.6.1	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte vor Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	47
4.6.2	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte 1 Stunde nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	48
4.6.3	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte 2 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	49
4.6.4	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte 4 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	50
4.7	Vergleich der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	51

4.7.1	Vergleich der Ratio 01 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	51
4.7.2	Vergleich der Ratio 02 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	52
4.7.3	Vergleich der Ratio 04 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	53
4.8	Vergleich der Differenz der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	55
4.8.1	Vergleich der Differenz der Ratio 01 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	55
4.8.2	Vergleich der Differenz der Ratio 02 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	56
4.8.3	Vergleich der Differenz der Ratio 04 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD	58
4.9	Sensitivität und Spezifität des Phenylalanin-Belastungstests	59
<b>5.</b>	<b>D i s k u s s i o n</b>	<b>60</b>
5.1	Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests	60
5.1.1	Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests von Patienten mit DRD	60
5.1.2	Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests von Patienten mit F-ITD	65
5.1.3	Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests von Patienten mit G-ITD	67
5.2	Nachteile des Phenylalanin-Belastungstests	68
5.3	Fehlermöglichkeiten bei der Durchführung des Phenylalanin-Belastungstests	69
5.4	Erforderliche Testdauer	70
5.5	Bedeutung des Phenylalanin-Belastungstests als Routinetest in der Differentialdiagnose der verschiedenen Dystonien	72
<b>6.</b>	<b>A n h a n g</b>	<b>74</b>
6.1	Tabellen	75
6.2	Literaturverzeichnis	81

## 1.1 Zusammenfassung

Die L-Dopa responsive Dystonie (DRD) manifestiert sich typischerweise im frühen Kindesalter als Dystonie im Bereich der unteren Extremität mit einer Verschlechterung der Symptomatik gegen Abend. Im Gegensatz zu anderen Formen der Dystonie zeigen DRD-Patienten nach Gabe der Vorläufersubstanz L-Dopa eine hervorragende und anhaltende Besserung der Symptomatik. In der klinischen Präsentation von DRD bestehen jedoch einige Gemeinsamkeiten mit anderen Formen der Dystonie, wodurch eine korrekte Diagnosestellung häufig erschwert ist. Es ist bekannt, dass DRD beispielsweise eine generalisierte idiopathische Torsionsdystonie (G-ITD) mit Beginn im Kindesalter sowie eine fokale idiopathische Torsionsdystonie (F-ITD) mit Beginn im Erwachsenenalter imitieren kann.

Es besteht daher die Notwendigkeit eines diagnostischen Tests, der es ermöglicht, DRD-Patienten sicher zu identifizieren und diese zuverlässig von anderen Formen der Dystonie, wie z.B. der primär fokalen Dystonie und G-ITD, zu unterscheiden. Die Bedeutung des Tests läge darin, dass zukünftig eine frühzeitige Therapie bei DRD-Patienten auf der einen Seite sowie eine unnötige Behandlung anderer Dystonie-Formen mit L-Dopa auf der anderen Seite vermieden werden könnte.

Ein geeigneter Test für die Routinediagnostik könnte der Phenylalanin-Belastungstest darstellen. Um die Relevanz dieses diagnostischen Tests in der Differentialdiagnose verschiedener Dystonie-Formen zu untersuchen, wurden jeweils 10 Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD mit der Aminosäure Phenylalanin belastet. Es wurden Blutentnahmen vor Belastung sowie 1, 2 und 4 Stunden nach Belastung durchgeführt. Anschließend wurde die Ratio Phenylalanin/Tyrosin (Phe/Tyr) bei den verschiedenen Patienten gemessen.

Es konnten Unterschiede dieses Parameters bei DRD-Patienten im Vergleich zu Patienten mit F-ITD und G-ITD insbesondere 4 Stunden nach Belastung festgestellt werden. Die Ratio Phe/Tyr lag zu diesem Zeitpunkt bei DRD-Patienten um ein Vielfaches höher als bei den anderen Formen der Dystonie. Die Ergebnisse machen deutlich, dass der Phenylalanin-Belastungstest einen potentiellen Nutzen in der Differentialdiagnose der verschiedenen Dystonie-Formen hat. Dabei scheint eine einmalige Blutentnahme 4 Stunden nach Belastung auszureichen, um eine Aussage über die Form der Dystonie machen zu können.

## 1.2 Verwendete Abkürzungen

APKU	Atypische Phenylketonurie
BH4	Tetrahydrobiopterin
DHPR	Dihydroneopterin-Triphosphat
DRD	L-Dopa responsive Dystonie
F-ITD	fokale idiopathische Torsionsdystonie
G-ITD	generalisierte idiopathische Torsionsdystonie
GTP	Guanosin-Triphosphat
GTP-CH	Guanosin-Triphosphat-Cyclohydrolase 1
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
HVA	Homovanillinsäure
IPS	idiopathisches Parkinson-Syndrom
ITD	idiopathische Torsionsdystonie
PET	Positron Emission Tomography
Phe	Phenylalanin
PKU	Phenylketonurie



PTD	primäre Torsionsdystonie
PTPS	6-Pyrovoyl-Tetrahydrobiopterin-Synthase
SN	Substantia nigra
SPECT	Single Photon Emission Computer Tomography
TH	Tyrosinhydroxylase
Tyr	Tyrosin

## 1.3 Abbildungsverzeichnis

	<b>Seite</b>
Abb. 1: Der Tetrahydrobiopterin-Syntheseweg sowie seine Verknüpfung mit der Synthese der Neurotransmitter Dopamin und Serotonin (Bandmann et al., 1998).	18
Abb. 2: Foto des Amino Acid Analyzers LC 3000, Firma Eppendorf	25
Abb. 3: Ninhydrinreaktion mit primären und sekundären Aminen (Barrett, 1985)	27
Abb. 4: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit F-ITD	30
Abb. 5: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit F-ITD	31
Abb. 6: Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit F-ITD	32
Abb. 7: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit G-ITD	33
Abb. 8: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit G-ITD	34
Abb. 9: Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit G-ITD	35
Abb. 10: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit DRD	36
Abb. 11: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit DRD	37
Abb. 12: Verlauf der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit DRD	38
Abb. 13: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei den verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich untereinander	39

Abb. 14:	Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich mit Kontrollen	40
Abb. 15:	Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich untereinander	41
Abb. 16:	Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich mit Kontrollen	41
Abb. 17:	Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich	42
Abb. 18:	Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich mit Kontrollen	42
Abb. 19:	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen vor Belastung	43
Abb. 20:	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 1 Stunde nach Belastung	44
Abb. 21:	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 2 Stunden nach Belastung	45
Abb. 22:	Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 4 Stunden nach Belastung	46
Abb. 23:	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen vor Belastung	47
Abb. 24:	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 1 Stunde nach Belastung	48

Abb. 25:	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 2 Stunden nach Belastung	49
Abb. 26:	Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 4 Stunden nach Belastung	50
Abb. 27:	Vergleich der Ratio 01 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen	51
Abb. 28:	Vergleich der Ratio 02 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen	52
Abb. 29:	Vergleich der Ratio 04 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen	53
Abb. 30:	Vergleich der Differenz Ratio 01 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen	55
Abb. 31:	Vergleich der Differenz Ratio 02 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen	56
Abb. 32:	Vergleich der Differenz Ratio 04 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen	58

## 1.4 Liste der Tabellen

---

	<b>Seite</b>
Tabelle 1: Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit F-ITD	75
Tabelle 2: Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit G-ITD	76
Tabelle 3: Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit DRD	77
Tabelle 4: Mittelwerte von Patienten mit F-ITD	78
Tabelle 5: Mittelwerte von Patienten mit G-ITD	79
Tabelle 6: Mittelwerte von Patienten mit DRD	80

## 2. Einleitung

### 2.1. Definition und Einteilung der Dystonien

Als Dystonie wird ein Syndrom unwillkürlich anhaltender Muskelkontraktionen bezeichnet, das zu verzerrenden und repetitiven Bewegungen oder abnormalen Haltungen führt (Fahn et al., 1987).

Der Begriff Dystonie geht auf Oppenheim zurück (Oppenheim 1911), der 1911 diese Bewegungsstörung als *Dystonia musculorum deformans* (Synonym idiopathische Torsionsdystonie) bezeichnete, um es von anderen Bewegungsstörungen abzugrenzen.

Dystonien können auf verschiedene Weise eingeteilt werden. Eine Möglichkeit besteht darin, sie anhand der betroffenen Körperregion zu klassifizieren (Fahn et al., 1988). Dies ist klinisch sehr nützlich, da der Beginn einer Dystonie in den Extremitäten, insbesondere in den Beinen, häufiger auf andere Körperteile übergeht. Dies wiederum ist ein wichtiges Kriterium für die Behandlung und Prognose der Dystonie, da generalisierte Dystonien normalerweise zu ausgeprägteren Behinderungen führen. Schließlich unterscheiden sich generalisierte Dystonien auch unter genetischen Gesichtspunkten von rein fokalen Dystonien.

Dystonien können auch nach dem Beginn des Erkrankungsalters klassifiziert werden. Dies ist für die Prognose der jeweiligen Form wichtig, da Dystonien mit einem frühen Erkrankungsbeginn eher einen generalisierten und einen schwereren Verlauf nehmen. Dies bedeutet, dass Dystonien, die in der Kindheit beginnen, eher dazu neigen zu generalisieren, wohingegen Dystonien mit Beginn im Erwachsenenalter meistens fokal beginnen und auf eine Körperregion begrenzt bleiben (Fahn et al., 1986; Greene et al., 1995; Marsden et al., 1976).

Ferner können Dystonien nach ihrer Ätiologie eingeteilt werden. Die primäre Torsionsdystonie bzw. idiopathische Torsionsdystonie (ITD) ist dadurch charakterisiert, dass sie eine Dystonie als einziges Symptom zeigt. Während Patienten mit G-ITD häufig eine positive Familienanamnese zeigen, haben die meisten Patienten mit F-ITD eine negative Familienanamnese. Dennoch wurden Familien mit mehreren betroffenen Patienten beobachtet. Der Begriff „Dystonie-plus“ beschreibt eine Unterform, bei der die Dystonie ein

Teil der Erkrankung darstellt. In der Regel liegt noch ein Myoklonus oder ein akinetisch-rigides Syndrom vor. Heredodegenerative Dystonien sind solche, bei denen die Dystonie Teil eines neurodegenerativen Syndroms mit einem oft bekannten Vererbungsmuster ist (Fahn et al., 1988).

Ein weiterer Vertreter der Kategorie „Dystonie-plus“ ist die DRD. Sie stellt eine besondere Form der Dystonie mit Beginn im Kindesalter dar. Diese Form wurde zunächst aufgrund der tageszeitlichen Abhängigkeit der Symptome erkannt, mit einer milden Ausprägung der Symptome am Morgen und einer Verschlechterung der Symptomatik gegen Abend (Segawa et al., 1976). Die Häufigkeit von DRD-Patienten liegt etwa bei 0,5-1 pro 1 Millionen (Nygaard, 1993). Vermutlich sind jedoch mehr Patienten betroffen, da in einigen Fällen eine falsche Diagnose gestellt wird. Von dem guten Ansprechen dieser Form der Dystonie auf L-Dopa wurde unabhängig von Segawa et al. und Allen und Knopp berichtet. Letztere stellten besonders die hierbei vorhandene Parkinson-ähnliche Komponente des Syndroms heraus (Allen et al., 1976; Segawa et al., 1971).

Weitere Vertreter dieser Gruppe sind die paroxysmale dystone Choreoathetose, die auch als DYT8-Dystonie bezeichnet wird (Mount et al., 1940) sowie die Myoklonusdystonie. Diese früher auch als idiopathischer Myoklonus bezeichnete Dystonie ist selten und beginnt zumeist im frühen Erwachsenenalter (Lang et al., 1997; Gasser et al., 1998).

Sekundäre (symptomatische) Dystonien werden hauptsächlich durch verschiedene Umwelteinflüsse wie Schlaganfälle, Tumoren, Infektionen, Drogen und Gifte verursacht (Fahn et al., 1987). Bei dieser Form der Dystonie spielt die genetische Komponente offensichtlich keine Rolle. Die Einteilung der Dystonien nach ihrer Ätiologie ist teilweise sehr sinnvoll, da beim Vorhandensein von anderen neurologischen Symptomen außer einer Dystonie davon ausgegangen werden muss, dass eine Form von „Dystonie-plus“, ein heredodegeneratives Syndrom oder eine sekundäre Dystonie vorliegt. Es muss jedoch angemerkt werden, dass dies nicht immer stimmt, da auch sekundäre Dystonien mit einer Dystonie als einziges Symptom beobachtet wurden (Nemeth, 2002).

Der genetische Aspekt in der Entstehung von Dystonien wurde schon vor vielen Jahren erkannt, die genauen Gene, die bei den verschiedenen Dystonien eine Rolle spielen, konnten erst in jüngerer Zeit identifiziert werden, so dass man nun beginnt, die molekularen Mechanismen genauer zu analysieren. Dystonien werden zum einen nach dem

Vererbungsmuster, zum anderen nach dem Ort der Schädigung eingeteilt. Es können zur Zeit mindestens 12 verschiedene Dystonie-Formen genetisch unterschieden werden, die mit DYT1-12 abgekürzt werden (Nemeth, 2002).

Im folgenden sollen klinische und genetische Aspekte der F-ITD, G-ITD und DRD näher erläutert werden. Da gerade diese Formen in ihrer klinischen Präsentation häufig Überlappungen zeigen, können sie nicht immer eindeutig zugeordnet werden. Da die Therapieform der verschiedenen Formen jedoch unterschiedlich ist, ist eine korrekte Diagnose von entscheidender Bedeutung.

### **2.1.1 Klinische und genetische Aspekte der F-ITD**

Die primär fokalen Dystonien wie Torticollis, Blepharospasmus oder Schreibkrampf manifestieren sich typischerweise erst im Erwachsenenalter. Es kann zu einer Ausbreitung auf benachbarte Segmente des Körpers kommen, die Ausbildung einer generalisierten dystonen Symptomatik ist jedoch sehr selten.

F-ITD stellt die häufigste Dystonie-Form dar und manifestiert sich klinisch meistens als cervikale Dystonie (Nutt et al., 1988). Diese ist charakterisiert durch unwillkürliche, meist drehende (Torticollis), tonische oder phasische Spasmen der Hals- und Rückenmuskulatur. Zusätzlich treten myokloniforme oder tremorartige Bewegungen bzw. Zuckungen des Kopfes und der Schulter sowie ein tonischer Schulterhochstand auf. Der essentielle Blepharospasmus stellt eine weitere klinische Manifestationsmöglichkeit der F-ITD dar und ist charakterisiert durch unwillkürliche tonische oder klonische Spasmen des M. orbicularis oculi. Neben einer kosmetischen Beeinträchtigung und sozialen Stigmatisierung klagen die Patienten über Sehbehinderung in verschiedensten Situationen. Eine weitere Form stellen die aktionsinduzierten Dystonien wie der Schreibkrampf (Graphospasmus) dar (Ceballos-Baumann, 1996).

Klinisch-genetische Untersuchungen konnten nachweisen, dass dystone Störungen bei anderen Familienmitgliedern wesentlich häufiger vorliegen als zunächst durch den Indexpatienten selbst in der Anamnese angegeben wurde (Leube et al., 1997a). Bei einer Untersuchung von 153 Verwandten von 40 Index-Fällen mit F-ITD konnten betroffene



Verwandte ersten Grades in 25 % dieser Index-Fälle nachgewiesen werden (Waddy et al., 1991).

Leube et al. unternahmen Kopplungsanalysen in einer großen Familie mit autosomal-dominant vererbter F-ITD und wiesen Linkage zum kurzen Arm von Chromosom 18 nach (Leube et al., 1996). Die phänotypischen Manifestationen dieser Familien schlossen Torticollis, spasmodische Dysphonie und Schreibkrampf ein. Anschließende Haplotyp-Analysen bei nicht verwandten Patienten mit dieser Erkrankung legten zunächst nahe, dass auch einige Patienten mit F-ITD außerhalb dieser Familie ihre Erkrankung aufgrund eines gemeinsamen Vorfahren entwickelt haben könnten (Leube et al., 1997b). Eine spätere Untersuchung konnte jedoch diese Annahme nicht bestätigen (Klein et al., 1998).

Bildgebende Untersuchungen von Patienten mit F-ITD haben eine Verminderung postsynaptischer D2-Bindungsstellen im Putamen nachgewiesen (Perlmutter et al., 1997; Naumann et al., 1998). Eine verminderte Funktion des Komplex I der mitochondrialen Atmungskette wurde von zwei Gruppen beobachtet (Benecke et al., 1992; Schapira et al., 1997).

### **2.1.2 Klinische und genetische Aspekte der G-ITD**

Der Beginn der G-ITD liegt typischerweise in der Kindheit. Zunächst liegt die Dystonie nur fokal vor, generalisiert dann aber häufig in einem Zeitraum von etwa 5 Jahren. Die Prognose hängt vom Erkrankungsalter und dem zunächst betroffenen Körperteil ab. Patienten mit einem frühen Beginn der Erkrankung und initialer Beteiligung der Beine haben eine schlechtere Prognose (Marsden und Harrison, 1974).

Eine deutlich höhere Prävalenz der primären Torsionsdystonie (PTD) bei Juden osteuropäischen Ursprungs (Ashkenazi) ist gut dokumentiert. Diese ist durch die verhältnismäßig rasche Ausbreitung einer „founder mutation“ innerhalb dieser geschlossenen Bevölkerungsgruppe zu erklären; der genetische Defekt entstand vermutlich vor etwa 350 Jahren in Weißrussland (Risch et al., 1995).

Durch Kopplungsanalysen sowohl in jüdischen als auch in nicht-jüdischen Familien mit autosomal-dominant vererblicher G-ITD wurde das DYT1-Gen auf Chromosom 9q34 lokalisiert (Kramer et al., 1994; Ozelius et al., 1989), die Region im folgenden weiter eingegrenzt (Ozelius et al., 1992) und das Gen schließlich kloniert (Ozelius et al., 1997). Eine nachfolgend durchgeführte Mutationsanalyse zeigte eine rasterkonforme Trinukleotid-(GAG)-Deletion (Ozelius et al., 1997). Das DYT1-Gen hat ein offenes Leseraster von 998 Basepaaren und kodiert für ein Protein (Torsin A) mit 332 Aminosäuren. Die GAG-Deletion verursacht den Verlust einer Glutaminsäure von Torsin A. Etwa 75 % der Patienten mit G-ITD mit frühem Beginn zeigten eine heterozygote GAG-Deletion, während im Gegensatz dazu bei den meisten Patienten mit für DYT1-Dystonie atypischen Symptomen, wie z.B. F-ITD im Erwachsenenalter, keine GAG-Deletion nachgewiesen werden konnte (Klein et al., 1998; Ozelius et al., 1997). Bei 2 Patienten mit typischer DYT1-Dystonie nicht-jüdischer Abstammung konnten *de novo* GAG-Deletionen nachgewiesen werden (Klein et al., 1998). Dies unterstützt die These, dass eben diese 3 Basenpaare lange Deletion tatsächlich die Ursache für die DYT1-Dystonie ist.

Ein weiterer Locus für G-ITD ist auf Chromosom 8 (8p21 – 8q22) in 2 Mennoniten-Familien mit PTD identifiziert worden (Almasy et al., 1997). Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt höher als bei DYT-1 positiven Patienten mit G-ITD (18,9 Jahre versus 13,6 Jahre in DYT1). Auch der Phänotyp unterscheidet sich: etwa die Hälfte dieser Patienten entwickelte initial eine craniale oder cervicale Dystonie. Im Gegensatz zu dem typischen DYT1-Muster, bei dem die cranio-cervikale Region häufig ausgespart bleibt, lag dagegen auch bei denjenigen Mitgliedern dieser Mennoniten-Familien, die zunächst eine dystone Störung in den Extremitäten entwickelten, eine Ausbreitung auf die cranio-cervicale Region vor.

### **2.1.3 Klinische und genetische Aspekte der DRD**

Die früheste Beschreibung der heute als DRD bezeichneten Erkrankung lässt sich auf eine Fallvorstellung am National Hospital, Queen Square, London, 1947, datieren (Beck 1947; Corner, 1952). Die vorgestellte Patientin ist in vieler Hinsicht typisch für die klassische Präsentation von DRD. Ein Mädchen (DRD betrifft bevorzugt das weibliche Geschlecht) entwickelte im Alter von 7 Jahren (dem typischen Erkrankungsalter) eine Gangstörung (die häufigste initiale Symptomatik). Ihr Gangbild zeigte das klassische Merkmal mit

Verschlechterung der dystonen Symptomatik gegen Abend. Ferner konnte bei dieser Patientin der für diese Erkrankung typische Befall des linken Beins nachgewiesen werden. Weiterhin lag ein feinschlägiger Tremor in beiden Händen vor, welcher ein Haltetremor mit einer Frequenz von 8-10 Hz ist und deshalb von dem typischen Parkinson-Ruhetremor mit einer Frequenz von 4-6 Hz abgegrenzt werden muss. Auch das bei dieser Patientin beschriebene etwas ausdruckslose Gesicht sowie die etwas ungeschickten Fingerbewegungen stehen exemplarisch für die in der Folgezeit beschriebenen hypokinetischen Bewegungsstörungen bei DRD-Patienten. Das beeindruckendste Merkmal dieser Patientin war jedoch das hervorragende Ansprechen auf die Gabe von Anticholinergika. Diese Patientin wurde später mit L-Dopa behandelt und zeigte hierbei wiederum eine exzellente Besserung der Symptomatik.

Nach der Einführung von L-Dopa in der Behandlung des idiopathischen Parkinson-Syndroms (IPS) im Jahre 1967 folgten eine Reihe von Therapieversuchen mit dieser Substanz bei Patienten mit Dystonie und anderen neurologischen Erkrankungen. Die Ergebnisse waren in der Regel enttäuschend, gelegentliche Einzelbeschreibungen wiesen jedoch auf ein hervorragendes Ansprechen dystoner Störungen auf die Gabe von L-Dopa hin (siehe Nygaard, 1993 zur Übersicht). Es ist jedoch der Verdienst des japanischen Arztes M. Segawa, dass DRD als eine neue und distinkte klinische Entität erkannt wurde (Segawa et al., 1971; Segawa et al., 1976). Er beschrieb die typischen Charakteristika dieser Erkrankung bei 9 japanischen Patienten, von denen 6 Patienten eine positive Familienanamnese hatten. Das Erkrankungsalter variierte vom 6. bis zum 54. Lebensjahr. Alle Patienten entwickelten in der Kindheit eine dystone Fehlhaltung und zeigten die typische Verschlechterung gegen Abend hin. Nach dem Schlafen besserte sich die Symptomatik bzw. bildete sie sich komplett zurück. Die initialen Beschwerden der Patienten schlossen nicht nur die unwillkürliche Flexion bzw. Inversion des Fußes ein, sondern bestanden auch in leichter Ermüdbarkeit und allgemeiner Verlangsamung. Typischerweise begann die Dystonie in einer Extremität und entwickelte sich dann langsam auch in den anderen Extremitäten; das Muster der Ausbreitung folgte häufig der Form des Buchstabens „N“, innerhalb von 5 Jahren waren alle Extremitäten betroffen. Alle Patienten zeigten ein klares Ansprechen der Symptomatik auf L-Dopa.

Segawa selbst benannte diese Erkrankung zunächst als „hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation“, der Ausdruck DRD wurde erst später durch Nygaard et al. eingeführt (Nygaard et al., 1988). Aufgrund Segawa`s detaillierter Beschreibung wird hier im

weiteren eine Dystonie mit primärem Befall der Beine und Beginn im Kindesalter sowie hervorragendem Ansprechen auf eine L-Dopa-Behandlung als „klassische DRD“ oder „Segawa-Phänotyp“ benannt.

In der Folgezeit beschrieb Ouvrier drei Kinder mit einem ähnlichen Phänotyp und dramatischer Besserung der Symptomatik nach L-Dopa-Gabe. Zwei der Patienten waren Zwillinge, und das dritte Kind hatte eine Mutter, bei der die Diagnose einer „milden spastischen Paraparese“ bestand (Ouvrier, 1978). Die Möglichkeit des Vorliegens einer „forme fruste“ dieser Erkrankung bei der Mutter wurde zwar durch Ouvrier diskutiert, dennoch wurde sie nicht als Patientin in diese Serie eingeschlossen. Es wird auch keine Aussage darüber gemacht, ob bei der Mutter ebenfalls ein Therapieversuch mit L-Dopa durchgeführt wurde. Gordon beschrieb zwei weitere Fälle, diese Publikation ist die erste Dokumentation eines Patienten mit DRD und fehlender Besserung nach Schlaf (Gordon, 1982). Wie oben beschrieben, bestätigten Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven die initial vermutete Bevorzugung der linken Seite sowie das Überwiegen des weiblichen Geschlechts bei dieser Erkrankung (Nygaard et al., 1988; Segawa und Nomura, 1993).

Im mittleren und fortgeschrittenen Lebensalter manifestiert sich DRD typischerweise in einer akinetisch-rigiden Form. Nygaard et al. (1992) berichteten von einer Familie, in der fünf Familienmitglieder eine Dystonie der Beine hatten, während drei weitere Familienmitglieder ohne vorangegangene Dystonie nach dem 50. Lebensjahr ein akinetisch-rigides Syndrom entwickelten. Die letztgenannten drei Patienten entwickelten als erste Störung einen einseitigen Ruhetremor. Später waren in der Untersuchung dieser Patienten Hypomimie, Bradykinese und Rigor sowie ein steifer, kleinschrittiger Gang nachweisbar. Keiner dieser Patienten war zuvor mit Neuroleptika behandelt worden, eine tageszeitliche Schwankung der Symptomatik fehlte. Im Gegensatz hierzu nahm die Ausprägung der Beschwerden bei drei der an Dystonie erkrankten Familienmitglieder gegen Abend zu, bei den anderen beiden Patienten verschlechterte sich die Symptomatik nach körperlicher Belastung. In einer großen Serie von 21 Familien mit DRD hatten 7 von 50 Verwandten ersten Grades, die älter als 40 Jahre waren, in der klinisch-neurologischen Untersuchung einen Befund, der sich nicht von der Präsentation von Patienten mit IPS unterschied. Diese Häufigkeit von 14 % ist deutlich höher als die allgemeine Prävalenz des IPS mit etwa 0,6 % nach dem 40. Lebensjahr (Schoenberg et al., 1985).

Wie bereits erwähnt, generalisiert die dystone Symptomatik bei DRD in wenigstens 75 % der Fälle (Nygaard et al., 1991). Obwohl sich die DRD zu Beginn der Erkrankung meist in der unteren Extremität manifestiert, beginnt sie gelegentlich an den Armen oder als Torticollis, bevor andere Partien des Körpers betroffen sind. Manchmal bleibt DRD auch als F-ITD bestehen (Nygaard et al., 1991; Yebenes et al., 1988). Ein Mitglied einer großen nordamerikanischen Familie mit DRD litt 37 Jahre an isolierter spasmodischer Dysphonie, bevor man ihn mit L-Dopa behandelte. Die Symptomatik wurde durch die Behandlung mit L-Dopa nicht verbessert, obwohl er sicherer Genträger der DRD war (Nygaard et al., 1991). Ein weiteres Mitglied derselben Familie litt an einem Schreibkrampf, aber von einem Ansprechen auf L-Dopa wurde wiederum nicht berichtet (Nygaard et al., 1990). Ein weiterer Patient mit isoliertem Torticollis zeigte nach Gabe von L-Dopa zunächst die gewünschte Besserung, aber nach einigen Jahren trat der Torticollis trotz fortgesetzter Therapie erneut in Erscheinung (Nygaard et al., 1991). Es ist wahrscheinlich, dass es sich um einen Torticollis mit spontaner temporärer Besserung handelte (Jahanshahi et al., 1990), der mit dem Beginn einer Therapie mit L-Dopa zusammenfiel.

In einer anderen Studie zeigte eine Patientin mit einer gesicherten Mutation des GTP-CH-Gens und aktionsinduzierter Dystonie der Hand eine anhaltende Besserung der Symptomatik nach Behandlung mit L-Dopa. Ihre Tochter zeigte die klassischen Symptome einer DRD. Die Mutter berichtete, dass sie im Alter von 30 Jahren aufgrund von Krämpfen in der Hand nicht mehr Gitarre spielen konnte. Sie zeigte zuvor jahrelang keine weiteren Symptome, bis die aktionsinduzierte Dystonie bei verschiedenen anderen Bewegungen der Hand auftrat, z.B. beim Schreiben und Nähen. Besonders in Stresssituationen nahm die Hand der Patientin auch in ruhender Position eine abnorme Stellung ein. Nach der Behandlung mit L-Dopa zeigte sich eine erhebliche Besserung des Schreibens und bei anderen Tätigkeiten. Bei der Untersuchung konnte keine abnormale Haltung mehr festgestellt werden, obwohl sie immer noch nicht fähig war, Gitarre zu spielen (Bandmann et al., 1998a). Bei zwei weiteren Fällen lag eine Kombination aus einer Fußdystonie und einem Schreibkrampf vor. Bei einem dieser Patienten sprach nur die Fußdystonie auf die Therapie mit L-Dopa an, der andere Patient zeigte eine Besserung der dystonen Beschwerden an Hand und Fuß (Deonna et al., 1985; Nygaard et al., 1993). Das Ansprechen auf L-Dopa bei DRD-Patienten mit F-ITD scheint somit variabler als beim klassischen „Segawa-Phänotyp“. Diese Form der Dystonie ist selten, dennoch sollte DRD in der Differentialdiagnose bei Patienten mit F-ITD und positiver Familienanamnese für G-ITD in Erwägung gezogen werden (Bandmann et al., 1998a).

Bei Patienten mit DRD wird gelegentlich die Diagnose idiopathische Torsionsdystonie (ITD) gestellt. Der Beginn der Erkrankung im Kindesalter sowie der Beginn am Fuß oder am Bein sind sowohl für ITD als auch für DRD charakteristisch und daher in der Differentialdiagnose dieser beiden Dystonie-Formen wenig hilfreich (Marsden et al., 1974; Nygaard et al., 1991). Es ist daher notwendig nach der tageszeitlichen Abhängigkeit der Beschwerden zu suchen, ein typisches aber nicht beständiges Zeichen bei Patienten mit DRD. Auch die körperliche Untersuchung kann Hinweise in der Differentialdiagnose dieser beiden dystonen Syndrome liefern: Bradykinesie, Hyperreflexie und ein leichter Rigor werden häufig bei DRD gesehen, diese Symptome sind jedoch nicht Bestandteil der ITD (Bandmann et al., 1998a).

Obwohl Patienten mit DRD genauso wie Patienten mit ITD auf die Gabe von Anticholinergika eine Besserung der Symptomatik zeigen, sprechen Patienten mit DRD schon auf kleine Dosen hervorragend und mit anhaltender Dauer auf diese Substanzgruppe an. Patienten mit ITD zeigen häufig nicht die gewünschte anhaltende Wirkung (Nygaard et al., 1991).

Bereits die erste Fallbeschreibung eines Patienten mit DRD durch Beck et al. ließ vermuten, dass es eine genetische Ursache für diese Erkrankung gibt, da 2 weitere Familienmitglieder ebenfalls an einer dystonen Störung litten (Beck, 1947). Segawa nahm einen autosomal-dominanten Erbgang mit niedriger Penetranz aufgrund der Stammbaumanalyse seiner familiären Fälle an; diese Einschätzung wurde später von den meisten Autoren geteilt (Segawa et al., 1976; Nygaard et al., 1988). Andere Autoren vertraten dagegen die Ansicht, dass zumindest in manchen Familien ein autosomal-rezessiver Erbgang vorliegen könnte (Ouvrier, 1978). Die Analyse der Penetranzrate in einer großen nordamerikanischen Familie mit autosomal-dominant vererbter DRD ergab eine 31%-ige Penetranz des genetischen Defektes; diese Analyse schloss lediglich solche Familienmitglieder ein, die eine sichere Dystonie entwickelt hatten (Nygaard et al., 1990). Zuletzt publizierte Penetranzraten, die auf einer Kombination von klinischer und molekulargenetischer Analyse in 13 Familien beruhten, konnten eine wesentlich höhere Penetranz bei Frauen (87 %) als bei Männern (38 %) nachweisen und hierdurch auch frühere Beobachtungen eines deutlichen Überwiegens der Anzahl der betroffenen weiblichen Patienten mit einem Verhältnis von weiblichen zu männlichen Patienten von 4,3 : 1 bestätigen (Furukawa et al., 1998).

Durch Kopplungsanalysen in 3 großen Familien mit autosomal-dominant vererblicher DRD konnte der Locus für das DRD-Gen in diesen Familien auf Chromosom 14q identifiziert werden. Die flankierenden Marker D 14S47 und D 14S63 definierten eine Region von etwa 22 cM als diejenige Region, die das DRD-Gen enthielt (Nygaard et al., 1993). Ein Jahr später wiesen Ichinose et al. nach, dass das Gen für GTP-CH, dem Schrittmacher-Enzym in der Synthese von BH<sub>4</sub>, in dem chromosomalen Abschnitt 14q22.1 bis 14q22.2 liegt. Die Arbeitsgruppe identifizierte vier verschiedene Mutationen in diesem Gen bei Patienten mit DRD und konnte die Bedeutung dieser Mutationen dadurch hervorheben, dass sie eine deutliche Reduktion der enzymatischen Aktivität von GTP-CH in mononukleären Blutzellen von Patienten mit DRD und nachgewiesener GTP-CH-Mutation messen konnte. Auch die *in vitro* Untersuchung von mutanter GTP-CH-cDNA in *E. coli* demonstrierte eine funktionelle Störung der GTP-CH-Aktivität im Vergleich zur Wildtyp-cDNA im *E. coli*-System (Ichinose et al., 1994).

Anschließend wurde ein weiteres kausales Gen für DRD beschrieben. Luedecke et al. wiesen zwei homozygote Mutationen in dem TH-Gen nach. Die Beschreibung des Phänotyps war allerdings in dem initialen Bericht etwas unvollständig, legte jedoch nahe, dass der untersuchte Patient und sein Bruder beide den klassischen DRD-Phänotyp entwickelt hatten (Luedecke et al., 1995). In der zweiten Publikation war die klinische Beschreibung deutlich detaillierter (Knappskog et al., 1995): der Säugling entwickelte zunächst im Alter von 3 Monaten vornehmlich kurze, myoklonus-artige Bewegungen. Anschließend entwickelte er zunehmend einen generalisierten Rigor mit sehr wenig Spontanbewegung und weiterhin vorhandenen myoklonen Bewegungen. Eine tageszeitliche Schwankung lag nicht vor. Im Alter von 6 Monaten fand sich bei der Untersuchung ein ausdrucksloses Gesicht mit einer Ptose, die möglicherweise auf eine Störung des sympathischen Nervensystems zurückzuführen sein könnte. An den Extremitäten zeigte sich ein generalisierter Rigor sowie eine deutliche Verlangsamung der Spontanmotorik. Die Expression beider Mutationen in einem rekombinanten mutanten TH-Enzym führte zu einer deutlich reduzierten Aktivität dieses Enzyms und konnte somit überzeugend die funktionelle Relevanz der beobachteten DNA-Sequenzveränderungen beweisen (Knappskog et al., 1995; Luedecke et al., 1996; Furukawa et al., 2001).

## 2.2. Der Tetrahydrobiopterin-Syntheseweg

GTP-CH ist das Schrittmacherenzym in der Synthese von BH<sub>4</sub>, es benötigt keine Kofaktoren. Das Enzym katalysiert den ersten Schritt der Synthese, eine komplexe Ringexpansionsreaktion, die zur Bildung von Dihydroneopterin-Triphosphat aus GTP führt (Nar et al., 1995). Die Bildung von 6-Pyruvoyl-Tetrahydrobiopterin aus 7,8-Dihydroneopterin-Triphosphat beinhaltet die Entfernung der Phosphatgruppen und wird durch das Enzym PTPS katalysiert. Der nächste Schritt in der Biosynthese von BH<sub>4</sub> beinhaltet eine NADPH-abhängige Reduktion der Ketogruppen an den Seitenketten durch das Enzym Sepiapterin-Reduktase (Nichol et al., 1985). Der Syntheseweg von BH<sub>4</sub> sowie seine Verknüpfung mit der Synthese der Neurotransmitter Dopamin und Serotonin ist in Abbildung 1 dargestellt.

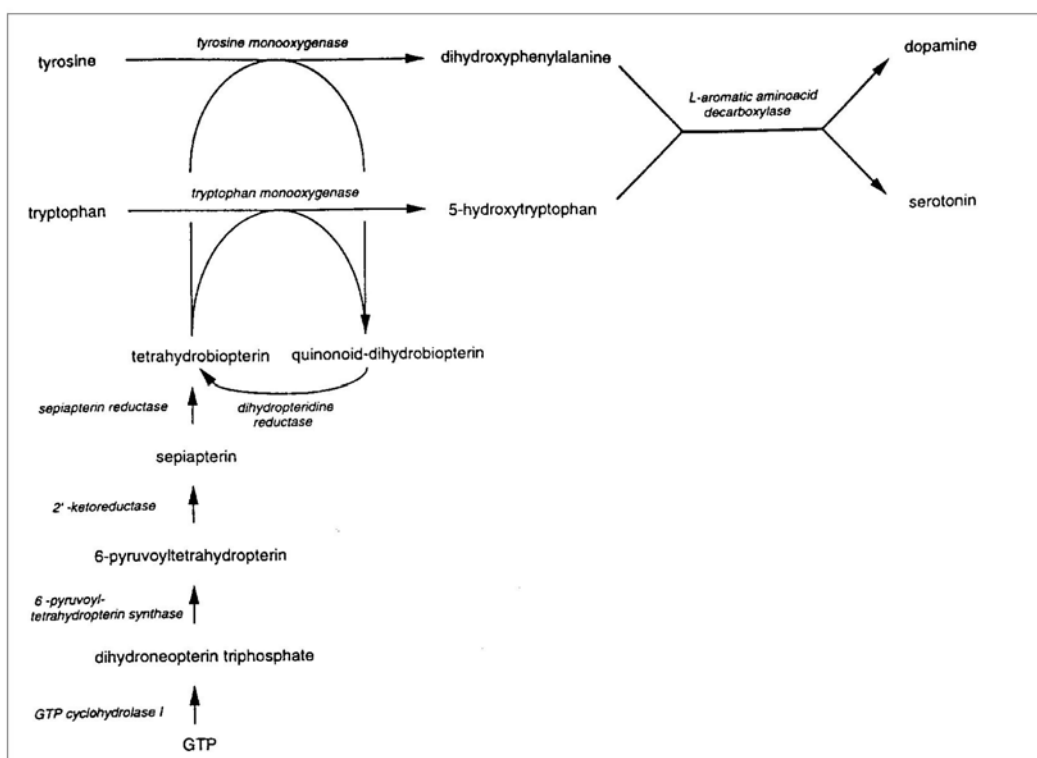


Abbildung 1: Der Tetrahydrobiopterin-Syntheseweg sowie seine Verknüpfung mit der Synthese der Neurotransmitter Dopamin und Serotonin (Bandmann et al., 1998b).

BH<sub>4</sub> ist ein essentieller Kofaktor für die aromatischen sauren Monoxygenasen. Außerhalb des ZNS kommt BH<sub>4</sub> eine wichtige Rolle als Kofaktor der Phenylalanin-Hydroxylase zu. Dieses Enzym katalysiert den Schritt der Hydroxylierung von Phenylalanin zu Tyrosin in der Leber und in der Niere (Kaufmann et al., 1959). Im ZNS stellt BH<sub>4</sub> in dopaminergen



Neuronen einen wesentlichen Kofaktor der Tyrosinhydroxylase (TH) dar (Nagatsu et al., 1964). Dieses Enzym ist das Schrittmacherenzym in der Synthese von Dopamin und katalysiert die Bildung von L-Dihydroxyphenylalanin (L-Dopa) aus Tyrosin. L-Dopa ist die Vorläufersubstanz von Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin. Das Fehlen von BH4 führt zu einem Mangel von Dopamin im Striatum, der die Grundlage für das Entstehen der Dystonie bildet.

Schließlich findet man BH4 auch als Kofaktor für die Tryptophan-Hydroxylase, die im Rahmen der Bildung von Serotonin Tryptophan zu 5-HTP umwandelt.

### **2.3 Andere Tetrahydrobiopterin-Mangelsyndrome**

Deutlich bevor ein partieller Mangel an BH4 aufgrund heterozygoter Mutationen im GTP-CH Gen als Ursache für die autosomal-dominant vererbliche DRD erkannt wurde, war bekannt, dass ein kompletter oder fast-kompletter, autosomal-rezessiv vererbter Mangel an BH4 eine APKU verursacht (Kaufmann et al., 1978). Säuglinge mit dieser Störung werden normalerweise im Rahmen des routinemäßigen Neugeborenen Screenings identifiziert und machen etwa 2% aller Fälle von Hyperphenylalaninämie aus. Ein PTPS-Mangel ist mit Abstand die häufigste Ursache, gefolgt von einer DHPR-Defizienz und, deutlich seltener, einer autosomal-rezessiv vererbten Störung von GTP-CH (Blau et al., 1996).

Der klinische Verlauf bei unbehandelten Patienten ist ähnlich bei typischen Fällen von PTPS-, DHPR- und GTP-CH-Mangel. Die ersten klinischen Symptome stellen sich typischerweise im Alter von 4-5 Monaten ein, hierzu zählen insbesondere eine mentale Retardierung, epileptische Anfälle, Störung von Muskeltonus und Haltung, Benommenheit, Überbewegungen wie Myoklonus und Dystonie sowie Schluckstörungen und Mikrozephalie (Blau et al., 1993).

Die Behandlung zielt zunächst darauf ab, die erhöhten Phenylalanin-Spiegel durch Diät und/oder BH4-Substitution zu reduzieren. Zur Wiederherstellung des Neurotransmitter-Gleichgewichts werden zusätzlich entsprechende Vorläufersubstanzen verabreicht.

Von einer Analyse von Neurotransmitter-Metaboliten im Liquor bei Patienten mit DRD wurde zunächst von Ouvrier berichtet. In dieser Untersuchung wurden niedrige Liquorspiegel von HVA nachgewiesen (Ouvrier, 1978). Die Datenlage bezüglich der Spiegel von 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) im Liquor blieb umstritten (Ouvrier, 1978; Le Witt et al., 1986). In anschließenden Untersuchungen wurden niedrige Spiegel von BH4 und dessen Vorläufersubstanz Neopterin im Liquor nachgewiesen (Williams et al., 1979; LeWitt et al., 1986; Fink et al., 1988).

## **2.4 Zielsetzung**

Wie oben aufgeführt, sprechen Patienten mit DRD im Gegensatz zu allen anderen Dystonie-Unterformen hervorragend auf eine orale Medikation mit L-Dopa an. Es ist durch die vielen atypischen Präsentationen dieser Erkrankung jedoch häufig sehr schwierig, die Diagnose einer DRD klinisch zu stellen, und sie von anderen Dystonie-Formen zu unterscheiden. Aufgrund der therapeutischen Konsequenzen wäre es von großer praktischer Relevanz, die Diagnose einer DRD früh stellen zu können, und sie insbesondere von anderen Dystonie-Formen wie F-ITD und G-ITD frühzeitig abgrenzen zu können. Nur so kann eine frühzeitige Behandlung der DRD gewährleistet und eine unnötige Gabe von L-Dopa bei entsprechend anderen Dystonie-Formen vermieden werden.

Bis zum jetzigen Zeitpunkt gibt es aber keine geeignete Methode, die es ermöglicht, schnell und zuverlässig die Klassifikation zu einer bestimmten Dystonie-Form vorzunehmen. Die bisher durchführbaren genetischen Tests sind aufwendig, kostenintensiv und nur bedingt aussagekräftig.

Um herauszufinden, ob der Phenylalanin-Metabolismus auch bei DRD-Patienten verändert ist, belasteten Hyland et al. das Phenylalanin-Hydroxylierungssystem, indem sie genetisch gesicherten DRD-Patienten eine höhere Dosis Phenylalanin verabreichten. Anschließend analysierten sie bei diesen Patienten die Phenylalanin- bzw. Tyrosin-Plasmaspiegel in bestimmten Zeitabständen (Hyland et al., 1997). Es konnte bei diesem sogenannten Phenylalanin-Belastungstest bei Patienten mit DRD eine im Vergleich zu gesunden Kontrollen abnormale Phenylalanin- bzw. Tyrosin-Ratio festgestellt werden. Dieser Test findet schon seit längerer Zeit Anwendung bei der Stoffwechselerkrankung PKU.

Homozygote Genträger dieser Erkrankung weisen einen primären Defekt des Enzyms Phenylalanin-Hydroxylase auf. Bei Belastung mit der Aminosäure Phenylalanin zeigen Patienten mit dieser Erkrankung eine verminderte Tyrosinproduktion. Dadurch entsteht eine auffällige Phe/Tyr-Ratio. Ohne vorherige Belastung mit Phenylalanin ist bei heterozygoten Mutationsträgern keine Hyperphenylalaninämie vorhanden, dennoch ist die Ratio Phe/Tyr leicht erhöht (Westwood et al., 1975; Rampini et al., 1969 ; Saraiva et al. 1993).

Hyland et al. konnten auch beweisen, dass der BH<sub>4</sub>-Mangel der Grund für den auffällig verlaufenden Phenylalanin-Belastungstest darstellt. Man verabreichte 2 Patienten mit DRD vor der Durchführung des Belastungstests BH<sub>4</sub>. Bei der Auswertung des Tests fand man bei ihnen keine Hinweise für erhöhte Ratio-Werte des Quotienten Phe/Tyr. Die Patienten waren in der Lage, Phenylalanin normal zu verstoffwechseln. Wenn man denselben Patienten Phenylalanin ohne vorherige Gabe von BH<sub>4</sub> das Phenylalanin verabreichte, zeigten die beiden Patienten deutlich erhöhte Ratio-Werte des Quotienten Phe/Tyr, wie sie auch bei den anderen getesteten DRD-Patienten dieser Studie beobachtet wurden (Hyland et al., 1997). Eine exogene Gabe von BH<sub>4</sub> bei Patienten mit PKU ruft keine Veränderungen des Phenylalanin-Metabolismus hervor (Danks et al., 1979).

Die von Hyland et al. erhobenen Befunde etablierten lediglich einen Unterschied zwischen der Gruppe der DRD-Patienten und der Gruppe der Kontrollen. Es bleibt jedoch weiterhin unklar, ob der Phenylalanin-Belastungstest eine Möglichkeit darstellt, um individuelle DRD-Patienten von Patienten mit F-ITD oder G-ITD differentialdiagnostisch abzugrenzen. Diese Fragestellung soll im Rahmen der vorgelegten Promotion untersucht werden. Hierzu wurden neben 10 DRD-Patienten auch 10 Patienten mit F-ITD und 10 Patienten mit G-ITD mit dem Phenylalanin-Belastungstest untersucht, um die Hypothese zu überprüfen, dass die Ratio Phe/Tyr nur bei DRD, nicht aber bei F-ITD und G-ITD verändert ist.

Eine mögliche Einführung des Phenylalanin-Belastungstests ist entscheidend von der einfachen praktischen Durchführbarkeit dieses Tests abhängig. Das von Hyland et al. verwendete Testprotokoll ist mit seriellen Blutabnahmen zum Zeitpunkt 0, 1, 2, 4 und 6 Stunden vergleichsweise aufwendig. Es soll daher weiterhin im Rahmen der hier vorgelegten Promotionsarbeit untersucht werden, ob auch eine Einzelpunkt-Analyse der Ratio Phe/Tyr oder zumindest die Analyse von weniger Zeitpunkten eine ähnlich hohe Aussagekraft beinhaltet wie die seriell durchgeführte Analyse von Hyland et al..

## **3. Material und Methoden**

### **3.1 Das Patientenkollektiv**

#### **3.1.1 Die Anzahl der Patienten**

Insgesamt konnten 30 Patienten in die Studie aufgenommen werden. Davon wurden 10 Patienten mit F-ITD (davon 8 Patienten mit Torticollis spasmodicus und 2 Patienten mit Blepharospasmus), 10 Patienten mit G-ITD und 10 Patienten mit DRD dem Phenylalanin-Belastungstest unterzogen. Die Zuordnung zu den einzelnen Gruppen erfolgte aufgrund der für die jeweilige Form der Dystonie typischen klinischen Symptomatik. Bei den Patienten mit DRD, die an der Studie teilnahmen, wurde die Diagnose in den meisten Fällen bereits im Vorfeld durch einen genetischen Test gesichert.

#### **3.1.2 Alters- und Geschlechterverteilung der Patienten**

Das durchschnittliche Patientenalter betrug bei den Patienten mit F-ITD 59,8 Jahre (Standardabweichung 15,8 Jahre), wobei eine Altersbreite von 34-79 Jahren vorlag. Von den 10 getesteten Personen aus dieser Gruppe waren 9 weiblich und 1 männlich. Der Erkrankungsbeginn lag zwischen dem 32. und 73. Lebensjahr mit einem Mittelwert von 48,1 Jahren (Standardabweichung 11,73 Jahre). Die getesteten Patienten mit G-ITD zeigten ein Durchschnittsalter von 35,8 Jahren (Standardabweichung 11,41 Jahre), wobei der jüngste Patient 22 Jahre alt war und der älteste 58 Jahre. Bei der Geschlechterverteilung lag mit 7 weiblichen und 3 männlichen Patienten auch in dieser Gruppe erneut ein Übergewicht bei den Frauen vor. Der Beginn der G-ITD lag durchschnittlich bei 24,3 Jahren (Standardabweichung 12,73 Jahre) mit einer Altersbreite von 10 Jahren bis 47 Jahren. Die Patienten mit DRD, die an dem Phenylalanin-Belastungstest teilnahmen, hatten ein mittleres Alter von 35,3 Jahren (Standardabweichung 11,87 Jahre). Die Altersbreite erstreckte sich von 19 Jahren bis 55 Jahren. Es wurden 9 weibliche und 1 männlicher Patient aus dieser Gruppe getestet. Die ersten klassischen Symptome der DRD entwickelten sich im Durchschnitt mit 4,1 Jahren (Standardabweichung 3,1 Jahre), wobei der Erkrankungsbeginn zwischen dem 1. und 10. Lebensjahr lag.

### **3.1.3 Betroffene Familienmitglieder**

Analysiert man die einzelnen Patienten der verschiedenen Dystonie-Formen in Hinblick auf betroffene Familienmitglieder, so zeigen die unterschiedlichen Gruppen sehr unterschiedliche Ergebnisse. Während bei den untersuchten Patienten mit F-ITD nur eine Patientin Angaben über einen Onkel und eine Cousine mütterlicherseits mit der gleichen Symptomatik machen konnte, gab es bei den getesteten Personen mit G-ITD gar keinen Hinweis für ein weiteres betroffenes Familienmitglied. Anders stellt sich die Situation bei den Patienten mit DRD dar. Hier konnten bei nahezu allen Patienten eine positive Familienanamnese gemacht werden. Bei 8 von 10 getesteten Patienten war mindestens 1 weiterer Verwandter mit DRD bekannt, eine Patientin berichtete darüber, dass ihr Bruder und ihr Sohn asymptotische Genträger der Krankheit seien. Nur eine Patientin konnte keine Angaben über ein weiteres Familienmitglied mit diagnostizierter DRD machen.

### **3.2 Durchführung des Phenylalanin-Belastungstests**

Phenylalanin ist eine essentielle Aminosäure und spielt eine zentrale Rolle im L-Dopa-Stoffwechsel.

Da Phenylalanin einen wesentlichen Bestandteil der meisten Nahrungsmittel darstellt, ist besonders darauf zu achten, den zugeführten Proteinanteil vor Beginn der Durchführung des Belastungstests möglichst gering zu halten. Daher ist es erforderlich, dass der Patient vor Beginn nur ein leichtes, proteinarmes Frühstück zu sich nimmt. 2 Stunden vor Beginn des Tests sollte der Patient gar keine Nahrung mehr zu sich nehmen. Von diesem Zeitpunkt an bis zum Ende der Durchführung des Tests muss der Patient nüchtern bleiben.

Zu Beginn des Tests wird das Gewicht des Patienten festgestellt, um die erforderliche Menge an Phenylalanin zu errechnen. Pro kg Körpergewicht werden 100 mg dieser Substanz benötigt, die der Patient zu sich nehmen muss. Unmittelbar bevor der Patient das L-Phenylalanin verabreicht bekommt, werden ihm das erste Mal 2 ml EDTA-Blut abgenommen (Zeitpunkt 0).

Anschließend wird die vorher errechnete Menge an Phenylalanin in Limonade oder Orangensaft eingerührt. Da sich das Phenylalanin nur schlecht löst, sollte das Getränk in regelmäßigen Abständen stark umgerührt werden. Damit sich die Substanz nicht am Glasrand absetzt, ist es weiterhin sinnvoll, den Inhalt des Glases möglichst schnell zu trinken. Da es erforderlich ist, die komplette Dosis zu sich zu nehmen, werden nach dem Entleeren des Glases weitere 100 ml Limonade bzw. Orangensaft in das Glas gegeben, die ebenfalls getrunken werden sollen.

Nach 1, 2 und 4 Stunden werden dem Patienten jeweils weitere 2 ml EDTA-Blut abgenommen. Mit der letzten Blutabnahme nach 4 Stunden endet der Test für den Patienten. Das zu den verschiedenen Zeitpunkten entnommene Blut muss zentrifugiert werden, um das Plasma von den festen Bestandteilen des Blutes zu separieren. Das Plasma wird anschließend für die Messungen der Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin benötigt. Die verwendete Zentrifuge wird auf 3000 Umdrehungen pro Minute eingestellt. Nach 10 Minuten ist der Vorgang der Zentrifugation beendet. Aus dem Plasmaüberstand werden anschließend 2 x 1 ml abpipettiert. Anschließend müssen die Proben bei  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  in Trockeneis aufbewahrt werden, bis die Messungen der einzelnen Aminosäuren vorgenommen werden. Dies ist erforderlich, da die zu messenden Proteinbestandteile hitzeempfindlich sind und es bei falscher Aufbewahrung zu einer Denaturierung derselben kommen kann.

### **3.3 Durchführung der Messung der Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin**

Um eine Messung der Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin durchführen zu können, muss zunächst eine Auftrennung, Detektion und Quantifizierung dieser freien Aminosäuren erfolgen.

Begründet wurde die Technik der Aminosäurenanalyse durch Stein und Moore 1948 (Blackburn, 1978). Diese unterscheidet sich nicht wesentlich von der heute verwendeten Technik. Die Auftrennung der Aminosäuren wurde zunächst an Stärkesäulen durchgeführt. Da Stärkesäulen nur eine geringe Kapazität haben und empfindlich gegen salzkontaminierte Proben sind, wird heutzutage das sulfonierte Polystyrolharz Dowex 50 verwendet. Die Detektion der getrennten Aminosäuren erfolgt durch eine Farbreaktion mit Ninhydrin. Als Puffersysteme dienen Lithium- und Natriumcitratpuffer. Aminosäuren sind sehr kleine, polare

Moleküle, die durch nahezu alle Trennmethode außer der Ionenaustauschchromatografie schlecht zu trennen sind. Die Trennung erfolgt an einem Kationenaustauscherharz und beruht auf dem unterschiedlichen Säure-Base-Verhalten der einzelnen Aminosäuren. Die im sauren Bereich positiv geladenen Aminosäuren binden an das Harz und werden mit steigender Ionenstärke und steigendem pH von der Säule eluiert.

Das Gerät, welches diese Analysen vornimmt, ist der Amino Acid Analyser LC 3000 der Firma Eppendorf (siehe Abbildung 2).



**Abbildung 2: Foto des Amino Acid Analyzers LC 3000, Firma Eppendorf**

Um mit der Analyse beginnen zu können, wird zunächst eine Deproteinisierung mit Sulfosalicylsäure durchgeführt. Dazu werden 800  $\mu\text{l}$  der zu analysierenden Probe in ein entsprechendes Behältnis pipettiert. Hinzugefügt werden 200  $\mu\text{l}$  10-prozentiger Sulfosalicylsäure. Dieses Gemisch muss stark durchgeschüttelt werden. Anschließend wird die Lösung für ca. 30 Minuten bei +4 °C kühl gelagert. Es folgt dann die Zentrifugation, die nach 10 Minuten abgeschlossen ist. Schließlich findet eine Verdünnung der Flüssigkeit mit einem Puffer statt. Die Probe sollte dann einen pH-Wert von 2,20 +/- 0,1 aufweisen. Ist dies nicht der Fall, fügt man dem Gemisch eine entsprechende Menge alkalischer Lösung hinzu, bis man den gewünschten pH-Wert erreicht. Jetzt kann die Probe analysiert werden. Um die Ergebnisse nicht zu verfälschen, sollte die Bearbeitung der Proben sofort erfolgen oder die Aufbewahrung in einem Gefrierschrank stattfinden. Werden die Proben über einen längeren Zeitraum gekühlt, können nachträgliche Niederschläge auftreten. Diese können eine Blockade

im Einspritzsystem oder in den Trennungssäulen des LC 3000 hervorrufen. Aus diesem Grund wird empfohlen, die Probe ein weiteres Mal bei 3000 U zu zentrifugieren, bevor man mit der Analyse beginnt.

Bei der Nachsäulenderivatisierung, die der Amino Acid Analyser vornimmt, werden die freien Aminosäuren über eine Ionenaustauschchromatografie mit einem Stufengradienten aufgetrennt und das Derivatisierungsreagenz nach der Säule mit einer weiteren Pumpe zugemischt. Eine Reaktionsschleife, deren Länge so gewählt ist, dass die Verweildauer der Reaktionsmischung in der Schleife der erforderlichen Reaktionszeit entspricht, ermöglicht die Umsetzung der Aminosäuren mit dem Reagenz im kontinuierlichen Durchfluss. Hierzu benötigt man einen Detektor, der zum Nachweis und zur Quantifizierung verwendet wird (Ashman, 1985). Der LC 3000 verwendet zur Umsetzung mit den Aminosäuren Ninhydrin. Da die meisten Aminosäuren (so auch Phenylalanin und Tyrosin) keine physikalischen oder optischen Eigenschaften haben, die ihren Nachweis in der Probe direkt möglich machen, ist es erforderlich, dass man sie sichtbar macht. Dies ist möglich, indem man die zu bestimmenden Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin mit einem Reagenz reagieren lässt, welches als Produkt photometrisch gemessen werden kann. Zu diesem Zweck eignet sich Ninhydrin besonders gut.

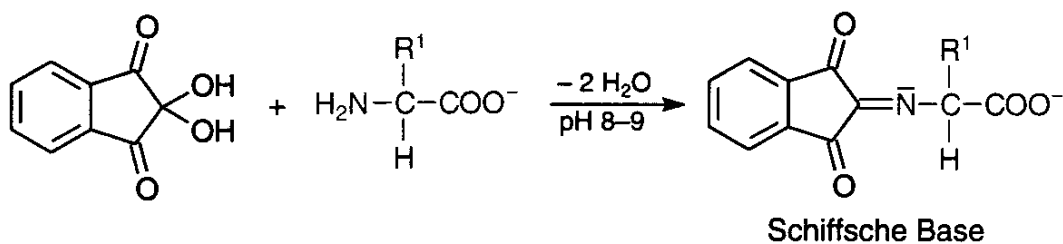
Während des Durchlaufs durch eine Reaktionsschleife reagiert Ninhydrin quantitativ mit primären und sekundären Aminen bei einer Temperatur von 100-130 °C. Ninhydrin bewirkt über die Bildung einer Schiffsschen Base eine oxidative Decarboxylierung der Aminosäure. Die Hydrolyse der Schiffsschen Base des decarboxylierten Produkts führt zu einem Aldehyd und einem Ninhydrinderivat, das den Aminstickstoff der Aminosäure trägt. Dieses Ninhydrinderivat bildet mit dem mittleren Carbonyl-C-Atom eines zweiten Ninhydrinmoleküls eine Schiffssche Base, die durch Deprotonierung einen blauvioletten Farbstoff ergibt (siehe Abbildung 3). Der Rest R geht dabei nicht in das detektierbare Produkt ein. Die Identifizierung der Aminosäuren erfolgt nicht über ihre Derivate, sondern allein anhand der Retentionszeit während der Chromatografie. Der gebildete Farbstoff dient nur zur Quantifizierung.

Es entstehen keine störenden Nebenprodukte oder Mehrfachderivate. Die Reaktionsprodukte haben ihr Absorptionsmaximum im UV-Licht bei 570 nm (primäre Amine) und 440 nm (sekundäre Amine). Die Trennung erfolgt auf einem sphärischen Ionenaustauscherharz (10 %

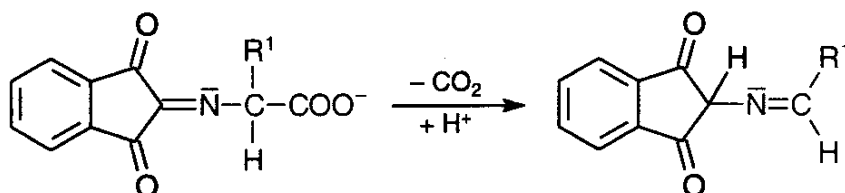


DVB quervernetztes Polystyrol 4 x 150 mm) in Citratpuffer beginnend bei pH 2. Die Elution erfolgt mit einem Dreistufengradienten mit steigender Salzkonzentration, steigendem pH und ansteigender Temperatur. Detektiert wird bei 550 nm. Die Nachweisgrenze liegt heute bei 50 pmol.

**A. Bildung der Schiffschen Base:**



**B. Decarboxylierung:**



**C. Hydrolyse**

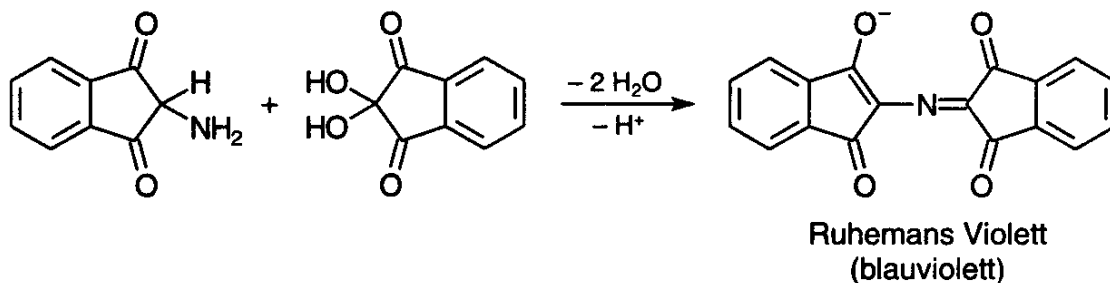
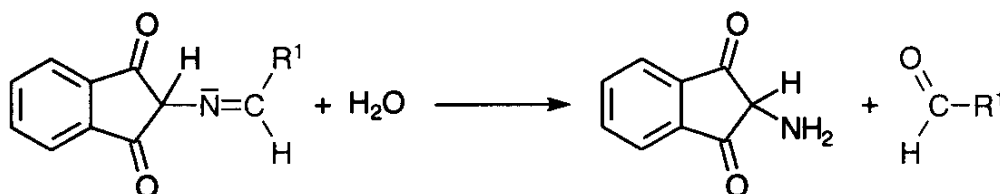


Abbildung 3: Ninhydrinreaktion mit primären und sekundären Aminen (Barrett, 1985)

### 3.4. Datenauswertung und Beurteilung der Analysen

Die über eine Chromatografiesäule aufgetrennten Aminosäuren werden in einem UV- oder Fluoreszenzdetektor bei der Wellenlänge detektiert, welche die höchsten Absorptionsausbeuten, entsprechend dem verwendeten Chromophor oder Fluorophor, erwarten lässt. Die Absorptionswerte werden analog oder digital entlang einer Zeitachse als Chromatogramm dargestellt. Die Flächenwerte der einzelnen Peaks sind proportional zur Menge des absorbierenden Derivats. Diese Flächenwerte werden mit den Flächenwerten eines Standardchromatogramms, in dem definierte Mengen aller Aminosäuren aufgetrennt sind und nach dem das System kalibriert ist, verglichen und zur Quantifizierung verwendet. Da die Absorption nicht bei allen Derivatisierungsmethoden linear mit der Menge an Aminosäuren zunimmt, muss das System mit unterschiedlichen Aminosäurenkonzentrationen kalibriert werden. Die Konzentrationen der für die Eichung verwendeten Lösungen und der zu analysierenden Probe sollten im gleichen Mengenbereich liegen. Zusätzlich werden bei der Eichung Korrekturfaktoren mit eingebracht, die die Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin bzw. deren Derivatisierungsverhalten berücksichtigen (z.B. unvollständige Derivatisierung, mehrere Peaks). Gerade bei der Analyse geringer Mengen ist die Subtraktion einer „Nullwertanalyse“, das heißt einer Hydrolyse, bei der nur Hydrolysemedium (aber keine Probe) vorliegt, zur Korrektur von Verunreinigungen nötig. Interne Standards - Substanzen, die im normalen Proteinhydrolysat nicht vorkommen wie Norleucin - , die bereits vor der Hydrolyse in definierter Menge zugegeben werden, dienen zur Korrektur von Verlusten, die während der einzelnen Analyseschritte auftreten.

Trotz einer genauen Kalibrierung und der Einführung interner Standards muss das Ergebnis der durchgeführten Aminosäurenanalyse kritisch geprüft werden. Für die Aminosäure Phenylalanin liefert die Analyse auch bei sehr geringen Mengen verlässliche Ergebnisse, wohingegen Tyrosin äußerst oxidaseempfindlich ist und häufig zu niedrig bestimmt wird. Um trotz des unterschiedlichen Hydrolyseverhaltens der jeweiligen Aminosäure eine möglichst genaue Quantifizierung zu ermöglichen, ist es notwendig, die Hydrolyse bei verschiedenen Temperaturen zu wiederholen und dann die Werte der einzelnen Analysen zu extrapolieren, um so für die jeweilige Aminosäure den Maximalwert zu erhalten.

Aminosäurenanalysen sind heute mit einem Fehler kleiner +/- 10 % in einem Bereich über 10 pmol pro Aminosäure quantitativ durchführbar, auch wenn die Nachweisgrenze bei den

einzelnen Methoden weit darunter im Femtomolbereich liegt. Der Hauptanteil der Fehlerquote liegt dabei auf Seiten der Hydrolyse, während die Chromatografie mit Fehlern kleiner 2 % durchführbar ist.

Ziel der Aminosäureanalytik ist nicht mehr die Steigerung der Sensitivität der Analysen, sondern die Vermeidung von Kontaminationen durch bessere Probenvorbereitung. Dadurch soll die Diskrepanz zwischen den praktisch und theoretisch erreichbaren Detektionsgrenzen verringert werden. Die Vermeidung zusätzlicher Arbeitsschritte durch Vollautomatisierung (Hydrolyse, Derivatisierung und Chromatografie in einem kontinuierlichen Arbeitsgang) würde die Aminosäureanalytik diesem Ziel wesentlich näher bringen.

### **3.5 Auswertung des Phenylalanin-Belastungstests**

Ziel der vorgelegten Promotion ist es, zu überprüfen, ob sich die einzelnen Werte des Tests bei Patienten mit DRD signifikant von den Patientengruppen mit F-ITD und G-ITD unterscheiden. Für die statistische Auswertung der einzelnen Phenylalanin-, Tyrosin- und Ratio-Werte wurde der U-Test nach Whitney angewendet. Dieser Test eignet sich besonders gut für kleine Fallzahlen, wie sie hier zur Auswertung vorliegen. Der Test kann bei unabhängigen Stichproben eingesetzt werden. Ein besonderer Vorteil gegenüber anderen statistischen Tests besteht darin, dass für die zu bestimmenden Messgrößen keine Normalverteilung vorausgesetzt wird. Falls die Verteilungen der Messgrößen annähernd gleiche Wölbungen aufweisen, ist der Test relativ trennscharf.

## 4. Ergebnisse

Im folgenden werden die Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests für die Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD getrennt dargestellt. Dabei wird der Verlauf der Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin sowie die Ratio Phe/Tyr einzeln aufgeführt. Im Anschluss daran werden die Mittelwerte der verschiedenen Gruppen miteinander und mit Kontrollen anderer Studien verglichen. Abschließend werden die individuellen Werte der einzelnen Dystonie-Formen zu den verschiedenen Messzeitpunkten miteinander verglichen.

### 4.1 Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit F-ITD

#### 4.1.1 Verlauf der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit F-ITD

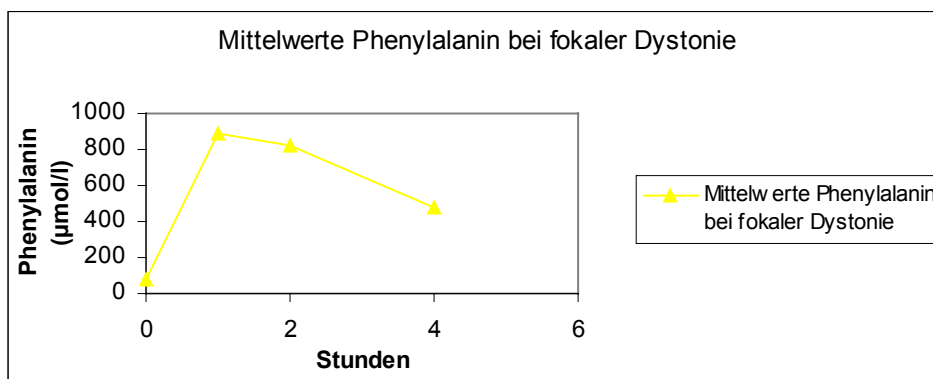


Abbildung 4: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit F-ITD

In Abbildung 4 ist der Verlauf der Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit F-ITD dargestellt. In den Tabellen 1 und 4 (siehe Anhang) sind die Phenylalanin-Plasmaspiegel der einzelnen Patienten mit F-ITD sowie die Mittelwerte aufgeführt.

Bei der isolierten Betrachtung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit F-ITD erkennt man, dass der Ausgangswert der Aminosäure Phenylalanin bei 9 von 10 Patienten in einem Bereich liegt, wie er auch bei Kontrollen einer anderer Studie gemessen wurde (Bremer et al., 1966). Im Durchschnitt liegt er bei 80,74 µmol (Standardabweichung 26,51 µmol/l) und nimmt Werte zwischen 58,3 und 89,2 µmol/l an. Nur bei einer Patientin erreicht der Ausgangswert einen dreistelligen Wert mit 148,7 µmol/l. Der durchschnittliche Plasmaspiegel eine Stunde nach Belastung liegt bei 892 µmol/l. Dies ist der höchste Wert

dieses Parameters, der im Verlauf des vierstündigen Tests erreicht wird. Die Standardabweichung von  $428,99 \mu\text{mol/l}$  weist auf die breite Streuung der Resultate nach einer Stunde hin. Der niedrigste Wert liegt bei  $438 \mu\text{mol/l}$ , wobei der höchste bei  $1642,7 \mu\text{mol/l}$  liegt. Auffällig ist, dass 2 der 10 getesteten Patienten mit F-ITD einen Wert weit über  $1000 \mu\text{mol/l}$  zeigen, während die restlichen 8 Patienten deutlich darunter liegen. Keine wesentlichen Veränderungen ergeben sich bei der Analyse der Plasmaspiegel 2 Stunden nach Belastung mit Phenylalanin. Auch hier findet man im Vergleich zum Ausgangswert stark erhöhte Werte. Im Durchschnitt kann ein Wert von  $824,66 \mu\text{mol/l}$  beobachtet werden. Im Vergleich zum 1-Stunden-Wert kann somit ein geringfügiger Abfall der Aminosäure verzeichnet werden. Durch die beiden „Ausreißer“ fällt die Standardabweichung mit  $457,74 \mu\text{mol/l}$  ebenfalls recht hoch aus.

Betrachtet man die Ergebnisse, die man nach der 4. Blutentnahme erhält, fällt auf, dass bei allen untersuchten Patienten ein im Vergleich zum 1 bzw. 2-Stunden-Wert deutlich niedrigerer Plasmaspiegel von Phenylalanin vorliegt. Der Durchschnittswert beträgt zu diesem Messzeitpunkt  $476,08 \mu\text{mol/l}$ , wobei die Standardabweichung mit  $341,45 \mu\text{mol/l}$  niedriger liegt als die beiden Standardabweichungen zum Zeitpunkt 1 bzw. 2 Stunden nach Belastung

#### 4.1.2 Verlauf der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit F-ITD

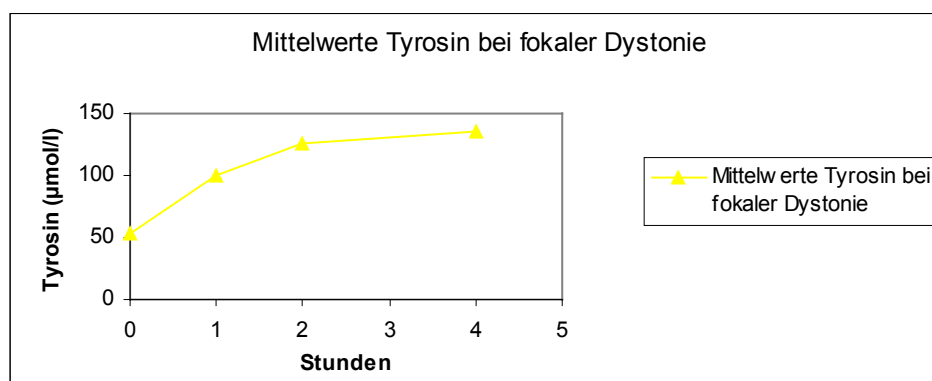


Abbildung 5: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit F-ITD

In Abbildung 5 ist der Verlauf der Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit F-ITD dargestellt. In den Tabellen 1 und 4 (siehe Anhang) sind die Tyrosin-Plasmaspiegel der einzelnen Patienten mit F-ITD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Der Ausgangswert von

Tyrosin vor Belastung mit Phenylalanin liegt mit durchschnittlich  $53,56 \pm 18,55 \mu\text{mol/l}$  etwas unter der Aminosäure Phenylalanin. Im Gegensatz zu dem Nullwert bei Phenylalanin konnte bei keinem Patienten für Tyrosin eine deutliche Abweichung festgestellt werden, die Werte rangieren zwischen  $41,5$  und  $92,3 \mu\text{mol/l}$ . Die Patientin, bei der der Ausgangswert für Phenylalanin deutlich erhöht ist, zeigt einen auffällig niedrigen Tyrosinwert ( $42,4 \mu\text{mol/l}$ ). 1 Stunde nach Belastung kann bei allen Patienten eine Erhöhung des Tyrosinspiegels beobachtet werden, der mit einem Durchschnittswert von  $100,12 \pm 17,75 \mu\text{mol/l}$  aber deutlich unter dem 1-Stunden-Wert von Phenylalanin liegt. Während der Plasmaspiegel von Phenylalanin um mehr als das 10-fache ansteigt, liegt bei Tyrosin zu diesem Zeitpunkt nur eine Verdoppelung vor. 2 Stunden nach Durchführung des Tests steigt der Tyrosinspiegel im Blut weiterhin an. Der Durchschnittswert liegt bei  $125,81 \pm 31,20 \mu\text{mol/l}$ . Auch hier unterscheiden sich die Ergebnisse im Vergleich zu den Phenylalaninspiegeln, wo bereits ein Maximum nach einer Stunde gemessen werden kann. Dieser Höchstwert wird für Tyrosin erst nach 4 Stunden erreicht, wo die mittleren Plasmaspiegel bei  $135,84 \mu\text{mol/l}$  liegen. Die für Tyrosin errechnete höchste Standardabweichung von  $60,78 \mu\text{mol/l}$  ist jedoch ein Hinweis dafür, dass eine breitere Streuung der Werte zu diesem Zeitpunkt vorliegt. Eine Patientin bildet eine Ausnahme, bei ihr kann ein maximaler Tyrosinwert bereits nach 2 Stunden gemessen werden.

#### 4.1.3 Analyse der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit F-ITD

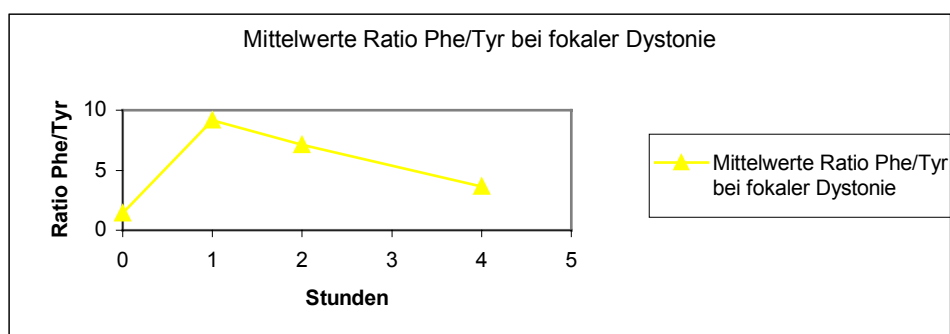


Abbildung 6: Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit F-ITD

In Abbildung 6 ist der Verlauf der Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit F-ITD dargestellt. In den Tabellen 1 und 4 (siehe Anhang) sind die Ratio-Profile der einzelnen Patienten mit F-ITD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Die Ratio Phe/Tyr zum Zeitpunkt 0 (vor Belastung) bei Patienten mit F-ITD liegt bei  $1,41 \pm 0,82$ . Nach einer Stunde zeigen die

Patienten eine erhöhte Ratio von  $9,14 \pm 5,17$ , dies bedeutet einen mittleren Prozentanstieg von  $716,1 \pm 328,1$  %. Dieser Anstieg stellt bei den getesteten Patienten auch gleichzeitig ein Maximum dar. Nach 2 Stunden ist bereits ein Abfall der Ratio zu erkennen ( $7,1 \pm 5,02$ ), der mittlere Prozentanstieg im Vergleich zum Ausgangswert liegt noch bei  $554,7$  %. Der 4-Stunden-Wert geht mit einem noch deutlicheren Abfall der Ratio einher ( $3,63 \pm 14,59$ ). Gemessen am Ausgangswert entspricht dies einem durchschnittlichen Prozentanstieg von  $265,7 \pm 182,44$  %.

Bei 2 der 10 getesteten Patienten mit F-ITD kann jedoch einer von den Kontrollen abweichender Test nachgewiesen werden. Der Ausgangswert ist bis auf eine leichte Erhöhung bei einer der beiden Patienten noch unauffällig. Nach zwei Stunden zeigen beide Patienten jedoch eine erhöhte Ratio, wie sie z.B. bei DRD vorkommt (Hyland et al., 1997). Diese erhöhte Ratio bleibt auch nach 2 bzw. 4 Stunden bestehen, wenngleich beim 4-Stunden Wert auch hier ein Abfall der Ratio beobachtet werden kann.

## 4.2 Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit G-ITD

### 4.2.1 Verlauf der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit G-ITD

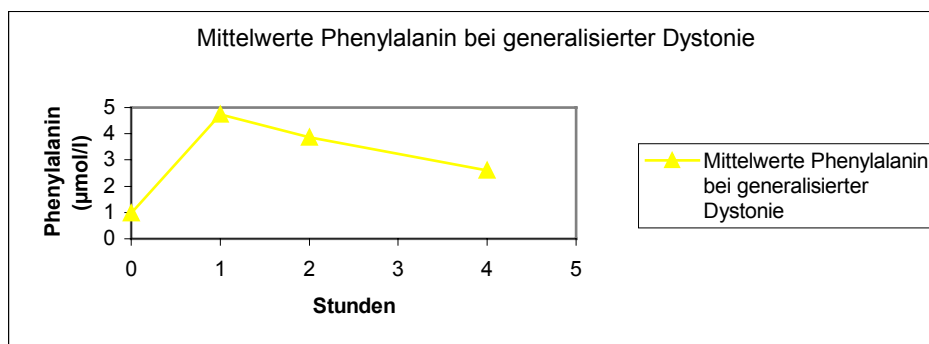


Abbildung 7: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit G-ITD

Der Verlauf der Mittelwerte bei Patienten mit G-ITD ist in Abbildung 7 dargestellt. In den Tabellen 2 und 5 (siehe Anhang) sind die Phenylalanin-Plasmaspiegel der einzelnen Patienten mit G-ITD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Der Verlauf der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit G-ITD zeigt einige Parallelen zu dem bei Patienten mit F-ITD. Auch hier kann man einen unauffälligen Ausgangswert beobachten, der Werte zwischen  $43,9 \mu\text{mol/l}$  und  $87,2 \mu\text{mol/l}$  annimmt. Der Durchschnittswert ist mit  $65,66 \pm 14,11 \mu\text{mol/l}$  etwas niedriger

angesiedelt als bei F-ITD. 1 Stunde nach Belastung kann ein Anstieg des Plasmaspiegels von Phenylalanin festgestellt werden, der mit  $572,45 \pm 266,36 \mu\text{mol/l}$  im Durchschnitt aber unauffällig ist. Genau wie bei F-ITD stellt der nach einer Stunde gemessene Wert ein Maximum dar. Dieser Höchstwert liegt unter dem bei F-ITD, wobei darauf hingewiesen muss, dass 2 der 10 getesteten Patienten mit F-ITD einen deutlich erhöhten 1-Stunden-Wert aufweisen. Dadurch fällt der Mittelwert dort insgesamt höher aus. Bei den Patienten mit G-ITD zeigt keiner zu diesem Zeitpunkt ein auffälliges Ergebnis. Dies macht auch die im Vergleich niedrigere Standardabweichung deutlich. 2 Stunden nach Belastung lässt sich ein ähnlich hoher Phenylalaninspiegel nachweisen. Der Mittelwert von  $533,36 \pm 257,37 \mu\text{mol/l}$  macht deutlich, dass nur ein sehr geringer Abfall der Aminosäure vorliegt. Auch hier ist der Verlauf ähnlich dem der Patienten mit F-ITD, die nach 2 Stunden ebenfalls einen minimalen Abfall von Phenylalanin zeigen. Deutlich erkennbar ist das Absinken erst nach 4 Stunden, wo nur noch ein durchschnittlicher Wert von  $315,39 \pm 178,97 \mu\text{mol/l}$  erreicht wird. Dies entspricht auch annähernd dem 4-Stunden-Wert bei Patienten mit F-ITD, der nur etwas höher liegt.

#### 4.2.2 Verlauf der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit G-ITD

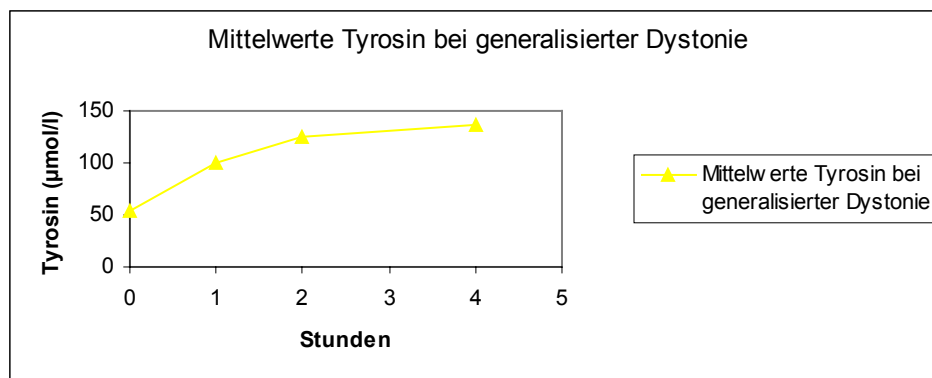


Abbildung 8: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit G-ITD

Der Verlauf der Aminosäure Tyrosin ist in Abbildung 8 dargestellt. In den Tabellen 2 und 5 (siehe Anhang) sind die Tyrosin-Plasmaspiegel der einzelnen Patienten mit G-ITD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Der Ausgangswert der Aminosäure Tyrosin vor Belastung mit Phenylalanin liegt mit  $65,66 \pm 14,11 \mu\text{mol/l}$  etwa in der Höhe des Phenylalaninspiegels vor Belastung. Im Vergleich zu Patienten mit F-ITD ist wieder eine Parallele zu erkennen, wobei der Ausgangswert unwesentlich höher liegt. Insgesamt rangieren die Werte zwischen 35,2 und



110,7  $\mu\text{mol/l}$ . 1 Stunde nach Belastung ist der Tyrosinspiegel bei den Patienten mit G-ITD im Durchschnitt auf 130,93  $\pm$  36,54  $\mu\text{mol/l}$  angestiegen, trotzdem ist dieser Anstieg verglichen mit dem 1-Stunden-Wert von Phenylalanin als geringfügig zu betrachten. Während der Plasmaspiegel für Phenylalanin wie auch schon bei F-ITD um das ca.10-fache ansteigt, beobachtet man für Tyrosin zu diesem Zeitpunkt nur eine Verdoppelung der Werte. 2 Stunden nach Durchführung des Tests steigt der Tyrosinspiegel im Blut weiter an und erreicht sein Maximum (144,61  $\pm$  43,71  $\mu\text{mol/l}$ ). Im Vergleich zu den Ergebnissen für den Parameter Phenylalanin, wo der Höchstwert sowohl bei F-ITD als auch bei G-ITD nach einer Stunde gemessen wird, liegt bei der Tyrosinbestimmung ein verzögerter Anstieg vor. Dieser fällt aber wie schon der 1-Stunden-Wert wesentlich niedriger aus als der diesem Zeitpunkt entsprechende Phenylalaninspiegel. 4 Stunden nach Belastung ist der Tyrosinspiegel bei Patienten mit G-ITD dem der mit F-ITD nahezu identisch und liegt im Durchschnitt bei 136,2  $\pm$  67,81  $\mu\text{mol/l}$ . Die Standardabweichung macht deutlich, dass nach 4 Stunden eine breite Streuung der Werte vorliegt, wie sie auch bei F-ITD nachweisbar ist.

#### 4.2.3 Analyse der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit G-ITD

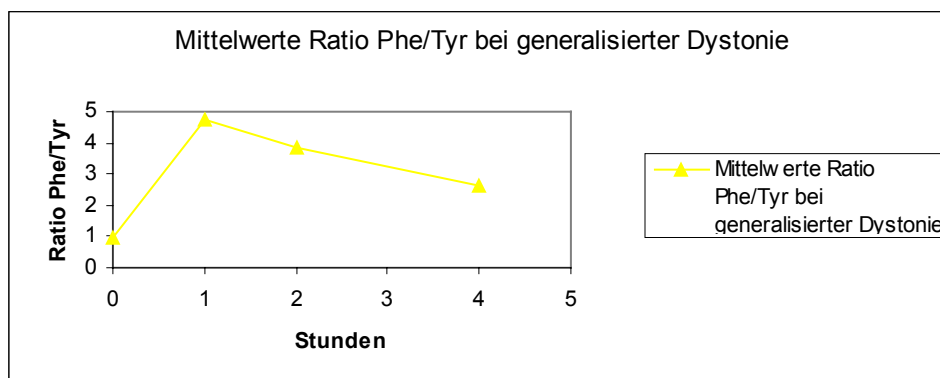


Abbildung 9: Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit G-ITD

Der Verlauf der Ratio bei Patienten mit G-ITD ist in Abbildung 9 dargestellt. In den Tabellen 2 und 5 (siehe Anhang) sind die Ratio-Profile der einzelnen Patienten mit G-ITD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Das Verhältnis des Quotienten Phe/Tyr nimmt bei Patienten mit G-ITD zum Zeitpunkt 0 (vor Belastung) einen Mittelwert von 0,98  $\pm$  0,17 an. Dies entspricht den Werten, wie sie auch bei den Patienten mit F-ITD vor Belastung beobachtet werden. 1 Stunde nach Belastung zeigen alle Patienten eine erhöhte Ratio, die bei 4,73  $\pm$  2,6 liegt. Dies

bedeutet gegenüber dem Nullwert einen mittleren Prozentanstieg von  $472,1 \pm 192,05 \%$ . Damit liegt die Ratio zu diesem Zeitpunkt deutlich unter der bei F-ITD. Dort ist der mittlere Prozentanstieg 1 Stunde nach Belastung deutlicher zu erkennen. Trotzdem werden auch bei den getesteten Patienten mit G-ITD im Verlauf des Belastungstests zu keinem weiteren Zeitpunkt höhere Werte für die Ratio erreicht. Bereits nach 2 Stunden erkennt man einen Abfall der Ratio. Diese liegt bei  $3,87 \pm 1,91$ , der mittlere Prozentanstieg in bezug auf den Nullwert beträgt  $390,7 \pm 153,63 \%$ . Wie schon 1 Stunde nach Belastung ist die Ratio damit immer noch erhöht, sie erreicht aber nicht die Höhe der Werte der Patienten mit F-ITD. Gemeinsam ist beiden Gruppen allerdings, dass die Werte in einem Bereich liegen, wie sie auch bei Gesunden zu finden sind. 4 Stunden nach Durchführung des Tests ist ein weiterer Abfall der Ratio zu erkennen ( $2,61 \pm 1,36$ ). Im Vergleich zu dem bei dieser Gruppe erhaltenen Wert vor Belastung beträgt der mittlere Prozentanstieg nur noch  $271,0 \pm 142,68 \%$ . Dies entspricht auch fast genau dem 4-Stunden-Wert bei Patienten mit F-ITD. Dadurch wird deutlich, dass bei den Patienten mit G-ITD der Abfall der Ratio anscheinend langsamer verläuft und weniger stark ausgeprägt ist.

### 4.3 Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit DRD

#### 4.3.1 Verlauf der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit DRD

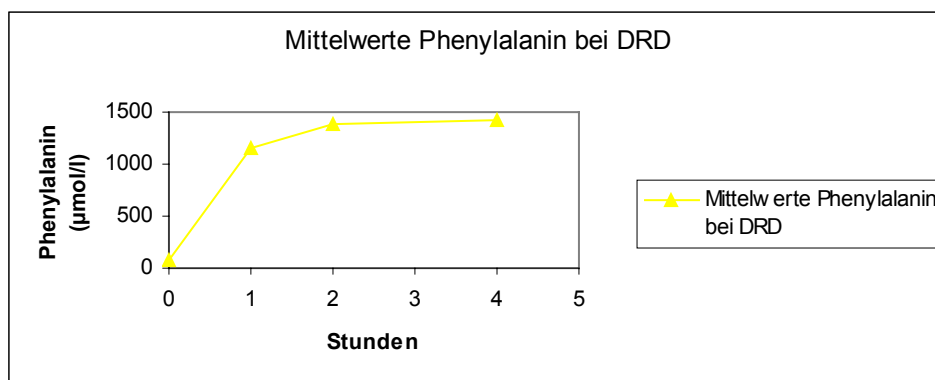


Abbildung 10: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit DRD

Der Verlauf der Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei Patienten mit DRD ist in Abbildung 10 dargestellt. In den Tabellen 3 und 6 (siehe Anhang) sind die Phenylalanin-Plasmaspiegel der einzelnen Patienten mit DRD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Im Gegensatz zu den Patienten mit F-ITD und G-ITD, bei denen insgesamt 18 von 20 getesteten

Personen unauffällige Phenylalanin-Plasmaspiegel zeigen, sind die Ergebnisse bei den DRD-Patienten durchweg auffällig. Nur beim Ausgangswert sind die Resultate vergleichbar mit denen bei den anderen Formen der Dystonie. Es kann ein Mittelwert von  $84,19 \pm 16,80 \mu\text{mol/l}$  gemessen werden. Ein ähnlicher Wert vor Belastung wird auch bei Patienten mit F-ITD festgestellt, der Nullwert bei G-ITD ist geringfügig niedriger. 1 Stunde nach Belastung kann bei allen Patienten ein drastischer Anstieg des Phenylalaninspiegels beobachtet werden. Mit einem Durchschnittswert von  $1148,68 \pm 335,22 \mu\text{mol/l}$  liegen die Werte nach einer Stunde weit über denen bei F-ITD und G-ITD. Dieser stark erhöhte Anstieg setzt sich nach 2 Stunden noch weiter fort und erreicht einen Mittelwert von  $1388,70 \pm 296,39 \mu\text{mol/l}$ . Auch hier erkennt man einen deutlichen Unterschied zu den anderen Dystonie-Formen, wo nach 2 Stunden bereits ein leichter Abfall der Phenylalaninspiegel festgestellt werden kann. Höchstwerte werden bei Patienten mit DRD im Durchschnitt nach 4 Stunden erreicht. Der Mittelwert liegt bei  $1425,02 \pm 361,56 \mu\text{mol/l}$ . Vergleicht man die absoluten Werte der einzelnen Patienten, stellt man fest, dass 6 der 10 getesteten Patienten mit DRD ihren höchsten Phenylalaninspiegel nach 2 Stunden aufweisen. Durch die extrem hohen 4-Stunden-Werte der anderen 4 Patienten liegt der höchste erreichte Wert jedoch im Durchschnitt erst zu einem späteren Zeitpunkt.

#### 4.3.2 Verlauf der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit DRD

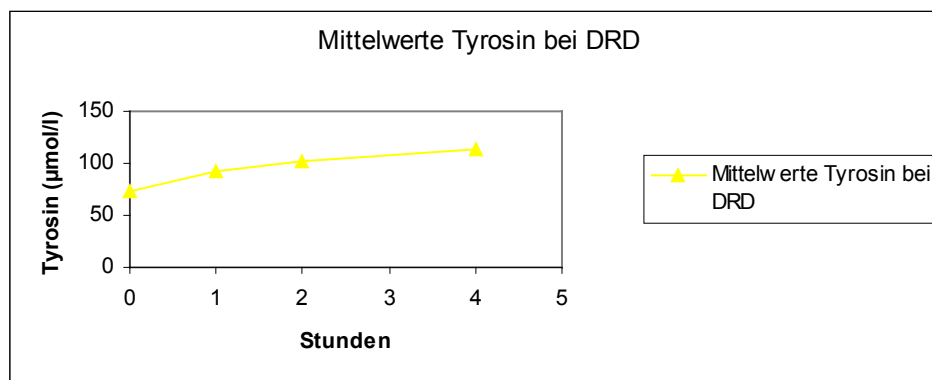


Abbildung 11: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit DRD

Der Verlauf der Tyrosin-Mittelwerte ist in Abbildung 11 dargestellt. In den Tabellen 3 und 6 (siehe Anhang) sind die Tyrosin-Plasmaspiegel der einzelnen Patienten mit DRD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Betrachtet man die Plasmaspiegel der Aminosäure Tyrosin bei Patienten mit DRD, so ist kein signifikanter Unterschied im Vergleich zu den Ergebnissen bei

Patienten mit F-ITD und G-ITD feststellbar. Der Ausgangswert vor Belastung liegt mit  $74,00 \pm 28,07 \mu\text{mol/l}$  in einem Bereich, wie er auch bei Gesunden feststellbar ist. Zu diesem Zeitpunkt werden bei den anderen Formen der Dystonie nur geringfügig höhere Werte gemessen. 1 Stunde nach Belastung, wo der Phenylalaninspiegel der DRD-Patienten drastisch ansteigt, sind die Tyrosinwerte im Vergleich dazu nur minimal erhöht. Es wird ein mittlerer Wert von  $92,63 \pm 28,69 \mu\text{mol/l}$  erzielt. Im weiteren Verlauf ändern sich diese auch nicht erheblich. So kann 2 Stunden nach Durchführung des Tests ein weiterer Anstieg beobachtet werden, der aber erneut nur als geringfügig zu betrachten ist ( $101,04 \pm 31,49 \mu\text{mol/l}$ ). Sowohl bei Patienten mit F-ITD als auch mit G-ITD liegt der Tyrosinwert zu diesem Zeitpunkt höher. Dies gilt auch für den 4-Stunden-Wert, wo der Tyrosinspiegel mit  $114,27 \pm 40,06 \mu\text{mol/l}$  zwar seinen Höchstwert erzielt, im Vergleich zum 2-Stunden-Wert aber kaum eine Veränderung zeigt. Insgesamt machen die Resultate der DRD-Patienten deutlich, dass ein deutlich erhöhter Phenylalaninspiegel einen in Relation dazu erniedrigten Tyrosinspiegel zur Folge hat.

#### 4.3.3 Analyse der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit DRD

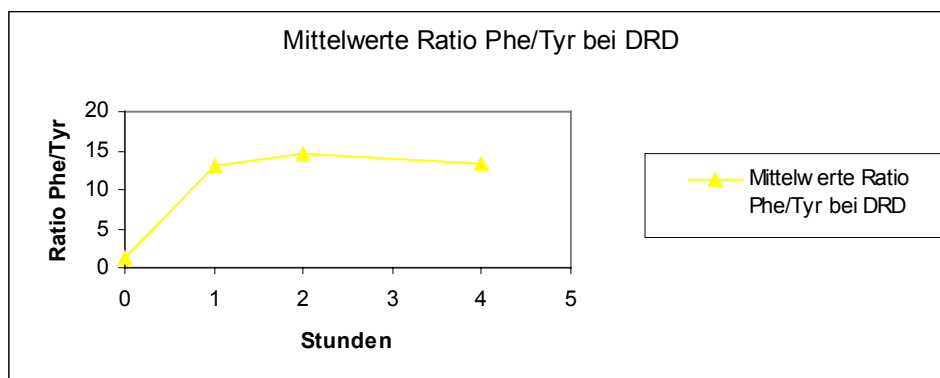


Abbildung 12: Verlauf der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit DRD

Der Verlauf der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit DRD ist auch in Abbildung 12 dargestellt. In den Tabellen 3 und 6 (siehe Anhang) sind die Ratio-Profile der einzelnen Patienten mit DRD sowie die Mittelwerte aufgeführt. Bei der Analyse der Ratio von Patienten mit DRD wird der auffällige Verlauf besonders deutlich sichtbar. Der Ausgangswert liegt in einem Bereich, wie er bei Patienten mit F-ITD und G-ITD gemessen wird ( $1,28 \pm 0,51$ ). 1 Stunde nach Belastung mit Phenylalanin sind die Ratio-Werte im Vergleich zu Kontrollen stark erhöht. Es

wird ein Mittelwert von  $13,15 \pm 4,91$  erreicht, dies bedeutet einen Anstieg von  $1056,3 \pm 362,8$  %. Bei keinem der Patienten mit G-ITD und nur bei 2 der 10 getesteten Patienten mit F-ITD kann zu diesem Zeitpunkt ein so steiler Anstieg der Ratio beobachtet werden. 2 Stunden nach Durchführung des Tests ist der Quotient Phe/Tyr am größten, da zu diesem Zeitpunkt der Phenylalaninspiegel im Blut die höchsten Werte annimmt und der Tyrosinspiegel im Verhältnis dazu kaum ansteigt. Gegenüber dem Ausgangswert beträgt der durchschnittliche Anstieg nach 2 Stunden  $1242,0 \pm 348,28$  % und liegt damit weit über den Ratio-Werten bei den anderen Formen der Dystonie. 4 Stunden nach Belastung erkennt man nur einen minimalen Abfall der Ratio, die Werte bleiben weiterhin deutlich erhöht ( $13,39 \pm 4,85$ ). Der mittlere Prozentanstieg erreicht mit  $1141,1 \pm 423,57$  % einen gegenüber dem Ausgangswert immer noch so hohen Anstieg, wie er bei allen getesteten Patienten im Durchschnitt nur bei DRD-Patienten vorkommt.

#### 4.4. Mittelwerte der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich

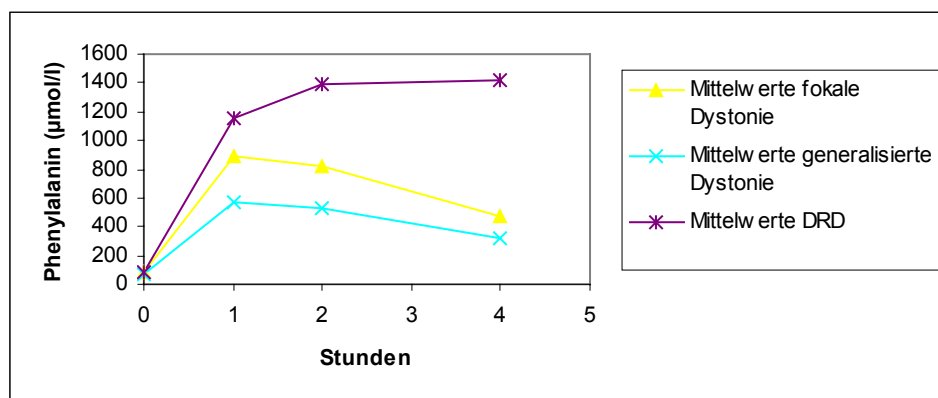
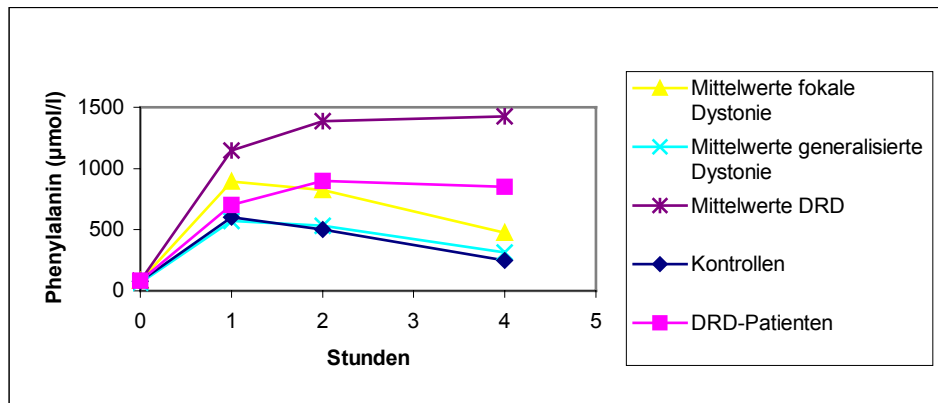
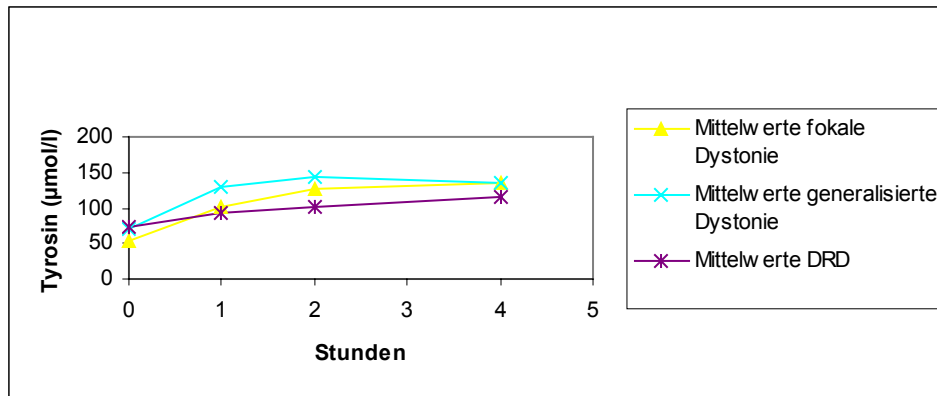


Abbildung 13: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei den verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich untereinander

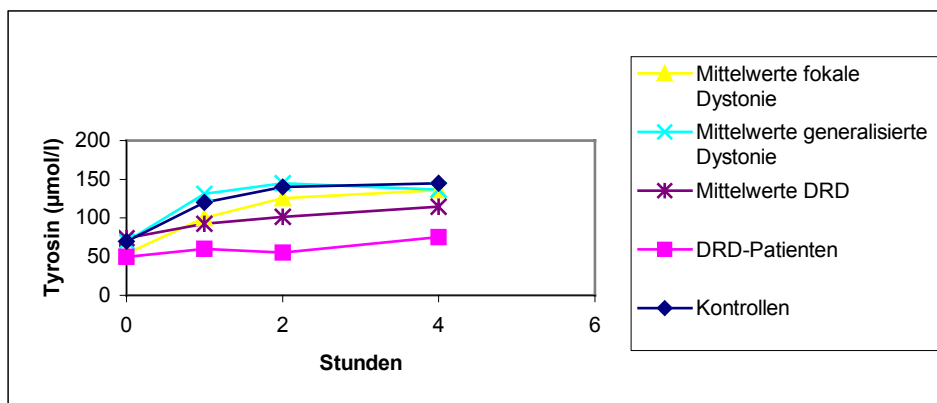


**Abbildung 14: Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich mit Kontrollen**

Auf den Abbildungen 13 und 14 sind die Mittelwerte der Aminosäure Phenylalanin bei F-ITD, G-ITD und DRD im Vergleich untereinander sowie im Vergleich mit Kontrollen dargestellt. Während die Ausgangswerte in allen Gruppen auf einem ähnlichen Niveau liegen, zeigen sich zu allen Zeitpunkten nach Belastung deutliche Unterschiede bei den einzelnen Formen der Dystonie. Man erkennt, dass bei DRD-Patienten die Phenylalanin-Plasmaspiegel 1, 2 und 4 Stunden deutlich erhöht sind, wobei ein Maximum nach 4 Stunden erreicht wird. Sie sind verglichen mit den Werten bei Patienten mit G-ITD 1 ( $p = 0,0032$ ), 2 ( $p = 0,0002$ ) und 4 Stunden ( $p = 0,0002$ ) nach Belastung signifikant erhöht. Gegenüber Patienten mit F-ITD konnten signifikante Ergebnisse nach 2 ( $p = 0,0156$ ) und 4 Stunden ( $p = 0,0002$ ) erzielt werden, nicht jedoch nach 1 Stunde ( $p = 0,1736$ ). Gemeinsam ist Patienten mit F-ITD und G-ITD, dass die Werte zu jedem Messzeitpunkt mit Kontrollwerten anderer Studien (Bremer et al., 1966) vergleichbar sind. Ein Maximum wird bei diesen beiden Formen der Dystonie bereits nach einer Stunde gemessen, danach erkennt man einen Abfall der Phenylalanin-Plasmaspiegel. Insgesamt liegen die gemessenen Werte während des gesamten Zeitraums bei G-ITD etwas unter denen der Patienten mit F-ITD.



**Abbildung 15: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich untereinander**



**Abbildung 16: Mittelwerte der Aminosäure Tyrosin der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich mit Kontrollen**

Die Mittelwerte der Tyrosinspiegel von Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD im Vergleich untereinander sowie mit Kontrollen sind in den Abbildungen 15 und 16 dargestellt. Der Verlauf dieser Aminosäure ist bei den verschiedenen Dystonie-Formen dem Verlauf der Phenylalanin-Plasmaspiegel entgegengesetzt. DRD-Patienten zeigen einen unauffälligen Ausgangswert und haben auch nach Belastung einen Tyrosinspiegel, wie er bei Gesunden gemessen wird. Im Vergleich zu Patienten mit F-ITD und G-ITD sind die Werte sogar erniedrigt. Der Höchstwert kann bei DRD-Patienten nach 4 Stunden gemessen werden, wobei die Tyrosinwerte zu den verschiedenen Zeitpunkten kaum variieren. Patienten mit F-ITD und G-ITD haben ebenfalls einen unauffälligen Ausgangswert. Auch 1, 2 und 4 Stunden nach Belastung befindet sich der Tyrosinspiegel in einem Bereich, wie er auch bei Kontrollen

(Bremer et al., 1966) gemessen wird. Bei Patienten mit G-ITD liegen die Werte zu jedem Zeitpunkt nach Belastung etwas unter denen der Patienten mit F-ITD. Auch hier ist im Vergleich zum Phenylalanin Spiegel ein umgekehrter Verlauf zu erkennen. Bei allen Formen der Dystonie sind die Tyrosinwerte vergleichbar, wobei DRD-Patienten die niedrigsten Tyrosin Spiegel aufweisen.

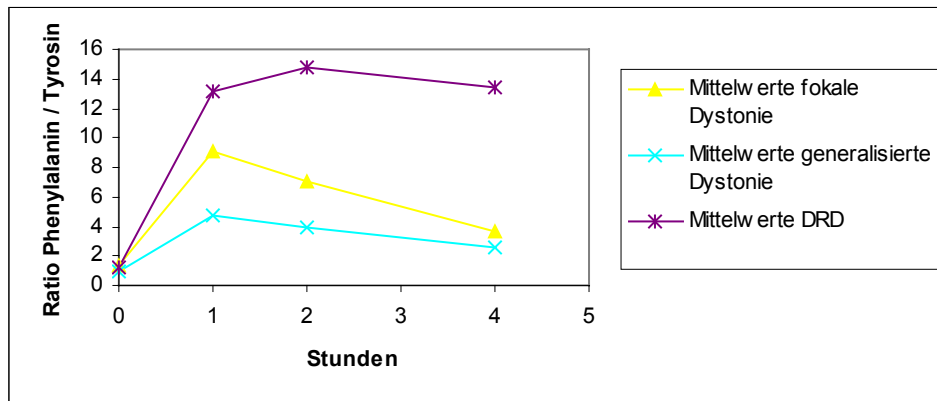


Abbildung 17: Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich

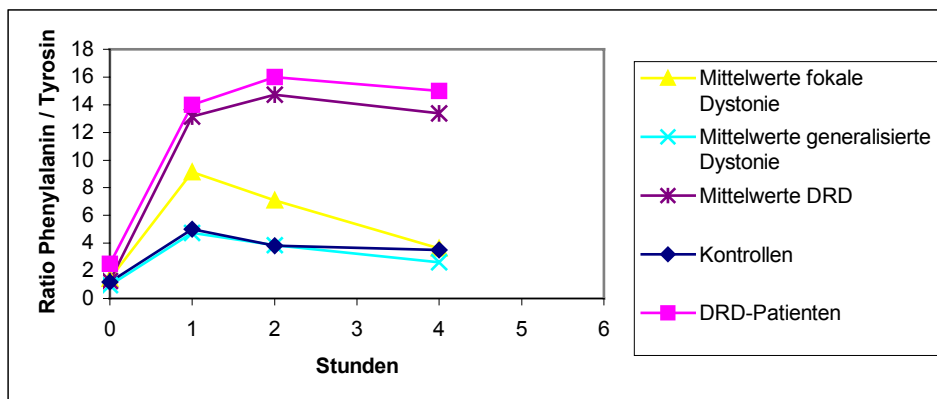


Abbildung 18: Mittelwerte der Ratio Phe/Tyr der verschiedenen Dystonie-Formen im Vergleich mit Kontrollen

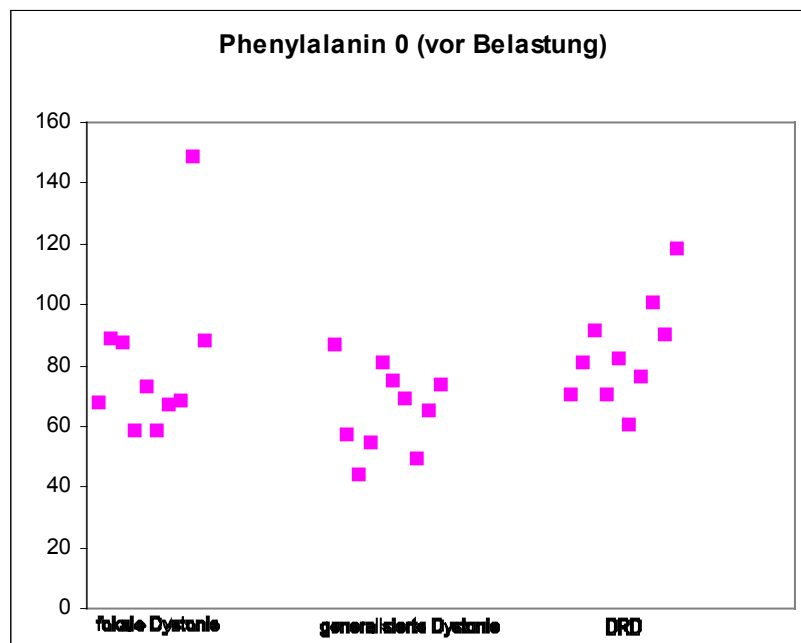
Der Verlauf der Ratio-Mittelwerte des Quotienten Phe/Tyr von Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD im Vergleich untereinander sowie im Vergleich mit Kontrollen ist in den Abbildungen 17 und 18 dargestellt. Man erkennt in den einzelnen Gruppen große Parallelen zum Verlauf der Phenylalanin-Plasmaspiegel. Der Ausgangswert ist bei allen Patienten



unauffällig. Patienten mit DRD zeigen 1, 2 und 4 Stunden nach Beginn des Tests deutlich erhöhte Ratio-Profile, wobei ein Maximum nach 2 Stunden erreicht wird. Fast identische Werte wurden auch bei DRD-Patienten einer andere Studie gemessen (Hyland et al., 1997). Im Vergleich zu Patienten mit F-ITD und G-ITD sind die Ratio-Profile sowohl nach 1 ( $p = 0,0413$  bzw.  $p = 0,0007$ ), 2 ( $p = 0,0052$  bzw.  $0,0002$ ) und 4 Stunden ( $p = 0,0082$  bzw.  $p = 0,0002$ ) signifikant erhöht. Die Patienten dieser beiden Gruppen zeigen zu jedem Zeitpunkt nach Belastung eine Ratio Phe/Tyr, wie sie auch bei Kontrollen (Bremer et al., 1966) beobachtet wird. Höchstwerte werden bei diesen Formen der Dystonie bereits nach 1 Stunde nachgewiesen, wobei die Werte bei Patienten mit F-ITD während des gesamten Tests über denen der Kontrollwerte und denen der Patienten mit G-ITD liegen.

#### 4.5 Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

##### 4.5.1 Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte vor Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD



**Abbildung 19: Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen vor Belastung**

In Abbildung 19 sind die absoluten Phenylalanin-Werte der einzelnen Dystonie-Formen vor Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms dargestellt. Die Plasmaspiegel der Patienten mit F-ITD bewegen sich zu diesem Zeitpunkt zwischen 58,3  $\mu\text{mol/l}$  und 148  $\mu\text{mol/l}$ . Ähnliche Werte findet man bei Patienten mit G-ITD. Dort bewegen sich die Phenylalanin-Plasmaspiegel zwischen 43,9  $\mu\text{mol/l}$  und 87,2  $\mu\text{mol/l}$ . Auch bei DRD-Patienten zeigt sich ein im Vergleich zu Patienten mit F-ITD und G-ITD ähnliches Bild. Der niedrigste gemessene Wert liegt bei 70,4  $\mu\text{mol/l}$ , der höchste Wert befindet sich bei 118,4  $\mu\text{mol/l}$ .

#### 4.5.2 Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte 1 Stunde nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

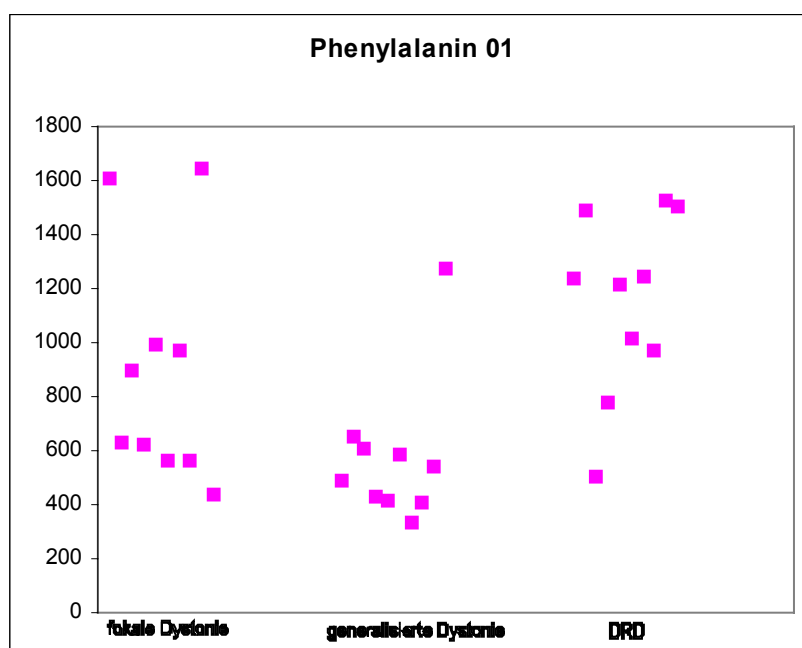


Abbildung 20: Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 1 Stunde nach Belastung

In Abbildung 20 sind die absoluten Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 1 Stunde nach Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms dargestellt. Die Plasmaspiegel der Patienten mit F-ITD bewegen sich zu diesem Zeitpunkt zwischen 438  $\mu\text{mol/l}$  und 1642,7  $\mu\text{mol/l}$  und sind somit erhöht. Die Werte liegen dennoch überwiegend in einem Bereich, wie er auch bei Gesunden gemessen wird. Die zwei höchsten

erreichten Plasmaspiegel in dieser Gruppe liegen ein Vielfaches über den anderen Messungen (1606,7  $\mu\text{mol/l}$  bzw. 1642,7  $\mu\text{mol/l}$ ). Die Werte bei Patienten mit G-ITD sind eine Stunde nach Belastung ebenfalls erhöht. Dort bewegen sich die Phenylalanin-Plasmaspiegel zwischen 333,2  $\mu\text{mol/l}$  und 1273,9  $\mu\text{mol/l}$ . Nur der höchste gemessene Wert weicht deutlich von den anderen ab. Bei DRD-Patienten zeigt sich 1 Stunde nach Belastung eine gegenüber Patienten mit F-ITD und G-ITD ähnliche Verteilung der Werte. Der niedrigste gemessene Wert liegt bei 504  $\mu\text{mol/l}$ , der höchste Wert befindet sich bei 1525,6  $\mu\text{mol/l}$ .

#### 4.5.3 Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte 2 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

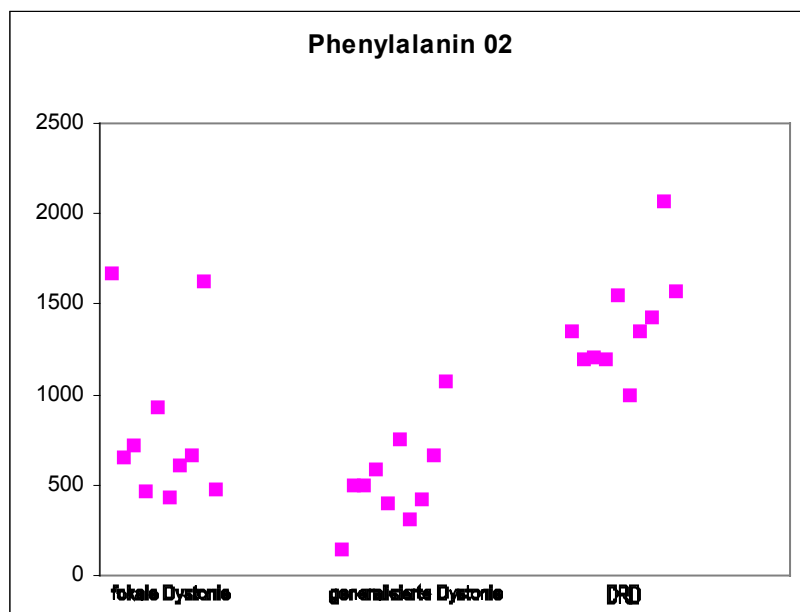


Abbildung 21: Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 2 Stunden nach Belastung

In Abbildung 21 sind die absoluten Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 2 Stunden nach Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms dargestellt. Es ist eine beginnende Auftrennung der Werte in den verschiedenen Gruppen zu erkennen. Die Plasmaspiegel der Patienten mit F-ITD bewegen sich zu diesem Zeitpunkt zwischen 432,7  $\mu\text{mol/l}$  und 1667,7  $\mu\text{mol/l}$  und sind erneut erhöht. Die Werte liegen dennoch überwiegend in einem Bereich, wie er auch bei Gesunden gemessen wird. Die zwei höchsten erreichten Plasmaspiegel in dieser Gruppe sind allerdings sehr auffällig (1628,6  $\mu\text{mol/l}$  bzw.

1667,6  $\mu\text{mol/l}$ ). Die Werte bei Patienten mit G-ITD sind zwei Stunden nach Belastung ebenfalls erhöht. Dort bewegen sich die Phenylalanin-Plasmaspiegel zwischen 139,1  $\mu\text{mol/l}$  und 1071,6  $\mu\text{mol/l}$ . Nur der höchste gemessene Wert weicht deutlich von den anderen ab. Alle getesteten DRD-Patienten zeigen 2 Stunden nach Belastung weiterhin deutlich erhöhte Phenylalanin-Plasmaspiegel. Der niedrigste gemessene Wert liegt bei 991  $\mu\text{mol/l}$ , der höchste Wert befindet sich bei 2065,4  $\mu\text{mol/l}$ .

#### 4.5.4 Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte 4 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

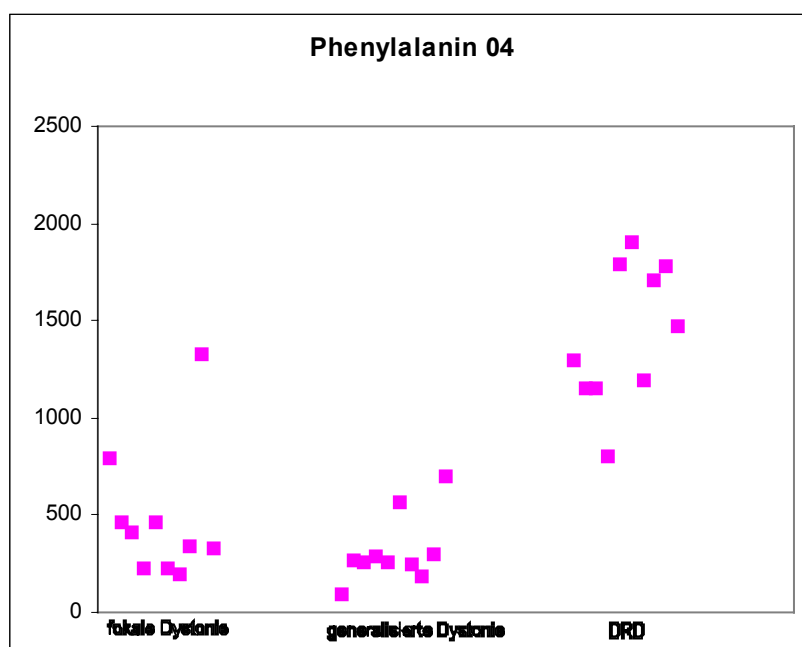


Abbildung 22: Vergleich der individuellen Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 4 Stunden nach Belastung

In Abbildung 22 sind die absoluten Phenylalanin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 4 Stunden nach Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms dargestellt. Die Unterschiede in den einzelnen Gruppen werden nun deutlicher sichtbar. Bei Patienten mit F-ITD befinden sich die Werte zu diesem Zeitpunkt zwischen 191,7  $\mu\text{mol/l}$  und 1327,7  $\mu\text{mol/l}$ . Dieser Höchstwert stellt den einzigen stark abweichenden Wert dieser Dystonie-Form 4 Stunden nach Belastung dar. Der Phenylalanin-Plasmaspiegel bei G-ITD ist zu diesem Zeitpunkt bei allen getesteten Patienten unauffällig. Der niedrigste Wert liegt bei

94,4  $\mu\text{mol/l}$ , der Höchstwert von 698,5  $\mu\text{mol/l}$  liegt noch unter dem niedrigsten Wert bei DRD-Patienten. Dort sind alle Werte 4 Stunden nach Belastung auffällig, sie liegen zwischen 804,9  $\mu\text{mol/l}$  und 1907,3  $\mu\text{mol/l}$ .

#### 4.6. Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

##### 4.6.1 Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte vor Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

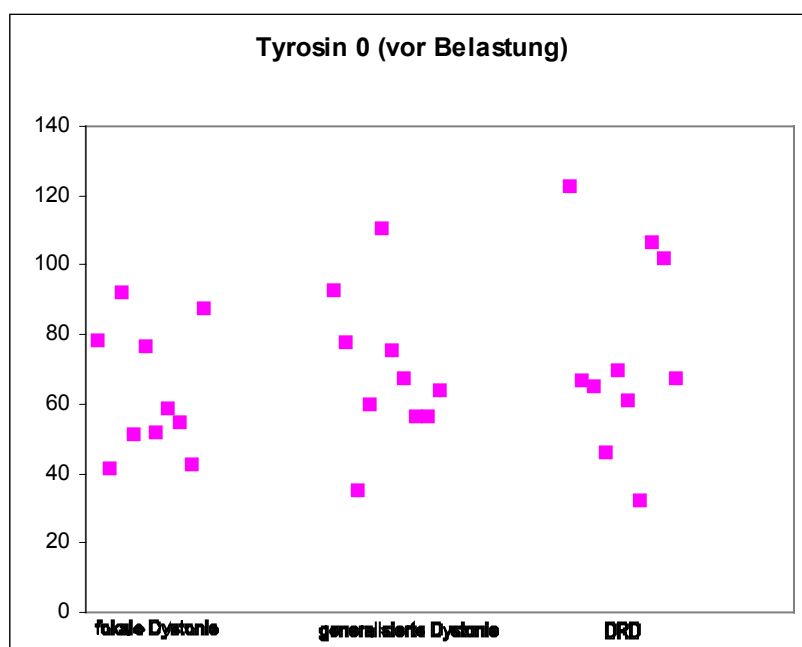


Abbildung 23: Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen vor Belastung

Abbildung 23 zeigt die absoluten Tyrosinwerte der verschiedenen Dystonie-Formen vor Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms. Die Werte liegen in den einzelnen Gruppen in einem ähnlichen Bereich, es sind dadurch viele Überschneidungen erkennbar. So werden bei Patienten mit F-ITD Tyrosin-Plasmaspiegel zwischen 41,5  $\mu\text{mol/l}$  und 92,3  $\mu\text{mol/l}$  gemessen. Bei Patienten mit G-ITD bewegen sich diese vor Belastung zwischen 49,4  $\mu\text{mol/l}$  und 87,2  $\mu\text{mol/l}$ . Patienten mit DRD zeigen als niedrigsten Wert 70,4  $\mu\text{mol/l}$  und einen Höchstwert von 118,4  $\mu\text{mol/l}$ . Somit sind alle Ausgangswerte unauffällig.

Insgesamt sind die Werte etwas niedriger als die Phenylalanin-Plasmaspiegel, die vor Belastung ebenfalls bei keiner Dystonie-Form auffällig sind. Aufgrund der Werte kann keine Zuordnung zu einer bestimmten Dystonie-Form vorgenommen werden.

#### 4.6.2 Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte 1 Stunde nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

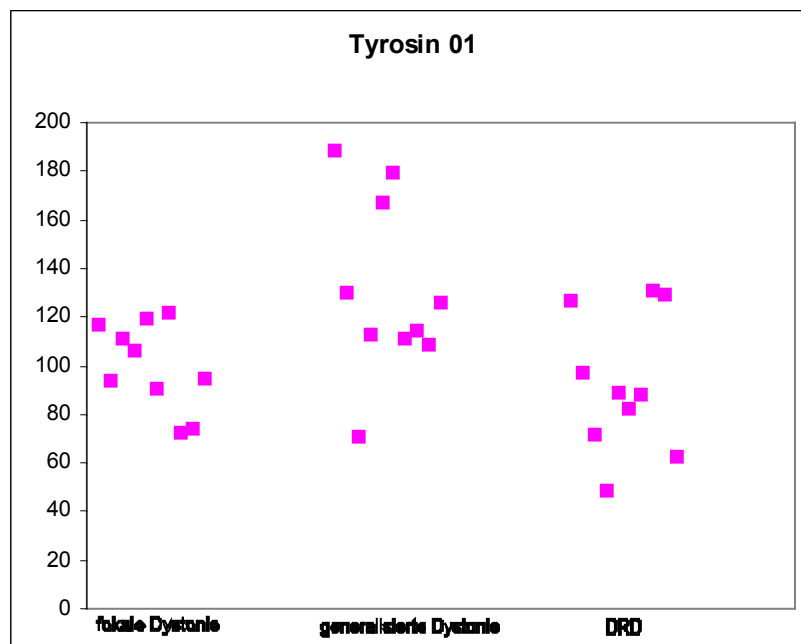


Abbildung 24: Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 1 Stunde nach Belastung

Abbildung 24 zeigt die absoluten Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 1 Stunde nach Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms. Der Anstieg bei Patienten mit F-ITD ist hier nur geringfügig, die Werte liegen zwischen 72,8 µmol/l und 122,0 µmol/l. Patienten mit G-ITD erreichen einen niedrigsten Tyrosin-Plasmaspiegel von 71,1 µmol/l und einen Höchstwert von 188,4 µmol/l. Auch bei Patienten mit DRD sind die Werte ähnlich gestreut. Sie bewegen sich zwischen 48,7 µmol/l und 126,5 µmol/l. Es sind somit auch 1 Stunde nach Belastung bei keinem getesteten Patienten auffällige Tyrosin-Plasmaspiegel nachweisbar, und bei den einzelnen Dystonie-Formen sind kaum Unterschiede feststellbar. Dadurch ist eine Zuordnung zu einer bestimmten Dystonie-Form nicht möglich.

#### 4.6.3 Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte 2 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

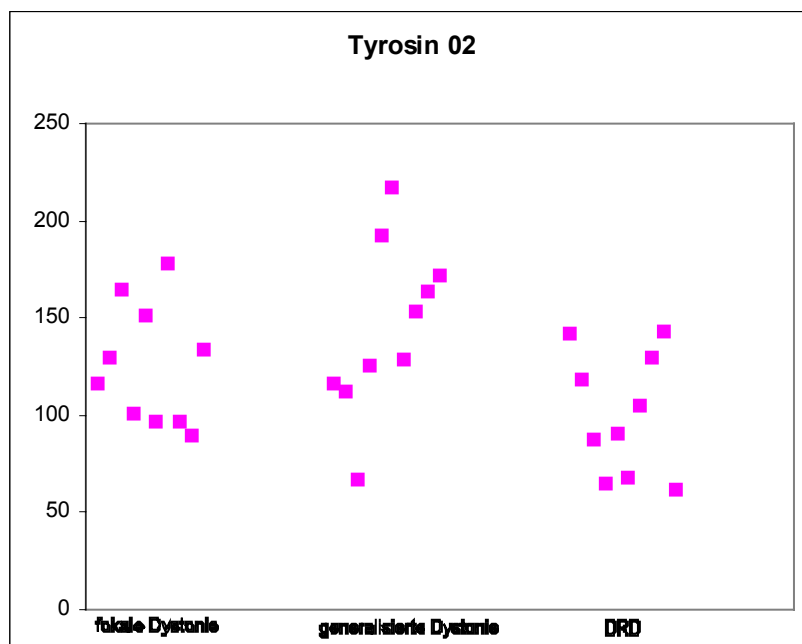


Abbildung 25: Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 2 Stunden nach Belastung

Abbildung 25 zeigt die absoluten Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 2 Stunden nach Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms. Die Tyrosin-Plasmaspiegel unterscheiden sich nur unwesentlich von den gemessenen Werten 1 Stunde nach Belastung, es gibt weiterhin viele Überschneidungen zwischen den einzelnen Gruppen. Erneut findet man bei Patienten mit F-ITD unauffällige Werte zwischen  $89,6 \mu\text{mol/l}$  und  $178,3 \mu\text{mol/l}$ . Patienten mit G-ITD haben Tyrosin-Plasmaspiegel zwischen  $67,1 \mu\text{mol/l}$  und  $216,7 \mu\text{mol/l}$  und zeigen somit ein ähnliches Bild. Mit Werten zwischen  $61,4 \mu\text{mol}$  und  $143,2 \mu\text{mol/l}$  befinden sich die Tyrosin-Plasmaspiegel 2 Stunden nach Belastung bei DRD-Patienten noch unter denen der Patienten mit F-ITD bzw. G-ITD. Alle gemessenen Werte sind 2 Stunden nach Belastung unauffällig, eine Unterscheidung zwischen den einzelnen Formen der Dystonie ist anhand dieser Werte erneut nicht möglich.

#### 4.6.4 Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte 4 Stunden nach Belastung zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

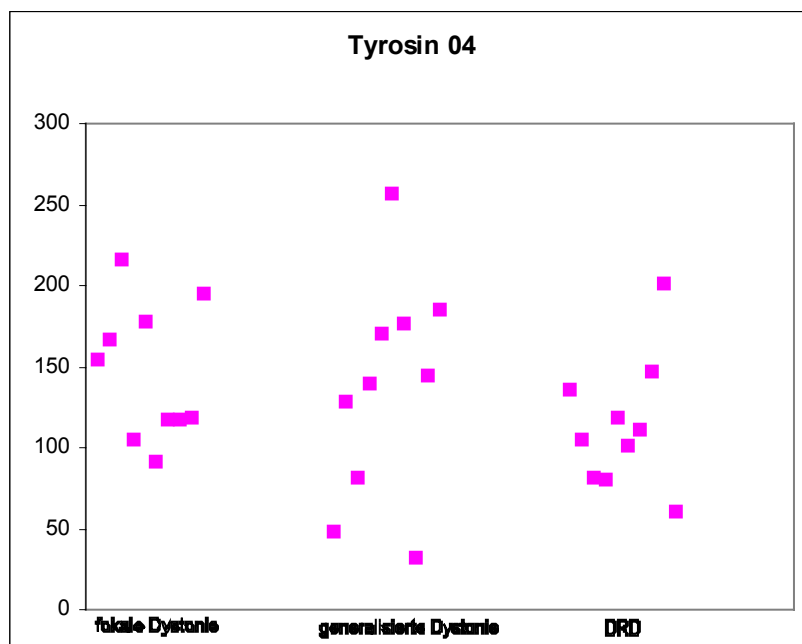


Abbildung 26: Vergleich der individuellen Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 4 Stunden nach Belastung

Abbildung 26 zeigt die absoluten Tyrosin-Werte der verschiedenen Dystonie-Formen 4 Stunden nach Belastung für jeden Patienten einzeln in Form eines Punktediagramms. Auch zu diesem Zeitpunkt gibt es keine auffälligen Werte in den einzelnen Gruppen, und es sind viele Überschneidungen zu erkennen. So können bei Patienten mit F-ITD Tyrosin-Plasmaspiegel zwischen  $90,8 \mu\text{mol/l}$  und  $216,3 \mu\text{mol/l}$  gemessen werden. Diese Werte sind vergleichbar mit den Ergebnissen nach 1 bzw. 2 Stunden. Patienten mit G-ITD weisen mit Tyrosin-Plasmaspiegeln zwischen  $31,9 \mu\text{mol/l}$  und  $257,0 \mu\text{mol/l}$  ebenfalls unauffällige Werte auf. Weiterhin unauffällig sind 4 Stunden nach Belastung auch die gemessenen Werte der DRD-Patienten. Der niedrigste Werte in dieser Gruppe ist  $61,1 \mu\text{mol/l}$ , der höchste Wert liegt bei  $200,7 \mu\text{mol/l}$ . Durch den ähnlichen Verlauf zwischen den einzelnen Gruppen ist eine Zuordnung zu einer bestimmten Form der Dystonie unmöglich.



#### 4.7 Vergleich der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

Die Ratio Phe/Tyr wurde für die verschiedenen Formen der Dystonie errechnet, um Gemeinsamkeiten bzw. Unterschiede zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD besser herausstellen zu können. Weiterhin ist es durch die Ratio möglich, die beiden Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin in Form eines einzigen Parameters darzustellen und so zu kombinieren. Schließlich sind die Zahlen durch die Errechnung eines Quotienten überschaubarer, sodass man die einzelnen Gruppen gut voneinander abgrenzen kann.

##### 4.7.1 Vergleich der Ratio 01 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

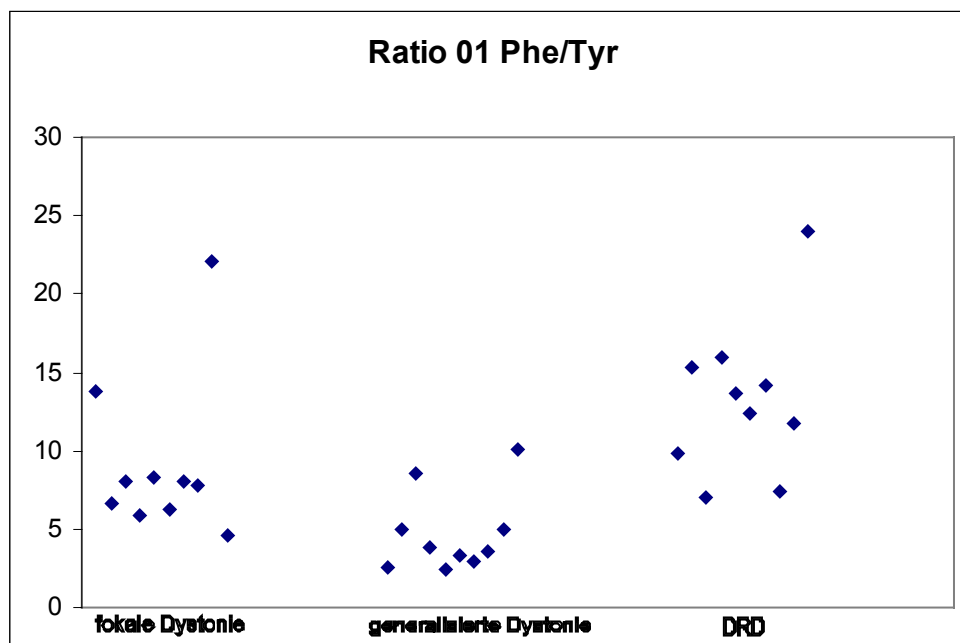


Abbildung 27: Vergleich der Ratio 01 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen

Der Vergleich der Ratio 01 Phe/Tyr der verschiedenen Dystonie-Formen ist in Abbildung 27 dargestellt. Auffällig ist, dass es viele Überschneidungen der Ratio-Werte zu diesem Zeitpunkt gibt. Bei Patienten mit F-ITD rangieren die Werte zwischen 4,61 und 22,11. Die Ratios der Patienten mit G-ITD bewegen sich zwischen 2,5 und 10,1. Patienten mit DRD zeigen als niedrigsten Wert 7,04 und haben einen Höchstwert von 24,04, der gleichzeitig auch den höchsten überhaupt gemessenen Wert zu diesem Zeitpunkt darstellt. Der Mittelwert der Patienten mit F-ITD (9,14 +/- 5,17) und G-ITD (4,73 +/- 2,60) liegt zwar unter dem

Durchschnittswert der Patienten mit DRD (13,15 +/- 4,91), aber zu diesem Zeitpunkt ist keine klare Zuordnung der Werte zu den verschiedenen Gruppen möglich. Dies wird auch besonders durch die hohe Standardabweichung bei Patienten mit F-ITD deutlich, die wiederum durch zwei stark erhöhte Werte in dieser Gruppe bedingt ist. Die Werte dieser Patienten liegen noch über dem Durchschnittswert von Patienten mit DRD. Insgesamt wird dennoch ein signifikantes Ergebnis erzielt ( $p = 0,0413$ ). Eine Unterscheidung zwischen G-ITD und DRD ist aufgrund der signifikanten Erhöhung ( $p = 0,0007$ ) zu diesem Zeitpunkt besser möglich, wenngleich Überschneidungen auch zwischen diesen beiden Gruppen vorkommen.

#### 4.7.2 Vergleich der Ratio 02 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

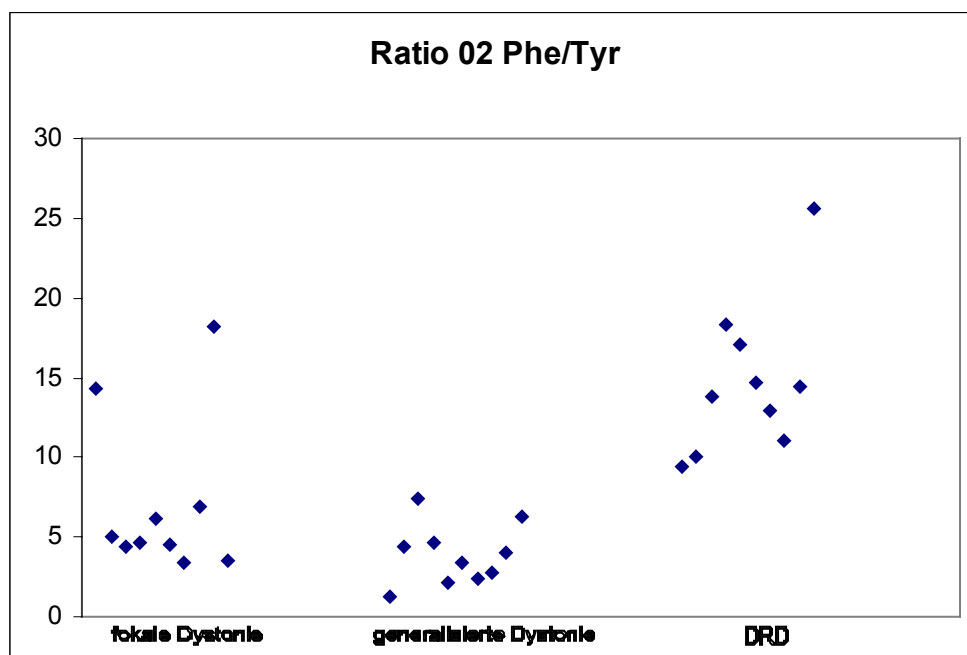


Abbildung 28: Vergleich der Ratio 02 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen

Der Vergleich der Ratio 02 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen ist in Abbildung 28 dargestellt. Es ergibt sich jetzt ein klareres Bild mit weniger Überschneidungen. Bei Patienten mit F-ITD befinden sich die Werte zwischen 3,56 und 18,18. Die Ratios der Patienten mit G-ITD rangieren zwischen 1,2 und 7,4. Patienten mit DRD zeigen als niedrigsten Wert 9,47 und haben einen Höchstwert von 25,57. Dieser Wert stellt auch den höchsten überhaupt gemessenen Wert zu diesem Zeitpunkt dar.

Betrachtet man die Mittelwerte der verschiedenen Gruppen, fällt auf, dass sowohl der Durchschnittswert bei Patienten mit F-ITD (7,10 +/- 5,02) als auch bei G-ITD (3,87 +/- 1,91) deutlich unter dem erreichten Mittelwert von Patienten mit DRD (14,73 +/- 4,77) liegt. Es werden signifikante Unterschiede zwischen DRD-Patienten im Vergleich zu F-ITD ( $p = 0,0052$ ) und G-ITD ( $p = 0,0002$ ) erreicht. Die Ratio 02 steigt bei DRD-Patienten zu diesem Zeitpunkt noch einmal an, während bei den anderen beiden Gruppen ein Abfall zu erkennen ist. Dennoch befinden sich bei Patienten mit F-ITD erneut 2 deutlich erhöhte Werte, die auch bei der Ratio 01 auftreten. Diese beiden abweichenden Werte sind auffällig und werden in dieser Höhe sonst ausschließlich bei den getesteten Patienten mit DRD erreicht. Dadurch bedingt ist eine eindeutige Zuordnung zu einer bestimmten Dystonie-Form auch zu diesem Zeitpunkt nur eingeschränkt möglich.

#### 4.7.3 Vergleich der Ratio 04 Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

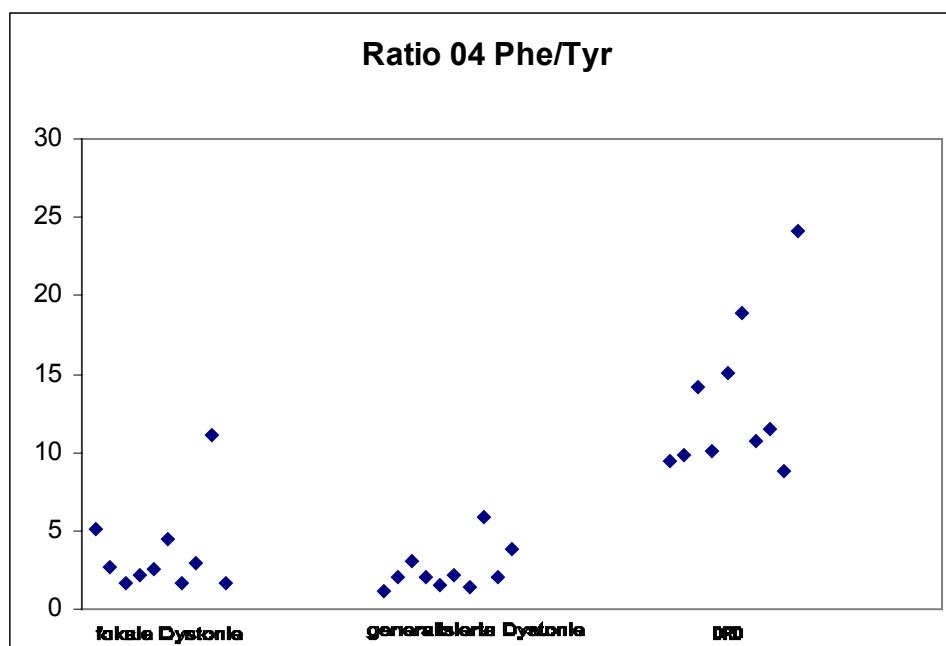


Abbildung 29: Vergleich der Ratio 04 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen

Der Vergleich der Ratio 04 Phe/Tyr ist in Abbildung 29 dargestellt. Man erkennt nur eine Überschneidung eines errechneten Wertes zwischen einem DRD-Patienten und einem Patienten mit F-ITD. Im direkten Vergleich der Ratio-Werte zwischen DRD-Patienten und solchen mit G-ITD ist keine Überschneidung vorhanden. Dies stellt ein unterschiedliches Verhalten im Gegensatz zu den Ratios 01 und 02 Phe/Tyr dar, bei denen durch abweichende

Werte hauptsächlich in der Gruppe der F-ITD eine Zuordnung zu einer bestimmten Unterform nicht möglich ist. Bei Patienten mit F-ITD rangieren die Werte zwischen 1,6 und 11,17. Die Ratios der Patienten mit G-ITD bewegen sich zwischen 1,4 und 5,9. Patienten mit DRD zeigen als niedrigsten Wert 8,85 und haben einen Höchstwert von 24,09, der gleichzeitig auch den höchsten überhaupt gemessenen Wert zu diesem Zeitpunkt darstellt. Die Mittelwerte der Ratio 04 Phe/Tyr bei Patienten mit F-ITD (8,10 +/- 14,59) und G-ITD (2,61 +/- 1,36) liegen zu diesem Zeitpunkt deutlich unter dem Durchschnittswert von Patienten mit DRD (13,39 +/- 4,85), sie sind signifikant niedriger ( $p = 0,0082$  bzw.  $p = 0,0002$ ). Auffällig ist weiterhin, dass die DRD-Werte insgesamt wesentlich breiter gestreut sind als in den anderen Gruppen. Die unterschiedlichen Werte machen sich auch in der relativ hohen Standardabweichung bemerkbar (4,85). In den meisten Fällen liegen die Ratios der DRD-Patienten weit über dem Durchschnittswert der anderen getesteten Patienten. Durch eine Ausnahme bei den Patienten mit F-ITD ist es anhand der Resultate nur eingeschränkt möglich, eine Zuordnung der Werte zu einer bestimmten Form der Dystonie vorzunehmen. Eine Unterscheidung zwischen F-ITD und G-ITD ist aufgrund der Ergebnisse nicht möglich, wenngleich der Mittelwert der Patienten mit G-ITD (2,61) unter dem der F-ITD (8,1) liegt.

#### 4.8 Vergleich der Differenz der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

##### 4.8.1 Vergleich der Differenz 01 der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

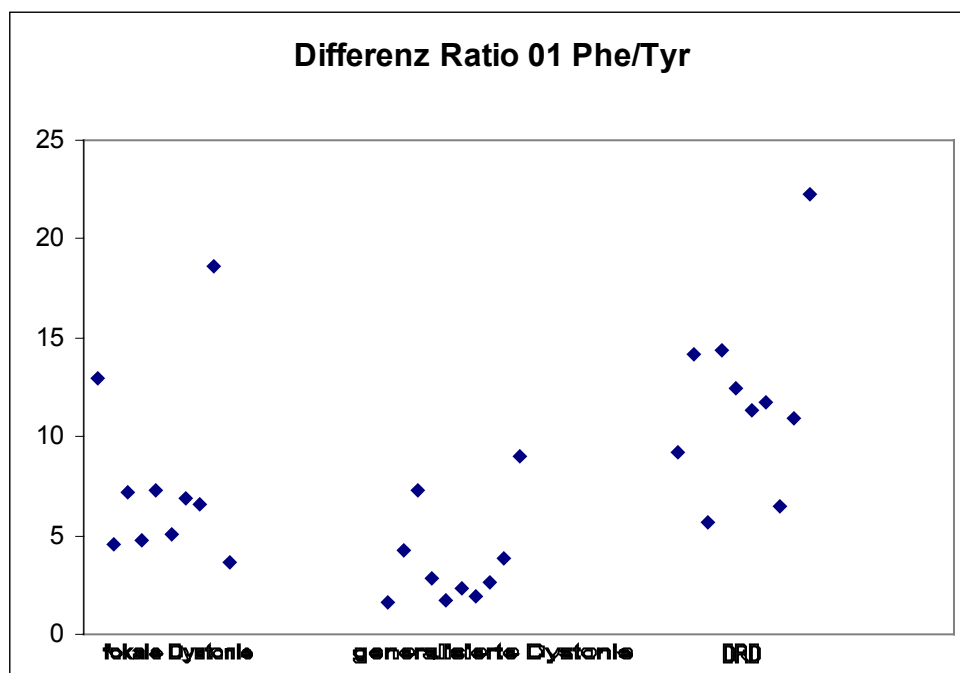


Abbildung 30: Vergleich der Differenz Ratio 01 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen

Der Vergleich der Differenz Ratio 01 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen ist in Abbildung 30 dargestellt. Die Ratio 01 Phe/Tyr wird errechnet, indem man die Ratio-Werte der einzelnen Patienten 1 Stunde nach Belastung von dem jeweiligen Ausgangswert 0 (vor Belastung) des Patienten subtrahiert.

Vergleicht man die Differenz 01 der Ratio Phe/Tyr der verschiedenen Dystonie-Formen miteinander, fällt auf, dass es viele Überschneidungen der Ratio-Werte zu diesem Zeitpunkt gibt. Bei Patienten mit F-ITD rangieren die Werte zwischen 3,6 und 12,93. Die Ratios der Patienten mit G-ITD bewegen sich zwischen 1,65 und 8,98. Patienten mit DRD zeigen als niedrigsten Wert 5,64 und haben einen Höchstwert von 22,29, der gleichzeitig auch den höchsten überhaupt gemessenen Wert zu diesem Zeitpunkt darstellt.

Der Mittelwert der Patienten mit F-ITD (7,73 +/- 4,61) und G-ITD (3,75 +/- 2,49) liegt zwar unter dem Durchschnittswert der Patienten mit DRD (11,87 +/- 4,68), aber zu diesem Zeitpunkt ist keine klare Zuordnung der Werte zu den verschiedenen Gruppen möglich. Dies wird auch besonders durch die hohe Standardabweichung bei F-ITD deutlich, die wiederum durch die beiden Ausreißer in dieser Gruppe bedingt ist. Die Werte dieser Patienten liegen noch über dem Durchschnittswert von Patienten mit DRD. Insgesamt wird dennoch ein signifikantes Ergebnis erzielt ( $p = 0,0494$ ).

Eine Unterscheidung zwischen G-ITD und DRD ist aufgrund der signifikanten Erhöhung ( $p = 0,0002$ ) zu diesem Zeitpunkt besser möglich, wenngleich Überschneidungen auch zwischen diesen beiden Gruppen vorkommen.

#### 4.8.2 Vergleich der Differenz 02 der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

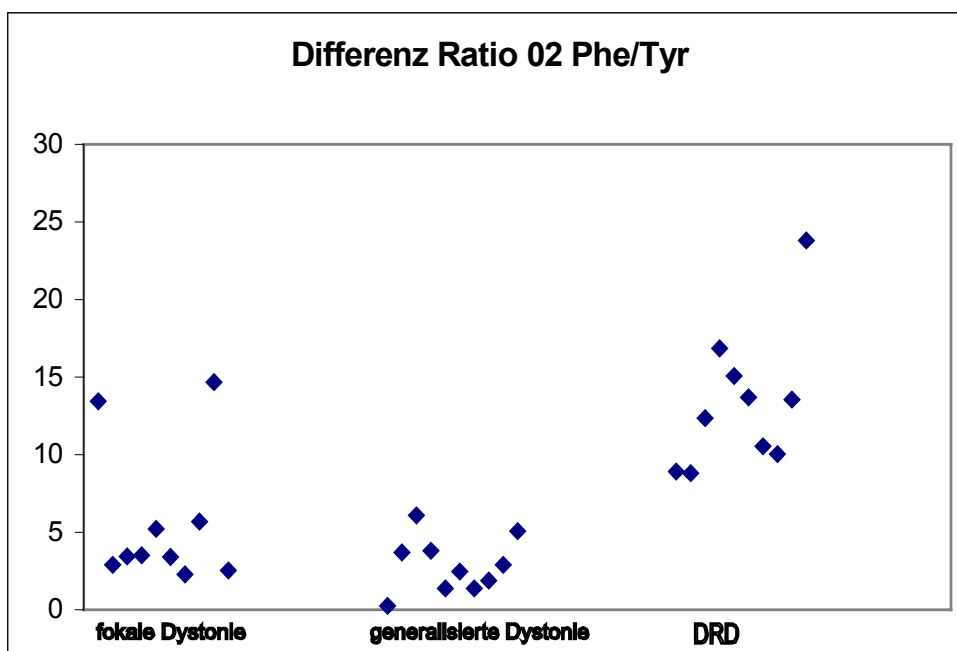


Abbildung 31: Vergleich der Differenz Ratio 02 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen

Der Vergleich der Differenz Ratio 02 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen ist in Abbildung 31 dargestellt. Die Ratio 02 Phe/Tyr wird errechnet, indem man die Ratio-

Werte der einzelnen Patienten 2 Stunden nach Belastung von dem jeweiligen Ausgangswert 0 (vor Belastung) des Patienten subtrahiert.

Beim Vergleich der Differenz 02 der Ratio Phe/Tyr zwischen den einzelnen Dystonie-Formen ergibt sich ein klareres Bild mit weniger Überschneidungen. Bei Patienten mit F-ITD befinden sich die Werte zwischen 2,3 und 14,67. Die Ratios der Patienten mit G-ITD rangieren zwischen 0,26 und 6,10. Patienten mit DRD zeigen als niedrigsten Wert 8,81 und haben einen Höchstwert von 23,82. Dieser Wert stellt auch den höchsten überhaupt gemessenen Wert zu diesem Zeitpunkt dar.

Betrachtet man die Mittelwerte der verschiedenen Gruppen, fällt auf, dass sowohl der Durchschnittswert bei Patienten mit F-ITD (5,69 +/- 4,55) als auch bei G-ITD (2,89 +/- 1,81) deutlich unter dem erreichten Mittelwert von Patienten mit DRD (13,45 +/- 4,58) liegen. Es werden signifikante Unterschiede zwischen DRD-Patienten im Vergleich zu F-ITD ( $p = 0,0041$ ) und G-ITD ( $p = 0,0002$ ) erreicht. Die Differenz Ratio 02 steigt bei DRD-Patienten zu diesem Zeitpunkt noch einmal an, während bei den anderen beiden Gruppen ein Abfall zu erkennen ist. Dennoch befinden sich bei Patienten mit F-ITD erneut 2 „Ausreißer“, die auch bei der Differenz Ratio 01 auftreten. Diese beiden abweichenden Werte sind auffällig und werden in dieser Höhe sonst ausschließlich bei den getesteten Patienten mit DRD erreicht. Dadurch bedingt ist eine eindeutige Zuordnung zu einer bestimmten Dystonie-Form auch zu diesem Zeitpunkt nur eingeschränkt möglich.

#### 4.8.3 Vergleich der Differenz 04 der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD

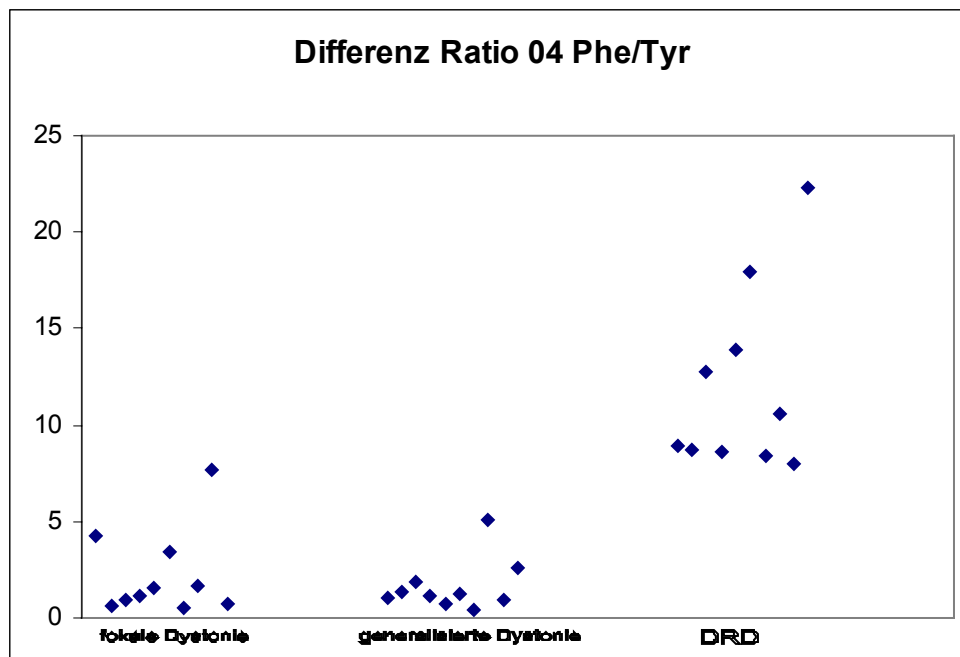


Abbildung 32: Vergleich der Differenz Ratio 04 Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen

Der Vergleich der Differenz 04 der Ratio Phe/Tyr ist in Abbildung 32 dargestellt. Die Ratio 04 Phe/Tyr wird errechnet, indem man die Ratio-Werte der einzelnen Patienten 4 Stunden nach Belastung von dem jeweiligen Ausgangswert 0 (vor Belastung) des Patienten subtrahiert.

Beim Vergleich der Differenz 04 der Ratio Phe/Tyr zwischen den verschiedenen Dystonie-Formen erkennt man keine Überschneidungen der errechneten Werte bei DRD-Patienten mit denen bei F-ITD bzw. G-ITD. Dies stellt ein unterschiedliches Verhalten im Gegensatz zu den Differenzen 01 und 02 der Ratio Phe/Tyr dar, bei denen durch abweichende Werte hauptsächlich in der Gruppe der F-ITD eine Zuordnung zu einer bestimmten Unterform nicht möglich ist. Bei Patienten mit F-ITD rangieren die Werte zwischen 0,5 und 7,66. Die Ratios der Patienten mit G-ITD bewegen sich zwischen 0,38 und 5,04. Patienten mit DRD zeigen als niedrigsten Wert 7,97 und haben einen Höchstwert von 22,34, der gleichzeitig auch den höchsten überhaupt gemessenen Wert zu diesem Zeitpunkt darstellt.

Die Mittelwerte der Differenz 04 der Ratio Phe/Tyr bei Patienten mit F-ITD ( $1,75 \pm 4,53$ ) und G-ITD ( $1,63 \pm 1,35$ ) liegen zu diesem Zeitpunkt deutlich unter dem Durchschnittswert



von Patienten mit DRD (12,11 +/- 4,77), sie sind signifikant erniedrigt ( $p = 0,0025$  bzw.  $p = 0,0002$ ). Auffällig ist weiterhin, dass die DRD-Werte insgesamt wesentlich breiter gestreut sind als in den anderen Gruppen. Die unterschiedlichen Werte machen sich auch in der relativ hohen Standardabweichung bemerkbar (4,77). Da aber auch die niedrigsten Ratios der DRD-Patienten weit über dem Durchschnittswert der anderen getesteten Patienten liegen, ist es anhand der Resultate möglich, eine Zuordnung der Werte zu der Gruppe DRD und F-ITD bzw. G-ITD vorzunehmen.

Eine Unterscheidung zwischen F-ITD und G-ITD ist aufgrund der Ergebnisse nicht möglich, wengleich der Mittelwert der Patienten mit G-ITD unter dem der F-ITD liegt. Ansonsten ist der Verlauf dieser beiden Gruppen sehr ähnlich, und es gibt viele Überschneidungen.

#### **4.9 Sensitivität und Spezifität des Phenylalanin-Belastungstests**

Es wurde die mögliche Relevanz des Phenylalanin-Belastungstests in der Differentialdiagnose von DRD-Patienten untersucht. Aufgrund der zuvor geschilderten Tatsache, dass die Ratio Phe/Tyr besonders starke Unterschiede 4 Stunden nach Testbeginn zeigt, wurde dieser Zeitpunkt zur Überprüfung der Aussagekraft des Tests gewählt. Alle getesteten Patienten mit DRD wurden richtig identifiziert, dies spricht für eine sehr hohe Sensitivität des Phenylalanin-Belastungstests (100 %). Nur 1/20 der untersuchten Patienten mit ITD zeigten eine Phe/Tyr-Ratio, die vergleichbar mit Werten von DRD-Patienten 4 Stunden nach Belastung war. Dies bedeutet eine ebenfalls hohe Spezifität des Tests (95 %).

## **5. Diskussion**

Nach der Auswertung des Phenylalanin-Belastungstests konnten unterschiedliche Ergebnisse bei den verschiedenen Dystonie-Formen festgestellt werden. Im Vergleich des Verlaufs der Aminosäure Phenylalanin bzw. der Ratio Phe/Tyr zwischen Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD gab es Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen insbesondere 4 Stunden nach Belastung.

Während zum Zeitpunkt vor Belastung mit Phenylalanin bei den verschiedenen Dystonie-Formen die Ratio-Werte in einer vergleichbaren Größenordnung lagen, konnten 1 und 2 Stunden nach Belastung die ersten Unterschiede gefunden werden. Die Werte der Ratio Phe/Tyr lagen bei den DRD-Patienten um ein Vielfaches höher als bei Patienten mit F-ITD und G-ITD. 4 Stunden nach Belastung waren die Unterschiede noch deutlicher sichtbar. Nur bei den DRD-Patienten waren signifikant erhöhte Werte der Aminosäure Phenylalanin bzw. der Ratio Phe/Tyr nachweisbar. Bei den Patienten mit F-ITD und G-ITD sanken die Werte zu diesem Zeitpunkt und lagen ungefähr in Höhe des Ausgangswertes.

### **5.1 Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests**

#### **5.1.1 Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests von Patienten mit DRD**

Die Studie zeigt, dass bei Patienten mit DRD kein abnormaler Phenylalanin-Metabolismus zum Zeitpunkt vor der Belastung festgestellt werden konnte. Die gemessenen Ausgangswerte waren alle unauffällig. Es wurde auch in anderen Studien noch über keinen Fall von Hyperphenylalaninämie berichtet, die durch einen autosomal-dominant vererbten GTP-CH-Defekt bedingt ist (Hyland et al., 1999). Nur bei Kindern, die heterozygote PKU-Genträger sind, wurden auffällige Phenylalanin-Plasmaspiegel nachgewiesen, die konstant nachweisbar waren. Bei ihnen konnte ein primärer Defekt des Enzyms Phenylalanin-Hydroxylase nachgewiesen werden (Westwood und Raine, 1975).

Nach Belastung mit Phenylalanin wurden bei allen Patienten mit Segawa-Syndrom deutlich erhöhte Phenylalanin-Werte nach 1, 2 und 4 Stunden gemessen. Die Ratio Phe/Tyr war im Vergleich zu Patienten mit F-ITD und G-ITD ebenfalls durchweg signifikant erhöht ( $p < 0,05$ ), wobei ein Maximum nach 2 Stunden erzielt wurde. Höchstwerte der Ratio konnten im Gegensatz dazu bei Patienten mit F-ITD und G-ITD schon nach 1 Stunde gemessen werden.

Hyland et al. stellten fest, dass die Ratio Phe/Tyr einen geeigneten Parameter darstellt, um DRD-Patienten sicher von Kontroll-Patienten zu jedem Zeitpunkt nach Belastung zu unterscheiden. Eine Differenzierung zwischen DRD-Patienten und Kontrollen vor Belastung ist aufgrund der Ratio Phe/Tyr nicht möglich, da in beiden Gruppen ungefähr gleich große Werte gemessen wurden (Hyland et al., 1997). Für diagnostische Zwecke eignet sich die Ratio deshalb nur in Zusammenhang mit der Durchführung eines Phenylalanin-Belastungstests.

Der abnorm hohe und konstant anhaltende Anstieg der Ratio Phe/Tyr und die damit einhergehende Hyperphenylalaninämie ist durch eine funktionelle Störung der Phenylalanin-Hydroxylase in der Leber bedingt. Diese kommt durch einen Mangel an BH<sub>4</sub> zustande. BH<sub>4</sub> wiederum ist als Kofaktor dieses Enzyms erforderlich. Bei Patienten, die heterozygote Träger der autosomal-rezessiv vererbaren PKU sind, liegt im Gegensatz zu DRD-Patienten ein primärer Defekt des Enzyms Phenylalanin-Hydroxylase vor. Diese Patienten zeigen nach Belastung mit Phenylalanin ebenfalls eine verzögerte Metabolisierung des Phenylalanins sowie eine verminderte Produktion von Tyrosin (Westwood und Raine, 1975). Der Unterschied zu DRD-Patienten besteht darin, dass bei Patienten mit PKU nach Belastung ein starker Anstieg des Plasmabiopterins ähnlich wie bei gesunden Kontrollpatienten zu beobachten ist (Leeming et al., 1976; Dhondt et al., 1982; Dhondt et al., 1983). Vor Belastung mit Phenylalanin werden auch bei PKU-Patienten niedrige Biopterin-Plasmaspiegel gemessen (Alös et al., 1993).

Hyland et al. konnten beweisen, dass der BH<sub>4</sub>-Mangel der Grund für den auffällig verlaufenden Phenylalanin-Belastungstest darstellt. Man verabreichte 2 Patienten mit DRD vor der Durchführung des Belastungstests BH<sub>4</sub>. Bei der Auswertung des Tests fand man bei ihnen keine Hinweise für erhöhte Ratio-Werte des Quotienten Phe/Tyr. Die Patienten waren in der Lage, Phenylalanin normal zu verstoffwechseln. Wenn man denselben Patienten Phenylalanin ohne vorherige Gabe von BH<sub>4</sub> das Phenylalanin verabreichte, zeigten die beiden

Patienten auffällige Ratio-Werte des Quotienten Phe/Tyr, wie sie auch bei den anderen getesteten DRD-Patienten dieser Studie beobachtet wurden (Hyland et al., 1997). Eine exogene Gabe von BH4 bei Patienten mit PKU ruft keine Veränderungen des Phenylalanin-Metabolismus hervor (Danks et al., 1979).

Die Ergebnisse der vorgelegten Promotion zeigen, dass eine exogene Zufuhr von BH4 im Rahmen einer diagnostischen Testung nicht erforderlich ist und eine Einordnung zu einer bestimmten Form der Dystonie auch ohne die Gabe des Kofaktors möglich ist. DRD-Patienten haben unter Ruhebedingungen offensichtlich einen ausreichenden Vorrat an BH4 in der Leber, um ein normales Maß an Phenylalanin zu metabolisieren. Sie sind jedoch nicht in der Lage, eine hohe Belastung mit dieser Aminosäure zu kompensieren. Die im Verlauf des Phenylalanin-Belastungstests bei DRD-Patienten ständig erhöhten Ratios machen deutlich, dass eine mangelnde Synthesekapazität des biogenen Amins BH4 vorliegt (Hyland et al., 1997).

Diese Situation wurde analog dazu auch bei Tierexperimenten mit der hph-1 Maus beobachtet. Diese zeigte ebenfalls einen BH4-Mangel aufgrund einer defekten GTP-CH-Aktivität. Bei ausgewachsenen Tieren war keine Hyperphenylalaninämie unter Ruhebedingungen nachweisbar, aber es konnte eine erniedrigte BH4-Konzentration in der Leber festgestellt werden (McDonald et al., 1988a; Takahashi et al., 1994). Die hph-1 Maus war nicht in der Lage, Phenylalanin in einem normalen Maß zu metabolisieren, wenn sie mit Phenylalanin belastet wurde (McDonald et al., 1988b).

Die Höhe des Phenylalanin-Plasmaspiegels und der Ratio Phe/Tyr sagen nichts über den Schweregrad der DRD aus. Bei den getesteten Patienten mit DRD gab es einige unter ihnen, bei denen ein geringer Anstieg der Aminosäure gemessen werden konnte und eine schwere Ausprägung des Syndroms vorlag. Umgekehrt waren bei einem Teil der Patienten, die nur eine milde Form der Erkrankung zeigten, genauso hohe oder sogar noch deutlichere Anstiege der verschiedenen Parameter zu erkennen. Durch diesen Umstand ist es möglich, mit Hilfe des Phenylalanin-Belastungstests nicht nur symptomatische, sondern auch asymptotische DRD-Patienten zu identifizieren. In einer Studie von Hyland et al. wurden 11 symptomatische und 9 asymptotische Genträger aus 6 Familien mit autosomal-dominant vererbtem GTP-CH-Mangel sowie 20 Kontrollpatienten mit Phenylalanin belastet (100 mg/kg). Es wurden Blutproben vor Belastung und jeweils 1, 2, 4 und 6 Stunden nach Belastung genommen

(Hyland et al., 1999). Man konnte beobachten, dass im Vergleich zu gesunden Kontrollen sowohl bei symptomatischen als auch bei asymptomatischen Patienten signifikant erhöhte Ratios nach Belastung gemessen wurden. Es gab 2, 4 und 6 Stunden nach Belastung keine Überlappungen zwischen Gesunden und Genträgern. Insgesamt waren die mittleren Phe/Tyr-Ratios bei asymptomatischen Genträgern niedriger als bei symptomatischen DRD-Patienten. Dies legt den Schluß nahe, dass asymptomatische Genträger im allgemeinen das Phenylalanin besser metabolisieren können (Hyland et al., 1999).

Durch Untersuchungen der Plasmaspiegel von Biopterin und Neopterin bei Patienten mit DRD konnten weitere Erkenntnisse über den abnormalen Stoffwechsel bei diesen Patienten gewonnen werden. Die GTP-CH ist das erste Enzym, welches für die Biosynthese von BH<sub>4</sub> erforderlich ist. Man fand heraus, dass eine reduzierte Aktivität dieses Enzyms bei Patienten begleitet war von auffällig niedrigen Biopterinspiegeln im Plasma. Der nur leichte Anstieg des Plasmabiopterins bei Patienten mit DRD zeigte, dass eine geringfügige Aktivität von GTP-CH nach Belastung mit Phenylalanin vorhanden war, dennoch blieb die durchschnittliche Biopterin-Konzentration im Plasma niedriger als die der Kontrollen zu allen Zeitpunkten. Der fehlende Anstieg trat trotz der wesentlich höheren Phenylalanin-Plasmaspiegel der DRD-Patienten auf, was erneut auf eine fehlende BH<sub>4</sub>-Synthesekapazität schließen lässt (Hyland et al., 1997).

Phenylalanin stimuliert die Synthese von BH<sub>4</sub>, indem es die Hemmung der GTP-CH aufhebt. Diese tritt in Anwesenheit von BH<sub>4</sub> und dem GTP-CH-Inhibitorprotein (p35) auf (Harada et al., 1993). Durch Messungen des Plasmaneopterins konnten Patienten mit DRD von Kontrollen weder vor noch nach Durchführung des Phenylalanin-Belastungstests unterschieden werden. Daraus kann man schließen, dass Plasmaneopterin keinen nützlichen Marker für die Diagnose von DRD darstellt (Hyland et al., 1997). Dieses Verhalten der Neopterine im Plasma konnte im Liquor nicht beobachtet werden. Dort waren die Werte von Biopterin und Neopterin bei Patienten mit DRD grundsätzlich erniedrigt (Takahashi et al., 1994; Williams et al., 1979, Le Witt et al., 1986; Fink et al., 1988). Große Mengen an Neopterin werden von Makrophagen freigesetzt, welche durch Gamma-Interferon stimuliert werden. Dadurch ist es möglich, dass eine geringe Aktivierung des Immunsystems einen niedrigen Plasmaspiegel von Neopterin bei Patienten mit DRD maskieren kann. Dies gilt jedoch nicht für die Biopterine (Huber et al., 1984).

Abnormale Phe/Tyr-Profile können auch unter anderen Bedingungen nachgewiesen werden. Heterozygote Genträger der Stoffwechselkrankheit PKU, bei denen ein primärer Defekt des Enzyms Phenylalanin-Hydroxylase vorliegt, zeigen ebenfalls eine verzögerte Normalisierung der Phenylalaninspiegel im Plasma und eine verringerte Produktion von Tyrosin nach Belastung mit Phenylalanin. Bei diesen Patienten ist keine Hyperphenylalaninämie ohne Durchführung eines Belastungstests vorhanden, dennoch ist die Ratio Phe/Tyr leicht erhöht. (Westwood et al., 1975; Rampini et al., 1969; Saraiva et al., 1993). Im Gegensatz zu Patienten mit DRD, bei denen ein BH4-Mangel vorliegt und die auf die externe Gabe dieser Substanz ansprechen, bleibt der Phenylalanin-Metabolismus durch die Gabe von BH4 unbeeinflusst (Danks et al., 1979). Nimmt der Phenylalanin-Belastungstest einen auffälligen Verlauf, sollte er im Zweifelsfall mit vorheriger Gabe von BH4 wiederholt werden. Auf diese Weise ist es möglich, das Vorliegen heterozygoter PKU-Genträger auszuschließen.

Bis 1994 wurde die Diagnose DRD hauptsächlich aufgrund der klinischen Symptomatik und des hervorragenden Ansprechens auf L-Dopa gestellt. Es muß allerdings bedacht werden, dass andere Enzymdefekte sich phänotypisch in ähnlicher Weise wie DRD präsentieren können. Dies beinhaltet Defekte des Enzyms TH (Knappskog et al., 1995; Luedecke et al., 1995) und einen PTPS-Mangel (Fink et al., 1988; Tanaka et al., 1987). Weiterhin gibt es Berichte über ein gutes Ansprechen auf L-Dopa bei Patienten mit sekundärer Dystonie (Fletcher et al., 1993). Durch eine genaue Analyse des Phenylalanin- und Biopterin-Metabolismus sollten die Patienten erkannt werden, bei denen die dystone Symptomatik aufgrund einer autosomal-dominant vererbten Mutation des GTP-CH-Gens auftritt. Unterschiede der verschiedenen Enzymdefekte können bei der Analyse des Liquors festgestellt werden. Bei autosomal-dominant vererbtem GTP-CH-Mangel kann man neben erniedrigten BH4- und Neopterin-Konzentrationen auch verringerte Mengen der HVA nachweisen (Fink et al., 1988; Hyland et al., 1998; Nygaard et al., 1993; Takahashi et al., 1994). Beim TH-Defekt ist nur die HVA erniedrigt, und eine Störung der 6-Pyrovoyltetrahydropterin-Synthase hat eine Erhöhung von Neopterin in Verbindung mit niedrigen HVA und BH4-Konzentrationen zur Folge. Tatsächlich waren niedrige BH4-Spiegel bereits vor der Identifikation von GTP-CH als ursächlicher biochemischer Defekt für diese Erkrankung ein klar erkanntes Charakteristikum bei DRD (Williams et al., 1979; Fink et al., 1988). Die Liquoranalyse von BH4-Spiegeln wird jedoch nur in wenigen spezialisierten Labors weltweit durchgeführt, und verminderte Spiegel von BH4 sind auch bei anderen Basalganglienerkrankungen beschrieben worden und daher nicht für DRD spezifisch (Williams et al., 1980).

Eine sichere Diagnosestellung kann durch die Entdeckung von Mutationen im GTP-CH-Gen erreicht werden. Allerdings stellt die Sequenzanalyse des GTP-CH-Gens als Methode für die Routinediagnostik keine sinnvolle Möglichkeit in der Differentialdiagnostik dar, da Mutationen dieses Gens nur bei ungefähr 50 % der Patienten mit DRD gefunden werden können (Bandmann et al., 1996). Hinzu kommt, dass es keine einheitliche Mutation gibt wie beispielsweise die 3 Basenpaare lange Deletion im DYT1-Gen Torsin A. Die Mutationen sind vielmehr über die gesamte kodierende Sequenz verteilt. Ferner spielen Mutationen, die außerhalb der kodierenden Region liegen, ebenfalls eine Rolle und schließlich gibt es genetische Heterogenität bei DRD (Bandmann et al., 1998b; Tassin et al., 2000; Luedecke et al., 1995). Das Screening der Mutationen in verdächtigen DRD-Fällen ist somit sehr zeitaufwendig und führt nicht zuverlässig zu der Bestätigung der Diagnose.

Messungen der GTP-CH-Aktivität in Lymphozyten, die durch Phytohämagglutinin stimuliert wurden (Ichinose et al., 1994), und Neopterin-Messungen in transformierten Lymphozyten (Bezin et al., 1998) können ebenfalls zur richtigen Diagnosefindung beitragen. Diese Methode hat den Vorteil, dass nur eine Blutprobe von dem jeweiligen Patienten notwendig ist und daher eine Lumbalpunktion vermieden werden könnte. Diese Methode ist jedoch sehr zeitaufwendig und beinhaltet mehrere Schritte (Bezin et al., 1998). Es wird daher nur in spezialisierten Laboratorien möglich sein, diese Untersuchung an einer begrenzten Zahl von Patienten durchzuführen.

### **5.1.2 Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests von Patienten mit F-ITD**

Bei den in der Studie getesteten Patienten mit F-ITD konnte ein unauffälliger Ausgangswert bei 9 von 10 Patienten festgestellt werden. 1 Patientin zeigte einen leicht erhöhten Phenylalaninspiegel sowie eine stark erhöhte Ratio Phe/Tyr vor Belastung. Hierbei könnte es sich um einen Messfehler handeln, der durch eine fehlerhafte Durchführung des Tests, falsche Probenbehandlung oder durch ungenaues Ablesen entstanden ist. Ferner müssen heterozygote Genträger der PKU, bei denen regelmäßig eine Hyperphenylalaninämie vor Belastung auftritt, ausgeschlossen werden (Hyland et al., 1997).

Bei den 9 Patienten, die einen unauffälligen Wert vor Beginn des Belastungstests aufweisen, sind die Werte mit Kontrollpersonen vergleichbar. Bislang gibt es keine Berichte über Patienten mit richtig klassifizierter F-ITD, die eine Hyperphenylalaninämie vor Belastung aufweisen (Hyland et al., 1997).

1, 2 und 4 Stunden nach Belastung findet man bei 8 der 10 getesteten Patienten mit F-ITD eine Erhöhung der Plasmaspiegel des Phenylalanins sowie der Ratio Phe/Tyr. Höchstwerte werden nach einer Stunde erzielt, danach ist bereits ein Abfall der Parameter zu erkennen. Zu jedem Zeitpunkt befinden sich die Werte bei diesen Patienten jedoch in einem Bereich, wie sie auch bei gesunden Kontrollen gefunden werden können. Bei einem der zehn getesteten Patienten mit F-ITD nahm der Test einen auffälligen Verlauf. Es wurden konstant erhöhte Werte der Plasmaspiegel von Phenylalanin sowie der Ratio Phe/Tyr gemessen, wie sie sonst nur bei DRD-Patienten gefunden werden.

Um eine Erklärung für den auffällig verlaufenden Test zu finden, wurde bei diesem Patienten eine Lumbalpunktion durchgeführt. Weiterhin wurde eine genetische Analyse des Phenylalanin-Hydroxylase-Gens vorgenommen sowie eine 8-wöchige Behandlung mit L-Dopa eingeleitet (3 x 125 mg am Tag). Die Werte der Biopterine, Neopterine und Metabolite des Katecholaminstoffwechsels befanden sich alle in einem Bereich, wie er auch bei Gesunden vorkommt. Es konnte auch keine Mutation des Phenylalanin-Hydroxylase-Gens gefunden werden. Schließlich blieb auch eine Besserung der Dystonie unter der L-Dopa Therapie bei dem Patienten aus. Die stark erhöhte Ratio des Quotienten Phe/Tyr kann am ehesten dadurch erklärt werden, dass der Patient heterozygoter Träger eines anderen Enzyms ist, welches eine wichtige Rolle in der Metabolisierung von BH<sub>4</sub> oder Phenylalanin spielt. Daher ist der Patient als „falsch positiv“ einzuordnen.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass Phenylalanin von Patienten mit F-ITD normal verstoffwechselt werden kann. Es gibt keinen Hinweis dafür, dass ein Enzymdefekt der Phenylalanin-Hydroxylase oder ein BH<sub>4</sub>-Mangel vorliegt, der durch eine Mutation der GTP-CH bedingt ist. Ursachen für das Auftreten einer F-ITD müssen folglich außerhalb des Phenylalanin-Metabolismus gesucht werden. Bislang sind nur wenige Ansätze vorhanden, die die Entstehungsweise der F-ITD hinreichend erklären.



### **5.1.3 Beurteilung der Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests von Patienten mit G-ITD**

Der Verlauf des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit G-ITD ist dem der Patienten mit F-ITD sehr ähnlich. Auch hier sind die Ausgangswerte unauffällig. Im Gegensatz zu den Patienten mit F-ITD konnte bei den getesteten Patienten mit G-ITD niemand mit einem auffälligen Test gefunden werden. Auch bei dieser Form der Dystonie gibt es keine Berichte über Hyperphenylalaninämie vor Durchführung des Belastungstests. 1, 2 und 4 Stunden nach Belastung werden erhöhte Plasmaspiegel der Aminosäure Phenylalanin sowie der Ratio Phe/Tyr gemessen, die jedoch zu jeder Zeit in einem Bereich liegen, wie er auch bei Gesunden gemessen wird. Ein Maximum wird nach 1 Stunde erreicht. Auch hier ist eine Parallele zu den Patienten mit F-ITD erkennbar, wobei erneut keine Ausreißer unter den Patienten sind. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass bei der Gruppe der generalisierenden Dystonie die Ursache ebenfalls nicht im Stoffwechsel von Phenylalanin zu suchen ist. Ein Defekt der Phenylalanin-Hydroxylase sowie ein durch eine GTP-CH-Mutation bedingter BH4-Mangel können deshalb ausgeschlossen werden.

Fehlermöglichkeiten bei der richtigen Diagnosestellung einer G-ITD müssen jedoch weiterhin in Betracht gezogen werden. Jarman et al. analysierten das GTP-CH-Gen in 7 Patienten mit diagnostizierter G-ITD, die gut auf Anticholinergika ansprachen. Mutationen des GTP-CH-Gens konnten in 2 der Patienten entdeckt werden. Interessanterweise wurde eine tageszeitliche Abhängigkeit nur bei einem dieser Patienten beobachtet (Jarmann et al., 1997). DRD sollte deshalb in der Differentialdiagnose aller Patienten mit G-ITD und einer Besserung der Symptomatik nach Behandlung mit Anticholinergika in Betracht gezogen werden.

## 5.2 Nachteile des Phenylalanin-Belastungstests

Bei konstant, d.h. auch vor Belastung erhöhten Phenylalanin-Plasmaspiegeln, sollte unbedingt eine Heterozygotie für PKU ausgeschlossen werden, da diese sich ebenfalls mit einer Hyperphenylalaninämie präsentiert (Westwod et al., 1975; Rampini et al., 1969; Saraiva et al., 1993). Diese Mutation liegt mit einer Häufigkeit von 1/50 in der Allgemeinbevölkerung vor. Träger dieses Gens können mit Hilfe von genetischen Tests nachgewiesen werden (Hyland et al., 1997). Weiterhin ist es sinnvoll bei Patienten weiterführende Untersuchungen durchzuführen, die die typische Symptomatik einer F-ITD bzw. G-ITD zeigen und trotzdem einen auffälligen Test zeigen. Durch eine Liquoranalyse, die Messungen der biogenen Amine BH4 und Neopterin beinhaltet, kann eine eventuell falsch gestellte Diagnose aufgedeckt werden. Ferner kann man durch das Entdecken neuer DRD-Patienten eine angemessene Therapie mit L-Dopa einleiten.

Das Spektrum klinischer und biochemischer Phänotypen vererbbarer Erkrankungen, die den Stoffwechsel der biogenen Amine beeinflussen, wird immer größer. Man kann in Zukunft nicht ausschließen, dass Patienten, die die typischen neurologischen Symptome einer bestimmten Dystonie-Form zeigen, aber bei denen keine Hyperphenylalaninämie nachweisbar ist, eventuell doch eine Störung im BH4-Metabolismus aufweisen (Hyland et al., 1999). Aus diesem Grund sollte man bei Patienten mit einem unauffällig verlaufenden Phenylalanin-Belastungstest eine Störung im Bereich des Phenylalanin-Stoffwechsel nicht ganz ausschließen.

Umgekehrt ist bei einer bestehenden Hyperphenylalaninämie nach Durchführung des Phenylalanin-Belastungstest nicht eindeutig klar, auf welche Art die vorliegende DRD entstanden ist. So ist es mit Hilfe des Phenylalanin-Belastungstests nicht möglich, zwischen anderen möglichen Defekten im BH4-Syntheseweg, d.h. zwischen einem GTP-CH-Mangel oder einer anderen Störung wie z.B. einem PTPS-Mangel zu differenzieren. Da die verschiedenen Enzymdefekte und Vererbungsmuster die typische Symptomatik der DRD hervorrufen können, ist es im Einzelfall erforderlich, weitere Untersuchungen durchzuführen.

### 5.3 Fehlermöglichkeiten bei der Durchführung des Phenylalanin-Belastungstests

Die Resultate des Phenylalanin-Belastungstests sollten immer mit dem Verständnis analysiert werden, dass viele Faktoren Einfluss auf den Phenylalanin-Metabolismus nehmen und verzerrte Ergebnisse bei der Auswertung hervorrufen können. Die Absorptionsrate von Phenylalanin, der Gebrauch oraler Kontrazeptiva, die tageszeitliche Abhängigkeit des Phenylalanins im Plasma, das Alter, das Geschlecht, Fettleibigkeit und die Aktivität der Tyrosin-Transaminase können die Art des Verlaufs der Phenylalanin- und Tyrosinkurven beeinflussen (Brown et al., 1973; Wurtman et al., 1968; Jagenburg et al., 1982).

Da der Phenylalanin-Belastungstest aus mehreren Einzelschritten besteht, können zu verschiedenen Zeitpunkten Fehler auftreten, die ein exaktes Bestimmen der Aminosäuren erschweren bzw. in einigen Fällen sogar unmöglich machen.

Um ein möglichst genaues Ergebnis beim Phenylalanin-Belastungstest zu erhalten, ist es zunächst erforderlich, dass der Patient vor Beginn des Tests nur eine geringe Proteinzufuhr erhält. Optimale Bedingungen liegen dann vor, wenn der Patient seine letzte Mahlzeit 6 Stunden zuvor einnimmt und 2 Stunden vor Belastung nüchtern bleibt. Nimmt der Patient eine zu große Menge an Proteinen zu sich oder findet kurz vor Beginn des Tests eine Nahrungszufuhr statt, muss bei der Auswertung mit entsprechend falsch hohen Plasmaspiegeln der Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin gerechnet werden. Des weiteren ist darauf zu achten, dass auch während des gesamten Tests keine Proteinzufuhr stattfindet, da dem Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten Blut entnommen wird und jedes Mal falsch hohe Werte gemessen werden können.

Auch die Wahl des Zeitpunkts, an dem man mit dem Phenylalanin-Belastungstests beginnt, stellt ein wichtiges Kriterium dar, um später ein objektives Ergebnis zu erhalten. Wie viele andere körpereigene Substanzen, zeigen auch die Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin einen zirkadianen Rhythmus mit Höchstwerten am frühen Morgen und niedrigsten Plasmaspiegeln am Abend. Um den Effekt der tageszeitlichen Schwankungen möglichst zu eliminieren, ist es notwendig, bei allen Patienten eine einheitliche Zeit festzulegen, zu der man mit dem Phenylalanin-Belastungstest beginnt. Aus diesem Grund wird der Test bei allen getesteten Patienten zwischen 10 und 12 Uhr durchgeführt. Nur so ist es möglich, Vergleiche zwischen den einzelnen Patienten zu ziehen, die aussagekräftig sind. Findet der Test bei den

einzelnen Patienten zu den verschiedensten Tageszeiten statt, wird es unmöglich, den Verlauf der einzelnen gemessenen Parameter in Bezug zueinander zu setzen.

Bei den einzelnen Blutentnahmen kann es auch zu verschiedenen Fehlermöglichkeiten kommen. Neben einer einwandfreien Blutentnahmetechnik muss man darauf achten, den Zeitabstand nach der Blutentnahme bis zum Aufbewahren der Proben in Trockeneis bei  $-70^{\circ}\text{C}$  möglichst gering zu halten. Da die zu messenden Proteinbestandteile hitzeempfindlich sind, kommt es häufig zu einer Denaturierung derselben. Dies wiederum kann mit einer falsch niedrigen Bestimmung der einzelnen Aminosäuren im Plasma einhergehen. Des Weiteren ist darauf zu achten, dass beim Vorgang der Zentrifugation eine ausreichende Zentrifugationsdauer (ca. 10 Minuten) und eine Umdrehungsgeschwindigkeit von 3000 U des Gerätes eingehalten werden, damit eine saubere Trennung des Plasmas von den korpuskulären Bestandteilen des Blutes erfolgt. Ist die Probe nach der Zentrifugation jedoch getrübt oder hämolytisch, muss mit einer fehlerhaften Bestimmung der Aminosäuren gerechnet werden. Wie die Ausführungen zeigen, ist es wichtig, bei jedem einzelnen Teilschritt des Phenylalanin-Belastungstests möglichst genau zu arbeiten, um ein verwertbares und aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten.

#### **5.4 Erforderliche Testdauer**

Durch die „Ausreißer“ bei den getesteten Patienten mit F-ITD kommt es zu Überlappungen der Differenz Ratio Phe/Tyr mit Patienten der Gruppen G-ITD und DRD insbesondere nach 1 und 2 Stunden. Eine Zuordnung zu einer bestimmten Dystonie-Form erweist sich deshalb zu diesem Zeitpunkt recht schwierig, obwohl bei Patienten mit G-ITD nach 2 Stunden keine Überlappungen mit den Werten der DRD-Patienten vorhanden sind. Um ein eindeutiges Testergebnis zu erhalten, sollte der Test über einen Zeitraum von 4 Stunden durchgeführt werden. Zu diesem Zeitpunkt kann eine sichere Unterscheidung der DRD-Patienten von Patienten mit F-ITD bzw. G-ITD anhand der Differenz der Ratio Phe/Tyr vorgenommen werden. Analysiert man die Ratio-Werte, ergibt sich ein ähnliches Bild wie bei der Differenz Ratio Phe/Tyr. Auch hier gibt es vor Belastung sowie 1 und 2 Stunden nach Belastung viele Überschneidungen zwischen den einzelnen Formen der Dystonie, so dass keine eindeutige Aussage über die vorliegende Dystonie-Form getroffen werden kann. 4 Stunden nach Belastung erkennt man im Punktediagramm der Ratios nur noch eine Überlappung zwischen

einem DRD-Patienten und einem Patienten mit F-ITD. Keine Überschneidungen der Werte sind zwischen DRD-Patienten und Patienten mit G-ITD vorhanden. Die Ratio 04 Phe/Tyr ist der Differenz Ratio 04 Phe/Tyr insofern überlegen, dass diese durch eine einzige Blutentnahme nach 4 Stunden dargestellt werden kann. Um die Differenz Ratio 04 zu errechnen, ist eine Blutprobe vor Belastung und eine 4 Stunden nach Durchführung des Tests erforderlich. Da die Blutentnahme vor Durchführungsbeginn jedoch keine zusätzlichen Informationen liefert, scheint eine einmalige Blutentnahme 4 Stunden nach Belastung ausreichend, um DRD-Patienten von anderen Dystonie-Patienten zu unterscheiden. Um diese These zu unterstützen, sollte ein größeres Patientenkollektiv, welches die verschiedenen Dystonie-Formen mit einschließt, getestet werden.

Bei isolierter Betrachtung der absoluten Tyrosin-Werte können in bezug auf die erforderliche Testdauer keine Aussagen gemacht werden. Sowohl vor Belastung mit Phenylalanin als auch 1, 2 und 4 Stunden danach sind kaum Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen feststellbar. Auch wenn die Tyrosinspiegel bei DRD-Patienten im Durchschnitt etwas niedriger liegen als bei den Patienten mit F-ITD bzw. G-ITD, kann aufgrund der vielen Überlappungen zu keinem Zeitpunkt eine Zuordnung vorgenommen werden. Auch die Darstellung der Tyrosinwerte in Form eines Punktediagramms stellt keine Hilfe in Hinblick auf die Beurteilung der erforderlichen Testdauer dar.

Analysiert man die absoluten Phenylalanin-Werte, fällt auf, dass auch hier anhand der Punktediagramme keine Aussagen über die erforderliche Testdauer gemacht werden können. Die Phenylalanin-Plasmaspiegel sind vor Belastung sowie 1 und 2 Stunden nach Belastung bei DRD-Patienten deutlicher erhöht als in den anderen Gruppen, doch gibt es in der Gruppe der F-ITD „Ausreißer“, die eine sichere Differenzierung unmöglich machen. Auch bei G-ITD ist ein auffälliger Wert vorhanden, der bei der Ratio bzw. Differenz Ratio nicht dargestellt wird. Auch 4 Stunden nach Belastung stellt sich eine Trennung der verschiedenen Dystonie-Formen anhand der absoluten Phenylalanin-Werte schwieriger dar als bei den Ratio-Profilen, wo die Unterschiede deutlicher hervortreten.

Zur Diagnosestellung eignet sich folglich der gemessene Ratio-Wert nach 4 Stunden am besten, da dieser Parameter die Zuordnung zu einer bestimmten Dystonie-Form erlaubt. Hinzu kommt, dass der Aufwand für die Darstellung dieses Ratio-Profiles gering ist.

### **5.5 Bedeutung des Phenylalanin-Belastungstest als Routinetest in der Differentialdiagnose der verschiedenen Dystonien**

Vergleicht man die Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests der verschiedenen Dystonie-Formen miteinander, stellt man fest, dass der Test bei F-ITD und G-ITD ähnlich verläuft. Bei diesen beiden Formen der Dystonie sind die Ergebnisse unauffällig und vergleichbar mit Resultaten bei Kontrollen. Es gibt keinen Anhaltspunkt für eine Störung im Phenylalanin-Metabolismus. Die getesteten DRD-Patienten zeigen im Gegensatz dazu durchweg auffällige Ergebnisse beim Phenylalanin-Belastungstest. Ein Defekt der GTP-CH und der damit einhergehende BH<sub>4</sub>-Mangel sind die Ursache für die Störung im Phenylalanin-Stoffwechsel (Ichinose et al., 1994) und die beim Belastungstest auftretenden erhöhten Ratios von Phe/Tyr sowie des Phenylalanin-Plasmaspiegels. Gemeinsam ist allen getesteten Patienten der unauffällige Ausgangswert für Phenylalanin und der Ratio Phe/Tyr. Dies macht deutlich, dass auch DRD-Patienten unter Ruhebedingungen in der Lage sind, Phenylalanin in einem ausreichenden Maß zu verstoffwechseln.

Auch der Tyrosin-Wert befindet sich sowohl bei Patienten mit F-ITD, G-ITD und DRD in einem Bereich, wie er auch bei Gesunden vorkommt. Die Ergebnisse machen deutlich, dass die Tyrosin-Plasmaspiegel bei Patienten mit DRD im Verhältnis zu den anderen Formen erniedrigt sind. Dies legt den Schluss nahe, dass eine Störung im Phenylalanin-Metabolismus nicht nur drastisch erhöhte Phenylalanin-Plasmaspiegel hervorruft, sondern auch mit einer verringerten Tyrosin-Produktion einhergeht.

Die signifikanten Unterschiede im Bereich der Phenylalanin-Plasmaspiegel und der Ratio Phe/Tyr bei den verschiedenen Formen der Dystonie zeigen, dass der Phenylalanin-Belastungstest in der Differentialdiagnose zur Unterscheidung der DRD von F-ITD und G-ITD eingesetzt werden kann. Er stellt eine zuverlässige Methode dar, um relativ schnell die richtige Diagnose bei Patienten herbeizuführen, die aufgrund einer unklaren oder atypischen Symptomatik zu keiner Form der Dystonie zugeordnet werden können. Dies bringt auch die hohe Sensitivität (100 %) und Spezifität (95 %) des Tests zum Ausdruck. Die Ergebnisse zeigen, dass eine einmalige Bestimmung der Ratio Phe/Tyr 4 Stunden nach Durchführung des Tests ausreicht, um eine Aussage über die Form der Dystonie zu machen. Dies vereinfacht die Einführung des Tests als Methode in der Routinediagnostik. Eine obligate Messung von BH<sub>4</sub> ist nicht erforderlich, um eine hohe Sensitivität und Spezifität des

Tests zu erreichen (Ashman et al., 1985). Dies erleichtert die Durchführung des Tests, da BH4-Messungen weltweit in nur wenigen Laboratorien durchgeführt werden. Mit Hilfe von genetischen Tests kann die Diagnose der Patienten bestätigt werden. Bei DRD-Patienten wird die zugrunde liegende GTP-CH-Mutation in 50% der Fälle entdeckt, das DYT1-Gen als Hauptursache der G-ITD wird in 70% der Patienten gefunden. Der Einsatz der Sequenzanalyse von GTP-CH als Routinetest ist jedoch nicht geeignet, da es im Gegensatz zu Torsin A im DYT1-Gen keine einheitliche Mutation gibt. Die Mutationen sind vielmehr über die gesamte Kodierungssequenz verteilt sowie über die anliegenden Splice-Regionen. Mutationen außerhalb der kodierenden Region sind wahrscheinlich ebenfalls relevant, ausserdem scheint genetische Heterogenität bei DRD vorzuliegen (Bandmann et al., 1998b; Tassin et al., 2000; Luedecke et al., 1995).

Durch die richtige Diagnosefindung ist es möglich, DRD-Patienten frühzeitig zu therapieren. Folglich kann mit Hilfe des Phenylalanin-Belastungstests durch einen rechtzeitigen Therapiebeginn unter Umständen eine Progredienz der Krankheit aufgehalten werden. Umgekehrt kann der Test eine unnötige und potentiell schädliche Therapie bei solchen Patienten verhindern, die sich phänotypisch mit ähnlichen Symptomen präsentieren, welche aber eine andere genetische Ursache haben. So gibt es Patienten, die eine Kombination aus einer Dystonie und einem akinetisch-rigiden Syndrom zeigen, die aufgrund einer Mutation des Parkin-Gens entstanden ist (Tassin et al., 2000). Eine Therapie mit L-Dopa bei diesen Patienten könnte erhebliche Störungen im Bereich der Motorik wie z.B. Dyskinesien zur Folge haben.

## 6. Anhang



## 6.1. Tabellen

<u>Pat.-Nr.</u>	<u>Geb.-Dat.</u>	<u>Phe (µmol/l)</u>	<u>Tyrosin (µmol/l)</u>	<u>Ratio Phe/Tyr</u>	<u>Zeit</u>
1	21.10.21	68,1	78,3	0,87	0
		1606,7	116,7	13,80	1
		1667,7	116,3	14,30	2
		791,3	153,9	5,10	4
2	23.07.51	89,2	41,5	2,10	0
		627,8	93,6	6,70	1
		647,5	129,8	5,00	2
		459,6	167,2	2,70	4
3	05.10.38	87,3	92,3	0,95	0
		895,7	111,1	8,10	1
		720,1	164,8	4,40	2
		407,4	216,3	1,90	4
4	10.07.40	58,3	51,4	1,10	0
		620,6	105,9	5,90	1
		466,0	101,1	4,60	2
		224,0	101,8	2,20	4
5	13.10.33	73,1	76,6	1,00	0
		992,5	119,1	8,30	1
		933,2	151,4	6,20	2
		467,3	177,2	2,60	4
6	18.03.42	58,8	51,7	1,10	0
		560,3	90,7	6,20	1
		432,7	96,5	4,50	2
		226,3	90,8	2,49	4
7	22.11.11	67,1	59,0	1,10	0
		971,3	122,0	8,00	1
		612,8	178,3	3,40	2
		191,7	117,1	1,60	4
8	26.10.39	68,5	55,0	1,20	0
		566,4	72,8	7,80	1
		660,5	96,2	6,90	2
		335,5	117,2	2,90	4
9	05.09.61	148,7	42,4	3,51	0
		1642,7	74,3	22,11	1
		1628,6	89,6	18,18	2
		1327,7	118,9	11,17	4
10	08.02.66	88,3	87,4	1,01	0
		438,0	95,0	4,61	1
		477,5	134,1	3,56	2
		330,0	195,2	1,69	4

**Tabelle 1: Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit F-ITD**

<u>Pat.-Nr.</u>	<u>Geb.-Dat.</u>	<u>Phe (µmol/l)</u>	<u>Tyrosin (µmol/l)</u>	<u>Ratio Phe/Tyr</u>	<u>Zeit</u>
11	26.09.42	87,2	92,5	0,90	0
		488,3	188,4	2,60	1
		139,1	115,9	1,20	2
		97,4	48,7	2,00	4
12	18.04.68	57,2	77,5	0,70	0
		648,6	130,2	5,00	1
		497,6	111,7	4,50	2
		266,8	128,7	2,10	4
13	04.03.76	43,9	35,2	1,30	0
		604,1	71,1	8,50	1
		493,4	67,1	7,40	2
		252,3	81,6	3,10	4
14	31.05.78	54,9	60,1	0,90	0
		426,9	112,7	3,80	1
		590,4	125,6	4,70	2
		289,5	139,5	2,10	4
15	08.07.53	81,2	110,7	0,70	0
		412,9	167,0	2,50	1
		402,0	192,3	2,10	2
		252,6	169,9	1,50	4
16	09.02.65	75,0	75,4	1,00	0
		588,2	179,3	3,30	1
		748,2	216,7	3,50	2
		564,6	257,0	2,20	4
17	24.12.55	69,0	67,6	1,00	0
		333,2	111,4	3,00	1
		306,5	128,2	2,40	2
		248,8	177,1	1,40	4
18	19.06.64	49,4	56,4	0,90	0
		406,5	114,5	3,60	1
		420,3	153,1	2,80	2
		188,7	31,9	5,90	4
19	29.08.66	65,3	56,4	1,20	0
		541,9	109,0	5,00	1
		664,5	163,5	4,10	2
		294,7	143,9	2,10	4
20	25.02.75	73,5	64,0	1,20	0
		1273,9	125,7	10,10	1
		1071,6	172,0	6,20	2
		698,5	184,6	3,80	4

**Tabelle 2: Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit G-ITD**

<u>Pat.-Nr.</u>	<u>Geb.-Dat.</u>	<u>Phe (µmol/l)</u>	<u>Tyrosin (µmol/l)</u>	<u>Ratio Phe/Tyr</u>	<u>Zeit</u>
21	13.06.68	70,4	122,6	0,57	0
		1240,6	126,5	9,81	1
		1345,7	142,1	9,47	2
		1292,7	136,0	9,51	4
22	02.06.52	80,7	66,9	1,21	0
		1489,9	97,2	15,33	1
		1190,7	118,8	10,02	2
		1150,3	105,3	9,88	4
23	18.08.72	91,3	65,1	1,40	0
		504,0	71,6	7,04	1
		1201,0	87,3	13,76	2
		1155,9	81,4	14,20	4
24	08.07.68	70,6	46,0	1,53	0
		776,0	48,7	15,93	1
		1196,0	65,1	18,37	2
		804,9	79,7	10,10	4
25	18.02.77	82,4	69,7	1,18	0
		1217,5	89,1	13,66	1
		1547,5	90,6	17,08	2
		1795,1	119,0	15,08	4
26	31.03.81	60,5	61,0	0,99	0
		1017,3	82,5	12,33	1
		991,0	67,4	14,70	2
		1907,3	100,9	18,90	4
27	23.08.74	76,7	32,4	2,37	0
		1241,4	87,7	14,16	1
		1351,0	104,5	12,93	2
		1192,7	111,1	10,74	4
28	17.01.45	100,9	106,8	0,94	0
		969,3	131,0	7,40	1
		1428,6	130,0	10,99	2
		1702,9	147,5	11,55	4
29	07.10.48	90,0	101,9	0,88	0
		1525,6	129,4	11,79	1
		2065,4	143,2	14,42	2
		1776,7	200,7	8,85	4
30	18.05.62	118,4	67,6	1,75	0
		1505,2	62,6	24,04	1
		1570,1	61,4	25,57	2
		1471,7	61,1	24,09	4

**Tabelle 3: Ergebnisse des Phenylalanin-Belastungstests bei Patienten mit DRD**

## **Gruppe 1: F-ITD**

Phenylalanin 0 Mittelwert:	80,74	Median:	70,80	Std. dev:	26,519
Phenylalanin 1 Mittelwert:	892,00	Median:	761,70	Std. dev:	428,999
Phenylalanin 2 Mittelwert:	824,66	Median:	654,00	Std. dev:	457,743
Phenylalanin 4 Mittelwert:	476,08	Median:	371,45	Std. dev:	346,024

Tyrosin 0 Mittelwert:	53,56	Median:	57,00	Std. dev.	18,550
Tyrosin 1 Mittelwert:	100,12	Median:	100,45	Std. dev.	17,750
Tyrosin 2 Mittelwert:	125,81	Median:	123,05	Std. dev.	31,200
Tyrosin 4 Mittelwert:	135,84	Median:	136,40	Std. dev.	60,780

Ratio 0 Mittelwert:	1,41	Median:	1,14	Std. dev.	0,820
Ratio 1 Mittelwert:	9,14	Median:	7,87	Std. dev:	5,170
Ratio 2 Mittelwert:	7,10	Median:	4,80	Std. dev.	5,020
Ratio 4 Mittelwert:	3,63	Median:	2,69	Std. dev.	14,590

Diff. Ratio 01 Mittelwert:	7,73	Median:	6,68	Std. dev.	4,610
Diff. Ratio 02 Mittelwert:	5,69	Median:	3,45	Std. dev.	4,550
Diff. Ratio 04 Mittelwert:	6,69	Median:	1,49	Std. dev.	14,530

**Tabelle 4: Mittelwerte von Patienten mit F-ITD**

## **Gruppe 2: G-ITD**

Phenylalanin 0 Mittelwert:	65,66	Median: 67,15	Std. dev: 14,11
Phenylalanin 1 Mittelwert:	572,45	Median: 515,10	Std. dev: 266,36
Phenylalanin 2 Mittelwert:	533,36	Median: 495,50	Std. dev. 257,37
Phenylalanin 4 Mittelwert:	315,39	Median: 259,70	Std. dev. 178,97

Tyrosin 0 Mittelwert:	69,56	Median: 65,80	Std. dev. 21,00
Tyrosin 1 Mittelwert:	130,93	Median: 120,10	Std. dev. 36,54
Tyrosin 2 Mittelwert:	144,61	Median: 140,65	Std. dev. 43,71
Tyrosin 4 Mittelwert:	136,29	Median: 141,70	Std. dev. 67,81

Ratio 0 Mittelwert:	0,98	Median: 0,97	Std. dev. 0,17
Ratio 1 Mittelwert:	4,73	Median: 3,67	Std. dev: 2,60
Ratio 2 Mittelwert:	3,87	Median: 3,76	Std. dev. 1,91
Ratio 4 Mittelwert:	2,61	Median: 2,07	Std. dev. 1,36

Diff. Ratio 01 Mittelwert:	3,75	Median: 2,77	Std. dev. 2,49
Diff. Ratio 02 Mittelwert:	2,89	Median: 2,68	Std. dev. 1,81
Diff. Ratio 04 Mittelwert:	1,63	Median: 1,18	Std. dev. 1,35

**Tabelle 5: Mittelwerte von Patienten mit G-ITD**

### **Gruppe 3: DRD**

Phenylalanin 0 Mittelwert:	84,19	Median: 81,55	Std. dev: 16,80
Phenylalanin 1 Mittelwert:	1148,68	Median: 1229,05	Std. dev: 335,22
Phenylalanin 2 Mittelwert:	1388,70	Median: 1348,35	Std. dev. 296,39
Phenylalanin 4 Mittelwert:	1425,02	Median: 1382,20	Std. dev. 361,56

Tyrosin 0 Mittelwert:	74,00	Median: 67,25	Std. dev. 28,07
Tyrosin 1 Mittelwert:	92,63	Median: 88,40	Std. dev. 28,69
Tyrosin 2 Mittelwert:	101,04	Median: 97,55	Std. dev. 31,49
Tyrosin 4 Mittelwert:	114,27	Median: 108,20	Std. dev. 40,06

Ratio 0 Mittelwert:	1,28	Median: 1,19	Std. dev. 0,51
Ratio 1 Mittelwert:	13,15	Median: 13,00	Std. dev: 4,91
Ratio 2 Mittelwert:	14,73	Median: 14,09	Std. dev. 4,77
Ratio 4 Mittelwert:	13,39	Median: 11,24	Std. dev. 4,85

Diff. Ratio 01 Mittelwert:	11,87	Median: 11,56	Std. dev. 4,68
Diff. Ratio 02 Mittelwert:	13,45	Median: 12,95	Std. dev. 4,58
Diff. Ratio 04 Mittelwert:	12,11	Median: 10,16	Std. dev. 4,77

**Tabelle 6: Mittelwerte von Patienten mit DRD**

## 6.2 Literaturverzeichnis

Allen N, Knopp W. Hereditary parkinsonism-dystonia with sustained control by L-Dopa and anticholinergic medication. *Adv Neurol* 1976; 14: 201-213.

Almasy L, Bressman SB, Raymond D, Kramer PL, Greene PE, Heiman GA, Ford B, Yount J, de Leon D, Chouinard S, Saunders-Pullman R, Brin MF, Kapoor RP, Jones AC, Shen H, Fahn S, Risch NJ, Nygaard TG. Idiopathic torsion dystonia linked to chromosome 8 in two Mennonite families. *Ann Neurol*, 1997; 42: 670-673.

Alös T, Bel Y, Cabello ML, et al. Improved identification of heterozygotes for phenylketonuria using blood neopterin and biopterin. *J Inherit Metab* 1993; 16: 457-464.

Ashman K, Bosserhof A. Amino acid analysis by high performance liquid chromatography and precolumn derivatisation. In: Tschesche H, ed. *Modern methods in protein chemistry*. Berlin: de Gruyter, 1985: 155-172.

Bandmann O, Nygaard T, Surtees T, Marsden CD, Wood NW, Harding AE. Dopa-responsive dystonia in British patients: new mutations of the GTP-cyclohydrolase 1 gene and evidence for genetic heterogeneity. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 403-406.

Bandmann O, Marsden CD, Wood NW. Atypical presentations of dopa-responsive dystonia. *Adv Neurol*, 1998a; 78: 283-290.

Bandmann O, Valente EM, Holmans P, Surtees RA, Walters JH, Wevers RA, Marsden CD, Wood NW. Dopa-responsive dystonia: a clinical and molecular genetic study. *Ann Neurol*, 1998b; 44: 649-656.

Barrett GC. *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*. Chapman & Hall, London 1985.

Beck D. Dystonia musculorum deformans with another case in the same family. *Proc R Soc Med* 1947; 40: 551-552.

Benecke R, Strumper P, Weiss H. Electron transfer complex I defect in idiopathic dystonia. *Ann Neurol*, 1992; 32: 683-686.

Bezin L, Nygaard TG, Neville JD, Shen H, Levine RA. Reduced lymphoblast neopterin detects GTP cyclohydrolase dysfunction in dopa-responsive dystonia. *Neurology* 1998; 50: 1021-1027.

Blackburn S. Amino Acid Determination, Methods and Techniques. M Dekker, New York and Basel; 1978.

Blau N, Thony B, Heizmann CW, Dhondt JL. Tetrahydrobiopterin deficiency: from phenotype to genotype. *Pteridines* 1993; 4: 1-10.

Blau N, Thony B, Spada M, Ponzzone A. Tetrahydrobiopterin and inherited hyperphenylalaninaemias. *Turk J Pediatr*, 1996; 38: 19-35.

Bremer HJ, Neumann W. Tolerance of phenylalanine after intravenous administration in phenylketonurics, heterozygous carriers, and normal adults. *Nature* 1966;209: 1148-1149.

Brown ES, Waisman HA, Swanson NA, Colwell RE, Banks ME, Gerritsen T. Effects of oral contraceptives and obesity on carrier tests for phenylketonuria. *Clin Chim Acta*, 1973; 44: 183-192.

Ceballos-Baumann AO. Dystonien. In: *Bewegungsstörungen in der Neurologie*. Thieme, Stuttgart New York, 1996: 89-140.

Corner B. Dystonia musculorum deformans in siblings. Treated with Artane (Trihexyphenidyl). *Proc R Soc Med* 1952; 45: 451-452.

Danks DM, Schlesinger P, Firgaira F, et al. Malignant hyperphenylalaninaemia – clinical features, biochemical findings and experience with administration of biopterins. *Pediatr Res*, 1979; 13: 1150-1155.

Deonna T, Ferreira A. Idiopathic fluctuating dystonia: a case of foot dystonia and writer's cramp responsive to L-Dopa *Dev Med Child Neurol* 1985; 27: 819-821.

Dhondt JL, Farriaux JP. Relationships between phenylalanine and biopterin metabolism. In: Wachter H, Curtius HCh, Pfeleiderer W, eds. *Biochemical clinical aspects of pteridines*. Berlin: Walter de Gruyter, 1982; 1: 318-328.

Dhondt JL, Leroux B, Farriaux JP, Largilliere C, Leeming RJ. Dihydrobiopterin biosynthesis deficiency. *Eur J Pediatr* 1983; 141: 92-95.

Fahn S. Generalized dystonia: concept and treatment. *Clin Neuropharmacol* 1986; 9 (Suppl 2): 37-48.



Fahn S, Marsden CD, Calne DB. Classification and investigation of dystonia. In: Marsden CD, Fahn S, eds. *Movement disorders 2*. London: Butterworths, 1987: 332-358.

Fahn S, Concept and classification of dystonia. *Adv Neurol* 1988; 50: 1-8.

Fink JK, Barton N, Cohen W, Lovenberg W, Burns RS, Hallett M. Dystonia with marked diurnal variation associated with biopterin deficiency. *Neurology*, 1988; 38: 707-711.

Fletcher NA, Thompson PD, Scadding JW, Marsden CD. Successful treatment of childhood onset symptomatic dystonia with levodopa. *J Neurol Neuros Psychiatry* 1993; 56: 865-867.

Furukawa Y, Kish SJ. Influence of development and aging on brain biopterin: implications for dopa-responsive dystonia onset. *Neurology*, 1998; 52: 632-634.

Furukawa Y, Graf WD, Wong H, Shimadzu M, Kish SJ. Dopa-responsive dystonia simulating spastic paraplegia due to tyrosine hydroxylase (TH) gene mutations. *Neurology* 2001; 56: 260-263.

Gasser T. Inherited myoclonus-dystonia. *Adv Neurol*, 1998; 78: 325-334.

Gordon N. Fluctuating dystonia and allied syndromes. *Neuropediatrics*, 1982;13:152-154.

Greene P, Kang UJ, Fahn S. Spread of symptoms in idiopathic torsion dystonia. *Mov disord* 1995; 10: 211-214.

Harada T, Kagamiyama H, Hatakeyama K. Feedback regulation mechanisms for control of GTP cyclohydrolase 1 activity. *Science*, 1993; 260: 1507-1510.

Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, et al. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med*, 1984; 160: 310-316.

Hyland K, Fryburg JS, Wilson WG, et al. Oral phenylalanine loading in dopa-responsive dystonia : a possible diagnostic test. *Neurology* 1997; 1290-1297.

Hyland K, Nygaard TG, Trugman JM, Swoboda KJ, Arnold LA, Sparagana SP. Oral phenylalanine loading profiles in symptomatic and asymptomatic gene carriers with dopa-responsive dystonia due to dominantly inherited GTP cyclohydrolase deficiency. *J Inher Metab Dis*, 1999; 22: 213-215.

Ichinose H, Ohye T, Takahashi EI, et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase 1 gene. *Nat Genet* 1994; 236-242.

Jagenburg R, Regardh CJ, Rodjer S. Influence of age and sex on the kinetics of intravenously administered L-phenylalanine. *Clin Chem*, 1982; 28: 204-206.

Jahanshahi M, Marion MH, Marsden CD. Natural history of adult-onset idiopathic torticollis. *Arch Neurol*, 1990; 47: 548-552.

Jarmann PR, Bandmann O, Marsden CD, Harding AE, Wood NW. GTP cyclohydrolase 1 mutations in patients with dystonia responsive to anticholinergic drugs. *J. Neurol Neuros Psychiatry* 1997; 63: 304-308.

Kaufman S. Studies on the mechanism of the enzymatic conversion of phenylalanine to tyrosine. *J Biol Chem* 1959; 234: 2677-2682.

Kaufman S, Berlow S, Summer GK, et al. Hyperphenylalaninaemia due to a deficiency of biopterin. *N Engl J Med* 1978; 299: 673-679.

Klein C, Brin MF, de Leon D et al.. De novo mutations (GAG deletion) in the DYT1 gene in two non-Jewish patients with early-onset dystonia. *Hum Mol Genet*, 1998; 7: 1133-1136.

Knappskog PM, Flatmark T, Mallet J, Luedecke B, Bartholome K. Recessively inherited L-Dopa-responsive dystonia caused by a point mutation (Q381 K) in the tyrosine hydroxylase gene. *Hum Mol Genet*, 1995; 4: 1209-1212.

Kramer PL, Heimann GA, Gasser T, et al. The DYT1 gene on 9q34 is responsible for most cases of early limb-onset idiopathic torsion dystonia in non-Jews. *Am J Hum Genet*, 1994; 55: 468-475.

Lang AE. Essential myoclonus and myoclonic dystonia. *Mov Disord*, 1997; 12: 127.

Leeming RJ, Blair A, Green A, Raine DN. Biopterin derivatives in normal and phenylketonuric patients after oral load of L-phenylalanine, L-tyrosine and L-tryptophan. *Arch Dis Child*, 1976; 51: 771-777.

Leube B, Rudnicki D, Ratzlaff T, Kessler KR, Knapp M, Auburger G. Idiopathic torsion dystonia: assignment of a gene to chromosome 18p in a German family with adult onset, autosomal dominant inheritance and purely focal distribution. *Hum Mol Genet*, 1996; 10: 1673-1677.

Leube B, Hendgen T, Kessler KR, Knapp M, Bennecke R, Auburger G. Sporadic focal dystonia in Northwest Germany: molecular basis on chromosome 18p. *Ann Neurol*, 1997a; 42: 111-114.

Leube B, Hendgen T, Kessler KR, Knapp M, Bennecke R, Auburger G. Evidence for DYT7 being a common cause of cervical dystonia (torticollis) in Central Europe. *Am J Med Genet*, 1997b; 74: 529-532.

LeWitt P, Miller L, Levine R, et al. Tetrahydrobiopterin in dystonia : abnormal metabolism and therapeutic trial. *Neurology* 1986; 36: 760-764.

Luedecke B, Dworniczak B, Bartholome K. A point mutation in the tyrosine hydroxylase gene associated with Segawa's syndrome. *Hum Genet* 1995; 95: 123-125.

Luedecke B, Knappskog P, Clayton P, et al. Recessively inherited L-DOPA-responsive parkinsonism in infancy caused by a point mutation (L205P) in the tyrosine hydroxylase gene. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1023-1028.

Marsden CD, Harrison M. Idiopathic torsion dystonia (dystonia musculorum deformans): a review of forty-two patients. *Brain* 1974; 97: 793-810.

Marsden CD, Harrison MJG, Bunday S. Natural history of idiopathic torsion dystonia. *Adv Neurol* 1976; 14: 177-187.

McDonald, Bode VC. Hyperphenylalaninaemia in the hph-1 mouse mutant. *Pediatr Res*, 1988a; 23: 63-67.

McDonald JD, Cotton RGH, Jennings I, Ledley FD, Woo SLC, Bode VC. Biochemical defect of the hph-1 mouse mutant is a deficiency in GTP-cyclohydrolase activity. *J Neurochem* 1988b; 50: 655-657.

Mount LA, Reback S. Familial paroxysmal choreoathetosis: preliminary report on a hitherto undescribed clinical syndrome. *Arch Neurol Psychiatry* 1940; 44: 841-847.

Nagatsu T, Levitt M, Udenfriend S. Tyrosine hydroxylase, the initial step in norepinephrine biosynthesis. *J Biol Chem*, 1964; 238: 2910-2917.

Nar H, Huber R, Auerbach G, Fischer M, Hosl C, Ritz H, Bracher A, Meining W, Eberhardt S, Bacher A. Active site topology and reaction mechanism of GTP cyclohydrolase I. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995; 92: 12120-12125.

Naumann M, Pirker W, Reiners K, Lange KW, Becker G, Brucke T. Imaging the pre- and postsynaptic side of striatal dopaminergic synapses in idiopathic cervical dystonia: a SPECT study using [<sup>123</sup>I] epidepride and [<sup>123</sup>I] beta-CIT. *Mov Disord*, 1998; 13: 319-323.

Nemeth A. The genetics of primary dystonias and related disorders. *Brain*, 2002; 125: 695-721.

Nichol CA, Smith GK, Duch DS. Biosynthesis and metabolism of tetrahydrobiopterin and molybdopterin. *Annu Rev Biochem* 1985; 54: 729-764.

Nutt JG, Muentner MD, Aronson A, Kurland LT, Melton LJ. Epidemiology of focal and generalized dystonia in Rochester, Minnesota. *Mov Disord*, 1988; 3: 188-194.

Nygaard T, Marsden C, Duvoisin R. Dopa-responsive dystonia. *Adv Neurol* 1988 ; 50: 377-384.

Nygaard T, Trugman J, Yebenes J, Fahn S. Dopa-responsive dystonia: the spectrum of clinical manifestations in a large North American family. *Neurology* 1990; 40: 66-69.

Nygaard T, Marsden C, Fahn S. Dopa-responsive dystonia: long term treatment response and prognosis. *Neurology* 1991; 41: 174-181.

Nygaard T, Takahashi H, Heiman G, Snow B, Fahn S, Calne D. Long-term treatment response and fluorodopa positron emission tomographic scanning of parkinsonism in a family with dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol* 1992; 32: 603-608.

Nygaard T. Dopa-responsive dystonia. *Adv Neurol* 1993; 60: 577-585.

Oppenheim H. Über eine eigenartige Krampfkrankheit des kindlichen und jugendlichen Alters (Dysbasia lordotica progressiva, dystonia musculorum deformans ). *Neurol Centrabl* 1911; 30: 1090-1107.

Ouvrier RA. Progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Ann Neurol* 1978; 4: 412-417.

Ozelius L, Kramer PL, Moskowitz CB, Kwiatkowski DJ, Brin MF, Bressman SB, Schuback DE, Falk CT, Risch N, de Leon D, et al. Human gene for torsion dystonia located on chromosome 9q32-q34. *Neuron*, 1989; 2: 1427-1434.

Ozelius LJ, Kramer PL, de Leon D, Risch N, Bressman SB, Schuback DE, Brin MF, Kwiatkowski DJ, Burke RE, Gusella JF, et al. Strong allelic association between the torsion dystonia gene (DYT1) and loci on chromosome 9q34 in Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet*, 1992; 50: 619-628.

Ozelius L, Hewett J, Page C, et al. The early onset torsion dystonia gene (DYT1) encodes an ATP-binding protein. *Nat Genet* 1997; 17: 40-48.

Perlmutter JS, Tempel LW, Black KJ, Parkinson D, Todd RD. MPTP induces dystonia and parkinsonism. Clues to the pathophysiology of dystonia. *Neurology*, 1997; 49: 1432-1438.

Rampini S, Anders PW, Curtius HCh, Marthaler TH. Detection of heterozygotes for phenylketonuria by column chromatography and discriminatory analysis. *Pediatr Res* 1969; 3: 287-297.

Risch N, de Leon D, Ozelius L, Kramer P, Almasy L, Singer B, Fahn S, Breakefield X, Bressman S. Genetic analysis of idiopathic torsion dystonia in Ashkenazi Jews and their recent descent from a small founder population. *Nat Genet*, 1995; 9: 152-159.

Saraiva JM, Seakins JWT, Smith I. Plasma phenylalanine and tyrosine levels revisited in heterozygotes for hyperphenylalaninaemia. *J Inher Metab Dis* 1993; 16: 105-109.

Schapira AH, Warner T, Gash MT, Cleeter MW, Marinho CF, Cooper JM. Complex I function in familial and sporadic dystonia. *Ann Neurol*, 1997; 41: 556-559.

Schoenberg B, Anderson D, Haerer A. Prevalence of Parkinson's disease in the biracial population of Copiah County. *Neurology* 1985; 35: 841-845.

Segawa M, Ohmi K, Itoh S, Aoyama M, Hayakawa H. Childhood basal ganglia disease with remarkable response to L-Dopa, "hereditary basal ganglia disease with marked diurnal fluctuation." *Shinryo (Therapy-Tokyo)* 1971; 24: 667-672.

Segawa M, Hosaka A, Miyagawa F, Nomura Y, Imai H. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Adv Neurol* 1976; 14: 215-233.

Segawa M, Nomura Y. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. Pathophysiological importance of the age of onset. *Adv Neurol*, 1993; 60: 568-76.

Takahashi H, Levine RA, Galloway MP, Snow BJ, Calne DB, Nygaard TJ. Biochemical and fluorodopa positron emission tomographic findings in an asymptomatic carrier of the gene for dopa-responsive dystonia. *Ann Neuro*, 1994; 35: 354-356.

Tanaka K, Yoneda M, Nakajima T, Miyatake T, Owada I. Dihydrobiopterin synthesis defect: an adult with diurnal fluctuations of symptoms. *Neurology*, 1987; 37: 519-522.

Tassin J, Durr A, Bonnet AM, et al. Levodopa-responsive dystonia. GTP cyclohydrolase I or parkin mutations? *Brain* 2000; 123: 1112-1121.

Waddy HM, Fletcher NA, Harding AE, Marsden, CD. A genetic study of idiopathic focal dystonias. *Ann Neurol*, 1991; 29: 320-324.

Westwood A, Raine DN. Heterozygote detection in phenylketonuria. Measurement of discriminatory ability and interpretation of the phenylalanine loading test by determination of the heterozygote likelihood ratio. *J Med Genet* 1975; 12: 327-333.

Williams A, Eldridge R, Levine R, Lovenberg W, Paulson G. Low CSF hydroxylase cofactor (tetrahydrobiopterin) levels in inherited dystonia. *Lancet* 1979; 2: 410-411.

Williams A, Levine R, Chase T, Lovenberg W, Calne C. CSF hydroxylase cofactor levels in some neurological diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1980; 43: 735-738.

Wurtman RJ, Rose CM, Chou C, Larin FF. Daily rhythms in the concentrations of various amino acids in human plasma. *N Engl J Med*, 1968; 278: 171-178.

Yebeles J, Moskowitz C, Fahn S, Saint Hillaire M. Long-term treatment with levodopa in a family with autosomal dominant torsion dystonia. *Adv Neurol* 1988; 50: 577-585.

## Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren

in Marburg:

Arnold, Aumüller, Austermann, Bandmann, Barth, Basler, Bauhofer, Baum, Bien, Boudriot, Celik, Cetin, Christiansen, Czubayko, Daut, Eissele, Elsässer, Engel, Feuser, Fruhstorfer, Gemsa, Geus, Gotzen, Griss, Grzeschik, Happle, Hasilik, Hellinger, Herzum, Hesse, Himmelmann, Hoffmann, Hofmann, Hörsch, Joseph, Junge, Kaiser, Kern, Klenk, Klose, Koolmann, Krieg, Lang, Lennartz, Leppek, Löffler, Lorenz, Maisch, Mc Gregor, Moll, Moosdorf, Mueller, Oertel, Petermann, Pfab, Pfeiffer, Radsak, Ramaswamy, Rechzeh, Reichardt, Renschmidt, Renz, Richter, Rosenow, Rothmund, Schachtschabel, Schäfer, Schmitt, Schneyer, Schuermann, Schulz, Schurek, Steiniger, Stief, Stiletto, Sturm, Vohland, Voigt, Wagner, Weihe, Werner, Westermann, Wichert, von Wille, Wirth, Zwioerek

in München:

Brandl, Brandt, Dichgans, Gasser, Harder, Hiller, Höcherl, Liebetrau, Nerl, Pfister, Reuter, Rohloff, Sackmann, Strupp, Waldner, Winkler, Woitinas

## **Danksagung**

Ich möchte mich bei meinem Betreuer PD Dr. Oliver Bandmann für die hervorragende Betreuung und Unterstützung während der gesamten Promotion bedanken. Er hat mir insbesondere bei der Suche der Patienten geholfen und zur inhaltlichen Gestaltung der Promotion beigetragen.

Ich möchte mich weiterhin bei PD Dr. J. Zschocke, Prof. Dr. G. Deuschl, PD Dr. Johst, PD Dr. Hefter, Dr. U. Mueller bedanken, die alle bei der Suche nach Dystonie-Patienten geholfen haben. Für die statistische Hilfestellung möchte ich Herrn P. Zoefel herzlich danken.

Die HPLC-Analyse der Proben wurde im biochemischen Labor der Universitätskinderklinik Heidelberg (Direktor: Prof G. Hoffmann) durchgeführt, für die Durchführung der Analysen möchte ich mich bei der technischen Assistentin D. Uhlmann, für die Bewertung bei PD Dr. J. Zschocke herzlich bedanken.

Bei der Layout-Gestaltung hat mir Mathias Zimmer geholfen, dem ich dafür dankbar bin.

Schließlich möchte ich meinen Eltern ganz herzlich danken, die immer für mich da sind.