

Aus dem Medizinischen Zentrum für Nervenheilkunde der Philipps-
Universität Marburg
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. J.-C. Krieg
Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. W. H. Oertel

**Untersuchung der Dopaminrezeptor- sowie Hypocretin-
Gen-Polymorphismen bei Parkinson-Patienten mit
„Schlafattacken“**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt

von
Ida Rissling
aus Karaganda

Marburg 2004

Angenommen vom Fachbereich für Humanmedizin

der Philipps-Universität Marburg

am: 21.10.2004

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. Maisch

Referent: Prof. Dr. Oertel

Korreferent: HD Dr. Kunz

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	3
1 EINLEITUNG	6
1.1 Das Parkinson-Syndrom.....	6
1.1.1 Das idiopathische Parkinson-Syndrom	6
1.1.2 Neuropathologische Stadieneinteilung des idiopathischen Parkinson-Syndroms	11
1.1.3 Therapeutische Prinzipien des IPS	13
1.1.4 Medikamentöse Behandlung des IPS	15
1.2 Schlafstörungen beim Parkinson-Syndrom.....	18
1.2.1 Pathophysiologie des Schlafs beim Parkinson-Syndrom	18
1.2.2 „Schlafattacken“	19
1.2.3 Einfluss von L-Dopa und der Dopamin-Agonisten auf die Schlafphysiologie	21
1.2.4 Kandidatengen-Analyse bei Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken“ ..	24
1.2.5 Die Rolle des Hypocretin für die Schlaf-Wach-Regulation	25
2 MATERIAL UND METHODIK.....	29
2.1 Material	29
2.1.1 Lösungen und Puffer:	29
2.1.2 Gele:	29
2.1.3 DNA-Leiter:	29
2.1.4 PCR.....	30
2.1.5 Sequenzierung	30
2.1.6 Primer	30
2.1.6.1 DRD2- <i>Taq IA</i> - Polymorphismus (Grandy et al., 1993).....	30
2.1.6.2 DRD3- <i>MscI</i> -Polymorphismus (Lannfelt et al., 1992).....	31
2.1.6.3 DRD4- <i>tandem duplication</i> -Polymorphismus (Seaman et al., 1999). 31	
2.1.6.4 DRD4 48-bp <i>repeat</i> -Polymorphismus (Van Tol et al., 1991).....	31
2.1.6.5 -909T/C-Hcrt-Polymorphismus (Hungs et al., 2001).....	31
2.1.6.6 -22C/T-Hcrt-Polymorphismus und -20C/A-Variante (Gencik et al., 2001).....	31
2.1.7 Restriktionsenzyme	31
2.2 Patienten	33
2.2.1 Pilotstudie:	33
2.2.2 Hauptstudie:	34
2.3 Methodik.....	36
2.3.1 Präparation genomischer DNA aus Vollblut:	36
2.3.2 Die Standard-PCR	36

2.3.2.1 <i>Nested</i> PCR	37
2.3.2.2 Aufreinigung der PCR-Produkte	38
2.3.3 Restriktionsenzymanalyse	38
2.3.3.1 Polymorphismus-Detektion	38
2.3.3.2 DRD2- <i>TaqI</i> A-Polymorphismus.....	39
2.3.3.3 DRD3- <i>MscI</i> -Polymorphismus.....	40
2.3.3.4 DRD4- <i>tandem duplication</i> -Polymorphismus	40
2.3.3.5 DRD4-48 bp- <i>repeat</i> -Polymorphismus.....	40
2.3.3.6 -909T/C-Hcrt-Polymorphismus	41
2.3.3.7 -22T/C-Hcrt-Polymorphismus und -20C/A-Variante	41
2.3.4 Sequenzierung	41
2.3.4.1 Sequenzierung nach der Didesoxymethode	41
2.3.4.2 Bestimmung des -22C/T-Hcrt-Polymorphismus und der -20C/A-Variante.....	42
2.5 Statistische Analyse	43
3 ERGEBNISSE	46
3.1 Polymorphismen	46
3.2.1 DRD2- <i>TaqI</i> A-Polymorphismus.....	46
3.2.2 DRD3- <i>MscI</i> -Polymorphismus	47
3.2.3 DRD4- <i>tandem duplication</i> -Polymorphismus	47
3.2.4 DRD4-48 bp- <i>repeat</i> -Polymorphismus	48
3.2.5 -909T/C-Hcrt-Polymorphismus	48
3.2 Pilotstudie	49
3.3 Hauptstudie.....	53
3.3.1 -909T/C-Hcrt-Polymorphismus	62
3.3.2 -22C/T-Hcrt-Polymorphismus und -20C/A-Variante	64
4 DISKUSSION.....	65
4.1 Patientenselektion.....	65
4.2 Die mögliche Rolle der dopaminergen Transmission bei „Schlafattacken“	67
4.3 Die Rolle des Hypocretin bei „Schlafattacken“	72
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	77
6 ANHANG	80
6.1 Literatur.....	80
6.2 Abkürzungsverzeichnis	94

6.3 Fragebogen	97
6.4 Verzeichnis akademischer Lehrer	120
6.5 Lebenslauf	121
6.6 Danksagung	122
6.7 Erklärung	123

1 EINLEITUNG

1.1 Das Parkinson-Syndrom

Die Parkinson-Krankheit wurde erstmals 1817 von James Parkinson (Parkinson, 1817) beschrieben und gehört zum Formenkreis neurodegenerativer Erkrankungen. Etwa 10% der Patienten sind bei der Diagnosenstellung jünger als 40 Jahre. Klinisch werden dabei in jeweils unterschiedlicher Ausprägungsform die „Kardinalsymptome“ Bewegungsarmut (Akinesie), Muskelsteife (Rigor), Zittern in Ruhe (Ruhetremor) sowie Haltungsinstabilität (posturale Instabilität) beobachtet.

Parkinson-Syndrome werden in drei Gruppen unterteilt: idiopathisches Parkinson-Syndrom, symptomatische (sekundäre) sowie atypische Parkinson-Syndrome.

1.1.1 Das idiopathische Parkinson-Syndrom

Das idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS) ist eine stetig progrediente neurodegenerative Erkrankung unbekannter Ätiologie. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt zwischen 50 und 60 Jahren. Die Prävalenz liegt bei 100-200:100 000 und nimmt mit steigendem Alter zu. Zur klinischen Diagnosefindung eines IPS sind zwei der Kardinalsymptome wie Akinesie, Rigor sowie Tremor notwendig. Die Diagnose wird durch gutes Ansprechen der Symptome auf L-Dopa, Auftreten von L-Dopa assoziierten Wirkungsschwankungen, Dyskinesien im Verlauf der Erkrankung sowie durch asymmetrischen Beginn gestützt (Gibb and Lees, 1989, Ward and Gibb, 1990). Je nach Ausprägung einzelner Symptome wird das Krankheitsbild einem der drei Prävalenztypen – Äquivalenztyp, akinetisch-rigider Typ sowie tremordominanter Typ – zugeordnet.

Beim IPS werden autonome Symptome, wie vermehrter Speichelfluss und Talgsekretion, Störungen des Schwitzens, wie Hyper- und Hypohidrose, Verstopfung sowie bei fortgeschrittener Erkrankung zusätzlich erektile Dysfunktion und Dranginkontinenz beobachtet. Zu den psychischen Symptomen gehören Depression, Verlangsamung des Denkens und häufig Depression.

Neuropathologisch liegen Veränderungen, bestehend aus fortschreitender Depigmentierung und Verlust dopaminergener Neurone, insbesondere im ventrolateralen Teil der Substantia nigra pars compacta, vor (Fearnley and Lees, 1991). Diese sind für die neuropathologische Diagnose des IPS notwendig, jedoch nicht spezifisch. Neben der Substantia nigra liegen beim IPS Degenerationen im Bereich des Kortex, des Locus coeruleus, der Raphe-Kerne und der sympathischen Ganglien vor.

Voraussetzung für die *post mortem* Diagnosestellung der präsymptomatischen sowie der symptomatischen Phase des pathologischen Prozesses, der dem M. Parkinson zugrundeliegt, ist der Nachweis spezifischer Einschlusskörperchen, die sich aus spindel- bis fadenähnlichen Lewy-Neuriten im neuronalen Perikaryon zu kugelförmigen Lewy-Körperchen formieren (Forno, 1996, Lewy, 1912). Den größten Bestandteil der Lewy-Neuriten sowie Lewy-Körperchen bildet die aggregierte Form des präsynaptischen Proteins α -Synuclein (Duda et al., 2000, Galvin et al., 2001, Goedert, 2001). Daher zählt der M. Parkinson zu den α -Synucleinopathien. Die M. Parkinson spezifischen Einschlusskörperchen können von jenen unterschieden werden, die mit anderen Synucleinopathien assoziiert sind, wie die Multiple Systematrophie oder die Hallervorden-Spatz-Erkrankung (Braak et al., 2003, Del Tredici et al., 2002, Galvin, et al., 2001).

Als Folge der Degeneration der nigralen Neurone, die zum Striatum projizieren, entsteht hier ein Mangel des Neurotransmitters Dopamin. Zur klinischen Manifestation des Parkinson-Syndroms führt ein Verlust von ca. 50 % der dopaminergen Neurone der Substantia nigra bzw. ein Rückgang

des Dopamingehalts um ca. 70-80 % (Bernheimer et al., 1973). Beim normalen Alterungsprozess wird jedoch durch die Reduktion des striatalen Dopamingehalts die kritische Schwelle zum Auftreten des Parkinson-Syndroms nicht erreicht.

Die Ursache der Degeneration der Substantia nigra beim IPS ist unbekannt; sie tritt in der Regel sporadisch auf. Allerdings sind Familien mit autosomal-dominantem (Farrer et al., 1999, Funayama et al., 2002, Gasser et al., 1998, Golbe et al., 1990, Leroy et al., 1998) und autosomal-rezessivem Erbgang (Kitada et al., 1998, Valente et al., 2001, van Duijn et al., 2001) bekannt. Hierzu gehören Familien mit Mutationen im α -Synuclein-Gen. Die größte bisher beschriebene Familie besteht aus 60 betroffenen Mitgliedern in fünf Generationen und zeigt ein dem idiopathischen Parkinson-Syndrom ähnliches Krankheitsbild (Golbe, et al., 1990). Ungewöhnlich bei diesem Krankheitsbild ist jedoch das relativ frühe Erkrankungsalter (46+/-13 Jahre), die kurze Überlebensdauer von 9 Jahren sowie das häufige Auftreten von Demenz.

Aus pathophysiologischer Sicht führt die Degeneration des dopaminergen nigrostriatalen Systems zu sekundären Veränderungen in den motorischen Bahnen der Basalganglien selbst und in den von ihnen beeinflussten Strukturen (Abb. 1). Glutamat wirkt in vielen Bahnen der motorischen Schleife als erregender Neurotransmitter. Diese werden infolge des Dopaminmangels der nigrostriatalen Bahn überaktiv. Durch den Verlust der dopaminergen Hemmung werden auch die striatalen cholinergen Interneurone überaktiv. Diese Veränderungen führen zu einer Erhöhung der Aktivität der inhibitorischen indirekten motorischen Schleife. Zusätzliche Veränderungen betreffen die Aktivität des internen Segments des Globus pallidus und der Pars reticulata der Substantia nigra, den Ausgangsstationen der motorischen Schleife. Infolge der Verminderung der GABA-ergen Aktivität der indirekten motorischen Schleife werden die Neurone des Nucleus subthalamicus überaktiv. Die Efferenzen dieses Kerns sind erregend und vermutlich glutamaterg. Folglich führt dies zu

einem erhöhten inhibitorischen Tonus aus den Basalganglien, da diese Efferenzen GABA-erg sind (Albin et al., 1995). Bei Läsionen des Nucleus subthalamicus durch einen Infarkt wurde bei Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom eine kontralaterale Besserung der Symptome beobachtet (Bergman et al., 1990).

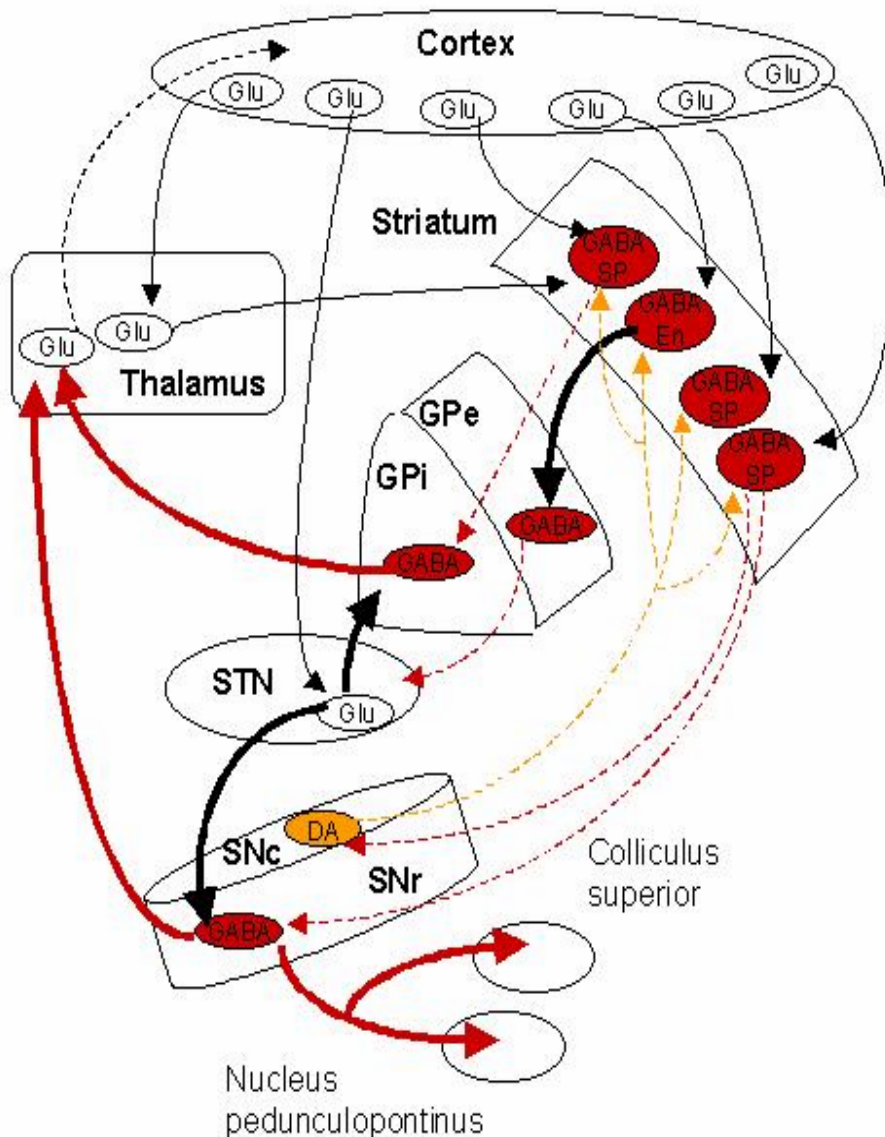


Abbildung 1: Pathophysiologische Veränderungen beim idiopathischen Parkinson-Syndrom. Die weniger aktiven Bahnen werden gestrichelt, die überaktiven Bahnen fett dargestellt. Glu: Glutamat, GABA: γ -Aminobuttersäure, SP: Substanz P, En: Enkephalin, DA: Dopamin, GPe: Globus pallidus externus, GPi: Globus pallidus internus, STN: Nucleus subthalamicus, SNc: Substantia nigra (Pars compacta), SNr: Substantia nigra (Pars reticulata), modifiziert nach Löschmann und Schulz, 1997 (Löschmann and Schulz, 1997).

1.1.2 Neuropathologische Stadieneinteilung des idiopathischen Parkinson-Syndroms

Braak et al. (Braak, et al., 2003) beschrieb anhand der Auswertung von mehr als 125 Autopsiebefunden beim idiopathischen Parkinson-Syndrom eine neuropathologische Einteilung in sechs Stadien. Jedes dieser Stadien ist durch kontinuierliche Zunahme der charakteristischen Einschlusskörperchen in wenigen prädisponierten Neuronentypen gekennzeichnet. Die Stadien I bis II werden als präsymptomatische Phase, die Stadien III bis VI als symptomatische Phase definiert.

Im Stadium I werden Läsionen im Bulbus olfactorius (Region des anterioren Nucleus olfactorius) sowie im dorsalen motorischen Nucleus des Nervus vagus beobachtet. In diesem Stadium entstehen die ersten Lewy-Neuriten und Lewy-Körperchen des Hirnstamms im dorsalen motorischen Nucleus des Nervus vagus.

Im Stadium II beschränken sich die Einschlusskörperchen weiterhin auf die Medulla oblongata und die benachbarten Regionen des pontinen Tegmentums. Die Läsionen in der dorsalen vagalen Region nehmen an Schwere zu und Teile des caudalen Raphe-Kerns, des magnocellulären Subnucleus der retikulären Formation und des Locus coeruleus geraten in Mitleidenschaft. In den ersten beiden Stadien – präsymptomatische Phase – kann die klinische Diagnosestellung eines idiopathischen Parkinson-Syndroms noch nicht erfolgen.

Die Stadien III und IV sind durch eine Schädigung der Substantia nigra gekennzeichnet. Zunächst entstehen zahlreiche, zum Teil extrem lange Lewy-Neuriten, später kommen Lewy-Einschlusskörperchen hauptsächlich in neuromelaninhaltigen Projektionsneuronen des Subnucleus posterolateralis pars compacta zum Vorschein (Braak and Braak, 1986). Da der eigentliche Verlust melaninhaltiger Neurone in den anschließenden Stadien der Erkrankung erfolgt, erscheint makroskopisch die Substantia nigra im Stadium III intakt.

Im Stadium IV weitet sich der pathologische Prozess auf das Vorderhirn aus und beeinträchtigt die magnocellulären cholinergen Nuclei des basalen Vorderhirns. Zusätzlich wird der temporale Mesokortex beeinträchtigt. Bereits im Stadium III bilden sich ausgeprägte Ablagerungen, bestehend aus Lewy-Neuriten, im zweiten Sektor des allokortikalen Ammonhorns (Dickson et al., 1994), der sich in den nachfolgenden Stadien auf den ersten und dritten Sektor ausbreitet.

In den Stadien V und VI erreicht der neurodegenerative Prozess den größten topografischen Umfang sowie das vollste klinische Ausmaß. Die vulnerablen Teile der Substantia nigra erscheinen beinahe ohne melaninhaltige Neurone. Ausgeprägte Ablagerungen, bestehend aus Lewy-Neuriten, erscheinen in Schicht II bis III des temporalen Mesokortex, während viele der kleinen bis mittelgroßen Pyramidenzellen in Schicht V und VI Lewy-Einschlusskörperchen entwickeln. Klinisch erscheinen in diesen Stadien autonome, limbische und somatomotorische Dysfunktionen. Einschlusskörperchen erscheinen zunächst in den höher geordneten Assoziationsfeldern des Neokortex, dann in erster Linie in sensorischen Assoziationsgebieten und der prämotorischen Region und schließlich auch in primär sensorischen und motorischen Feldern.

1.1.3 Therapeutische Prinzipien des IPS

Dopamin wirkt im Striatum vorwiegend über postsynaptisch lokalisierte Rezeptoren, die pharmakologisch in D₁- und D₂-Rezeptoren unterteilt werden (Kebabian and Calne, 1979). Molekularbiologisch werden fünf verschiedene Rezeptortypen identifiziert, die gemäß ihren pharmakologischen Eigenschaften als D₁-ähnliche (D₁ und D₅) und D₂-ähnliche (D₂, D₃, D₄) identifiziert werden (Gingrich and Caron, 1993, Missale et al., 1998).

Dopamin wird durch den hochaffinen Dopamin-Transporter im präsynaptischen Spalt wieder aufgenommen und inaktiviert. Es wird außerdem durch die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) und Monoaminoxidase B (MAO B) abgebaut (Abb. 2).

Wie in experimentellen Untersuchungen gezeigt, kommt es in Folge des striatalen Dopaminmangels zur gesteigerten Aktivität cholinergischer striataler Interneurone und damit zur vermehrten Ausschüttung von Acetylcholin. Acetylcholin wirkt im Striatum vorwiegend über zentrale muskarinische Rezeptoren. Der Dopaminmangel im Striatum bewirkt eine tonisch gesteigerte neuronale Aktivität in striatalen Projektionsneuronen zum Pallidum externum, im Nucleus subthalamicus und im Pallidum internum sowie in der Substantia nigra pars reticulata. Die tonische Aktivitätsänderung wird durch ein Ungleichgewicht zwischen hemmender γ -aminobutyrate (GABA-erger) und erregender glutamaterger Neurotransmission verursacht. Weiterhin spielt der N-methyl-D-aspartat- (NMDA-) Rezeptor bei der Vermittlung glutamaterger Transmission eine wichtige Rolle. Neben der gesteigerten tonischen Aktivität werden im Nucleus subthalamicus und in den Ausgangskernen abnorme Aktivitätsmuster beobachtet (Albin, et al., 1995, Bergman, et al., 1990, Klockgether and Turski, 1989, Wichmann et al., 1994). Die gesteigerte sowie abnorme Aktivität der Ausgangskerne der Basalganglien führt

außerdem über verstärkte GABA-erge Hemmung zu oszillatorischer Aktivität im Thalamus.

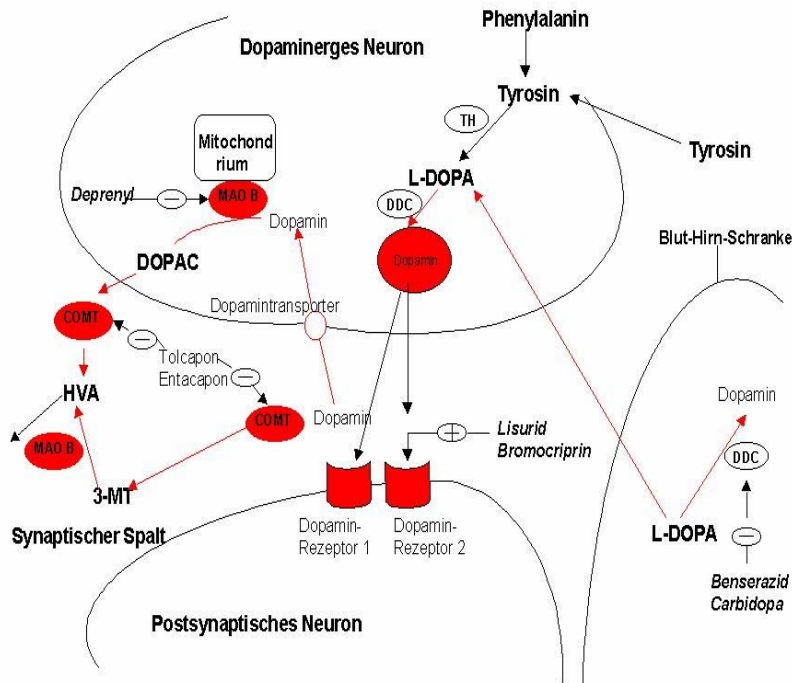


Abbildung 2: Schematische Darstellung einer dopaminergen nigrostriatalen Synapse sowie Wirkungsmechanismen der Parkinson-Medikamente. Im dopaminergen Neuron wird aus Phenylalanin über Tyrosin und L-Dopa der Transmitter Dopamin hergestellt. Dopamin wird freigesetzt und bindet postsynaptisch an die Dopamin D₁- und Dopamin D₂-Rezeptoren sowie präsynaptisch an die Auto-Rezeptoren, die den Dopamin D₂-Rezeptoren entsprechen. Dopamin wird unter Zuhilfenahme des Dopamin-Transporters in das präsynaptische Neuron wieder aufgenommen bzw. über die Enzyme Monoaminoxidase B (MAO B) zu DOPAC (Dihydroxyphenylelessigsäure) sowie Catechol-O-Methyltransferase (COMT) zu 3MT (3-Methoxytyramin) abgebaut. L-Dopa kann auch in den nicht-dopaminergen Zellen des Striatums zu Dopamin abgebaut werden. Mit Hilfe der Dopadecarboxylasehemmer Benserazid und Carbidopa wird L-Dopa zu Dopamin decarboxyliert. Die Decarboxylasehemmer verhindern den Abbau von L-Dopa zu Dopamin in der Peripherie. Die Ergolinderivate Bromocriptin sowie Lisurid binden hochaffin an den D₂-Rezeptor, jedoch auch an den D₁-Rezeptor. Deprenyl gehört zur Gruppe der irreversiblen MAO-B-Inhibitoren. Die Nitrocatechole Tolcapon und Entacapon sind Inhibitoren der COMT. DOPAC wird über COMT zu HVA (Homovanillinmandelsäure) abgebaut. 3-MT wird über MAO ebenfalls zu HVA abgebaut; modifiziert nach Löschmann und Schulz, 1997 (Löschmann and Schulz, 1997).

1.1.4 Medikamentöse Behandlung des IPS

Substanz	Generica	Handelsnamen
Adamantan-Derivate	Amantadin-HCl	Amantadin-ratiopharm [®]
	Amantadin-Sulfat	PK-Merz [®]
Anticholinergika	Benzatropin-Mesylat	Cogetinol [®]
	Biperiden-HCl	Akineton [®]
	Biperiden-Lactat	Biperiden-neuraxpharm [®]
	Bornaprin-HCl	Sormodren [®]
	Metixen-HCl	Tremarit [®]
	Orphenadrin-Dihydrogencitrat	Norflex [®]
	Procyclidin-HCl	Osnervan [®]
	Trihexyphenidyl-HCl	Artane [®]
Dopaminrezeptor-Agonisten	Alpha-Dihydroergocryptin-Mesilat	Almirid [®]
	Apomorphin-HCl	Apomorphin-Woelm [®]
	Bromocriptin-Mesylat	Pravidel [®]
	Cabergolin	Cabaseril [®]
	Lisurid-Hydrogenmaleat	Dopergin [®]
	Pergolid-Mesylat	Parkotil [®]
	Piribedil	Trivastal [®] (<i>in Deutschland nicht zugelassen</i>)
	Pramipexol-Di-HCl-H ₂ O	Sifrol [®]
Ropinirol-HCl	Requip [®]	
Levodopa	Levodopa	Dopaflex [®] (<i>in Deutschland nicht zugelassen</i>)
Levodopa / Decarboxylase-Inhibitoren	Levodopa/Benserazid	Madopar [®]
	Levodopa/Carbidopa	Nacom [®]
MAO-B-Inhibitoren	Selegilin-HCl	Antiparkin [®]
Andere	Budipin-HCl	Parkinsan [®]
COMT-Inhibitoren	Entacapon	Comtess [®]
Antiemetika	Domperidon	Motilium [®]
Atypische Neuroleptika	Clozapin	Clozapin-neuraxpharm [®]
	Quetiapin	Seroquel [®]
	Olanzapin	Zyprexa [®]

Tabelle 1: Eine Auswahl an Parkinson-Medikamenten

L-Dopa gehört zum Goldstandard der medikamentösen Therapie beim IPS. Die zur Behandlung des IPS erforderlichen Dosen von L-Dopa führen bei den meisten Patienten zu nicht tolerablen peripheren Wirkungen. Aus diesem Grund wird L-Dopa ausschließlich in einer festen Kombination mit einem Decarboxylaseinhibitor Benserazid oder Carbidopa verabreicht. L-Dopa kann endogene Psychosen induzieren. Diese treten häufig, wie die L-Dopa induzierten Dyskinesien bei Patienten mit fortgeschrittener Krankheit und langer Behandlungsdauer auf. Die L-Dopa induzierten Psychosen werden mit atypischen Neuroleptika behandelt. Weitere unerwünschte Wirkungen von L-Dopa wie Übelkeit und Brechreiz werden mit dem peripher wirksamen Dopamin-Rezeptor-Antagonisten Domperidon (Motilium®) behandelt.

Die Dopaminagonisten stimulieren direkt die prä- und postsynaptische Dopaminrezeptoren, überwiegend durch Stimulation von D₂-Rezeptoren. Die initiale Monotherapie mit Dopaminagonisten bzw. die frühe Kombination von L-Dopa mit einem Dopaminagonisten haben in Studien das Auftreten von Dyskinesien und anderen motorischen Komplikationen verzögern können (Parkinson Study Group, 2000, Oertel and Fahn, 2003, Rascol et al., 2000).

Durch die Monoamino-Oxidase-B-Hemmer wird die Wirkzeit von Dopamin im synaptischen Spalt und damit in den postsynaptischen Rezeptoren verlängert.

Catechol-O-Methyl-Transferase (COMT)-Inhibitoren katalysieren den Abbau von Dopamin und L-Dopa. Die COMT-Inhibition führt zu einer Potentierung und Verlängerung der Wirkungen von L-Dopa. COMT-Hemmung reduziert die Plasmaspiegel von 3-O-Methyldopa, einem inaktiven Metaboliten von L-Dopa, der mit L-Dopa um die Aufnahme in das ZNS konkurriert (Brannan et al., 1992).

Glutamat-Rezeptorantagonisten (z. B. Amantadin) besitzen in hohen Konzentrationen eine schwache Dopamin freisetzende und eine anticholinerge Wirkung.

Anticholinergika sind die ältesten Anti-Parkinson-Medikamente. Die Wirkung der Anticholinergika beim IPS beruht auf einer Blockade zentraler muskarinischer Rezeptoren im Striatum (Oertel and Schulz, 2003). Eine Auflistung aller Substanzgruppen sowie eine Auswahl an Handelsnamen sind in Tabelle 1 aufgelistet.

1.2 Schlafstörungen beim Parkinson-Syndrom

Schlafstörungen in Zusammenhang mit dem idiopathischen Parkinson-Syndrom wurden bereits vom Erstbeschreiber James Parkinson erwähnt (Parkinson, 1817). In einer norwegischen Studie gaben ca. 2/3 aller Parkinson-Patienten Schlafstörungen an (Tandberg et al., 1998). In einer anderen Untersuchung beklagten 79 % der Patienten Nykturie, 65 % Schwierigkeiten, sich im Bett umzudrehen, 55 % schmerzhaft Krämpfe der Beine, 48 % lebhaft Träume bzw. Alpträume, 34 % Dystonien und 16 % visuelle Halluzinationen als Ursache von Schlafstörungen (Lees et al., 1988). Bei der Erhebung der Lebensqualität (quality of live – QoL) bei Parkinson-Patienten wurde die wichtige Rolle des Schlafs hervorgehoben (Karlson et al., 1999, Martinez-Martin, 1998, Smith et al., 1997). Anhand des Nottingham Health Profile-Tests, der an 233 Parkinson-Patienten angewandt wurde, konnte gezeigt werden, dass die prädiktiven Variablen für die Lebensqualität bei Parkinson-Patienten Depression, Schlafstörungen und Abhängigkeit waren (Karlson, et al., 1999).

1.2.1 Pathophysiologie des Schlafs beim Parkinson-Syndrom

Der normale Schlaf ist ein zyklisches Ereignis zwei verschiedener Stadien, dem ruhigen Schlaf, dem non rapid eye movement (non-REM)-Schlaf sowie dem aktiven Schlaf, dem rapid eye movement (REM)-Schlaf. Der non-REM-Schlaf ist eine zyklische Wiederholung von vier Schlafstadien, dem leichten Schlaf (Stadium I und II) sowie dem tiefen Schlaf (Stadium III und IV) oder auch slow wave sleep (SWS) (Rechtschaffen and Kales, 1968).

Dopamin spielt neben der genannten Funktion auf die Motorik ebenso eine wichtige Rolle in der Schlaf-Wach-Regulation (Wauquier, 1995). Die Schlaf-Wach-Regulation wird strukturell-morphologisch dem mesokortikolimbischen System - die Kontrolle über die motorische

Funktion - dem nigrostriatalen Dopaminsystem zugeschrieben (Aldrich, 1999). Pathophysiologisch sind zusätzlich das serotonerge (Raphe-Kern) (Melamed et al., 1996), das adrenerge (Locus coeruleus) (Jellinger, 1990) und das cholinerge System (Nucleus basalis Meynert, Nucleus pedunculopontinus) (Zweig et al., 1989) betroffen, die ebenfalls modulierend in die Schlaf-Wach-Regulation eingreifen (Jouvet, 1966). Der neurodegenerative Prozess ist also ein wesentlicher Faktor bei der Schlaf-Wach-Regulation von Parkinson-Patienten (Comella et al., 1998, Lees, et al., 1988, Menza and Rosen, 1995, Nausidea et al., 1982, Plazzi et al., 1997, Zweig, et al., 1989). Andere Autoren stellen hingegen in Frage, in wie weit der Untergang spezifischer Hirnstammneurone zu der Störung der Schlafarchitektur beiträgt und interpretieren die hohe Prävalenz an Schlafstörungen als Folge des biologischen Alterungsprozesses bzw. einer Langzeittherapie mit Levodopa (Nausidea, et al., 1982, van Hilten et al., 1993).

Polysomnografisch wurde eine Fragmentierung des Nachtschlafs mit geringer Schlaffeffizienz, Reduktion der Schlafstadien III und IV und Reduktion des REM-Schlafs bei Parkinson-Patienten festgestellt (Bergonzi et al., 1975, Kales et al., 1971). Diese Veränderungen und die dadurch vermehrte Tagesmüdigkeit werden von einigen Autoren als bedingt durch die der Parkinson-Krankheit zugrunde liegende Pathologie angesehen (Factor et al., 1990, Tandberg et al., 1999).

1.2.2 „Schlafattacken“

Der Begriff der „Schlafattacke“ stammt aus dem Krankheitsbild der Narkolepsie. Diese Erkrankung wurde erstmals 1880 von Gélinau (Gélinau, 1880) beschrieben und wird klinisch durch exzessive Tagesmüdigkeit (EDS – excessive daytime sleepiness) mit imperativen Schlafepisoden, Kataplexie (plötzlicher Muskeltonusverlust) und hypnagogen, d. h. während der Einschlafphase auftretenden,

Halluzinationen mit Schlafparalyse definiert. Die Diagnosestellung beruht auf dem Vorliegen einiger Kriterien wie einer EDS in Verbindung mit zwei oder mehr Sleep-onset-REM-Phasen (d. h. Auftreten einer REM-Phase wenige Sekunden bis zu 15 min nach dem Einschlafen) im multiplen Schlaflatenztest (MLST) sowie Kataplexie in der Anamnese. Bei der Narkolepsie treten imperative Schlafepisoden mit der EDS auf. Plötzliche „Schlafattacken“ gelten jedoch ohne vorbestehende Tagesmüdigkeit als ungewöhnlich bzw. es wird davon ausgegangen, dass die EDS von den Narkolepsie-Patienten nicht bewusst wahrgenommen wird. Auch bei Normalpersonen wird ein allmählicher Übergang aus dem Wach- in den Schlafzustand beobachtet; dieser wird durch das Einsetzen langsamer Augenbewegungen, eine Reduktion des Muskeltonus und eine abnehmende Reaktion auf Umweltreize charakterisiert (Carskadon et al., 1994). Begleitend zum Schlafeintritt treten im EEG vor dem Schlafstadium I Veränderungen auf, die für eine bereits im Wachzustand herabgesetzte Vigilanz sprechen. Zu diesen Veränderungen zählen die sogenannten „Microsleep-Episoden“ (Morewitz, 1988). Diese „Microsleep-Episoden“ sind mit einer Reduktion der Aufmerksamkeit verbunden und gelten als Zeichen vermehrter Tagesmüdigkeit.

Etwa 10 % der Normalbevölkerung berichtet über EDS (Martikainen et al., 1998). Zur subjektiven Einschätzung der Tagesmüdigkeit werden die „Stanford sleepiness scale“ oder die „Epworth sleepiness scale“ (ESS) verwendet (Hoddes et al., 1973, Johns, 1991). Patienten mit einem Schlafapnoe-Syndrom (SAS) schätzten anhand der „Stanford sleepiness scale“ ihre Tagesmüdigkeit als gering ein, obwohl sie in einer Studie hinsichtlich ihres Verhaltens bereits Kriterien des Einschlafens zeigten (Dement et al., 1978). Weiterhin zeigte sich keine signifikante Assoziation zwischen der „Epworth sleepiness scale“ und dem MLST. Das Ausmaß der subjektiv empfundenen Tagesmüdigkeit scheint insbesondere bei Personen mit chronischen Schlafstörungen nicht grundsätzlich mit der tatsächlichen Einschlafneigung übereinzustimmen. Des Weiteren besteht nach einem zehnmütigen Schlaf eine Amnesie für ca. drei Minuten für

die vor dem Schlafeintritt angebotenen akustischen Reize. Bereits nach einem 30-sekündigen Schlaf lässt sich eine Beeinträchtigung des Gedächtnisses im Vergleich zu wachen Kontrollpersonen nachweisen (Wyatt et al., 1994). Aus diesem Phänomen geht hervor, dass sich die Betroffenen in der Regel nicht an den Augenblick des Einschlafens erinnern können.

In einer Studie von Körner et al. (Körner et al., 2004) berichteten 71,3 % der Parkinson-Patienten, regelmäßig müde zu sein. Die Schätzung der Prävalenz von Schlafstörungen lag bei 76 %. In einer Studie von Karlsen et al. (Karlsen et al., 1999) wurde gezeigt, dass auch bei Patienten ohne Schlafstörungen eine hohe Prävalenz von Tagesmüdigkeit zu erwarten ist, während Tandberg et al. (Tandberg et al., 1999) keinen Unterschied in der Prävalenz von Schlafstörungen bei Patienten mit und ohne EDS (excessive daytime sleepiness) nachweisen konnten. Diese Autoren gehen davon aus, dass es sich bei der Tagesmüdigkeit von Parkinson-Patienten um ein eigenständiges Phänomen handelt, das nicht über Schlafstörungen vermittelt wird. Dies weist darauf hin, dass es sich bei der Tagesmüdigkeit der Patienten, wie bei plötzlichen Schlafereignissen, um ein multifaktoriell bedingtes Phänomen handelt.

1.2.3 Einfluss von L-Dopa und der Dopamin-Agonisten auf die Schlafphysiologie

1999 wurde von Frucht et al. (Frucht et al., 1999) über acht Parkinson-Patienten berichtet, die plötzlich am Steuer eines Kraftfahrzeuges einschlieften und dadurch einen Verkehrsunfall verursachten. Sieben dieser Patienten wurden mit dem Nonergolin-Dopaminagonisten Pramipexol, einer zunächst mit Pramipexol und anschließend mit dem Nonergolin-Dopaminagonisten Ropinirol behandelt. Fünf dieser Patienten berichteten über einen unerwarteten und ohne Vorwarnung einsetzenden Schlaf, weswegen von den Autoren der Begriff der „Schlafattacke“

verwendet wurde. Zahlreiche weitere Studien haben anschließend gezeigt, dass „Schlafattacken“ grundsätzlich unter jeglicher dopaminergen Medikation auftreten können (Ferreira et al., 2000, Frucht, et al., 1999, Hobson et al., 2002, Ondo et al., 2002, Schapira, 2000).

Die Behandlung der Parkinson-Patienten mit dopaminergen Substanzen beinhaltet eine weitere Beeinflussung der Schlaf-Wach-Regulation. Dopamin wirkt in der Regel aktivierend. Daher kann die Einnahme von L-Dopa kurze Zeit vor dem Zubettgehen Einschlafstörungen verursachen. Während bei Normalpersonen eine Suppression des REM-Schlafes durch L-Dopa beobachtet wurde (Gillin et al., 1973), kann L-Dopa bei Parkinson-Patienten eine Korrektur der gestörten Schlafarchitektur sowie einen Anstieg des REM-Schlaf-Anteils bewirken (Bergonzi et al., 1975). Durch die dopaminerge Therapie wurde eine Reduktion spontaner nächtlicher Muskelaktivität, durch L-Dopa-Retardpräparate ein günstiger Effekt auf die nächtliche Akinesie und Rigidität und somit auf den Nachtschlaf festgestellt (Askenasy and Yahr, 1985). Nach einer L-Dopa-Langzeitbehandlung berichten jedoch immer mehr Parkinson-Patienten über lebhafte Träume (Sharf et al., 1978). Visuelle Halluzinationen, die gehäuft bei diesen Patienten vorkommen, sind mit einer deutlichen Reduktion des REM-Schlafes verbunden (Comella et al., 1993). Die Wirkung von L-Dopa auf den Schlaf der Parkinson-Patienten scheint einerseits vom Krankheitsstadium, andererseits von der Therapiedauer abzuhängen (van Hilten et al., 1994).

Obwohl bei den dopaminergen Substanzen eine überwiegend aktivierende Wirkung bekannt ist, stellt Schläfrigkeit bzw. Tagesmüdigkeit eine der häufigsten Nebenwirkungen dar (Sethi et al., 1998). Derzeit ist die Ursache von Schläfrigkeit bei der Anwendung dopaminergischer Substanzen noch umstritten.

Sowohl L-Dopa, als auch Dopaminagonisten binden an Dopaminrezeptoren, von denen bislang 5 Subtypen bekannt sind. Die Dopamin D₁- und D₅-Rezeptoren bilden gemeinsam die Familie der D₁-

Rezeptoren, während die Dopamin D₂-, D₃- und D₄-Rezeptoren zu der Familie der Dopamin D₂-Rezeptoren gehören (Missale, et al., 1998). Die sedierende Wirkung der Dopaminagonisten wurde vor allem am Beispiel des Apomorphin untersucht. In geringen Dosen führt Apomorphin zu einer Sedierung, während bei hohen Dosen ein aktivierender Effekt nachgewiesen wurde (Mereu et al., 1979). Der sedierende Effekt wurde auf eine bei geringen Dosierungen überwiegende Aktivierung von präsynaptischen Dopamin D₂-Rezeptoren im ventralen tegmental Mittelhirn (VTM) zurückgeführt (Monti et al., 1988). In tierexperimentellen Untersuchungen weist Pramipexol in geringen Dosierungen, wobei es hier voraussichtlich zu einer überwiegenden Aktivierung präsynaptischer Dopamin D₂-Rezeptoren kommt, ebenfalls eine sedierende Wirkung auf (Lagos et al., 1998).

Im Gegensatz zu den Ergot-Dopaminagonisten zeigen die Nonergolin-Dopaminagonisten Pramipexol und Ropinirol eine hohe Präferenz für den Dopamin D₃-Rezeptor (Dooley and Markham, 1998). Die Präferenz für den D₂- und D₄-Rezeptor ist geringer ausgeprägt. Zusätzlich weisen sie eine zu vernachlässigende Affinität zum D₁- und D₅-Rezeptor auf. Da „Schlafattacken“ initial unter Pramipexol und Ropinirol beschrieben wurden, ist nicht anzunehmen, dass dieses Phänomen die Folge einer Aktivierung von Dopamin D₁- oder D₅-Rezeptoren darstellt. Vielmehr kann die Hypothese aufgestellt werden, dass „Schlafattacken“ kausal mit den Rezeptoren aus der Dopamin D₂-Rezeptorfamilie in Verbindung gebracht werden können.

Im menschlichen Hirn wird dieser Rezeptor vor allem im Nucleus accumbens und anderen Bereichen des mesolimbischen Systems sowie im Locus coeruleus, in den Raphe-Kernen und im Thalamus exprimiert (Gurevich and Joyce, 1999). Eine signifikante Expression von Dopamin D₃-Rezeptoren im VTM konnte dagegen nicht nachgewiesen werden (Gurevich and Joyce, 1999). Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen, dass es sich bei den präsynaptischen Dopaminrezeptoren im VTM um

Dopamin D₂-Rezeptoren handelt (Koeltzow et al., 1998). Da Schläfrigkeit ferner als Nebenwirkung von Pramipexol in der Behandlung der Frühphase der Parkinson-Erkrankung, bevorzugt bei höherer Dosierung, auftritt (Parkinson, 1997), bleibt der Mechanismus, über welchen die Nonergolin-Dopaminagonisten und andere dopaminerge Substanzen Schläfrigkeit und „Schlafattacken“ verursachen, vorläufig ungeklärt.

1.2.4 Kandidatengen-Analyse bei Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken“

Für Assoziationsstudien werden Kandidaten-Gene ausgewählt, von denen aufgrund der Pathophysiologie vermutet werden kann, dass sie eine Rolle bei der Pathogenese der „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten spielen können. In den meisten Genen finden sich sogenannte Polymorphismen, d. h. Sequenzveränderungen, die in der Normalbevölkerung in unterschiedlicher Häufigkeit vorkommen. Bei den Assoziationsstudien wird die Häufigkeit der Polymorphismen bei Patienten mit der bei Kontrollpersonen verglichen. In der vorliegenden Arbeit konzentrierten wir uns auf Polymorphismen in den Genen der Dopamin D₂-Rezeptor-Familie.

Der *TaqI* A-Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus des Dopamin D₂-Rezeptors (DRD2) wurde von Grandy et al. (Grandy et al., 1993) beschrieben. Aus der Arbeit von Grevle et al., in welcher eine Assoziation zwischen dem Parkinson-Syndrom und dem *TaqI* A-Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus untersucht wurde, (Grevle et al., 2000) ist bei gesunden Kontrollpersonen (n=81) die Allelfrequenz (A1: 0,12; A2: 0,88) sowie Genotyphäufigkeit (A1A1:0,01; A1A2:0,22; A2A2: 0,77) bekannt.

Der *MspI* (Ser9/Gly)-Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus des Dopamin D₃-Rezeptors (DRD3) wurde von Lannfelt et al. bei der Untersuchung einer Assoziation zwischen psychiatrischen Erkrankungen und dem *MspI*- Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus beschrieben

und kommt bei gesunden Kontrollpersonen (n=53) mit einer Allelfrequenz von A1: 0,72; A2: 0,28 sowie einer Genotyphäufigkeit von A1A1: 0,51; A1A2: 0,41; A2A2: 0,8 (Lannfelt et al., 1992) vor.

Der 48 bp-*repeat*-Polymorphismus des Dopamin D₄-Rezeptors (DRD4) wurde erstmals von Van Tol et al. (Van Tol et al., 1991) bei Assoziationsstudien zwischen psychomotorischen Erkrankungen und dem 48 bp-*repeat*-Polymorphismus beschrieben. Bei gesunden Kontrollpersonen (n=81) (Nanko et al., 1994) werden *repeat*-Häufigkeiten mit folgender Allelfrequenz beobachtet: R2: 0,12; R3: 0; R4: 0,82; R5: 0,06; R6: 0,1 und R7 mit 0. In einer weiteren Arbeit von Millet et al. werden bei 63 gesunden Kontrollpersonen *repeat*-Häufigkeiten mit folgender Allelfrequenz beobachtet: R2: 0,1; R3: 0,02; R4: 0,72; R6: 0,01; R7: 0,01 und R8: 0,14 sowie einer folgender Genotypfrequenz: 2-2: 0,16; 2-4: 0,14; 2-8: 0,3; 3-3: 0,16; 3-4: 0,16; 4-4: 0,54; 4-6: 0,16; 4-8: 0,19; 7-8: 0,16 und 8-8 0,16 (Millet et al., 2003).

Ein weiterer Polymorphismus des Dopamin D₄-Rezeptors (DRD4) ist der *tandem duplication*-Polymorphismus (McCracken et al., 2000). Dieser wurde von McCracken et al. in einer Assoziationsstudie bei der Untersuchung des hyperkinetischen Syndroms (attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)) beschrieben. In der europäischen Bevölkerung wird hier eine Allelfrequenz von A1: 0,20 und A2: 0,80 (Seaman et al., 1999) beschrieben. In einer anderen Arbeit wurde in der chinesischen Bevölkerung bei gesunden Kontrollpersonen (n=206) eine Allelfrequenz von A1: 0,37 und A2: 0,63 sowie eine Genotypfrequenz von A1A1: 0,14; A1A2: 0,48; A2A2: 0,38 (Xing et al., 2003) angegeben.

1.2.5 Die Rolle des Hypocretin für die Schlaf-Wach-Regulation

Das Hypocretin-System besteht aus drei Genen, dem Precursor-Gen Preprohypocretin, das die beiden Neuropeptide Hypocretin 1 und

Hypocretin 2 (Hcrt-1 und Hcrt-2) kodiert und den beiden separaten Genen für die Hypocretin-Rezeptoren 1 und 2 (Hcrtr-1 und Hcrtr-2). Preprohypocretin wird in den Neuronen des lateralen, posterioren und perifornicalen Thalamus exprimiert. Hypocretinhaltige Neurone zeichnen sich durch dichte exzitatorische Projektionen zu monoaminergen Zentren, wie zum noradrenergen Locus coeruleus, histaminergen Nucleus tuberomammillarius, serotoninergen Nucleus raphe und dopaminergen ventralen Tegmentum aus (Beuckmann and Yanagisawa, 2002, Marcus et al., 2001, Taheri et al., 2002). Zunächst wurde vermutet, Hypocretin sei primär für die Appetitregulation und die Regulation des Trinkverhaltens von Bedeutung (Kunii et al., 1999). Aus weiteren Untersuchungen ging jedoch hervor, dass eine der wichtigsten Aufgaben der Hypocretin-Neuropeptide darin besteht, die Schlaf-Wach-Regulation aufrecht zu erhalten. Hypocretinmangel verursacht in Maus- und Hundemodellen sowie bei Menschen Narkolepsie (Hungs and Mignot, 2001).

Die Krankheit beginnt meist im Jugendalter (Mignot, 1998) und tritt mit einer Häufigkeit von 1:2 000 auf. Bis zu 95 % aller Narkolepsiepatienten mit einer typischen oder schweren Kataplexie sind HLA-DQB1*0602-Träger. Die hohe Assoziation der Narkolepsie mit dem HLA-System hat Anlass zur Spekulation über autoimmunologische Pathomechanismen gegeben (Mignot and Thorsby, 2001). In den meisten Fällen wird eine Familienanamnese für Narkolepsie verneint. Mignot et al. berichtete über seltene Familien mit einer offensichtlichen autosomal-dominanten Narkolepsie; ein Drittel dieser Probanden sei DQB1*0602-negativ gewesen. In einer weiteren Untersuchung mit monozygoten Zwillingspärchen beobachtete Mignot et al. eine Diskordanz bezüglich hereditärer oder umweltbezogener Einflüsse (Mignot, 1998).

Bei Narkolepsie-Patienten ist meistens ein niedriger Hcrt-1-Gehalt von unter 110 pg/ml im Liquor nachweisbar (Mignot et al., 2002). Hcrt-2 lässt sich im Liquor nicht nachweisen. In neuropathologischen Untersuchungen konnte im menschlichen Gehirn eine Degeneration hypocretinhaltiger

Zellen im lateralen Hypothalamus (Taheri, et al., 2002) sowie ein nahezu 100 %-iger Verlust der Preprohypocretin-mRNA beobachtet werden (Peyron et al., 2000).

Im Tiermodell der Preprohypocretin-knockout Maus wurde gezeigt, dass ein Mangel hypocretinhaltiger Zellen zu einem verkürzten Übergang vom Wachzustand zur REM-Schlaf-Phase führt. Die Tiere verharren spontan als Zeichen der Kataplexie und zeigen eine erhöhte Schlafdauer während der normalerweise aktiven Periode (Mignot et al., 2002). In einem weiteren Tiermodell konnte als Ursache der Narkolepsie bei Kaninchen eine Mutation im Hcrt-2-Gen ausfindig gemacht werden (Mignot, et al., 2002). Daher wird davon ausgegangen, dass der Hcrt-2-Rezeptor eine entscheidende Rolle bei Schlafstörungen spielt. Bei Ratten erhöht Hcrt-1 die Wach-Phasen, die Körpertemperatur und stimuliert die hypothalamo-neurohypophysäre Achse sowie das sympathische Nervensystem (Beuckmann and Yanagisawa, 2002, Marcus, et al., 2001, Taheri, et al., 2002). Die Hypocretinausschüttung ist während der aktiven Phase erhöht (Yoshida et al., 2001).

Im humanen System liegen Hypocretin-Veränderungen selten einer Hcrt-Mutation zugrunde (Peyron, et al., 2000). Es wurden Hcrt-1- sowie Hcrt-2-Rezeptor-Polymorphismen beschrieben, für die jedoch keine Assoziation zur Narkolepsie nachgewiesen wurde. Im Hypocretin-Gen wurden nur wenige Polymorphismen beobachtet. In einer Studie in Deutschland wurde ein seltener Polymorphismus in der 5'UTR-Region des Hypocretin-Gens (-22C/T) bei 6 von 178 Narkolepsie-Patienten, jedoch nur bei einem von 189 gesunden Kontrollpersonen beobachtet (Gencik et al., 2001). Diese Ergebnisse wurden als signifikante Assoziation zwischen Narkolepsie und dem beobachteten Polymorphismus eingeschätzt.

Aus einer darauf folgenden Arbeit (Hungs et al., 2001) ist ein weiterer (-909T/C) Polymorphismus bekannt. Dieser ist 909 bp vom ATG-Codon des Exon-1 lokalisiert und befindet sich in einer Alu-repeat-Region. Bei gesunden Kontrollpersonen (n=107) wird die Allelfrequenz von T mit 0,73

und C mit 0,27 sowie die Genotyphäufigkeit von TT mit 0,57, CT mit 0,43 und CC mit 0,07 angegeben.

In seiner Arbeit untersuchte Hungs (Hungs, et al., 2001) einen weiteren Polymorphismus in der 5'UTR-Region des Hypocretin-Gens, die (-20C/A)-Variante. Diesen Polymorphismus fand er bei einem Narkolepsie-Patienten, der nicht HLA-DQB1*0602-Träger war. Zuvor beschrieb Peyron et al. (Peyron, et al., 2000) diese (-20C/A)-Variante mit einer Allelfrequenz von 0,053 bei sporadischen HLA-DQB1*0602-negativen Trägern.

Da „Schlafattacken“ initial unter Pramipexol und Ropinirol beschrieben wurden, wurde die Hypothese aufgestellt, dass dieses Phänomen insbesondere die Folge einer Aktivierung von Dopaminrezeptoren aus der Familie der D₂-Rezeptoren darstellt. Daher konzentrierten wir uns in dieser Arbeit auf Untersuchung folgender Polymorphismen, d. h. Sequenzveränderungen: *TaqI* A-Polymorphismus im D₂-Dopaminrezeptor-Gen, der Ser9/Gly-Polymorphismus (MscI I) im D₃-Dopaminrezeptor-Gen sowie den 48 bp-*repeat*-Polymorphismus und den *tandem duplication*-Polymorphismus im D₄-Dopaminrezeptor-Gen.

Da die Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken“ Symptome angaben, die den Symptomen bei Narkolepsie, wie übermäßige Schläfrigkeit mit Tagesmüdigkeit sowie das Auftreten von Kataplexien ähnelten, warfen wir zudem die Frage einer Assoziation von „Schlafattacken“ mit Veränderungen im Hypocretin-System auf. Hierzu untersuchten wir den Polymorphismus in der 5'UTR-Region des Hypocretin-Gens (-22C/T) sowie die (-20C/A)-Variante und den (-909T/C)-Polymorphismus.

Zielsetzung dieser Arbeit war, eine Assoziation zwischen dem Phänomen der „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten unter dopaminergem Therapie sowie den oben erwähnten Polymorphismen aus der Familie der Dopamin D₂-Rezeptoren bzw. des Hypocretin-Systems nachzuweisen.

2 MATERIAL UND METHODIK

2.1 Material

2.1.1 Lösungen und Puffer:

- Aqua destillata, Braun, Melsungen
- TBE-Puffer 10x Stocklösung, Invitrogen, U.K.
- *Loading Dye* (1:4): 100µl 10x BlueJuice™ *Gel Loading Buffer*, Gibco BRL® wurden mit 300µl Aqua destillata verdünnt. 10x BlueJuice™ *Gel Loading Buffer*. 65% (w/v) Sucrose, 10 mM Tris-HCl (pH 7,5), 10 mM EDTA und 0,3% (w/v) Bromphenolblau.
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain, Molecular Probes, USA
- 1x NE-Puffer 4, BioLabs, New England
- 1x NE-Puffer *Taq* α1, BioLabs, New England

2.1.2 Gele:

- Agarose-Gel 2%: 2g SeaKem® LE agarose, BioWhittaker, Molecular Applications, Rockland, ME, USA, auf 100 ml TBE-Puffer (1x)
- NuSieve-Gel 3%: 3g NuSieve® GTG® agarose, BioWhittaker, Molecular Applications, Rockland, ME, USA, sowie 1,5 g SeaKem® LE Agarose auf 150 ml TBE-Puffer (1x)

2.1.3 DNA-Leiter:

- Sigma 100 bp (1:10): 10 µl Standardlösung (0,106 µg/µl) sowie 10 µl *Loading Dye* in 80 µl Aqua destillata verdünnen
- GIBCO 100 bp (1:100): 1 µl Standardlösung (1 µg/µl) sowie 10 µl *Loading Dye* in 89 µl Aqua destillata verdünnt

2.1.4 PCR

- Platinum[®] PCR-SuperMix, Invitrogen[®], USA: 22 U/ml rekombinante *Taq* DNA-Polymerase mit Platinum[®] *Taq*-Antikörper, 22 mM Tris-HCl (pH 8,4), 55 mM KCl, 165 mM MgCl₂, 220 μM dGTP, 220 μM dATP, 220 μM dTTP, 220 μM dCTP und Stabilisatoren.
- genomische DNA (20 ng/μl)
- Primer (5 pmol/μl)
- 7-deaza-dGTP 5 mM (7-Deaza-2'-Desoxyguanosin 5'-Triphosphat), BioLabs, New England
- DMSO (Dimethylsulfoxid), Sigma, Steinheim, Germany

2.1.5 Sequenzierung

- ABI PRISM[™] 310 Genetic Analyser
- ABI PRISM[™] 310 Collection 2.0 Software
- Dye Terminator Cycle Sequencing Kit
- QIAquick PCR Purification Kit, QIAGEN, USA
- DNA Sequencing Kit Big Dye[™] Terminator Cycle Sequencing v2.0 Ready Reaktion, ABI PRISM[®], PE Systems, USA
- Centri-Sep Säulen, Princeton Separations, USA.

2.1.6 Primer

Alle Primer, die für diese Arbeit verwendet wurden, bezogen wir von der Firma MWG-Biotech AG.

2.1.6.1 DRD2-*Taq* IA - Polymorphismus (Grandy, et al., 1993)

- *Taq* A forward: 5' – CCG TCG ACG GCT GGC CAA GTT GTC TA
– 3'
- *Taq* A reverse: 5' – CCG TCG ACC CTT CCT GAG TGT CAT CA
– 3'

2.1.6.2 DRD3-*MscI*-Polymorphismus (Lannfelt, et al., 1992)

- D3 forward: 5' – GCT CTA TCT CCA ACT CTC ACA – 3'
- D3 reverse: 5' – AAG TCT ACT CAC CTC CAG GTA – 3'

2.1.6.3 DRD4-*tandem duplication*-Polymorphismus (Seaman, et al., 1999)

- D4 forward: 5' – GTT GTC TGT CTT TTC TCA TTG TTT CCA TTG – 3'
- D4 reverse: 5' – GAA GGA GCA GGC ACC GTG AGC – 3'

2.1.6.4 DRD4 48-bp *repeat*-Polymorphismus (Van Tol, et al., 1991)

- D 48 forward: 5' – GCC CGC TCA TGC TGC TGC TC – 3'
- D 48 reverse: 5' – TCT TGG CAC GCC GCC TCC TG – 3'

2.1.6.5 -909T/C-Hcrt-Polymorphismus (Hungs, et al., 2001)

- -909 forward: 5' – GCG GGG GGG CCT GGT GCA GTG GCC – 3'
- -909 reverse: 5' – ACT AAA TTT TGG TCT TGT TGC TCA G – 3'
- 008F8: 5' – ATA AGA AGC TTG GGC CTG GA – 3'
- 030R: 5' – ACC TTG AAA ACT CAG CCT AGA CAG T – 3'

2.1.6.6 -22C/T-Hcrt-Polymorphismus und -20C/A-Variante (Gencik, et al., 2001)

- PIF: 5' – CCT CAT TAG TGC CCG GAG A – 3'
- 011R11: 5' – TCC ATC CCT GGA TCT TTA C – 3'

2.1.7 Restriktionsenzyme

- *MscI*, BioLabs, New England, 3 000 U/ml
Schnittstelle: 5'....TGG▼CCA....3'
3'....ACC▲GGT....3'

- *Taq^α1*, BioLabs, New England, 20 000 U/ml
Schnittstelle: 5'...T▼CGA...3'
5'...AGC▲T...5'
- *NlaIII*, BioLabs, New England, 10 000 U/ml
Schnittstelle: 5'...CATG▼...3'
5'...▲GTAC...5'

2.2 Patienten

2.2.1 Pilotstudie:

41 Patienten unserer Parkinson-Ambulanz, die mit den Non-Ergolin-Dopaminagonisten Pramipexol und Ropinirol behandelt wurden, konnten für diese Studie gewonnen werden (Pramipexol: n=39; Ropinirol: n=2).

Zur Objektivierung evtl. vorliegender Schlafstörungen oder von Tagesmüdigkeit wurden die Patienten gebeten, den Fragebogen der bundesweiten dPV (deutscher Parkinson Verein) - Umfrage (Körner, et al., 2004) (siehe Anhang) auszufüllen.

Anhand der Auswertung des dPV-Fragebogens und einer detaillierten Anamnese wurde dieses Kollektiv in drei Gruppen eingeteilt:

Gruppe A: Auftreten von "Schlafattacken" im Sinne eines plötzlichen oder sehr raschen Einschlafens ohne subjektive vorherige Müdigkeit. Das gleichzeitige Auftreten von "Schlafattacken" bzw. ungewollten Schlafepisoden mit vorheriger Müdigkeit stellte allerdings kein Ausschlusskriterium dar (n=9; 5 Frauen und 4 Männer; Durchschnittsalter 59 Jahre; durchschnittliches H&Y – Stadium 2).

Gruppe B: Patienten mit symptomatisch im Vordergrund stehender Tagesmüdigkeit, aber ohne eigentliche „Schlafattacken“. Patienten mit ungewollten Schlafepisoden, welche regelmäßig in Verbindung mit Tagesmüdigkeit auftraten, wurden ebenfalls in diese Gruppe eingeteilt (n=17; 7 Frauen und 10 Männer; Durchschnittsalter 63 Jahre; durchschnittliches H&Y – Stadium 2).

Gruppe C: Patienten ohne Somnolenz bezogene Nebenwirkungen (n=15; 6 Frauen und 9 Männer; Durchschnittsalter 58 Jahre; durchschnittliches H&Y – Stadium 2).

2.2.2 Hauptstudie:

274 Parkinson-Patienten mit unterschiedlicher Krankheitsausprägung und unterschiedlicher Therapie mit Anti-Parkinson-Medikamenten, die an der bundesweiten dPV-Umfrage teilgenommen hatten und den verwendeten Fragebogen zu Schlafstörungen, Schlafverhalten, Tagesmüdigkeit etc. ausgefüllt hatten (Körner, et al., 2004), konnten für diese Studie mittels eines Telefoninterviews rekrutiert werden. Der verwendete Fragebogen befindet sich im Anhang. Die ursprünglich im Fragebogen enthaltenen Fragen zur Verkehrsteilnahme und zur Beurteilung des Fahrverhaltens wurde in dieser Arbeit nicht berücksichtigt und werden somit im Anhang nicht aufgelistet.

Anhand des Fragebogens und detaillierter Auswahlkriterien wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt. Die hierfür erforderliche SPSS-Datei wurde vom IZVW (Interdisziplinäres Zentrum für Verkehrswissenschaften) in Würzburg zur Verfügung gestellt.

Gruppe A: Dieser Gruppe wurden Patienten zugeteilt, die zumindest 2-4 mal im Monat unter "Schlafattacken" im Sinne eines plötzlichen oder sehr raschen Einschlafens, ohne subjektive vorherige Müdigkeit leiden. Das gleichzeitige Auftreten von "Schlafattacken", bzw. ungewollten Schlafepisoden mit vorheriger Müdigkeit, stellte allerdings kein Ausschlusskriterium dar.

Gruppe B: Dieser Gruppe wurden Patienten zugeteilt, die noch nie unter plötzlichem Einschlafen gelitten hatten und zudem keine signifikante subjektive Tagesmüdigkeit aufwiesen.

Das Patienten-Matching erfolgte hierarchisch nach den Variablen Agonisten-Dosierung, L-Dopa-Dosierung, Krankheitsschwere, Erkrankungsdauer sowie Geschlecht, Alter und anderer Parkinson-Medikamente.

Ausschlusskriterien für Patienten mit und ohne „Schlafattacken“ waren:

- Signifikante subjektive Tagesmüdigkeit (> ja, manchmal) (s. Seite 107, Anhang: Fragebogen)
- ESS-Score > 10 (s. Seite 114, Anhang: Fragebogen)
- durchschnittliche Schlafdauer < 5 Stunden (s. Seite 106, Anhang: Fragebogen)
- Begleitmedikation mit einem durch den Untersucher als relevant eingeschätzten Sedierungspotential (s. Seite 105, Anhang: Fragebogen)
- Beantwortung der Frage nach Einschlaf- oder Durchschlafstörungen bzw. frühes Erwachen mit "ja, fast immer" (s. Seite 106, Anhang: Fragebogen)
- Beantwortung der folgenden Fragen mit "ja, dreimal oder häufiger pro Woche":
 - 1) lange Atempausen während des Schlafs,
 - 2) Beinzuckungen während des Schlafs,
 - 3) zielgerichtete Körperbewegungen während des Schlafs,
 - 4) Bewegungsdrang, Unruhe oder Missempfindungen in den Beinen, welche sich durch Herumlaufen bessern (s. Seiten 116 und 117, Anhang: Fragebogen)

Zur Durchführung dieser Studie wurde bei unserer Ethikkommission ein positives Ethikvotum eingeholt. Die Patienten wurden zunächst telefonisch über die Studie aufgeklärt. Anschließend wurde ihnen ein Set, bestehend aus einer Patientenaufklärung, einer Aufklärung für den Hausarzt, einer Vorlage zur schriftlichen Einwilligung zur Studie, 2 EDTA-Monovetten à 10 ml, einem Blutabnahmebesteck sowie einem rückfrankierter Umschlag zugesandt. Von den an dieser Studie teilnehmenden Patienten erhielten wir eine schriftliche Einwilligungserklärung sowie 2 EDTA-Monovetten à 10 ml Blut, welche vom Hausarzt abgenommen wurden.

2.3 Methodik

2.3.1 Präparation genomischer DNA aus Vollblut:

Die Präparation der genomischen DNA aus Vollblut erfolgte unter Zuhilfenahme des Nucleon BACC 2-Kit for Blood & Cell Cultures, Amersham.

Inhalt: Reagenz A, Reagenz B, Natrium-Perchlorat, Silica, Chloroform, Ethanol absolut.

Reagenz A: 10 mM Tris-HCL, 320 mM Sucrose, 5 mM MgCl₂ sowie 1 % Triton X-100 in Aqua destillata gelöst, auf 1000 ml aufgefüllt und mit 40 % NaOH auf pH=8,0 titriert.

3-10 ml EDTA-Vollblut wurden auf 40 ml mit Reagenz A aufgefüllt, 4 min inkubiert und 5 min bei 1300 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, und das Pellet in 2 ml Reagenz B resuspendiert, mit 500 µl Na-Perchlorat versetzt und einige Sekunden gemischt. Anschließend wurden 2 ml Chloroform hinzugefügt. Diese Lösung wurde 10 min inkubiert und hierauf 2 min bei 800 g zentrifugiert. Die wässrige Phase wurde abgenommen, mit 300 µl Silica versetzt (tropfenweise resuspendiert) und anschließend 4 min bei 1400 g zentrifugiert. Der Überstand wurde mit kaltem Ethanol absolut ausgefällt und in ca. 500 µl 1x TE-Puffer gelöst. Anschließend konnte die Menge sowie Reinheit der DNA am Spektrofotometer bestimmt werden (Sambrook et al., 1989).

2.3.2 Die Standard-PCR

Die genomische DNA wurde, wie oben beschrieben, aus Vollblut präpariert. Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde erstmals von Saiki et al. (Saiki et al., 1985) beschrieben. Wir führten die PCR in einem Peltier Thermal Cycler (PTC-200) durch.

Durch die Anwendung der PCR kann eine bestimmte DNA-Sequenz um ein Vielfaches vermehrt werden. Die PCR ist eine DNA-Polymerase-Reaktion und benötigt eine thermostabile DNA-Polymerase, eine Ausgangs-DNA (*template*) und ein freies 3'OH-Ende. Das *Template* wird aus der DNA-Probe gewonnen, während das freie 3'OH-Ende von den spezifischen Oligonukleotid-Primern angeboten wird. Die Primer sind komplementär zu jedem Ende der Sequenz, die amplifiziert werden soll. Eine PCR besteht aus drei Schritten:

- Denaturierung: Die DNA wird auf bis zu 95 °C erhitzt. Dabei trennen sich die beiden Stränge der *Template*-DNA.
- *Annealing*: Die Temperatur wird auf bis zu 55 °C gesenkt, so dass es zur Hybridisierung der im massiven Überschuss vorhandenen Oligonucleotid-Primer an die einzelsträngige *Template*-DNA kommt.
- Elongation: Die Temperatur wird auf 72 °C, das Temperaturoptimum der *Taq*-Polymerase, erhöht. Hier werden die Primer verlängert bis wieder eine doppelsträngige DNA vorliegt, die der ursprünglichen *Template*-DNA exakt gleicht. Da die Komplementierung an beiden Strängen der *Template*-DNA abläuft, wird in einem Zyklus die Zahl der *Template*-DNAs verdoppelt. Bei Wiederholung des Zyklus liegt eine vierfache Menge vor.

Bei einer PCR ist ein initialer Denaturierungsschritt zwingend notwendig, bevor bis zu 30 Zyklen, bestehend aus Denaturierung, *Annealing* und Elongation, erfolgen. Es schließt sich eine finale Elongation bei 72 °C an, und die Probe wird auf 4 °C heruntergekühlt.

2.3.2.1 Nested PCR

Die *nested* PCR, auf deutsch in etwa „verschachtelte“ PCR, wird verwendet, um auch geringste *Template*-DNA-Mengen nachzuweisen. Hierbei wird eine erste PCR durchgeführt. Das dabei gewonnene Produkt wird als *Template* für eine zweite Amplifikation mit unterschiedlichen

Primern verwendet. Die Sequenz des zweiten Primerpaars liegt dabei zwischen der des ersten Paares. Auf diese Weise werden unspezifische Amplifikationsprodukte der ersten PCR wegselektiert.

2.3.2.2 Aufreinigung der PCR-Produkte

Vor der weiteren Verwendung der PCR-Produkte ist deren Aufreinigung notwendig. Diese erfolgte mit Hilfe des QIAquick PCR Purification Kits, QIAGEN, USA.

Die Aufreinigung der Cycle-Sequencing-Produkte führten wir anhand der Anleitung der Centri-SEP Säulen, Princeton Separations, USA durch.

2.3.3 Restriktionsenzymanalyse

Bei diesem Verfahren wird die amplifizierte DNA mit Hilfe spezifischer Restriktionsendonucleasen in definierte Fragmente geschnitten. Jedes Restriktionsenzym schneidet die DNA exakt an einer Stelle, die der spezifischen Erkennungsfrequenz entspricht. Im Agarosegel kann anschließend die Länge der Fragmente bestimmt werden (Mühlhardt, 2003). Diese Methode wird zur Bestimmung der Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen verwendet. Dabei werden die nach der Gelelektrophorese entstandenen Banden miteinander verglichen und somit nach Mutationen durchsucht.

2.3.3.1 Polymorphismus-Detektion

Die Amplifikationsreaktionen zur Detektion der Polymorphismen DRD2-*TaqI* A, DRD3-*MscI*, DRD4-*tandem duplication*, -909T/C-Hcrt sowie -22T/C-Hcrt und -20C/A-Variante wurden in einem Totalvolumen von 25 µl durchgeführt. Für jede Amplifikationsreaktion wurden je 5 pmol forward- und reverse-Primer, 20 ng genomische DNA sowie 23,5 µl Platinum-Supremix verwendet. Die genomische DNA wurde je nach

Polymorphismus 3-5 Minuten bei 92 °C bis 95 °C denaturiert. Anschließend folgten 30 Zyklen, bestehend aus einer 30-sekündigen Denaturierung, je nach Polymorphismus bei 92 °C bis 95 °C, einem 30-sekündigen *Annealing*, je nach Polymorphismus bei 56 °C bis 66 °C sowie eine 30-sekündige Elongation bei 72 °C. Am Ende der PCR folgten weitere 10 min Elongation bei 72 °C. Diese Reaktionsschritte liegen allen Polymorphismus-Detektionen zugrunde. In der Beschreibung einzelner Polymorphismen, die in den folgenden Kapiteln vorgenommen wird, werden lediglich die einzelnen Variationen betreffend Zeit sowie Temperatur angegeben.

Nach der PCR wurden die PCR-Produkte von DRD2-*TaqI* A, DRD3-*MscI*, DRD4-*tandem duplication*, -909T/C-Hcrt-Polymorphismen sowie -22T/C-Hcrt und -20C/A-Variante auf ein 2 %-iges Agarose-Gel aufgetragen. Zum Auftragen auf das Gel wurden 5 µl PCR-Produkt mit 2 µl *Loading Dye* beladen. Im Anschluss nach dem Restriktionsenzymverdau von DRD2-*TaqI* A, DRD3-*MscI* sowie -909T/C-Hcrt wurden 20 µl Enzymverdau-Probe mit 5 µl *Loading Dye* versetzt und auf einem 3 %-igen NuSieve-Gel (DRD2-*TaqI* A) und einem 2 %-igen Agarose-Gel (DRD3-*MscI* sowie -909T/C-Hcrt) aufgetragen.

2.3.3.2 DRD2-*TaqI* A-Polymorphismus

Die Amplifikationsreaktion wurde wie bei Grandy et al. (Grandy, et al., 1993) durchgeführt. Die PCR wurde wie in 2.3.3.1 beschrieben, durchgeführt. Die genomische DNA denaturierten wir 3 min bei 94 °C. Die 30 Sekunden Denaturierung erfolgte bei 94 °C. Das *Annealing* erfolgte bei 66 °C.

Für den anschließenden, über Nacht bei 65° C inkubierten Restriktionsenzymverdau, wurden auf Eis 6 µl PCR-Produkt, 2 µl 1x NE-Puffer *Taq^α1* mit 20 Units *Taq^α1* versetzt und mit H₂O auf ein Endvolumen von 20 µl aufgefüllt.

2.3.3.3 DRD3-*MscI*-Polymorphismus

Die Amplifikationsreaktion erfolgte nach Lannfelt et al. (Lannfelt, et al., 1992). Die PCR wurde wie in 2.3.3.1 beschrieben durchgeführt. Die genomische DNA wurde 3 min bei 95 °C denaturiert. Die 30-sekündige Denaturierung erfolgte bei 92 °C, das *Annealing* bei 65°C.

Für den anschließenden, über Nacht bei 37 °C inkubierten, Restriktionsenzymverdau wurden auf Eis 5 µl PCR-Produkt, 2 µl 1x NE-Puffer 4 mit 3 Units *MscI* versetzt und mit H₂O auf ein Endvolumen von 20 µl aufgefüllt.

2.3.3.4 DRD4-*tandem duplication*-Polymorphismus

Die Amplifikationsreaktion erfolgte nach Seaman et al. (Seaman, et al., 1999). Die PCR wurde wie in 2.3.3.1 beschrieben, durchgeführt. Die genomische DNA wurde initial 5 min bei 94 °C denaturiert. Die 30-sekündige Denaturierung erfolgte bei 94 °C, das *Annealing* bei 65 °C.

2.3.3.5 DRD4-48 bp-repeat-Polymorphismus

Die PCR wurde wie in 2.3.3.1 beschrieben, durchgeführt. Die Amplifikationsreaktion (Van Tol, et al., 1991) wurde in einem Totalvolumen von 28,5 µl durchgeführt. Für jede Amplifikationsreaktion wurden je 5 pmol forward- und reverse-Primer, 40 ng genomische DNA, 22,5 µl Platinum-Supremix, 0,5 µl 7-Deaza-dGTP sowie 2,5 µl DMSO verwendet. Die genomische DNA wurde initial 5 min bei 95 °C denaturiert. Anschließend folgten 35 Zyklen bestehend aus einer 30-sekündigen Denaturierung bei 92 °C. Das *Annealing* erfolgte bei 62,2 °C.

Nach der PCR wurden die PCR-Produkte auf einem 2 %-igen Agarose-Gel aufgetragen. Zum Auftragen auf das Gel wurden 12 µl PCR-Produkt mit 4 µl *Loading Dye* beladen.

2.3.3.6 -909T/C-Hcrt-Polymorphismus

Die Amplifikationsreaktion erfolgte nach Hungs et al. (Hungs, et al., 2001). Die PCR wurde wie in 2.3.3.1 beschrieben durchgeführt. Die genomische DNA wurde initial 5 min bei 92 °C denaturiert. Die 30-sekündige Denaturierung erfolgte bei 95 °C, das *Annealing* bei 59 °C.

Daraufhin erfolgte eine zweite – *nested* – PCR unter den selben Bedingungen, bis auf ein 30-sekündiges *Annealing* bei 64 °C, mit den Primern –909 forward und –909 reverse.

Für den anschließenden, über Nacht bei 37 °C inkubierten, Restriktionsenzymverdau wurden auf Eis 5 µl PCR-Produkt, 2 µl 1x NE-Puffer 4 mit 10 Units *NlaIII* versetzt und mit H₂O auf ein Endvolumen von 20 µl aufgefüllt.

2.3.3.7 -22T/C-Hcrt–Polymorphismus und –20C/A-Variante

Die Amplifikationsreaktion wurde nach Gencik et al (Gencik, et al., 2001) durchgeführt. Die PCR wurde wie in 2.3.3.1 beschrieben durchgeführt. Die genomische DNA wurde 5 min bei 92 °C denaturiert. Die 30-sekündige Denaturierung erfolgte bei 95 °C, das *Annealing* bei 56 °C.

2.3.4 Sequenzierung

2.3.4.1 Sequenzierung nach der Didesoxymethode

Die Sequenzierung mit der Didesoxymethode wurde erstmals von Sanger et al. beschrieben (Sanger et al., 1977). Als Ausgangsmaterialien dienen einzelsträngige DNA (*Template*) sowie ein komplementärer Primer. Der Hybridisierungsbereich des Primer liegt in unmittelbarer Nachbarschaft zu der zu analysierenden Sequenz. Mit Hilfe der DNA-Polymerase und Nukleotiden erfolgt unter Verlängerung des Primer am 3'-Ende die

Synthese des komplementären DNA-Stranges. Vier Reaktionsgemische, die jeweils alle vier Desoxyribonukleotid-Triphosphate (dNTPs) und jeweils eines der vier Didesoxyribonukleotid-Triphosphate (ddATP, ddCTP, ddGTP sowie ddTTP) enthalten, werden vorbereitet. Den ddNTPs fehlen sowohl die 2'-OH- als auch die 3'-OH-Gruppen. Die 3'-OH-Gruppen sind jedoch zur Verknüpfung mit den 5'-Phosphatgruppen der neu einzubauenden Nukleotide essentiell. Aufgrund dessen wird durch den Einbau eines ddNTP an dieser Stelle die Elongationsreaktion abgebrochen. Nach Inkubation der Reaktionsansätze befinden sich in jedem Ansatz unterschiedlich lange, neu synthetisierte DNA-Stränge, die ein gemeinsames 5'-Ende, jedoch unterschiedliche 3'-Enden aufweisen. Anschließend kann die Sequenz der Matrize bestimmt werden.

Bei Sequenzierung mit automatischen Sequenzierern, in unserem Fall wurde dies mit dem Sequenziergerät von ABI (Applied Biosystems) durchgeführt, werden die vier Desoxynucleotide mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Das Ergebnis kann in Form eines vierfarbigen Ausdrucks veranschaulicht werden, wobei für jede Base eine Farbe verwendet wird (siehe auch Abb. 8).

2.3.4.2 Bestimmung des -22C/T-Hcrt-Polymorphismus und der -20C/A-Variante

Die PCR-Produkte (2.3.3.6) wurden zunächst anhand des QIAquick PCR Purification Kits aufgereinigt. Anschließend erfolgte der Einsatz einer *Cycle sequencing*-PCR. Dazu wurden 6 µl des Dye Terminator Cycle Sequencing Kit mit 5 µl der aufgereinigten DNA sowie jeweils 2 µl Primern PIF und 011R11 versetzt und mit 7 µl HPLC-Wasser auf 20 µl Reaktionsgemisch aufgefüllt.

Anschließend folgte das *Cycle sequencing*, bestehend aus 30 Zyklen einer 30-sekündigen Denaturierung bei 96 °C, einem 15-sekündigen *Annealing* bei 50 °C sowie einer 4-minütigen Elongation bei 60 °C.

Nach der Aufreinigung der *Cycle sequencing*-Produkte anhand des Centri-Sep Säulen-Protokolls wurden 4 µl der Probe mit jeweils 16 µl Formamid zur Sequenzierung im Kapillarsequenzierer ABI PRISM™ 310 Genetic Analyser versetzt. Die Auswertung der Sequenzierung erfolgte anhand der ABI PRISM™ 310 Collection 2.0 Software.

2.5 Statistische Analyse

In der statistischen Analyse wurde zunächst getestet, ob unsere Studiengruppe sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befand. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht besagt, dass die Häufigkeit der Homozygoten sowie der Heterozygoten über Generationen hinweg konstant bleibt, wenn die Population sehr groß ist, die Individuen sich uneingeschränkt paaren können, es zu keiner Selektion bestimmter Allele kommt, keine Genmigration stattfindet und keine Mutationen auftreten. Hier wird also überprüft, ob die Allel-Häufigkeit auch mit der gefundenen Genotyp-Verteilung im Einklang steht.

Daraus ergeben sich Berechnungsformeln für

1. Allelfrequenzen:

- $p(A1) + q(A2) = 1$
- $p^2 + 2p(A1) \times q(A2) + q^2(A2) = 1$

2. Genotypfrequenzen:

- $h(A1A1) = p^2$
- $h(A1A2) = 2p(A1) \times q(A2)$
- $h(A2A2) = q^2(A2)$

$p(A1)$ = Häufigkeit von Allel A1; $q(A2)$ = Häufigkeit von Allel A2; h = Genotypfrequenz

Zur Überprüfung des Hardy-Weinberg Gleichgewichts im DRD4 48bp-repeat Polymorphismus wurde zusätzlich der Guo-Thompson Test (beinhaltet Simulationen) angewendet.

Nach der Pilotstudie wurde eine Fallzahlberechnung für die Untersuchung der Hauptstudie durchgeführt. Für eine 80 %-ige Power sind bei der Untersuchung des DRD3-Polymorphismus 70 Patienten pro Gruppe notwendig (basierend auf einer Frequenz von 30 % von Allel 2 in der Gruppe C und einer erhöhten Frequenz in der Gruppe A). Ähnliche Berechnungen wurden für den DRD2-Polymorphismus durchgeführt (basierend auf einer Frequenz von 80 % von Allel 2 in der Gruppe C und einer erhöhten Frequenz in der Gruppe A) mit einer Fallzahl von 130 Patienten pro Gruppe. Die Fallzahlberechnung für DRD4 (basierend auf einer Frequenz von 17 % von Allel 2 in der Gruppe C und einer erhöhten Frequenz in der Gruppe A) ergab 103 Patienten pro Gruppe. Die Berechnungen wurden mit STATISTICA, Power Analysis, Sample Size calculation, Two Proportions, Z-Test durchgeführt.

Die Vergleichsuntersuchungen der Genotyp- und Allelfrequenzen zwischen den beiden untersuchten Gruppen wurden anhand des Cochran-Armitage Trend Tests (Genotypfrequenz) und Pearson's χ^2 -Tests (Allelfrequenz) durchgeführt. Ein p-Wert von 0,05 wurde als signifikant angesehen.

Zusätzlich wurde das relative Genotyp-Risiko und die prädiktiven Werte für den *TaqI* A-Polymorphismus im DRD2-Gen berechnet. Die Genotyp-Verteilung des *TaqI* A-Polymorphismus in den einzelnen Dopaminagonistensubgruppen wurde anhand der deskriptiven Statistik beschrieben. Zudem wurden logistische Regressionen zur Schätzung der Odds-Ratios (OR) einschließlich des 95 % Konfidenzintervalls herangezogen.

Beim multiplen Testen wird berücksichtigt, dass bei Suchtests mit vielen verschiedenen Kandidatengenomen, die über das gesamte Genom verteilt

sind, die Wahrscheinlichkeit für Fehler 1. Art erhöht ist. Bei einem Suchtest mit 20 verschiedenen Markern ist bei einem nominellen Signifikanzniveau von 5 % mit einem falsch positiven Ergebnis zu rechnen. In diesem Fall ist eine Bonferroni-Korrektur notwendig (Weir, 1996). Bei fünf vermuteten Krankheitsgenen für eine neurologische Erkrankung und 20.000 potentiellen Kandidatengenen sind für einen notwendigen p-Wert von 0,05 bis zu 99,5 % der als signifikant geltenden Assoziationen falsch positiv. Bei einem geforderten p-Wert von 0,001 liegt die Rate falsch positiver Assoziationen noch bei 80 %; erst für p-Werte $<10^{-8}$ können verwertbare Aussagen getroffen werden. Zur Lösung dieses Problems wurde ein Sample-splitting durchgeführt. Dafür wird eine Studiengruppe in zwei Untergruppen geteilt und ein Assoziationstest mit einem weniger strengen nominellen Signifikanzniveau in der ersten Gruppe durchgeführt. Positive Ergebnisse werden daraufhin in der zweiten Gruppe mit einem korrekten nominellen Signifikanzniveau überprüft (Bender et al., 2002).

Alle statistischen Berechnungen wurden mit dem Programm SAS (Cary, NC, USA) sowie SPSS 11 (Chicago, IL, USA) durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Polymorphismen

Im Folgenden werden zunächst anhand der Abbildungen exemplarisch die Ergebnisse der Untersuchung des *TaqI* A-Polymorphismus im D2-Dopaminrezeptor-Gen, des *Ser9/Gly*-Polymorphismus (*MscI* I) im D3-Dopaminrezeptor-Gen, des 48 bp-repeat-Polymorphismus sowie des *tandem duplication*-Polymorphismus im D4-Dopaminrezeptor-Gen dargestellt. Die abgebildeten Banden resultieren aus der PCR-Amplifikation sowie der Restriktionsanalyse.

3.2.1 DRD2-*TaqI* A-Polymorphismus

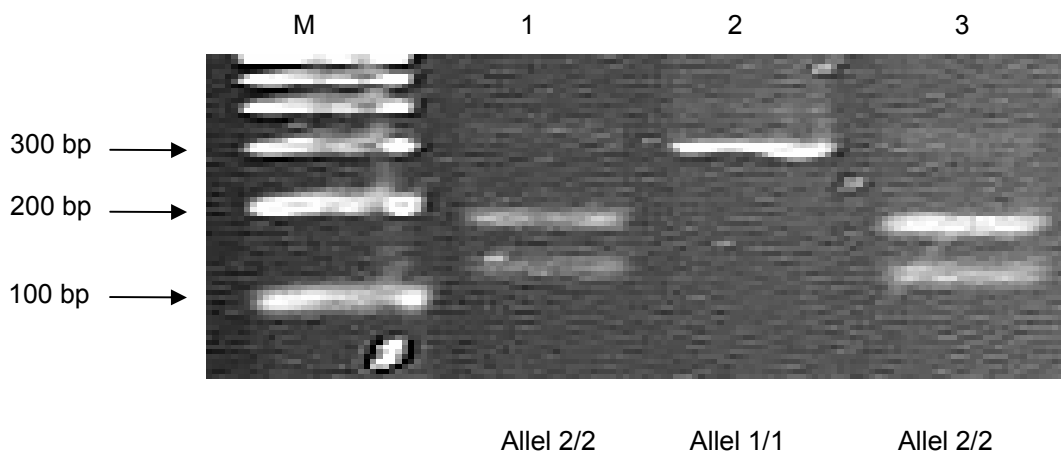


Abbildung 3: *TaqI* Verdau PCR-amplifizierter DNA zum Nachweis des *TaqI* A-Polymorphismus. Allel 1=310 bp; Allel 2=130 bp, 180 bp. Darstellung PCR-amplifizierter DNA nach dem *TaqI* Verdau auf einem mit SYBR[®] Gold nucleic acid gel stain gefärbten 2 %-igen Agarosegel. Spur 1-3: Proben. M: 100 bp-DNA-Leiter.

3.2.2 DRD3-*MscI*-Polymorphismus

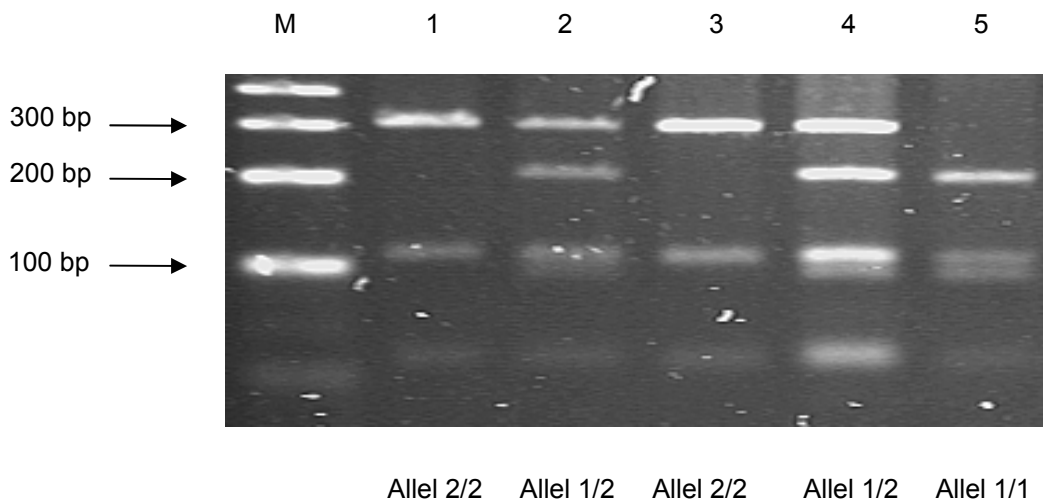


Abbildung 4: *MscI* Verdau PCR-amplifizierter DNA zum Nachweis des *MscI*-Polymorphismus. Allel 1= 206 bp, 98 bp, 47 bp, 11 bp; Allel 2=304 bp, 47 bp, 11 bp. Darstellung PCR-amplifizierter DNA nach dem *MscI*-Verdau auf einem mit SYBR® Gold nucleic acid gel stain gefärbten 3 %-igen NuSieve-Gel. Spur 1-6: Proben. M: 100 bp-DNA-Leiter.

3.2.3 DRD4-*tandem duplication*-Polymorphismus

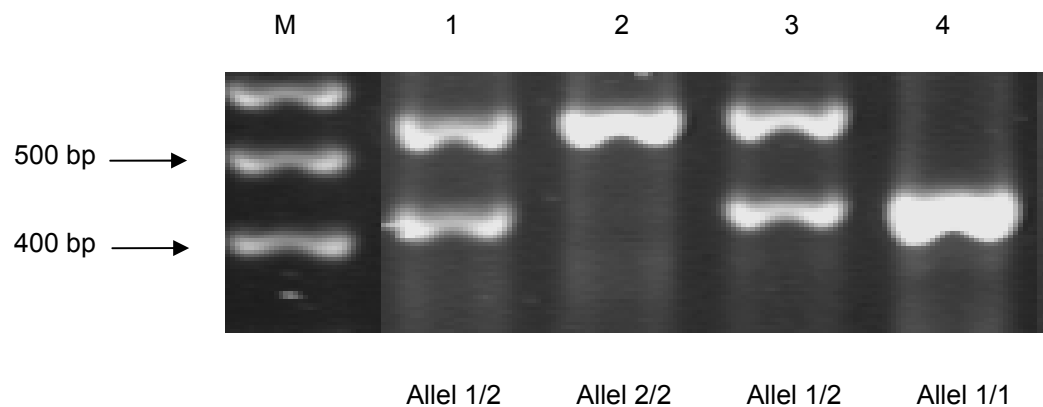


Abbildung 5: D4-*tandem-duplication*-Polymorphismus. Darstellung einer PCR-amplifizierten DNA auf SYBR® Gold nucleic acid gel stain gefärbten 2 %-igen Agarosegel. Allel 1: 429 bp; Allel 2: 549 bp. Spur 1-4: Proben. M: 100 bp-DNA-Leiter.

3.2.4 DRD4-48 bp-repeat-Polymorphismus

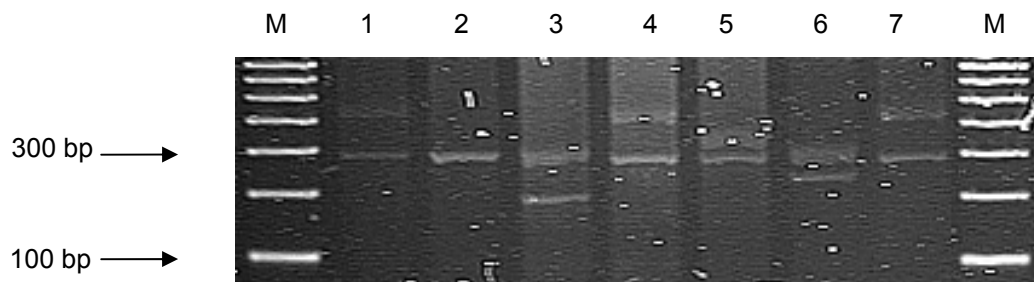


Abbildung 6: 48-bp-repeat-Polymorphismus. Darstellung einer PCR-amplifizierten DNA auf SYBR[®] Gold nucleic acid gel stain gefärbten 3 %-igen NuSieve-Gel. Spur 1-7: Proben. M: 100 bp-DNA-Leiter. Spur 1: 4/7-repeat; Spur 2: 4/4-repeat; Spur 3: 2/4 repeat; Spur 4: 4/7 repeat; Spur 5: 4/5 repeat; Spur 6: 3/4 repeat; Spur 7: 4/7 repeat.

3.2.5 -909T/C-Hcrt-Polymorphismus

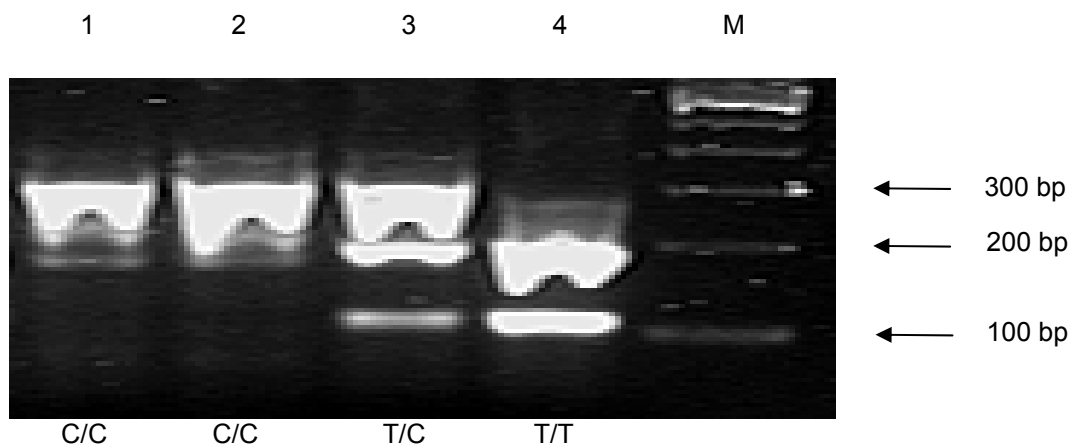


Abbildung 7: -909T/C-Polymorphismus. Darstellung PCR-amplifizierter DNA nach dem *NlaIII* Verdau auf einem mit SYBR[®] Gold nucleic acid gel stain gefärbten 2 %-igen Agarosegel. Spur 1-4: Proben. C/C: 295 bp; T/T: 108 und 187 bp, T/C: 108, 187 und 297bp. M: 100 bp-DNA-Leiter.

3.2 Pilotstudie

Die demografischen Daten der 41 Patienten unserer Parkinson-Ambulanz, die mit den Non-Ergolin-Dopaminagonisten Pramipexol und Ropinirol behandelt wurden und für die Pilotstudie gewonnen werden konnten, werden in der Tabelle 2 zusammengefasst.

Patienten insgesamt	41
<i>n</i> Gruppe A („Schlafattacken“) (%)	9 (22)
<i>n</i> männlich (%)	4 (44)
<i>n</i> weiblich(%)	5 (56)
Altersdurchschnitt (SD)	59 (10,2)
Durschnittliches H&Y Stadium (SD)	2 (0,46)
Durchschnittliche Krankheitsdauer (SD)	11 (3,04)
<i>n</i> Gruppe B (Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“) (%)	17 (41)
<i>n</i> männlich (%)	10 (59)
<i>n</i> weiblich(%)	7 (41)
Altersdurchschnitt (SD)	63 (13,11)
Durschnittliches H&Y Stadium (SD)	2 (0,76)
Durchschnittliche Krankheitsdauer (SD)	7 (5,16)
<i>n</i> Gruppe C (keine Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“) (%)	15 (36)
<i>n</i> männlich (%)	9 (60)
<i>n</i> weiblich(%)	6 (40)
Altersdurchschnitt (SD)	58 (10,7)
Durschnittliches H&Y Stadium (SD)	2 (0,65)
Durchschnittliche Krankheitsdauer (SD)	7 (4,5)

Tabelle 2: Einteilung der Parkinson-Patienten der Pilotstudie

Die durchschnittlichen Tagesdosen von Levodopa (Gruppe A: 500 mg; Gruppe B: 551 mg und Gruppe C: 380 mg) und Pramipexol (Gruppe A: 2 mg; Gruppe B: 2 mg und Gruppe C: 3 mg) waren vergleichbar. Ropinirol wurde zwei Patienten in einer Tagesdosis von je 3 mg in Gruppe C verabreicht. Des Weiteren wurde die folgende Anzahl an Patienten mit weiteren Antiparkinson-Medikamenten behandelt: 11 mit anderen oralen Dopaminagonisten, 10 mit Amantadin, 6 mit COMT-Inhibitoren, 5 mit Anticholinergika, 4 mit MAO-B-Inhibitoren, 4 mit Budipin und 1 mit Apomorphin.

In der Tabelle 3 werden die Ergebnisse der Genotypisierung der DRD2, DRD3, DRD4 *tandem duplication* und DRD4-48 *bp-repeat* Polymorphismen in der Pilotstudie zusammengefasst. Deskriptiv haben wir keine offensichtlichen Unterschiede zwischen den Patienten in den drei untersuchten Gruppen gefunden. Es wurde lediglich tendenziell eine höhere Frequenz von Allel 2 des *MscI* Polymorphismus im DRD3-Gen bei Patienten mit „Schlafattacken“ beobachtet.

	Allelfrequenz (Allel 1 vs. Allel 2)				
	DRD2		DRD3		DRD4 tandem
Gruppe A "Schlafattacken"	3 vs. 15 (17% vs. 83%)		11 vs. 7 (61% vs. 39%)		14 vs. 4 (77% vs. 23%)
Gruppe B Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“	8 vs. 26 (24% vs. 76%)		24 vs. 10 (70% vs. 30%)		26 vs. 8 (76% vs. 24%)
Gruppe C keine Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“	6 vs. 24 (20% vs. 80%)		21 vs. 9 (70% vs. 30%)		25 vs. 5 (83% vs. 17%)
	Genotyp (Allelverteilung 1/1 : 1/2 : 2/2)				
	DRD2		DRD3		DRD4 tandem
Gruppe A "Schlafattacken"	0:3:6 (n=9)		4:3:2 (n=9)		5:4:0 (n=9)
Gruppe B Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“	2:4:11 (n=17)		8:8:1 (n=17)		10:6:1 (n=17)
Gruppe C keine Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“	0:6:9 (n=15)		7:7:1 (n=15)		11:3:1 (n=15)
	Allelfrequenz DRD4-48 bp-repeat-Polymorphismus (6, 8, and 10 repeats wurden nicht beobachtet)				
	2 repeats	3 repeats	4 repeats	5 repeats	7 repeats
Gruppe A "Schlafattacken"	3 (17%)	0	12 (66%)	0	3 (17%)
Gruppe B Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“	5 (15%)	3 (9%)	18 (53%)	1 (3%)	7 (20%)
Gruppe C keine Tagesmüdigkeit, keine „Schlafattacken“	3 (10%)	2 (7%)	18 (60%)	1 (3%)	6 (20%)

Tabelle 3: Pilotstudie. Allelfrequenz sowie Genotypisierung in DRD2, DRD3, DRD4 tandem duplication und DRD4 48 bp repeat- Polymorphismen.

Wir definierten eine OR von 2 als klinisch relevanten Unterschied zur Berechnung der notwendigen Fallzahl hinsichtlich einer möglichen Assoziation zwischen den untersuchten Polymorphismen und dem Auftreten von plötzlichen „Schlafattacken“ (sudden onset of sleep - SOS). Für eine 80 %-ige Power sind bei der Untersuchung des DRD3-Polymorphismus 70 Patienten pro Gruppe notwendig (basierend auf einer Frequenz von 30 % von Allel 2 in der Gruppe C und einer erhöhten Frequenz in der Gruppe A). Ähnliche Berechnungen wurden für den DRD2-Polymorphismus durchgeführt (basierend auf einer Frequenz von 80 % von Allel 2 in der Gruppe C und einer erhöhten Frequenz in der Gruppe A) mit einer Fallzahl von 130 Patienten pro Gruppe. Die Fallzahlberechnung für DRD4 (basierend auf einer Frequenz von 17 % von Allel 2 in der Gruppe C und einer erhöhten Frequenz in der Gruppe A) ergab 103 Patienten pro Gruppe (s. auch Methodik-Teil).

Folglich besitzt die gegenwärtige Studie eine sehr geringe Power für die Aussage einer Assoziation zwischen den untersuchten Polymorphismen und dem Auftreten von plötzlichen „Schlafattacken“.

Dementsprechend wurden in einer weiteren Studie mit einer höheren Patientenzahl die DRD2, DRD3, DRD4 *tandem duplication* und DRD4-48 bp *repeat*- Polymorphismen untersucht.

3.3 Hauptstudie

Die demografischen Daten der 274 Parkinson-Patienten mit unterschiedlicher Krankheitsausprägung und unterschiedlicher medikamentöser Anti-Parkinson-Therapie, die an der bundesweiten dPV-Umfrage teilgenommen hatten (Körner, et al., 2004) und für die Hauptstudie ausgewählt wurden, werden in der Tabelle 4 zusammengefasst.

Patienten insgesamt	274
<i>n</i> Gruppe A (SOS –„Schlafattacken“) (%)	137 (50)
<i>n</i> männlich (%)	90 (66)
<i>n</i> weiblich (%)	47 (34)
Altersdurchschnitt (SD)	67 (9,5)
Durchschnittliche subjektiv geschätzte Krankheitsschwere (SD)	2,9 (0,8)
Durchschnittliche Krankheitsdauer (SD)	10,4 (6,6)
<i>n</i> Gruppe B (Kontrollgruppe, kein SOS) (%)	137 (50)
<i>n</i> männlich (%)	85 (62)
<i>n</i> weiblich (%)	52 (38)
Durchschnittsalter (SD)	64 (8,4)
Durchschnittliche subjektiv geschätzte Krankheitsschwere (SD)	2,3 (1,0)
Durchschnittliche Krankheitsdauer (SD)	8,7 (5,2)

Tabelle 4: Einteilung der Parkinson-Patienten der Hauptstudie

93 % aller Patienten wurden mit L-Dopa behandelt. Die durchschnittlichen Tagesdosen für L-Dopa (Gruppe A: 437,8 mg; Gruppe B: 415,8 mg), Pramipexol (Gruppe A: 1,2 mg; Gruppe B: 1,2 mg; n=19 in jeder Gruppe; Rezeptoraffinität: $D_3 > D_2 > D_4$, keine Bindung an den D_1 Rezeptor), Popinirol (Gruppe A: 4,5 mg; Gruppe B: 4,7 mg; n=6 in jeder Gruppe; Rezeptoraffinität: $D_3 > D_2 > D_4$; sehr geringe Affinität zum D_1 Rezeptor), Bromocriptin (Gruppe A: 12,9 mg; Gruppe B: 12,8 mg; n=9 in jeder Gruppe; Rezeptoraffinität: $D_2 > D_3 > D_4$; schwache antagonistische Wirkung am D_1 Rezeptor), Pergolid (Gruppe A: 2,4 mg; Gruppe B: 2,5 mg; n=40 in jeder Gruppe; Rezeptoraffinität: $D_2 > D_3 > D_4$; schwache agonistische Wirkung am D_1 Rezeptor), Alpha-Dihydroergocryptin (Gruppe A: 41,5 mg; Gruppe B: 40 mg; n=10 in jeder Gruppe; $D_2 > D_3 > D_4$, schwache agonistische Wirkung am D_1 Rezeptor), Cabergolin (Gruppe A: 4,6 mg; Gruppe B: 4,7 mg; n=24 in jeder Gruppe; Rezeptoraffinität: $D_2 > D_3 > D_4$, schwache agonistische Wirkung am D_1 Rezeptor) und Lisurid (Gruppe A: 0,7 mg; Gruppe B: 0,7 mg; n=11 in jeder Gruppe; Rezeptoraffinität: $D_2 = D_3 > D_4$, schwache agonistische Wirkung am D_1 Rezeptor) waren nahezu identisch.

Weitere Anti-Parkinson-Medikamente beinhalteten Anticholinergika (Gruppe A: 52 Fälle; Gruppe B: 61 Fälle), NMDA-Antagonisten (Gruppe A: 48 Fälle; Gruppe B: 50 Fälle), COMT-Inhibitoren (Gruppe A: 20 Fälle; Gruppe B: 18 Fälle) und andere Medikamente wie Atropin, Tremoforat und Belladonnysat (Gruppe A: 40 Fälle; Gruppe B: 29 Fälle).

Sowohl die Patientengruppe mit SOS, als auch die Kontrollgruppe ohne SOS befanden sich im Hardy-Weinberg Gleichgewicht; d. h. es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den erwarteten und beobachteten Genotypfrequenzen in den DRD2, DRD3 sowie DRD4 *tandem duplication* Polymorphismus gesehen. Der DRD4 48 bp-repeat Polymorphismen befand sich jedoch nicht im Hardy-Weinberg Gleichgewicht (Tabelle 5 a, b, c, d).

	Genotyp beobachtet			Genotyp erwartet		
	2/2	1/2	1/1	2/2	1/2	1/1
Patienten (n=137) mit SOS	82 (59.85 %)	51 (37.23 %)	4 (2.92 %)	84,4 (61.6 %)	46,3 (33.8 %)	6,4 (4.6 %)
	p=0.0007					
Kontrollen (n=136) ohne SOS	58 (42.34 %)	64 (46.72 %)	15 (10.95 %)	59,1 (43,1 %)	61,8 (45,1 %)	16,1 (11,8 %)

Tabelle 5a
Beobachtete und erwartete Genotyphäufigkeit beim *DRD2-TaqI A*-Polymorphismus

	Genotyp beobachtet			Genotyp erwartet		
	2/2	1/2	1/1	2/2	1/2	1/1
Patienten (n=136) mit SOS	65 (47.79 %)	61 (44.85 %)	10 (7.35 %)	67,1 (49,3 %)	56,9 (41,8 %)	12,1 (8,9 %)
	p=0.78					
Kontrollen (n=136) ohne SOS	72 (52.94 %)	50 (36.76 %)	14 (10.29 %)	69,2 (50,9 %)	55,6 (40,9 %)	11,2 (8,2 %)

Tabelle 5b
Beobachtete und erwartete Genotyphäufigkeit beim *DRD3-MscI*-Polymorphismus

	Genotyp beobachtet			Genotyp erwartet		
	2/2	1/2	1/1	2/2	1/2	1/1
Patienten (n=136) mit SOS	90 (66.18 %)	45 (33.09 %)	1 (0.74 %)	93,1 (68,4 %)	38,9 (28,6 %)	4,1 (3 %)
	p=0.72					
Kontrollen (n=136) ohne SOS	97 (71.32 %)	35 (25.74 %)	4 (2.94 %)	96,4 (70,9 %)	36,2 (26,6 %)	3,4 (2,5 %)

Tabelle 5c
Beobachtete und erwartete Genotyphäufigkeit beim *DRD4-tandem duplication*-Polymorphismus

	Genotyp beobachtet			Genotyp erwartet		
	4/4	4/x	x/x	4/4	4/x	x/x
Patienten (n=137) mit SOS	74 (54,01 %)	48 (35,04 %)	15 (10,95 %)	70,1 (51,2 %)	55,8 (40,7 %)	11,1 (8,1 %)
	p=0.1863					
Kontrollen (n=137) ohne SOS	69 (50,36 %)	42 (30,66 %)	26 (18,98 %)	59,1 (43,1 %)	61,8 (45,1 %)	16,1 (11,8 %)

Tabelle 5d
Beobachtete und erwartete Genotyphäufigkeit beim DRD4-48 bp-repeat-Polymorphismus

Tabelle 6 zeigt die Allel- und Genotypverteilung des DRD2-*TaqI* A-Polymorphismus in den beiden Gruppen. Das variante Allel A2 wurde häufiger bei Parkinson-Patienten mit "Schlafattacken" im Vergleich zu Parkinson-Patienten ohne "Schlafattacken" gefunden. Statistische Auswertungen zeigten einen signifikanten Unterschied in der Genotyp- ($p=0.0007$) und Allelverteilung ($p=0.0009$) zwischen Parkinson-Patienten mit "Schlafattacken" und der Kontrollgruppe. Diese Unterschiede sind auch dann signifikant, wenn die p-Werte beim multiplen Testen an die drei untersuchten Polymorphismen DRD2-*TaqI* A, DRD3-*Msc I* sowie DRD4 *tandem duplication* adjustiert wurden ($p=0.0021$ und $p=0.0027$). Da sich der DRD4-48 bp-Polymorphismus nicht im Hardy-Weinberg Gleichgewicht mit den erwarteten Häufigkeiten befand, wurde er beim multiplen Testen nicht berücksichtigt. Das Genotyp bezogene Risiko bei heterozygoten Trägern von Allel 2 für das Auftreten vor "Schlafattacken" betrug 3.04 (95 % CI: 0.95-9.71) und bei homozygoten Trägern 5.24 (95 % CI: 1.65-16.59). Der positive prädiktive Wert für Allel 2-Träger wurde mit 0.52 (95 % CI: 0.46-0.58) berechnet und der negative prädiktive Wert mit 0.79 (95 % CI: 0.54-0.94).

Die Genotypverteilung anhand der Dopaminagonisten-Subgruppen ist deskriptiv analysiert und in Tabelle 7 dargestellt. Die Assoziation zwischen dem Allel A2 und dem Auftreten der "Schlafattacken" könnte bei Patienten

mit Begleitmedikation wie Bromocriptin, Pergolid oder Cabergolin vermutet werden.

	Genotyp			
	2/2	1/2	1/1	
Patienten (n=137) <i>ohne</i> SOS	82 (59.85 %)	51 (37.23 %)	4 (2.92 %)	p=0.0007
Kontrollen (n=137) <i>mit</i> SOS	58 (42.34 %)	64 (46.7 %)	15 (10.95 %)	
	Allel			
	2	1		
Patienten (n=137) <i>ohne</i> SOS	215 (78.47 %)	59 (21.53 %)		p=0.0009
Kontrollen (n=137) <i>mit</i> SOS	180 (65.69 %)	94 (34.31 %)		

Tabelle 6
Verteilung der DRD2-TaqI A-Polymorphismus-Allel- und Genotyphäufigkeiten bei Patienten mit SOS (Patienten) und ohne SOS (Kontrollen). Allel 1: 310 bp; Allel 2: 180, 130 bp (Grandy, et al., 1993)

	Patienten (mit SOS)			Kontrollen (ohne SOS)		
	2/2	1/2	1/1	2/2	1/2	1/1
Keine Dopaminagonisten (n=36)	10 (56 %)	8 (44 %)	0 (0 %)	6 (33 %)	10 (56 %)	2 (11 %)
Pramipexol (n=38)	14 (74 %)	3 (16 %)	2 (10 %)	13 (69 %)	5 (26 %)	1 (5 %)
Ropinirol (n=12)	4 (67 %)	2 (33 %)	0 (0 %)	5 (83 %)	1 (17 %)	0 (0 %)
Bromocriptin (n=18)	4 (44 %)	5 (56 %)	0 (0 %)	1 (11 %)	8 (89 %)	0 (0 %)
Pergolid (n=80)	21 (53 %)	18 (45 %)	1 (2 %)	10 (25 %)	25 (63 %)	5 (12 %)
Alpha-Dehydroergocryptin (n=20)	4 (40 %)	6 (60 %)	0 (0 %)	4 (40 %)	5 (50 %)	1 (10 %)
Cabergolin (n=48)	17 (71 %)	7 (29 %)	0 (0 %)	12 (50 %)	8 (33 %)	4 (17 %)
Lisurid (n=22)	8 (73 %)	2 (18 %)	1 (9 %)	7 (64 %)	2 (18 %)	2 (18 %)

Tabelle 7
Dopaminagonisten sowie DRD2-Genotypverteilung in Patienten mit SOS (Patienten) und ohne SOS (Kontrollen). Patienten, die keine Dopaminagonisten erhielten, wurden mit L-Dopa behandelt.

Tabelle 8 zeigt die Verteilung der Allel- und Genotyphäufigkeiten des DRD3-*MscI*-Polymorphismus in den beiden getesteten Gruppen. Die Allel- und Genotypverteilung war in den beiden untersuchten Gruppen ähnlich und zeigte keine signifikanten Unterschiede.

	Genotyp			
	2/2	1/2	1/1	
Patienten (n=136) <i>ohne SOS</i>	65 (47.79 %)	61 (44.85 %)	10 (7.35 %)	p=0.7792
Kontrollen (n=136) <i>mit SOS</i>	72 (52.94 %)	50 (36.76 %)	14 (10.29 %)	
	Allel			
	2	1		
Patienten (n=136) <i>ohne SOS</i>	191 (70.22 %)	81 (29.78 %)		p=0.7773
Kontrollen (n=136) <i>mit SOS</i>	194 (71.32 %)	78 (28.68 %)		

Tabelle 8
Verteilung der DRD3-*MscI*-Polymorphismus-Allel- und Genotyphäufigkeiten bei Patienten mit SOS (Patienten) und ohne SOS (Kontrollen). Allel 1: 304 bp, 111 bp, 47 bp; Allel 2: 206 bp, 111 bp, 98 bp, 47 bp (Lannfelt, et al., 1992).

Tabelle 9 zeigt die Verteilung der Allel- und Genotyphäufigkeiten des DRD4-*tandem duplication*-Polymorphismus der beiden getesteten Gruppen. Die Allel- und Genotypverteilung war in den beiden untersuchten Gruppen ähnlich und zeigte keine signifikanten Unterschiede.

	Genotyp			
	2/2	1/2	1/1	
Patienten (n=136) <i>mit</i> SOS	90 (66.18 %)	45 (33.09 %)	1 (0.74 %)	p=0.7210
Kontrollen (n=136) <i>ohne</i> SOS	97 (71.32 %)	35 (25.74 %)	4 (2.94 %)	
	Allel			
	2	1		
Patienten (n=136) <i>mit</i> SOS	225 (82.72 %)	47 (17.28 %)	p=0.6444	
Kontrollen (n=136) <i>ohne</i> SOS	229 (84.19 %)	43 (15.81 %)		

Tabelle 9
Verteilung der DRD4-*tandem duplication*-Polymorphismus-Allel- und Genotyphäufigkeiten bei Patienten mit SOS (Patienten) und ohne SOS (Kontrollen).
 Allel 1: 549 bp, Allel 2: 429 bp (Lichter et al., 1993).

Schließlich zeigt die Tabelle 10 a und b die Allel- und Genotyphäufigkeiten des DRD4-48 bp-*repeat*-Polymorphismus. Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass der Genotypfrequenzunterschied der *four-repeat* Homozygoten in der Patientengruppe mit SOS im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant höher (54.01 % vs. 50.36 %, p=0.1863) war. Ebenfalls wurde kein signifikanter Frequenzunterschied der *four-repeat*-Allele in den beiden untersuchten Gruppen beobachtet (71.53 % vs. 65.69 %, p=0.1863). Darüber hinaus wurden in der deskriptiven Statistik keine offensichtlichen Unterschiede in der Allelfrequenzverteilung des DRD4-48 bp-*repeat* Polymorphismus (n=15) beobachtet (Tabelle 10 a). In Tabelle 10 b sind die detaillierten Genotyphäufigkeiten in beiden untersuchten Gruppen aufgelistet. Da sich die beobachteten Genotyphäufigkeiten nicht im Hardy-Weinberg Gleichgewicht mit den erwarteten Häufigkeiten befand, sind die vorliegenden Ergebnisse statistisch nicht aussagekräftig.

	Genotyp			
	4/4	4/x	x/x	
Patienten (n=137) <i>mit SOS</i>	74 (54.01 %)	48 (35.04 %)	15 (10.95 %)	p=0.1863
Kontrollen (n=137) <i>ohne SOS</i>	69 (50.36 %)	42 (30.66 %)	26 (18.98 %)	
	Allel (Repeat-Wiederholungen)			
	4	x		
Patienten (n=137) <i>mit SOS</i>	196 (71.53 %)	78 (28.47 %)		
Kontrollen (n=137) <i>ohne SOS</i>	180 (65.69 %)	94 (34.31 %)		

Tabelle 10 a
Verteilung der DRD4-48 bp-repeat-Polymorphismus-Allel- und Genotyphäufigkeiten bei Patienten mit SOS (Patienten) und ohne SOS (Kontrollen) (McCracken, et al., 2000) .

Patienten (n=137) mit SOS		Kontrollen (n=137) ohne SOS	
Genotyp		Genotyp	
2/2	4 (2.92 %)	2/2	1 (0.73 %)
2/3	4 (2.92 %)	2/3	3 (2.19 %)
2/4	2 (1.46 %)	2/4	3 (2.19 %)
2/6	1 (0.73 %)	2/6	0 (0 %)
2/7	1 (0.73 %)	2/7	0 (0 %)
3/3	2 (1.46 %)	3/3	12 (8.76 %)
3/4	30 (21.9 %)	3/4	24 (17.52 %)
3/5	1 (0.73 %)	3/5	3 (2.19 %)
4/4	74 (54.01 %)	4/4	69 (50.36 %)
4/5	11 (8.03 %)	4/5	11 (8.03 %)
4/6	2 (1.46 %)	4/6	2 (1.46 %)
4/7	4 (2.92 %)	4/7	2 (1.46 %)
5/5	1 (0.73 %)	5/5	5 (3.65 %)
7/7	0 (0 %)	7/7	1 (0.73 %)
7/8	0 (0 %)	7/8	1 (0.73 %)

Tabelle 10 b

Detaillierte Verteilung der DRD4-48 bp-repeat-Polymorphismus-Genotyphäufigkeiten bei Patienten mit SOS (Patienten) und ohne SOS (Kontrollen).

3.3.1 –909T/C-Hcrt-Polymorphismus

Für die Untersuchung des Hypocretin-Systems wurde keine Pilotstudie durchgeführt. Die Studie zur Bestimmung des *Single-Nucleotid*-Polymorphismus, der 909 bp vom ATG-Codon des Exon-1 (-909T/C) lokalisiert ist, wurde von ursprünglich 274 bei 264 Parkinson-Patienten mit unterschiedlicher Krankheitsausprägung und unterschiedlicher Therapie mit Anti-Parkinson-Medikamenten durchgeführt. Aus technischen Gründen konnten 10 Proben nicht ausgewertet werden. Die demografischen Daten dieser Patienten sind ebenfalls in Tabelle 4 zusammengefasst (Körner, et al., 2004).

In Tabelle 11 und 12 werden die Ergebnisse dieses Projektteils zusammengefasst. Sowohl die Patienten, als auch die Kontrollen befanden sich im Hardy-Weinberg Gleichgewicht. In einer Arbeit von Hungs et al. (Hungs, et al., 2001) wird die Allelfrequenz von –909T mit 0,73 bei 107 Kontrollen angegeben. Aus weiteren Ergebnissen geht hervor, dass sich die Genotyp- und Allelfrequenz sowohl bei Kontroll-, als auch bei Narkolepsie-Patienten nicht unterscheiden (Allelfrequenz –909T bei Narkolepsie-Patienten 0.74) (Hungs, et al., 2001). Die Frequenz des Allels –909T betrug bei unseren Parkinson-Patienten mit SOS 0,78 und unterschied sich signifikant von der Häufigkeit bei den Kontrollen mit 0,69 ($p=0.0178$). Ferner wurde ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Genotypverteilung beobachtet ($p=0,0231$). Das Genotyp bezogene Risiko bei homozygoten Trägern von Allel 2 für das Auftreten vor "Schlafattacken" betrug 2,81 (95% CI: 1,09-7,25) und bei heterozygoten Trägern 2,01 (95% CI: 0,76-5,34). Der positive prädiktive Wert für Allel T-Träger wurde mit 0.52 (95% CI: 0.45-0.58) berechnet und der negative prädiktive Wert mit 0.70 (95% CI: 0.47-0.87).

	Genotyp beobachtet			Genotyp erwartet		
	T/T	T/C	C/C	T/T	T/C	C/C
Patienten (n=132)	81 (61,36%)	44 (33,33%)	7 (5,30%)	80,4 (60,9%)	45,3 (34,3%)	6,4 (4,8%)
	p=0,0235					
Kontrollen (n=132)	66 (50,00%)	50 (37,88%)	16 (12,12%)	62,7 (47,5%)	56,5 (42,8%)	12,7 (9,6%)

Tabelle 11
Beobachtete und erwartete Genotyphäufigkeit beim –909T/C-Polymorphismus

	Genotyp			p
	T/T	T/C	C/C	
Patienten (n=132)	81 (61,36%)	44 (33,33%)	7 (5,30%)	p=0.0235
Kontrollen (n=132)	66 (50,00%)	50 (37,88%)	16 (12,12%)	

	Allel		p
	T	C	
Patienten (n=132)	206 (78%)	58 (22%)	p=0.0180
Kontrollen (n=132)	182 (69%)	82 (31%)	

Tabelle 12
Verteilung der –909T/C- Polymorphismus-Allel- und Genotyphäufigkeiten bei Patienten mit SOS (Patienten) und ohne SOS (Kontrollen) (Hungs, et al., 2001) .

3.3.2 –22C/T-Hcrt-Polymorphismus und -20C/A–Variante

Für diesen Projektteil wurden 272 der 274 rekrutierten Parkinson-Patienten erfolgreich untersucht (siehe Tabelle 4). Das Ergebnis von 2 Patienten konnte aus technischen Gründen nicht ausgewertet werden.

Während das T-Allel des –22C/T-Polymorphismus in 6 von 178 Narkolepsie-Patienten vs. in 1 von 189 gesunden Kontrollpersonen nachgewiesen wurde (Gencik, et al., 2001), fanden wir dieses Allel bei keinem der Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken“ und lediglich bei einem Parkinson-Patienten ohne „Schlafattacken“. Auch in der Arbeit von Hungs et al. (Hungs, et al., 2001) ließ sich bei den Narkolepsie-Patienten dieser Polymorphismus nicht nachweisen. In einer anderen Arbeit wurde beschrieben, dass die seltene –20C/A-Variante bei sporadischen Narkolepsie-Patienten, die nicht HLA-DQB1*0602-Träger sind, mit einer Allelfrequenz von 0,053 gehäuft vorkommt (Peyron, et al., 2000). Dieser Polymorphismus wurde bei keinem unserer 272 Patienten beobachtet.

In der Abbildung 8 wird ein typisches Sequenzierergebnis des -22C/T - Polymorphismus und der –20C/A-Variante dargestellt.

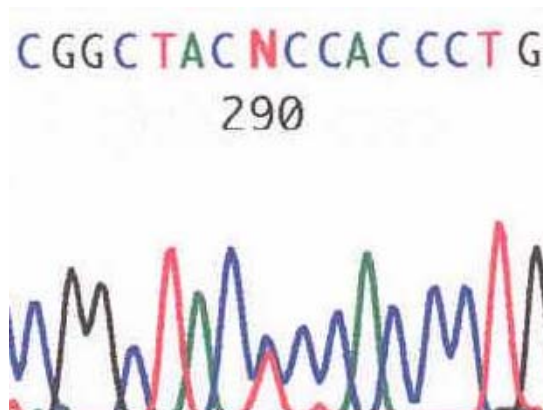


Abbildung 8: -22C/T-Polymorphismus und –20C/A-Variante. Darstellung einer Sequenzanalyse. An Position –22 (Nukleotid 290 in dieser Sequenzierung) befindet sich ein „N“; hier liegt ein - 22C/T-Polymorphismus vor. An Position –20 (Nukleotid 288, zwei Nukleotide rechts von Nukleotid 290 in dieser Sequenzierung) befindet sich ein C, also keine –20C/A-Variante.

4 Diskussion

4.1 Patientenselektion

Für die Untersuchung der „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten wurden 274 Patienten mit unterschiedlicher Therapie mit Anti-Parkinson-Medikamenten, die an der bundesweiten dPV-Umfrage teilgenommen hatten und den verwendeten Fragebogen zu Schlafstörungen, Schlafverhalten, Tagesmüdigkeit etc. ausgefüllt hatten (Körner, et al., 2004), mittels eines Telefoninterviews rekrutiert. Der verwendete Fragebogen befindet sich im Anhang. Die ursprünglich im Fragebogen enthaltenen Fragen zur Verkehrsteilnahme und zur Beurteilung des Fahrverhaltens wurde in dieser Arbeit nicht berücksichtigt und werden somit im Anhang nicht aufgelistet. Nachteil einer Rekrutierung dieser Art ist die relative Unsicherheit bei der Krankheitsdiagnose. Denkbar wäre die Erfassung von Patienten, die auch unter atypischem Parkinson-Syndrom leiden.

Wie vorbeschrieben erfolgte die Patienteneinteilung anhand des Fragebogens sowie des Telefoninterviews in zwei Gruppen:

Gruppe A: Dieser Gruppe wurden Patienten zugeteilt, die zumindest 2-4 mal im Monat unter "Schlafattacken" im Sinne eines plötzlichen oder sehr raschen Einschlafens ohne subjektive vorherige Müdigkeit leiden. Das gleichzeitige Auftreten von "Schlafattacken", bzw. ungewollten Schlafepisoden mit vorheriger Müdigkeit stellte allerdings kein Ausschlusskriterium dar.

Gruppe B: Dieser Gruppe wurden Patienten zugeteilt, die noch nie unter plötzlichem Einschlafen gelitten hatten und zudem keine signifikante subjektive Tagesmüdigkeit aufwiesen.

Das Patienten-Matching für die hier zugrundeliegende Fall-Kontroll-Studie erfolgte in aufwendigen Schritten hierarchisch nach den Variablen Agonisten-Dosierung, L-Dopa-Dosierung, Krankheitsschwere, Erkrankungsdauer sowie Geschlecht, Alter und andere Parkinson-Medikamente.

Die Patienteneiteilung erfolgte in dieser Form, um die Selektion der Patienten mit dem Phänomen der „Schlafattacken“ möglichst genau anhand der uns zur Verfügung stehenden Instrumentarien zu ermöglichen. Das oben genannte hierarchische Matching wurde zur genauen Differenzierung der „Schlafattacken“ in zwei Patientengruppen mit einer möglichst vergleichbaren dopaminergen Therapie durchgeführt.

Die riesige Datensammlung aus der dPV-Umfrage mit mehr als 6 000 Datensätzen ermöglichte uns, Parkinson-Patienten zu identifizieren, die über „Schlafattacken“ ohne vorhergehende subjektive Tagesmüdigkeit, eine Häufigkeit von „Schlafattacken“ von 2-4 mal im Monat und einen plötzlichen subjektiven Übergang vom Wachheitszustand in den Schlaf berichteten. Da „Schlafattacken“ nur eine der möglichen Schläfrigkeitsbezogenen Nebenwirkungen bei diesen Patienten darstellen, wurden auch Patienten mit gleichzeitigen ungewollten Schlafepisoden mit vorhergehender Müdigkeit in die Studie eingeschlossen. Für die Kontrollgruppe dagegen wurden ausschließlich Parkinson-Patienten ausgewählt, die über keine „Schlafattacken“, keine subjektive Tagesmüdigkeit berichteten, jedoch einen normalen ESS-Score aufwiesen. Unter der Annahme, dass „Schlafattacken“ das eine Extrem und eine normale Wachheit das andere Extrem von Somnolenz als möglicher Nebenwirkung der dopaminergen Medikation darstellt, erlaubt unsere Auswahl einen Vergleich zwischen den beiden Extremgruppen dieser fortlaufenden Variable. Ferner waren wir in der Lage, ein nahezu perfektes Matching bezüglich des Typs und der Dosierung des Dopaminagonisten sowie der Dosierung von Levodopa zu erreichen, welche der Annahme nach die wichtigsten Faktoren hinsichtlich der

Bedeutung der dopaminergen Transmission bei den "Schlafattacken" darstellen.

4.2 Die mögliche Rolle der dopaminergen Transmission bei „Schlafattacken“

In der vorliegenden Studie interessierte uns die Fragestellung, ob eine Assoziation zwischen dem Phänomen der "Schlafattacken" bei Parkinson-Patienten und den untersuchten Polymorphismen in den DRD2, DRD3 und DRD4-Genen vorliegt.

Als Ursache für die "Schlafattacken" werden multiple Faktoren diskutiert, wobei die dopaminerge Medikation als einer der wichtigsten Faktoren angesehen wird (Hobson, et al., 2002, Ondo et al., 2001). Es wird weiterhin diskutiert, ob "Schlafattacken" tatsächlich ohne vorherige Müdigkeit auftreten, oder ob die Patienten, die über ein plötzliches Einschlafen ohne Vorwarnung berichten, sich an die vorangehende Müdigkeit nicht erinnern können oder sich an die chronische Müdigkeit gewöhnt haben und nicht merken, vor dem plötzlichen Einschlafen müde zu sein (Aldrich, 1994, Homann et al., 2002, Möller et al., 2002, Reyner and Horne, 1998).

Außerdem ergeben sich Hinweise für eine Assoziation von "Schlafattacken" mit der Krankheitsdauer und -schwere sowie dem Geschlecht (Hobson, et al., 2002, Ondo, et al., 2001, Paus et al., 2003). In unserer Studie waren die Patienten mit "Schlafattacken" durchschnittlich mit 6,6 Jahren länger und einer subjektiv geschätzten Krankheitsschwere von 2,9 schwerer erkrankt als die Kontrollpersonen mit durchschnittlich 5,2 Jahren Krankheitsdauer sowie einer subjektiv geschätzten Krankheitsschwere von 2,3. Bezüglich der Geschlechterverteilung waren in unserer Studie in der Patienten-Gruppe mit "Schlafattacken" mehr männliche Patienten (66 %) als weibliche (34 %) betroffen.

Es wird weiterhin diskutiert, ob "Schlafattacken" tatsächlich ohne vorherige Müdigkeit auftreten, oder ob die Patienten, die über ein plötzliches Einschlafen ohne Vorwarnung berichten, sich an die vorangehende Müdigkeit nicht erinnern können oder sich an die chronische Müdigkeit gewöhnt haben und nicht merken, vor dem plötzlichen Einschlafen müde zu sein (Aldrich, 1994, Homann, et al., 2002, Möller, et al., 2002, Reyner and Horne, 1998).

Das DRD2-Gen befindet sich auf Chromosom 11q22-q23 und weist u.a. einen *TaqI* A Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus auf (gelegen in der nicht übersetzten Region ungefähr 10 kb vom 3'-Ende des Gens), das die beiden Allele A1 und A2 bildet.

Die meisten Studien über den *TaqI* A-Polymorphismus wurden im Zusammenhang mit Alkohol- oder Drogenmissbrauch durchgeführt (Arinami et al., 1993, Comings et al., 1991, Sanders et al., 1993). Eine positive allelische Assoziation zwischen dem *TaqI* A-Polymorphismus und der Parkinson-Erkrankung wurde in drei Fällen beschrieben (Grevle, et al., 2000, Oliveri et al., 2000). In der Arbeit von Tan et al. konnte allerdings keine Assoziation zwischen diesem Polymorphismus und der Parkinson-Erkrankung nachgewiesen werden (Tan et al., 2003).

Ferner berichtete Jonsson et al. in seiner Arbeit, dass Parkinson-Patienten, die Träger des Allels 1 des DRD2 *TaqI* A-Polymorphismus sind, eine niedrige DRD2-Rezeptordichte im Striatum aufweisen (Jonsson et al., 1999). Unter Berücksichtigung dieser Arbeit stellte Wang et al. die Hypothese auf, dass eine genetische Prädisposition zur niedrigen DRD2-Expression die Suszeptibilität für die Entwicklung motorischer Fluktuation bei Parkinson-Patienten erhöhen kann. Der Genotyp A1A1 könne zur Entwicklung motorischer Fluktuationen bei Parkinson-Patienten führen, indem er zur Reduktion der DRD2-Rezeptordichte sowie einer abgeschwächten Antwort zu dem bereits verminderten Dopamingehalt im Striatum führt (Wang et al., 2001).

In Anbetracht dieser Ergebnisse ist es wahrscheinlich, dass dieser Polymorphismus in einigen Bevölkerungsgruppen mit einem erhöhten Risiko verbunden ist, eine Parkinson-Krankheit zu entwickeln. Zudem wird die Assoziation möglicherweise durch eine Gen-Umwelt-Interaktion modifiziert.

Die gegenwärtige Studie zeigt eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem *DRD2-TaqI* A-Allel A2 und "Schlafattacken". Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass das Allel A2 das Risiko bei Parkinson-Patienten, "Schlafattacken" zu bekommen, mäßiggradig erhöht. Interessanterweise agiert DRD2 als präsynaptischer Autorezeptor im mesokortikolimbischen System (Koeltzow, et al., 1998, Monti, et al., 1988). Daher kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die Aktivierung dieses Autorezeptors den dopaminergen Tonus im mesokortikolimbischen System vermindert und damit zur Entwicklung von Tagesmüdigkeit beiträgt. Weitere Forschungsarbeiten sind jedoch notwendig, um eine präzise Rolle des DRD2-Gens in der Pathogenese der "Schlafattacken" bei der Parkinson-Erkrankung zu definieren.

Das DRD3-Gen ist auf dem Chromosom 3q13.3 gelegen (Le Coniat et al., 1991). In einer Arbeit von Lannfelt et al. wurde eine Punktmutation beschrieben, die eine Schnittstelle für das Restriktionsenzym *MscI* schafft und zu einer Substitution von Serin durch Glyzin am 5'-Ende des Rezeptor-Gens führt (Lannfelt, et al., 1992). Die meisten Studien über diesen Polymorphismus weisen auf eine Verbindung zur Schizophrenie, bipolaren Erkrankungen und anderen psychiatrischen Erkrankungen hin (Crocq et al., 1992, Nanko et al., 1993). Bisher konnte jedoch keine Assoziation mit der Parkinson-Erkrankung, auch nicht bei Parkinson-Patienten mit Medikamenten-induzierten Halluzinationen (Makoff et al., 2000), hergestellt werden (Goetz et al., 2001, Wang, et al., 2001). Mit einer 80 %-igen Power zeigen unsere Ergebnisse, dass dieser Polymorphismus keine entscheidende Rolle bei der Entstehung von "Schlafattacken" bei Parkinson-Patienten spielt.

Das DRD4-Gen befindet sich auf Chromosom 11p15.5 (Gelernter et al., 1992, Petronis et al., 1993). 1.2 kb vom 5' Transkriptions-Initiierungs-Codon des DRD4-Gens entfernt, wurde ein *tandem duplication*-Polymorphismus identifiziert. Die 120 bp lange Duplikationssequenz beinhaltet eine Transkriptionsfaktor-Bindungsstelle. Die Frequenz des duplizierten Allels variierte von 0.40 bis 0.81 in einer Studie mit 11 untersuchten Populationen (Seaman, et al., 1999). In dieser Arbeit wird in der untersuchten gemischten europäischen Population eine Allelfrequenz A1 mit 0,19 und A2 mit 0,81 angegeben.

Dieser *tandem duplication*-Polymorphismus wurde bereits in einer großen Bandbreite von neuropsychiatrischen Erkrankungen und normalen Verhaltensmustern auf Assoziationen untersucht. McCracken et al. zeigten in ihrer Arbeit eine signifikante bevorzugte Vererbung des langen Allels beim hyperkinetischen Syndrom (attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)) (McCracken, et al., 2000). In unserer Arbeit konnten wir jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen beobachten. Unsere Ergebnisse zeigen dementsprechend keinen sicheren Hinweis auf einen relevanten Einfluss dieses Polymorphismus im DRD4-Gen auf die Pathogenese der "Schlafattacken" bei Parkinson-Patienten.

Zusammenfassend zeigt diese Studie eine signifikante Assoziation zwischen dem varianten DRD2-*TaqI* A-Allel A2 und dem Auftreten von "Schlafattacken" bei Parkinson-Patienten. Der *TaqI* A-Polymorphismus im DRD2-Gen ist als Prädiktor für das Auftreten von "Schlafattacken" während der Behandlung von Parkinson-Patienten wahrscheinlich nur wenig nützlich, auch wenn die A1A1-Homozygoten weniger susceptibel für die Entstehung von "Schlafattacken" zu sein scheinen.

Die positiven Ergebnisse hinsichtlich der signifikanten Assoziation zwischen dem *TaqI* A-Allel A2 dürfen nicht als endgültig betrachtet werden. Wir halten weiterführende Studien, die die Rolle genetischer

Faktoren bei der Pathogenese des multifaktoriellen Phänomens der "Schlafattacken" bei der Parkinson-Erkrankung untersuchen, wie präzise Definition und Erfassung des untersuchten Phänotyps und von Subphänotypen sowie die Durchführung von Haplotyp-Analysen für zwingend notwendig.

4.3 Die Rolle des Hypocretin bei „Schlafattacken“

In der vorliegenden Studie interessierte uns die Frage, ob eine Assoziation zwischen dem Auftreten von „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten unter einer Therapie mit L-Dopa und/oder Dopaminagonisten und dem Preprohypocretin-Genort besteht.

Da das Phänomen der „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten unter dopaminergem Medikation dem Krankheitsbild der Narkolepsie, das sich mit Symptomen wie ausgeprägte Tagesmüdigkeit, Kataplexie, hypnagoge Halluzination sowie Schlafparalyse darstellt, sehr ähnelt, untersuchten wir eine mögliche Assoziation zwischen dem Phänomen der „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten unter dopaminergem Medikation sowie dem – 909T/C-Hcr1-Polymorphismus, dem – 22C/T-Polymorphismus und der – 20C/A-Variante.

Für diese Untersuchung konnten wir das selbe Patientenkollektiv verwenden, welches wir bereits bei der möglichen Rolle der dopaminergen Transmission bei „Schlafattacken“ untersuchten, d. h. 274 Parkinson-Patienten mit unterschiedlicher Krankheitsausprägung und unterschiedlicher Therapie mit Anti-Parkinson-Medikamenten (Körner, et al., 2004).

Aus Untersuchungen geht hervor, dass Hypocretin bei der Regulation vagal vermittelter Bildung der Magensäure, bei der Regulation des sympathischen Nervensystems, bei der kardiovaskulären Funktion sowie beim Trinkverhalten eine wichtige Rolle spielt. Aus weiteren Untersuchungen ging hervor, dass eine der wichtigsten Aufgaben der Hypocretin-Neuropeptide darin besteht, die Schlaf-Wach-Regulation aufrecht zu erhalten.

Hypocretinhaltige Neurone lassen sich im lateralen und posterioren Thalamus nachweisen. Bereits 1946 wurde vermutet, dass das hypothalamische präoptische Gebiet ein Schlafzentrum sei, da Läsionen

in diesem Gebiet zur Insomnie führten (Nauta, 1946). Im hypothalamischen präoptischen Gebiet sowie im basalen Vorderhirn wurden schlafaktive Neurone identifiziert; diese werden aktiv, wenn Schläfrigkeit einsetzt und erreichen während des non-REM-Schlafs ihr Maximum an Aktivität. Inhibitorische GABA und Galanin haltige schlafaktive Neurone im ventrolateralen präoptischen Gebiet (Sherin et al., 1996) projizieren zum wachaktiven histaminergen Nucleus tuberomamillaris sowie zum Hirnstamm monoaminerge Neurone (Szymusiak et al., 2001). Deshalb könnten diese Neurone, obwohl sie wachaktive Neurone inhibieren, den Schlaf begünstigen. Anders als die Läsion im hypothalamischen präoptischen Gebiet, führt eine Läsion im posterioren Thalamus und Pedunculus, unmittelbar vor dem N. oculomotorius gelegen, zur Somnolenz, wie bereits bei der viralen epidemischen Enzephalitis beschrieben wurde (Mignot, 2001). Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass dieses Gebiet als Wachzentrum dient. Die Entdeckung hypocretinhaltiger Neurone im lateralen und posterioren Thalamus bestätigte die Vermutung, dass diese Hirnregion ein wichtiges Zentrum für die Schlaf-Wach-Regulation ist (Taheri, et al., 2002).

Polymorphismen, die in der Promoterregion von Hormongenen lokalisiert sind, sind oft für eine erhöhte Krankheitssuszeptibilität mitverantwortlich. Dies wurde beim insulinpflichtigen Diabetes mellitus Typ I (IDDM), einer HLA-assoziierten Autoimmunerkrankung, beobachtet. Hier liegt eine variable Anzahl von *tandem-repeat* (VNTR) Polymorphismen am Preproinsulin-Genort vor, welche mit einer erhöhten IDDM-Suszeptibilität im Zusammenhang steht (Todd, 1999). Ein ähnlicher Mechanismus wurde für die Narkolepsie vermutet. In der Arbeit von Peyron et al. (Peyron, et al., 2000) wurde jedoch keine Assoziation zwischen den bekannten Polymorphismen in den Hypocretin-Rezeptor-Genen und der Narkolepsie nachgewiesen.

Ferner ist die Narkolepsie mit einem niedrigen Hcrt-1-Gehalt von unter 110 pg/ml im Liquor assoziiert (Mignot, et al., 2002). Ein Hcrt-1-Gehalt von

über 200 pg/ml gilt als normal. In einer Studie verglichen Mignot et al. den Hcrt-1-Gehalt im Liquor bei Narkolepsie-Patienten und anderen neurologischen Erkrankungen, unter anderem dem M. Parkinson. Die Studie ergab, dass die meisten Patienten mit niedrigem Hcrt-1-Gehalt HLA-DQB1*0602-positive Narkolepsie-Kataplexie-Patienten waren. Die Gruppe anderer neurologischer Erkrankungen, zu der auch der M. Parkinson gehörte, wies normale Werte auf.

In einer weiteren Arbeit von Drouot et al. (Drouot et al., 2003) wurden bei 19 Parkinson-Patienten im fortgeschrittenen Krankheitsstadium und ausgeprägter Tagesmüdigkeit, d. h. mittlere Krankheitsdauer von 15 ± 1 Jahren, motorischen Score der Unified PD Rating Scale (UPDRS III) von 50 ± 4 sowie Hochdosistherapie mit L-Dopa 1299 ± 136 mg der Hcrt-1-Gehalt im Liquor untersucht. Als Kontrolle dienten Patienten mit anderen neurologischen Erkrankungen. Die Studie zeigte, dass der Hcrt-1-Gehalt bei Parkinson-Patienten niedriger war, als bei Kontrollpatienten (57 ± 14 pg/mL vs 199 ± 34 pg/mL, $p = 0.002$) und Hcrt-1 bei 9 (47 %) Parkinson-Patienten nicht nachweisbar war. Der nachgewiesene Hcrt-1-Gehalt bei anderen 10 Parkinson-Patienten war im Vergleich zu Kontrollpatienten niedriger (108 ± 11 pg/mL vs 199 ± 34 pg/mL, $p = 0.01$). In einer weiteren Arbeit untersuchte Overeem et al. (Overeem et al., 2002) den Hcrt-1-Gehalt im Liquor bei 3 Parkinson-Patienten im frühen Krankheitsstadium; diese Studie ergab bei allen drei Patienten einen normalen Hcrt-1-Gehalt im Liquor.

Die genannten Studien sind zwar z.T. widersprüchlich, könnten aber zur Hypothese führen, dass das fortgeschrittenen Krankheitsstadium der Parkinson-Erkrankung zu einem erhöhten Zellverlust im lateralen und posterioren Thalamus führt. Aufgrund der entscheidenden Rolle des Hypocretin-Systems in der Pathogenese der Narkolepsie und bei der Schlaf-Wach-Regulation im Allgemeinen untersuchten wir den möglichen Zusammenhang zwischen den bekannten Polymorphismen im Hypocretin-Gen und dem Phänomen der „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten.

Gencik et al. (Gencik, et al., 2001) berichteten von einer signifikanten Assoziation zwischen dem seltenen -22C/T-Polymorphismus in der 5'UTR-Region des Hypocretin-Gens und Narkolepsie. Dieser Polymorphismus wurde bei 6 von 178 Narkolepsie-Patienten und nur bei einem von 189 Kontrollpersonen beobachtet. Diese Assoziation konnte jedoch von Hungs et al. (Hungs, et al., 2001) nicht bestätigt werden. Ebenso ließ sich in seiner Arbeit keine Assoziation zwischen dem -909T/C-Polymorphismus und Narkolepsie herstellen. In der gegenwärtigen Arbeit fanden wir dieses Allel bei keinem der Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken“ und lediglich bei einem Parkinson-Patienten ohne „Schlafattacken“.

Ein weiterer Polymorphismus, gelegen in der 5'UTR-Region des Hypocretin-Gens, die (-20C/A)-Variante, den Peyron et al. (Peyron, et al., 2000) mit einer Allelfrequenz von 0,053 bei sporadischen HLA-DQB1*0602-negativen Trägern beschrieb, fand Hungs et al. (Hungs, et al., 2001) bei einem Narkolepsie-Patienten, der nicht HLA-DQB1*0602-Träger war. In unserer Arbeit ließ sich dieser Polymorphismus weder bei Parkinson-Patienten mit noch ohne „Schlafattacken“ nachweisen.

Insgesamt ist die Aussagekraft dieses Projektteils aufgrund der fehlenden Fallzahlberechnung limitiert. Unsere Ergebnisse zeigen dennoch, dass das T-Allel des -909T/C-Polymorphismus signifikant mit dem Auftreten von „Schlafattacken“ assoziiert ist. Die Träger des T-Allels haben dementsprechend ein mäßiggradig erhöhtes Risiko, „Schlafattacken“ zu entwickeln. Insgesamt scheint Hypocretin aber nur eine untergeordnete Rolle bei der Entstehung von „Schlafattacken“ zu spielen, da für die beiden anderen Polymorphismen im selben Gen keine signifikante Assoziation gefunden werden konnte.

Die Arbeit von von Drouot et al. (Drouot, et al., 2003) zeigte eine mögliche Assoziation zwischen niedrigem Hcr1-1-Gehalt im Liquor und Parkinson-Patienten im fortgeschrittenen Krankheitsstadium. Aufgrund der niedrigen

Fallzahl der Patienten (n=19) lässt diese Arbeit nur einen gewissen Trend, jedoch keine klare Assoziation, zu. Der präzisen Definition und Erfassung des untersuchten Phänotyps und von Subphänotypen kommt bei der Untersuchung komplexer Erkrankungen entscheidende Bedeutung zu, um eine Vermischung ätiologisch unterschiedlicher Erkrankungsgruppen zu vermeiden. Daher halten wir weiterführende Studien, die die Rolle vom Hypocretin bei der Pathogenese des multifaktoriellen Phänomens der "Schlafattacken" bei der Parkinson-Erkrankung untersuchen, für zwingend notwendig.

5 Zusammenfassung

Rissling, I. : „Untersuchung der Dopaminrezeptor- sowie Hypocretin-Gen-Polymorphismen bei Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken““.

Schlafstörungen im Zusammenhang mit dem idiopathischen Parkinson-Syndrom wurden bereits vom Erstbeschreiber James Parkinson erwähnt (Parkinson, 1817). Dopamin spielt neben der bekannten Funktion auf die Motorik ebenso eine wichtige Rolle in der Schlaf-Wach-Regulation (Wauquier, 1995). Die Schlaf-Wach-Regulation wird strukturell-morphologisch dem mesokortikolimbischen System, die Kontrolle über die motorische Funktion dem nigrostriatalen Dopaminsystem zugeschrieben (Aldrich, 1999). Pathophysiologisch sind zusätzlich das serotonerge (Raphe-Kern) (Melamed, et al., 1996), das adrenerge (Locus coeruleus) (Jellinger, 1990) und das cholinerge System (Nucleus basalis Meynert, Nucleus pedunculopontinus) (Zweig, et al., 1989) betroffen, die ebenfalls modulierend in die Schlaf-Wach-Regulation eingreifen (Jouvet, 1966).

Der Begriff der „Schlafattacke“ stammt aus dem Krankheitsbild der Narkolepsie und wird klinisch durch exzessive Tagesmüdigkeit (EDS excessive daytime sleepiness) mit imperativen Schlafepisoden, Kataplexie und hypnagogen Halluzinationen mit Schlafparalyse beschrieben.

Als 1999 Frucht et al. (Frucht, et al., 1999) über acht Parkinson-Patienten berichtete, die unter der Behandlung von Nonergolin-Dopaminagonisten Pramipexol und Ropinirol plötzlich am Steuer eines Kraftfahrzeuges einschliessen und dadurch einen Verkehrsunfall verursachten, wurde von den Autoren der Begriff der „Schlafattacke“ verwendet. Zahlreiche weitere Studien haben anschließend gezeigt, dass „Schlafattacken“ grundsätzlich unter jeglicher dopaminerger Medikation auftreten können (Ferreira, et al., 2000, Frucht, et al., 1999, Hobson, et al., 2002, Ondo, et al., 2002, Schapira, 2000). Die Behandlung der Parkinson-Patienten mit

dopaminergen Substanzen beinhaltet also eine weitere Beeinflussung der Schlaf-Wach-Regulation.

Sowohl L-Dopa als auch Dopaminagonisten binden an Dopaminrezeptoren. Die Dopamin D₁- und D₅-Rezeptoren bilden gemeinsam die Familie der D₁-Rezeptoren, während die Dopamin D₂-, D₃- und D₄-Rezeptoren zu der Familie der Dopamin D₂-Rezeptoren gehören (Missale, et al., 1998). Die sedierende Wirkung der Dopaminagonisten wurde vor allem am Beispiel des Apomorphin untersucht. In geringen Dosen führt Apomorphin zu einer Sedierung, während bei hohen Dosen ein aktivierender Effekt nachgewiesen wurde (Mereu, et al., 1979). Der sedierende Effekt wurde auf eine bei geringen Dosierungen überwiegende Aktivierung von präsynaptischen Dopamin D₂-Rezeptoren im ventralen tegmentalen Mittelhirn (VTM) zurückgeführt (Monti, et al., 1988).

Da „Schlafattacken“ initial unter Pramipexol und Ropinirol beschrieben wurden, wurde die Hypothese aufgestellt, dass dieses Phänomen insbesondere die Folge einer Aktivierung von Dopaminrezeptoren aus der D₂-Rezeptor-Familie darstellt. Daher konzentrierten wir uns in dieser Arbeit auf Untersuchung einiger Polymorphismen, d. h. Sequenzveränderungen, aus dieser Rezeptorfamilie: *TaqI* A-Polymorphismus im D₂-Dopaminrezeptor-Gen, der *Ser9/Gly*-Polymorphismus (*MscI*) im D₃-Dopaminrezeptor-Gen sowie den 48 bp-*repeat*-Polymorphismus und den *tandem duplication*-Polymorphismus im D₄-Dopaminrezeptor-Gen.

Da die Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken“ Symptome angaben, die den Symptomen bei Narkolepsie, wie übermäßige Schläfrigkeit mit Tagesmüdigkeit sowie das Auftreten von Kataplexien ähnelten, warfen wir zudem die Frage einer Assoziation von „Schlafattacken“ mit Veränderungen im Hypocretin-System auf. Hierzu untersuchten wir den Polymorphismus in der 5'UTR-Region des Hypocretin-Gens (-22C/T) sowie die (-20C/A)-Variante und den (-909T/C)-Polymorphismus.

Zielsetzung dieser Arbeit war, eine Assoziation zwischen dem Phänomen der „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten unter dopaminergem Therapie sowie den oben erwähnten Polymorphismen aus der Familie der Dopamin D₂-Rezeptoren sowie den Polymorphismen im Hypocretin-System nachzuweisen.

Zusammenfassend zeigt diese Studie eine signifikante Assoziation zwischen dem varianten DRD2-*TaqI* A-Allel A2 und dem Auftreten von „Schlafattacken“ bei Parkinson-Patienten. Der *TaqI* A-Polymorphismus im DRD2-Gen ist als Prädiktor für das Auftreten von „Schlafattacken“ während der Behandlung von Parkinson-Patienten wahrscheinlich nur wenig nützlich, auch wenn die A1A1-Homozygoten weniger suszeptibel für die Entstehung von „Schlafattacken“ zu sein scheinen. Ferner zeigen unsere Ergebnisse, dass das T-Allel des -909T/C-Polymorphismus signifikant mit dem Auftreten von „Schlafattacken“ assoziiert ist. Die Träger des T-Allels haben ein mäßiggradig erhöhtes Risiko, „Schlafattacken“ zu entwickeln. Insgesamt scheint Hypocretin aber nur eine untergeordnete Rolle bei der Entstehung von „Schlafattacken“ zu spielen, da für die beiden anderen Polymorphismen im selben Gen keine signifikante Assoziation gefunden werden konnte.

6 Anhang

6.1 Literatur

- Albin RL, Young AB, Penney JB: The functional anatomy of disorders of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 1995;18:63-64.
- Aldrich MS: Parkinsonism. in Kryger MH, Roth T, Dement WC, eds: *Principles and Practice of Sleep Medicine*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1994; 783-789.
- Aldrich MS: Neurobiology of Sleep. In Aldrich ed: *Sleep Medicine*. New York, Oxford Univ Press, 1999;27-38.
- Arinami T, Itokawa M, Komiyama T, Mitsushio H, Mori H, Mifune H, Hamaguchi H, Toru M: Association between severity of alcoholism and the A1 allele of the dopamine D2 receptor gene TaqI A RFLP in Japanese. *Biol Psychiatry* 1993;33:108-114.
- Askenasy JJ, Yahr MD: Reversal of sleep disturbance in Parkinson's disease by antiparkinsonian therapy: a preliminary study. *Neurology* 1985;35:527-532.
- Bergman H, Wichmann T, DeLong MR: Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 1990;249:1436-1438.
- Bergonzi P, Chiurulla C, Gambi D, Mennuni G, Pinto F: L-dopa plus dopa-decarboxylase inhibitor. Sleep organization in Parkinson's syndrome before and after treatment. *Acta Neurol Belg* 1975;75:5-10.
- Bergonzi P, Chiurulla C, Gambi D, Mennuni G, Pinto F: L-dopa plus dopa-decarboxylase inhibitor. Sleep organization in Parkinson's syndrome before and after treatment. *Acta Neurol Belg* 1975;75:5-10.
- Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F: Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J Neurol Sci* 1973;20:415-455.

- Beuckmann CT, Yanagisawa M: Orexins: from neuropeptides to energy homeostasis and sleep/wake regulation. *J Mol Med* 2002;80:329-342.
- Braak H, Braak E: Nuclear configuration and neuronal types of the nucleus niger in the brain of the human adult. *Hum Neurobiol* 1986;5:71-82.
- Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E: Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003;24:197-211.
- Brannan T, Martinez-Tica J, Yahr MD: Catechol-O-methyltransferase inhibition increases striatal L-dopa and dopamine: an in vivo study in rats. *Neurology* 1992;42:683-685.
- Comella CL, Nardine TM, Diederich NJ, Stebbins GT: Sleep related violence, injury, and REM sleep behavior disorders in multiple system atrophy. *Neurology* 1998;51:526-529.
- Comella CL, Tanner CM, Ristanovic RK: Polysomnographic sleep measures in Parkinson's disease patients with treatment-induced hallucinations. *Ann Neurol* 1993;34:710-714.
- Comings DE, Comings BG, Muhleman D, Dietz G, Shahbahrani B, Tast D, Knell E, Kocsis P, Baumgarten R, Kovacs BW et al.: The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *Jama* 1991;266:1793-1800.
- Crocq MA, Mant R, Asherson P, Williams J, Hode Y, Mayerova A, Collier D, Lannfelt L, Sokoloff P, Schwartz JC et al.: Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene. *J Med Genet* 1992;29:858-860.
- Del Tredici K, Rub U, De Vos RA, Bohl JR, Braak H: Where does parkinson disease pathology begin in the brain? *J Neuropathol Exp Neurol* 2002;61:413-426.
- Dement WC, Carskadon MA, Richardson GS: Excessive daytime sleepiness in the sleep apnea syndrome. in Guilleminault C, Dement

- WC, eds: *Sleep apnea syndromes*. New York, Alan R Liss, 1978; 23-26.
- Dickson DW, Schmidt ML, Lee VM, Zhao ML, Yen SH, Trojanowski JQ: Immunoreactivity profile of hippocampal CA2/3 neurites in diffuse Lewy body disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 1994;87:269-276.
- Dooley M, Markham A: Pramipexole. A review of its use in the management of early and advanced Parkinson's disease. *Drugs Aging* 1998;12:495-514.
- Drouot X, Moutereau S, Nguyen JP, Lefaucheur JP, Creange A, Remy P, Goldenberg F, d'Ortho MP: Low levels of ventricular CSF orexin/hypocretin in advanced PD. *Neurology* 2003;61:540-543.
- Duda JE, Lee VM, Trojanowski JQ: Neuropathology of synuclein aggregates. *J Neurosci Res* 2000;61:121-127.
- Factor SA, McAlarney T, Sanchez-Ramos JR, Weiner WJ: Sleep disorders and sleep effect in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1990;5:280-285.
- Farrer M, Gwinn-Hardy K, Muentner M, DeVrieze FW, Crook R, Perez-Tur J, Lincoln S, Maraganore D, Adler C, Newman S et al.: A chromosome 4p haplotype segregating with Parkinson's disease and postural tremor. *Hum Mol Genet* 1999;8:81-85.
- Fearnley JM, Lees AJ: Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 1991;114:2283-2301.
- Ferreira JJ, Galitzky M, Montastruc JL, Rascol O: Sleep attacks and Parkinson's disease treatment. *Lancet* 2000;355:1333-1334.
- Forno LS: Neuropathology of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:259-272.
- Frucht S, Rogers JD, Greene PE, Gordon MF, Fahn S: Falling asleep at the wheel: motor vehicle mishaps in persons taking pramipexole and ropinirole. *Neurology* 1999;52:1908-1910.
- Funayama M, Hasegawa K, Kowa H, Saito M, Tsuji S, Obata F: A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol* 2002;51:296-301.

- Galvin JE, Lee VM, Trojanowski JQ: Synucleinopathies: clinical and pathological implications. *Arch Neurol* 2001;58:186-190.
- Gasser T, Muller-Myhsok B, Wszolek ZK, Oehlmann R, Calne DB, Bonifati V, Bereznoi B, Fabrizio E, Vieregge P, Horstmann RD: A susceptibility locus for Parkinson's disease maps to chromosome 2p13. *Nat Genet* 1998;18:262-265.
- Gelernter J, Kennedy JL, van Tol HH, Civelli O, Kidd KK: The D4 dopamine receptor (DRD4) maps to distal 11p close to HRAS. *Genomics* 1992;13:208-210.
- Gélineau JE: De la narcolepsie. *Gaz Hop* 1880;53:626-628.
- Gencik M, Dahmen N, Wiczorek S, Kasten M, Bierbrauer J, Anghelescu I, Szegedi A, Menezes Saecker AM, Epplen JT: A prepro-orexin gene polymorphism is associated with narcolepsy. *Neurology* 2001;56:115-117.
- Gibb WR, Lees AJ: The significance of the Lewy body in the diagnosis of idiopathic Parkinson's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1989;15:27-44.
- Gillin JC, Post RM, Wyatt RJ, Goodwin FK, Snyder F, Bunney WE, Jr.: REM inhibitory effect of L-DOPA infusion during human sleep. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1973;35:181-186.
- Gingrich JA, Caron MG: Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci* 1993;16:299-321.
- Goedert M: Alpha-synuclein and neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:492-501.
- Goetz CG, Burke PF, Leurgans S, Berry-Kravis E, Blasucci LM, Raman R, Zhou L: Genetic variation analysis in parkinson disease patients with and without hallucinations: case-control study. *Arch Neurol* 2001;58:209-213.
- Golbe LI, Di Iorio G, Bonavita V, Miller DC, Duvoisin RC: A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1990;27:276-282.

- Grandy DK, Zhang Y, Civelli O: PCR detection of the TaqA RFLP at the DRD2 locus. *Hum Mol Genet* 1993;2:2197.
- Grevle L, Guzey C, Hadidi H, Brennersted R, Idle JR, Aasly J: Allelic association between the DRD2 TaqI A polymorphism and Parkinson's disease. *Mov Disord* 2000;15:1070-1074.
- Gurevich EV, Joyce JN: Distribution of dopamine D3 receptor expressing neurons in the human forebrain: comparison with D2 receptor expressing neurons. *Neuropsychopharmacology* 1999;20:60-80.
- Hobson DE, Lang AE, Martin WR, Razmy A, Rivest J, Fleming J: Excessive daytime sleepiness and sudden-onset sleep in Parkinson disease: a survey by the Canadian Movement Disorders Group. *Jama* 2002;287:455-463.
- Hoddes E, Zarcone V, Smythe H, Phillips R, Dement WC: Quantification of sleepiness: a new approach. *Psychophysiology* 1973;10:431-436.
- Homann CN, Wenzel K, Suppan K, Ivanic G, Kriechbaum N, Crevenna R, Ott E: Sleep attacks in patients taking dopamine agonists: review. *Bmj* 2002;324:1483-1487.
- Hungs M, Lin L, Okun M, Mignot E: Polymorphisms in the vicinity of the hypocretin/orexin are not associated with human narcolepsy. *Neurology* 2001;57:1893-1895.
- Hungs M, Mignot E: Hypocretin/orexin, sleep and narcolepsy. *Bioessays* 2001;23:397-408.
- Jellinger K: New developments in the pathology of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1990;53:1-16.
- Johns MW: A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991;14:540-545.
- Jonsson EG, Nothen MM, Grunhage F, Farde L, Nakashima Y, Propping P, Sedvall GC: Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 1999;4:290-296.
- Jouvet M: Sleep and monoamines. *Bull Schweiz Akad Med Wiss* 1966;22:287-305.

- Kales A, Ansel RD, Markham CH, Scharf MB, Tan TL: Sleep in patients with Parkinson's disease and normal subjects prior to and following levodopa administration. *Clin Pharmacol Ther* 1971;12:397-406.
- Karlsen K, Larsen JP, Tandberg E, Jorgensen K: Fatigue in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 1999;14:237-241.
- Karlson KH, Larsen JP, Tandberg E, Maelamed JG: Influence of clinical and demographic variables on quality of life in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;66:431-435.
- Kebabian JW, Calne DB: Multiple receptors for dopamine. *Nature* 1979;277:93-96.
- Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N: Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998;392:605-608.
- Klockgether T, Turski L: Excitatory amino acids and the basal ganglia: implications for the therapy of Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 1989;12:285-286.
- Koeltzow TE, Xu M, Cooper DC, Hu XT, Tonegawa S, Wolf ME, White FJ: Alterations in dopamine release but not dopamine autoreceptor function in dopamine D3 receptor mutant mice. *J Neurosci* 1998;18:2231-2238.
- Körner Y, Meindorfner C, Moller J, Stiasny-Kolster K, Haja D, Cassel W, Oertel W, Kruger H-P: Predictors of sudden onset of sleep in Parkinson's disease. *Movement Disorders* 2004;in press:
- Kunii K, Yamanaka A, Nambu T, Matsuzaki I, Goto K, Sakurai T: Orexins/hypocretins regulate drinking behaviour. *Brain Res* 1999;842:256-261.
- Lagos P, Scorza C, Monti JM, Jantos H, Reyes-Parada M, Silveira R, Ponzoni A: Effects of the D3 preferring dopamine agonist pramipexole on sleep and waking, locomotor activity and striatal

- dopamine release in rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 1998;8:113-120.
- Lannfelt L, Sokoloff P, Martres MP, Pilon C, Giros B, Jönsson E, Sedvall G, Schwartz JC: Amino acid substitution in the Dopamine D3 receptor as a useful polymorphism for investigating psychiatric disorders. *Psychiatric Genetics* 1992;2:249-256.
- Le Coniat M, Sokoloff P, Hillion J, Martres MP, Giros B, Pilon C, Schwartz JC, Berger R: Chromosomal localization of the human D3 dopamine receptor gene. *Hum Genet* 1991;87:618-620.
- Lees AJ, Blackburn NA, Campbell VL: The nighttime problems of Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1988;11:512-519.
- Leroy E, Boyer R, Auburger G, Leube B, Ulm G, Mezey E, Harta G, Brownstein MJ, Jonnalagada S, Chernova T et al.: The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 1998;395:451-452.
- Lewy FH: Paralysis Agitans. I. Pathologische Anatomie. in M L, eds: *Handbuch der Neurologie, Band III*. Berlin, Springer, 1912; 920-933.
- Lichter JB, Barr CL, Kennedy JL, Van Tol HH, Kidd KK, Livak KJ: A hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene. *Hum Mol Genet* 1993;2:767-773.
- Löschmann P-A, Schulz JB: Degenerative Erkrankungen der Basalganglien. in Herdegen T, Bähr, eds: *Klinische Neurobiologie. Molekulare Pathogenese und Therapie von neurobiologischen Erkrankungen*. Heidelberg, Berlin, Oxford, Spektrum, Akademischer Verlag, 1997; 243-280.
- Makoff AJ, Graham JM, Arranz MJ, Forsyth J, Li T, Aitchison KJ, Shaikh S, Grunewald RA: Association study of dopamine receptor gene polymorphisms with drug-induced hallucinations in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* 2000;10:43-48.
- Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK: Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol* 2001;435:6-25.

- Martikainen K, Partinen M, Hasan J, Urponen H, Vuori I, Laippala P: Natural evolution of sleepiness. A 5-year follow-up study in a middle-aged population. *Eur J Neurol* 1998;5:355-363.
- Martinez-Martin P: An introduction to the concept of "quality of life in Parkinson's disease". *J Neurol* 1998;245:S2-S6.
- McCracken JT, Smalley SL, McGough JJ, Crawford L, Del'Homme M, Cantor RM, Liu A, Nelson SF: Evidence for linkage of a tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (DRD4) with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Mol Psychiatry* 2000;5:531-536.
- Melamed E, Zoldan J, Friedberg G, Ziv I, Weizmann A: Involvement of serotonin in clinical features of Parkinson's disease and complications of L-DOPA therapy. *Adv Neurol* 1996;69:545-550.
- Menza MA, Rosen RC: Sleep in Parkinson's disease. The role of depression and anxiety. *Psychosomatics* 1995;36:262-266.
- Mereu GP, Scarnati E, Paglietti E, Quarantotti BP, Chessa P, Di Chiara G, Gessa GL: Sleep induced by low doses of apomorphine in rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1979;46:214-219.
- Mignot E: Genetic and familial aspects of narcolepsy. *Neurology* 1998;50:S16-22.
- Mignot E: A hundred years of narcolepsy research. *Arch Ital Biol* 2001;139:207-220.
- Mignot E, Lammers GJ, Ripley B, Okun M, Nevsimalova S, Overeem S, Vankova J, Black J, Harsh J, Bassetti C et al.: The role of cerebrospinal fluid hypocretin measurement in the diagnosis of narcolepsy and other hypersomnias. *Arch Neurol* 2002;59:1553-1562.
- Mignot E, Taheri S, Nishino S: Sleeping with the hypothalamus: emerging therapeutic targets for sleep disorders. *Nat Neurosci* 2002;5 Suppl:1071-1075.
- Mignot E, Thorsby E: Narcolepsy and the HLA system. *N Engl J Med* 2001;344:692.

- Millet B, Chabane N, Delorme R, Leboyer M, Leroy S, Poirier MF, Bourdel MC, Mouren-Simeoni MC, Rouillon F, Loo H et al.: Association between the dopamine receptor D4 (DRD4) gene and obsessive-compulsive disorder. *Am J Med Genet* 2003;116B:55-59.
- Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG: Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 1998;78:189-225.
- Möller JC, Stiasny K, Hargutt V, Cassel W, Tietze H, Peter JH, Kruger HP, Oertel WH: Evaluation of sleep and driving performance in six patients with Parkinson's disease reporting sudden onset of sleep under dopaminergic medication: a pilot study. *Mov Disord* 2002;17:474-481.
- Monti JM, Hawkins M, Jantos H, D'Angelo L, Fernandez M: Biphasic effects of dopamine D-2 receptor agonists on sleep and wakefulness in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 1988;95:395-400.
- Morewitz JH: Evaluation of excessive daytime sleepiness in the elderly. *J Am Geriatr Soc* 1988;36:324-330.
- Mühlhardt C: Der Experimentator. in eds: *Molekularbiologie/Genomics / Cornel Mühlhardt*. Heidelberg [u.a.], Spektrum Akad. Verlag, 2003; 280.
- Nanko S, Hattori M, Ikeda K, Sasaki T, Kazamatsuri H, Kuwata S: Dopamine D4 receptor polymorphism and schizophrenia. *Lancet* 1993;341:689-690.
- Nanko S, Ueki A, Hattori M, Dai XY, Sasaki T, Fukuda R, Ikeda K, Kazamatsuri H: No allelic association between Parkinson's disease and dopamine D2, D3, and D4 receptor gene polymorphisms. *Am J Med Genet* 1994;54:361-364.
- Nausidea PA, Weiner WJ, Kaplan LR, Weber S, Klawans HL: Sleep disruption in the course of chronic levodopa therapy; an early feature of the levodopa psychosis. *Clin Neuropharmacol* 1982;5:183-194.
- Nauta JH: Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. *J Neurophysiol* 1946;9:285-316.

- Oertel WH, Fahn S: Parkinsonism. In Brandt T, Diener HC, Caplan LR, Kennard C, Dichgans J, eds: *Neurological disorders: cause and treatment*. San Diego (Ca, USA), Academic press, 2003; 1021-1079.
- Oertel WH, Schulz JB: Parkinson-Syndrome. In Brandt T, Dichgans J, Diener HC, eds: *Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen*. Stuttgart, Kohlhammer, 2003; 919-963.
- Oliveri RL, Annesi G, Zappia M, Civitelli D, De Marco EV, Pasqua AA, Annesi F, Spadafora P, Gambardella A, Nicoletti G et al.: The dopamine D2 receptor gene is a susceptibility locus for Parkinson's disease. *Mov Disord* 2000;15:127-131.
- Ondo WG, Dat Vuong K, Khan H, Atassi F, Kwak C, Jankovic J: Daytime sleepiness and other sleep disorders in Parkinson's disease. *Neurology* 2001;57:1392-1396.
- Ondo WG, Vuong KD, Jankovic J: Exploring the relationship between Parkinson disease and restless legs syndrome. *Arch Neurol* 2002;59:421-424.
- Overeem S, van Hilten JJ, Ripley B, Mignot E, Nishino S, Lammers GJ: Normal hypocretin-1 levels in Parkinson's disease patients with excessive daytime sleepiness. *Neurology* 2002;58:498-499.
- Parkinson J: *An Essay on the Shaking Palsy*. London, Sherwood, Neely and Jones, 1817.
- Parkinson Study Group: Safety and efficacy of pramipexole in early Parkinson disease. A randomized dose-ranging study. *JAMA* 1997;278:125-130.
- Parkinson Study Group: Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease: A randomized controlled trial. *Jama* 2000;284:1931-1938.
- Paus S, Brecht HM, Koster J, Seeger G, Klockgether T, Wullner U: Sleep attacks, daytime sleepiness, and dopamine agonists in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2003;18:659-667.

- Petronis A, Van Tol HH, Lichter JB, Livak KJ, Kennedy JL: The D4 dopamine receptor gene maps on 11p proximal to HRAS. *Genomics* 1993;18:161-163.
- Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y, Nevsimalova S, Aldrich M, Reynolds D, Albin R et al.: A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med* 2000;6:991-997.
- Plazzi G, Corsini R, Provini F, Pierangeli G, Martinelli P, Montagna P, Lugaresi E, Cortelli P: REM sleep behavior disorders in multiple system atrophy. *Neurology* 1997;48:1094-1097.
- Rascol O, Brooks DJ, Korczyn AD, De Deyn PP, Clarke CE, Lang AE: A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. 056 Study Group. *N Engl J Med* 2000;342:1484-1491.
- Rechtschaffen A, Kales A: *A Manual of Standardized Terminology: Techniques and Scoring system for Sleep stages of Human Subjects*. Los Angeles, UCLA Brain Information Service, 1968.
- Reyner LA, Horne JA: Falling asleep whilst driving: are drivers aware of prior sleepiness? *Int J Legal Med* 1998;111:120-123.
- Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N: Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985;230:1350-1354.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: *Molecular cloning: A laboratory manual*. NY, Cold Spring Harbor., 1989.
- Sanders AR, Rincon-Limas DE, Chakraborty R, Grandchamp B, Hamilton JD, Fann WE, Patel PI: Association between genetic variation at the porphobilinogen deaminase gene and schizophrenia. *Schizophr Res* 1993;8:211-221.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74:5463-5467.

- Schapira AH: Sleep attacks (sleep episodes) with pergolide. *Lancet* 2000;355:1332-1333.
- Seaman MI, Fisher JB, Chang F, Kidd KK, Barbulescu M, Turner G, Deinard AS, Lenz J: Tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (DRD4). *Am J Med Genet* 1999;88:705-709.
- Sethi KD, O'Brien CF, Hammerstad JP, Adler CH, Davis TL, Taylor RL, Sanchez-Ramos J, Bertoni JM, Hauser RA: Ropinirole for the treatment of early Parkinson disease: a 12-month experience. Ropinirole Study Group. *Arch Neurol* 1998;55:1211-1216.
- Sharf B, Moskovitz C, Lupton MD, Klawans HL: Dream phenomena induced by chronic levodopa therapy. *J Neural Transm* 1978;43:143-151.
- Sherin JE, Shiromani PJ, McCarley RW, Saper CB: Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science* 1996;271:216-219.
- Smith MC, Ellgring H, Oertel WH: Sleep disturbances on Parkinson's disease patients and spouses. *J Am Geriatr Soc* 1997;45:194-199.
- Szymusiak R, Steininger T, Alam N, McGinty D: Preoptic area sleep-regulating mechanisms. *Arch Ital Biol* 2001;139:77-92.
- Taheri S, Zeitzer JM, Mignot E: The role of hypocretins (orexins) in sleep regulation and narcolepsy. *Annu Rev Neurosci* 2002;25:283-313.
- Tan EK, Tan Y, Chai A, Tan C, Shen H, Lum SY, Fook-Cheong SM, Teoh ML, Yih Y, Wong MC et al.: Dopamine D2 receptor TaqIA and TaqIB polymorphisms in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2003;18:593-595.
- Tandberg E, Larsen JP, Karlsen K: A community-based study of sleep disorders in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 1998;13:895-899.
- Tandberg E, Larsen JP, Karlsen K: Excessive daytime sleepiness and sleep benefit in Parkinson's disease: a community-based study. *Mov Disord* 1999;14:922-927.

- Tandberg E, Larsen JP, Karlsen K: Excessive daytime sleepiness and sleep benefit in Parkinson's disease: a community-based study. *Mov Disord* 1999;14:922-927.
- Todd JA: From genome to aetiology in a multifactorial disease, type 1 diabetes. *Bioessays* 1999;21:164-174.
- Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH, Ferraris A, Ialongo T, Frontali M, Albanese A, Wood NW: Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet* 2001;68:895-900.
- van Duijn CM, Dekker MC, Bonifati V, Galjaard RJ, Houwing-Duistermaat JJ, Snijders PJ, Testers L, Breedveld GJ, Horstink M, Sandkuijl LA et al.: Park7, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *Am J Hum Genet* 2001;69:629-634.
- van Hilten B, Hoff JI, Middelkoop HA, van der Velde EA, Kerkhof GA, Wauquier A, Kamphuisen HA, Roos RA: Sleep disruption in Parkinson's disease. Assessment by continuous activity monitoring. *Arch Neurol* 1994;51:922-928.
- van Hilten JJ, Weggeman M, van der Velde EA, Kerkhof GA, van Dijk JG, Roos RA: Sleep, excessive daytime sleepiness and fatigue in Parkinson's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1993;5:235-244.
- Van Tol HH, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik HB, Civelli O: Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991;350:610-614.
- Wang J, Liu ZL, Chen B: Association study of dopamine D2, D3 receptor gene polymorphisms with motor fluctuations in PD. *Neurology* 2001;56:1757-1759.
- Ward CD, Gibb WR: Research diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1990;53:245-249.

- Wauquier A: *Pharmacology of the catecholaminergic system*. Berlin Heidelberg New York, Springer, 1995.
- Wichmann T, Bergman H, DeLong MR: The primate subthalamic nucleus. III. Changes in motor behavior and neuronal activity in the internal pallidum induced by subthalamic inactivation in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol* 1994;72:521-530.
- Wyatt JK, Bootzin RR, Anthony J, Bazant S: Sleep onset is associated with retrograde and anterograde amnesia. *Sleep* 1994;17:502-511.
- Xing QH, Wu SN, Lin ZG, Li HF, Yang JD, Feng GY, Wang MT, Yang WW, He L: Association analysis of polymorphisms in the upstream region of the human dopamine D4 receptor gene in schizophrenia. *Schizophr Res* 2003;65:9-14.
- Yoshida Y, Fujiki N, Nakajima T, Ripley B, Matsumura H, Yoneda H, Mignot E, Nishino S: Fluctuation of extracellular hypocretin-1 (orexin A) levels in the rat in relation to the light-dark cycle and sleep-wake activities. *Eur J Neurosci* 2001;14:1075-1081.
- Zweig RM, Jankel WR, Hedreen JC, Mayeux R, Price DL: The pedunculo pontine nucleus in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1989;26:41-46.

6.2 Abkürzungsverzeichnis

Zusammensetzungen von Chemikalien sowie Herstellernamen sind im Abschnitt Material und Methoden erläutert.

3MT	3-Methoxytyramin
7-deaza-dGTP	7-Deaza-2'-Desoxyguanosin 5'-Triphosphat
ABI	Applied Biosystems
ATG	Adenin, Tyrosin, Guanin
bp	Basenpaare
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
DA	Dopamin
ddA (C, G, T)TP	Didesoxy-Adenin, (Cytosin, Guanin, Tyrosin)-Triphosphat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOPAC	Dihydroxyphenylethylsäure
dPV	deutsche Parkinson-Vereinigung e.V.
DRD2	Dopamin D ₂ -Rezeptors
EDS	<i>excessive daytime sleepiness</i>
EDTA	Ätylendiamintetraessigsäure
En	Enkephalin
ESS	Epworth sleepiness scale
GABA	γ -Aminobuttersäure
Glu	Glutamat
GPe	Globus pallidus externus
GPi	Globus pallidus internus
H&Y	<i>Hoehn&Yahr</i>
Hcrt	Hypocretin
HLA	humanes Leukozyten-Antigen

HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HVA	Homovanillinmandelsäure
IDDM	insulinabhängiger Diabetes mellitus
IPS	Idiopathisches Parkinson Syndrom
IZVW	Interdisziplinäres Institut für Verkehrswissenschaften
L-Dopa	Levodopa
MAO B	Monoaminoxidase B
MLST	multipler Schlaflatenztest
MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin
MSA	Multisystematrophie
Msc	<i>Micrococcus species</i>
Nla	<i>Neisseria lactamica</i>
NMDA	N-methyl-D-aspartat
OPCA	sporadische olivopontozerebelläre Atrophie
OR	Odds-Ratio
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PSP	Progressive supranucleäre Blickparese
REM-Schlaf	rapid eye moment-Schlaf
SAS	Schlafapnoe-Syndrom
SD	<i>standard deviation</i>
Ser9/Gly	<i>Serin9/Glycin</i>
SNc	Substantia nigra (Pars compacta)
SND	striatonigrale Degeneration
SNr	Substantia nigra (Pars reticulata)
SOS	<i>sudden onset of sleep</i>
SP	Substanz P
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
STN	Nucleus subthalamicus
SWS	slow wave sleep

Taq	<i>Thermophilus aquaticus</i>
TBE	Tris Boric EDTA
VNTR	variable Anzahl an tandem-repeats
VTM	tegmentales Mittelhirn
ZNS	zentrales Nervensystem
UTR	untranslated region

6.3 Fragebogen

Persönliche Daten:

Datum:

Name: _____

Vorname: _____

Geburtsdatum:

Dauer der Parkinson-Erkrankung: seit 19.....

Derzeitige Behandlung: Hausarzt
 Facharzt Neurologie
 Ambulanz

Geschlecht: männl.
 weibl.

Familienstand: ledig, verwitwet, geschieden
 verheiratet, in Lebensgemeinschaft

Höchster Schulabschluss: Volks-/Hauptschule ohne Lehre
 Volks-/Hauptschule mit Lehre
 Mittlerer Schulabschluss, Mittlere Reife
 Abitur, Fachhochschule, Hochschule

Berufstätigkeit: Nicht berufstätig
 Hausfrau ohne andere Berufsausbildung
 Hausfrau mit anderer Berufsausbildung
 Rentner(in)
 zur Zeit arbeitslos

Noch in Ausbildung in Berufsausbildung (Lehre etc.)
 in Schul-/Hochschulausbildung

Berufstätig Arbeiter(in)
 Angestellte(r)
 Beamte(r)
 Selbständige(r)
 freie Berufe

Haushalt: Wie viele Personen leben **ständig** in Ihrem Haushalt, Sie selbst mit eingeschlossen?

Anzahl der Personen **insgesamt:** _____

In der nächsten Frage geht es um die Medikamente, die sie gegen ihre Parkinson-Erkrankung einnehmen.

Auf den folgenden Seiten sind alle zur Zeit verfügbaren Medikamente gegen Parkinson alphabetisch aufgelistet. Bitte erschrecken Sie nicht, die Liste ist sehr lang !!!

Es sind über 150 Medikamente geworden; wir haben versucht, alle unterschiedlichen Dosierungen aufzunehmen, um Ihnen Schreibarbeit abzunehmen.

- BITTE KREUZEN SIE **NUR** DIEJENIGEN MEDIKAMENTE AN, DIE SIE **ZUR ZEIT** EINNEHMEN.
- Machen Sie bitte **für jedes der Medikamente**, das sie zur Zeit einnehmen, **zwei Angaben**:
 1. **Seit wann** nehmen Sie es ein ? (**zweite Spalte**)
 2. **Wie viele Tabletten/Kapseln** nehmen Sie davon pro Tag ein? (**dritte Spalte**)
- Falls ein Medikament, das Sie zur Zeit einnehmen, nicht dabei ist, so tragen Sie dieses am Ende der Tabelle in die freien Felder ein (Seite 7).
- Falls Sie außer den Parkinson-Medikamenten noch **weitere Medikamente** einnehmen, tragen Sie diese bitte auf **Seite 8** ein.

Medikamente (alphabetisch sortiert)	Bitte nur die Medikamente ankreuzen, die Sie <u>ZUR ZEIT</u> nehmen	<u>Seit wann</u> nehmen Sie dieses Medikament ? (Monat/Jahr)	Wie ist die derzeitige <u>Dosierung</u>? (Anzahl/Tag)
Adekin 100 mg Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Akatinol Memantine	<input type="checkbox"/>		
Akineton Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Akineton retard , Retardtabletten	<input type="checkbox"/>		
Almirid 5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Almirid 20 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Aman 100 Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Amanta 100 AbZ Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantadin AL 100 Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantadin AZU 100 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantadin neuraxpharm 100 Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantadin-ratiopharm Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantadin Stada 100 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantadin-TEVA Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantagamma 100 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Amantagamma 200 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Amanta-Sulfat-AZU 100 mg Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Amanta-HCl-AZU 200 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Amindan 5 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Amixx Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Antiparkin Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Apomorphin s.c. Injektionen	<input type="checkbox"/>		
Artane 2 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Artane 5 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Biperiden-neuraxpharm 2, Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Biperiden-neuraxpharm 4, Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Biperiden-neuraxpharm, Infusionslösung	<input type="checkbox"/>		
Biperiden-ratiopharm Tabletten	<input type="checkbox"/>		

Bromocrel 5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocrel 10 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin 5 von ct Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin 10 von ct Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin AZU 2,5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin AZU 5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin AZU 10 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin beta 2,5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin beta 5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin ratiopharm 2,5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin ratiopharm 5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Bromocriptin ratiopharm 10 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
CABASERIL 1 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
CABASERIL 2 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
CABASERIL 4 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Cerebramed Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Cogentinol Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Comtess 200 mg Filmtabletten	<input type="checkbox"/>		
Cripar 5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Cripar 20 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Deprenyl	<input type="checkbox"/>		
Desiperiden 1 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Desiperiden 2 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Dopaflex 500, Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Dopergin 0,2 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Dopergin 0,5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
DOPS	<input type="checkbox"/>		
Isicom 100 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Isicom 250 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Jumex	<input type="checkbox"/>		
Jutagilin 10	<input type="checkbox"/>		

Kirim 5T Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Kirim Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Levocarb-GRY 100 mg/25 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Levocarb-GRY 250 mg/50 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Levodopa-Carbi-AZU 100 mg/25 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Levodopa-Carbi-AZU 200 mg/50 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Levodopa comp. C Stada 100 mg/25 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Levodopa comp. C Stada 250 mg/25 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Levodopa-ratiopharm comp 100 mg/ 25 mg	<input type="checkbox"/>		
Levodopa-ratiopharm comp 200 mg/50 mg	<input type="checkbox"/>		
Levodopa-neuraxpharm 100 mg/25 mg	<input type="checkbox"/>		
Levodopa-neuraxpharm 200 mg/50 mg	<input type="checkbox"/>		
Levopar 62,5 mg Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Levopar 125 mg Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Levopar 250 mg Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Madopar 62,5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Madopar 125 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Madopar 125 T Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Madopar 250 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Madopar - LT Tabletten löslich	<input type="checkbox"/>		
Madopar Depot Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Madopar DR (dual release)	<input type="checkbox"/>		
MAOtil	<input type="checkbox"/>		
Metixen Berlin-Chemie Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Movergan 5 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Movergan 10 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Nacom 100 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Nacom 250 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Nacom 100 retard	<input type="checkbox"/>		
Nacom 200 retard	<input type="checkbox"/>		
Norakin N Tabletten	<input type="checkbox"/>		

Norflex Retard Tabletten.	<input type="checkbox"/>		
Osnervan Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Parkinsan 10 mg magensaftresistente Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Parkinsan 20 mg magensaftresistente Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Parkinsan 30 mg magensaftresistente Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Parkopan 2 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Parkopan 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Parkotil 0,05 mg	<input type="checkbox"/>		
Parkotil 0,25 mg	<input type="checkbox"/>		
Parkotil 1 mg	<input type="checkbox"/>		
Pk-Levo Tabletten 100 mg/25 mg	<input type="checkbox"/>		
Pk-Merz Filmtabletten 100 mg	<input type="checkbox"/>		
Pk-Merz Filmtabletten 150 mg	<input type="checkbox"/>		
Pravidel 2,5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Pravidel 5 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
Pravidel 10 Kapseln	<input type="checkbox"/>		
ReQuip 0,25 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
ReQuip 0,5 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
ReQuip 1 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
ReQuip 2 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
ReQuip 5 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegam 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegam 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin AL 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin AL 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin Azupharma 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin Azupharma 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin von ct 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin von ct 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin Heumann 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin neuraxpharm 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		

Selegilin ratiopharm HCl 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin ratiopharm HCl 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin Stada 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin Stada 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin TEVA 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selegilin TEVA 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selemerck 5 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selemerck 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selepark Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Selepark 10 Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Seletop 5	<input type="checkbox"/>		
Selgimed 5 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Sifrol 0,088 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Sifrol 0,18 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Sifrol 0,7 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Sinemet	<input type="checkbox"/>		
Sormodren Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Striaton Tabletten	<input type="checkbox"/>		
tregor Tabletten	<input type="checkbox"/>		
tregor Infusion	<input type="checkbox"/>		
Tremarit 5 mg Tabletten	<input type="checkbox"/>		
Tremarit 15 mg Manteltabletten	<input type="checkbox"/>		
Tremoforat	<input type="checkbox"/>		
Viregyt Kapseln	<input type="checkbox"/>		

Weitere Parkinson-Medikamente:

Name:	<input type="checkbox"/>		
Name:	<input type="checkbox"/>		
Name:	<input type="checkbox"/>		
Name:	<input type="checkbox"/>		
Name:	<input type="checkbox"/>		
Name:	<input type="checkbox"/>		
Name:	<input type="checkbox"/>		
Name:	<input type="checkbox"/>		

Welche sonstigen Medikamente nehmen Sie zur Zeit ein?

Bitte tragen Sie den <u>genauen</u> Medikamentennamen ein	Seit wann nehmen Sie diese Medikation? (bitte ankreuzen)	In welcher <u>Dosierung</u> (Gesamtdosis/Tag)?
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	
Name:	<input type="checkbox"/> erst seit kurzem <input type="checkbox"/> länger als einen Monat	

- Neben der Parkinson-Erkrankung leide ich an einer **anderen chronischen Erkrankung** (z.B. Diabetes, Arthritis).

ja nein

- Wenn ja, welche Krankheit _____

Fragen zum Schlaf:

- Wie viele Stunden schlafen Sie durchschnittlich pro Nacht?

_____ Stunden

- Wie oft schlafen Sie tagsüber? Wie lange schlafen Sie dann in der Regel?

_____ mal
 _____ (Minuten/Stunden)

- Hatten Sie vor Auftreten Ihrer Parkinson-Erkrankung Schlafstörungen?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ja, fast immer	ja, häufig	ja, manchmal	ja, selten	nein	weiß nicht (mehr)

- Waren Sie vor Auftreten Ihrer Parkinson-Erkrankung tagsüber müde?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ja, fast immer	ja, häufig	ja, manchmal	ja, selten	nein	weiß nicht (mehr)

- Haben Sie zur Zeit Schlafstörungen?

Einschlaf störungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	ja, fast immer	ja, häufig	ja, manchmal	ja, selten	nein

Durchschlaf störungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	ja, fast immer	ja, häufig	ja, manchmal	ja, selten	nein

<u>zu frühes</u> Erwachen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	ja, fast immer	ja, häufig	ja, manchmal	ja, selten	nein

- Wenn ja, welche Hauptursachen für Ihre Schlafstörungen vermuten Sie?

1.: _____

2.: _____

- Sind Sie zur Zeit tagsüber müde?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
JA, FAST IMMER	ja, häufig	ja, manchmal	ja, selten	nein

- Wenn ja, welche Hauptursachen für Ihre Tagesmüdigkeit vermuten Sie?

1.: _____

2.: _____

- Ist es Ihnen beim Schreiben oder Reden schon mal passiert, dass Sie mitten im Satz ohne Zusammenhang zum Vorhergehenden weiter geredet oder geschrieben haben?

ja nein

- Kommt es oder kam es in der Vergangenheit vor,
 - dass Sie tagsüber plötzlich einschlafen, ohne dass Sie dies wollen, oder
 - dass Sie plötzlich aufwachen, ohne dass Sie bemerkt haben, eingeschlafen zu sein? Wenn ja, in welchen Zeitraum und wie oft?

ja, seit _____ (Monat/Jahr)

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
täglich	2-4-mal pro Woche	2-4-mal pro Monat	seltener

früher; von _____ (Monat/Jahr) bis _____ (Monat/Jahr)




<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
täglich	2-4-mal pro Woche	2-4-mal pro Monat	seltener

nein

Wenn es **nicht** vorkommt, dass Sie plötzlich einschlafen, lassen Sie bitte die nächsten Seiten (auch die gelben und die grünen) aus und gehen zur **SEITE 17** über.

Wenn Sie **plötzlich einschlafen, blättern Sie bitte auf die nächste Seite**, und folgen Sie den dortigen Anweisungen.

WENN SIE PLÖTZLICH EINSCHLAFEN, WAREN SIE DANN VORHER MÜDE ODER SIND SIE VÖLLIG UNERWARTET EINGESCHLAFEN? (BITTE ANKREUZEN UND DIE ENTSPRECHENDEN SEITEN BEARBEITEN!)

<input type="checkbox"/> ja, ich war vorher müde 	<input type="checkbox"/> nein, ich bin völlig unerwartet eingeschlafen 	<input type="checkbox"/> manchmal vorher müde, manchmal unerwartet 
Bitte nun die gelben Seiten bearbeiten, die grünen Seiten brauchen Sie nicht beantworten.	Bitte nun die grünen Seiten bearbeiten, die gelben Seiten brauchen Sie nicht beantworten.	Bitte erst die grünen Seiten ausfüllen. Wenn Sie damit fertig sind, bearbeiten Sie bitte die gelben Seiten.



Beschreibung von plötzlichen Einschlaf-Episoden ohne vorherige Müdigkeit. GRÜN

Im folgenden möchten wir Sie bitten, ein solches typisches, plötzliches Einschlafen ohne vorherige Müdigkeit, das Sie erlebt haben, näher zu beschreiben.

- Gehen dem plötzlichen Einschlafen ohne vorherige Müdigkeit Besonderheiten oder eine Warnung voraus?

nein

ja, und zwar

manchmal, und zwar

-
- Bei welchen Gelegenheiten passiert Ihnen das plötzliche Einschlafen ohne vorherige Müdigkeit? (Mehrfachantworten sind möglich)

in ruhigen Situationen, wie

beim Lesen

beim Fernsehen

bei Sonstigem

in Situationen aktiver Tätigkeit, wie

beim Autofahren **als Fahrer**

bei der Haus- oder Gartenarbeit

beim Telefonieren

im Gespräch

beim Schreiben

bei Sonstigem

-
- Geschieht das plötzliche Einschlafen ohne vorherige Müdigkeit zu bestimmten Tageszeiten?

- nein, zu keiner bestimmten Zeit ja, vormittags
 ja, um die Mittagszeit
 ja, nachmittags
 ja, abends

-
- Wie sehr leiden Sie an diesen plötzlichen Einschlaf-Episoden ohne vorherige Müdigkeit bzw. wie störend empfinden sie diese?

- ÜBERHAUPT NICHT sehr wenig wenig mittel stark sehr stark

-
- Wie erklären Sie sich dieses plötzliche Einschlafen ohne vorherige Müdigkeit? (Mehrfachantworten sind möglich)

- Ich kann es mir überhaupt nicht erklären.
 Ich habe in der Nacht zuvor schlecht oder wenig geschlafen.
 Ich war schon am Vortag sehr müde.
 Ich war schon den ganzen Tag sehr müde.
 Ich war unmittelbar vorher sehr müde.
 Ich war vorher krank.
 Meine Parkinsonmedikation hat sich kurz vorher geändert.
 Meine sonstige Medikation hat sich kurz vorher geändert.
 Ich habe vorher meinen Alkohol- oder Nikotinkonsum verändert.
 Sonstiges:
-

-
- Wie gut glauben Sie, das plötzliche Einschlafen ohne vorherige Müdigkeit kontrollieren zu können?

- ÜBERHAUPT NICHT sehr wenig wenig mittel stark sehr stark

- Wenden Sie bestimmte Strategien oder Tricks an, um dieses plötzliche Einschlafen ohne vorherige Müdigkeit zu verhindern?

- nein ja, und zwar
-

- Wie lange schlafen Sie während einer solchen Einschlaf-Episode ohne vorherige Müdigkeit? (Mehrfachantworten sind möglich)

nur einige
Sekunden

bis zu mehreren
Minuten

noch länger

weiß nicht

- Wie schnell ist der Übergang von Wachheit zum Schlaf bei solchen Einschlaf-Episoden ohne vorherige Müdigkeit?

völlig abrupt

innerhalb weniger
Sekunden

bis zu mehreren
Minuten

weiß nicht

- **Wenn Sie angegeben haben, dass sie auch schon Einschlaf-Episoden mit vorheriger Müdigkeit erlebt haben, bearbeiten Sie bitte nun die gelben Seiten.**
- **Wenn Sie angegeben haben, nur Einschlaf-Episoden ohne vorherige Müdigkeit erlebt zu haben, lassen Sie bitte die gelben Seiten aus und blättern zu der (weißen) Seite 17.**

Beschreibung von plötzlichen Einschlaf-Episoden mit vorheriger Müdigkeit

GELB

Im folgenden möchten wir Sie bitten, ein solches typisches, plötzliches Einschlafen mit vorheriger Müdigkeit, das Sie erlebt haben, näher zu beschreiben.

- Gehen dem plötzlichen Einschlafen mit vorheriger Müdigkeit Besonderheiten oder eine Warnung voraus, **außer der Müdigkeit**?

nein

ja, und zwar

manchmal, und zwar

- Bei welchen Gelegenheiten passiert Ihnen das plötzliche Einschlafen mit vorheriger Müdigkeit? (Mehrfachantworten sind möglich)

in ruhigen Situationen, wie

beim Lesen

beim Fernsehen

bei Sonstigem

in Situationen aktiver Tätigkeit, wie

beim Autofahren **als Fahrer**

bei der Haus- oder Gartenarbeit

beim Telefonieren

im Gespräch

beim Schreiben

bei Sonstigem

- Geschieht das plötzliche Einschlafen mit vorheriger Müdigkeit zu bestimmten Tageszeiten?

nein, zu keiner bestimmten Zeit

ja, vormittags

ja, um die Mittagszeit

ja, nachmittags

ja, abends

- Wie sehr leiden Sie an diesen plötzlichen Einschlaf-Episoden mit vorheriger Müdigkeit bzw. wie störend empfinden sie diese?

überhaupt
nicht

sehr
wenig

wenig

mittel

stark

sehr
stark

Wie erklären Sie sich dieses plötzliche Einschlafen mit vorheriger Müdigkeit? (Mehrfachantworten sind möglich)

-
- Ich kann es mir überhaupt nicht erklären.
 Ich habe in der Nacht zuvor schlecht oder wenig geschlafen.
 Ich war schon am Vortag sehr müde.
 Ich war schon den ganzen Tag sehr müde.
 Ich war unmittelbar vorher sehr müde.
 Ich war vorher krank.
 Meine Parkinsonmedikation hat sich kurz vorher geändert.
 Meine sonstige Medikation hat sich kurz vorher geändert.
 Ich habe vorher meinen Alkohol- oder Nikotinkonsum verändert.
 Sonstiges:
-

-
- Wie gut glauben Sie, das plötzliche Einschlafen mit vorheriger Müdigkeit kontrollieren zu können?

überhaupt nicht sehr wenig wenig mittel stark sehr stark

- Wenden Sie bestimmte Strategien oder Tricks an, um dieses plötzliche Einschlafen mit vorheriger Müdigkeit zu verhindern?

nein ja, und zwar

- Wie lange schlafen Sie während einer solchen Einschlaf-Episode mit vorheriger Müdigkeit? (Mehrfachantworten sind möglich)

nur einige Sekunden bis zu mehreren Minuten noch länger weiß nicht

- Wie schnell ist der Übergang von Wachheit zum Schlaf bei solchen Einschlaf-Episoden mit vorheriger Müdigkeit?

völlig abrupt innerhalb weniger Sekunden bis zu mehreren Minuten weiß nicht

Bearbeiten Sie nun bitte die nächsten Seiten.

- Wie wahrscheinlich ist es, dass Sie in einer der folgenden **Situationen einnicken oder einschlafen**, sich also nicht nur müde fühlen? Dies bezieht sich auf Ihren Alltag in der letzten Zeit. Selbst wenn Sie einige der Situationen in letzter Zeit nicht erlebt haben, versuchen Sie bitte, sich vorzustellen, wie diese auf Sie gewirkt hätten.

Bitte kreuzen Sie in jeder Zeile das für Sie zutreffende Kästchen an.

Situation	Würde niemals einnicken	Geringe Wahrscheinlichkeit einzunicken	Mittlere Wahrscheinlichkeit einzunicken	Hohe Wahrscheinlichkeit einzunicken
Im Sitzen lesen	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch
Fernsehen	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch
Ruhiges Sitzen an einem öffentlichen Ort (z.b. Theater oder Versammlung)	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch
Als Mitfahrer in einem Auto, während einer Stunde Fahrt ohne Unterbrechung	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch
Sich nachmittags zum Ausruhen hinlegen, wenn es die Umstände erlauben	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch
Mit jemanden zusammensitzen und sich unterhalten	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch
Ruhiges Sitzen nach einem Mittagessen ohne Alkohol	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch

Als Fahrer in einem Auto, während man für wenige Minuten im Verkehr anhält	<input type="checkbox"/> nein, nie	<input type="radio"/> ja, gering	<input type="radio"/> ja, mittel	<input type="radio"/> ja, hoch
--	---------------------------------------	-------------------------------------	-------------------------------------	-----------------------------------

- Teilen Sie sich mit einer anderen Person ihr Schlafzimmer?

ja

nein



Hat Ihr Zimmerpartner bemerkt, dass Sie folgende Probleme haben?
Wenn ja, haben Sie eine Vorstellung, wie häufig das jeweilige Problem auftritt?

Lautes schnarchen

- nein/weiß nicht
 früher, aber nicht zur zeit
 ja, weniger als einmal pro woche
 ja, ein- bis zweimal pro woche
 ja, dreimal oder häufiger in der woche

Lange atempausen während des schlafes

- nein/weiß nicht
 früher, aber nicht zur zeit
 ja, weniger als einmal pro woche
 ja, ein- bis zweimal pro woche
 ja, dreimal oder häufiger in der woche

Beinzuckungen während des schlafes

- nein/weiß nicht
 früher, aber nicht zur zeit
 ja, weniger als einmal pro woche
 ja, ein- bis zweimal pro woche
 ja, dreimal oder häufiger in der woche

Sprechen im schlaf

- nein/weiß nicht
 früher, aber nicht zur zeit
 ja, weniger als einmal pro woche
 ja, ein- bis zweimal pro woche
 ja, dreimal oder häufiger in der woche

Zielgerichtete körperbewegungen während des schlafes (als ob sie einen traum ausleben würden, z. b. boxen)

- nein/weiß nicht
 früher, aber nicht zur zeit
 ja, weniger als einmal pro woche

ja, ein- bis zweimal pro woche

ja, dreimal oder häufiger in der woche

- Haben Sie sich (oder Ihren Bettpartner) **während des Schlafes** verletzt (z.B. aus dem Bett fallen)? ja nein

- Verspüren Sie nachts einen Bewegungsdrang bzw. eine Unruhe in den Beinen oder haben Sie nachts Missempfindungen und bessern sich die Beschwerden durch Herumlaufen?

NEIN

FRÜHER, ABER NICHT ZUR ZEIT

ja, weniger als einmal pro Woche

ja, ein- bis zweimal pro Woche

ja, dreimal oder häufiger in der Woche

- Fühlen Sie sich früh morgens **für Sekunden** wie gelähmt, unfähig sich zu bewegen oder zu sprechen?

NEIN

FRÜHER, ABER NICHT ZUR ZEIT

ja, weniger als einmal pro Woche

ja, ein- bis zweimal pro Woche

ja, dreimal oder häufiger in der Woche

- Wenn Sie lachen oder aufgeregt sind, verlieren Sie dann plötzlich die Kraft in Ihren Beinen oder anderen Körperteilen?

NEIN

FRÜHER, ABER NICHT ZUR ZEIT

ja, weniger als einmal pro Woche

ja, ein- bis zweimal pro Woche

ja, dreimal oder häufiger in der Woche

- Haben sich Ihre Träume in letzter Zeit geändert?

nein

ja, sie wurden

- Sind Ihre Träume so wirklich, dass Sie nicht sagen können, ob Sie schlafen oder wach sind?

NEIN

FRÜHER, ABER NICHT ZUR ZEIT

ja, weniger als einmal pro Woche

- ja, ein- bis zweimal pro Woche
- ja, dreimal oder häufiger in der Woche

- Wie würden Sie die Behinderung durch Ihre Parkinson-Erkrankung einschätzen?

Bitte kreuzen Sie eine Aussage an, die für Sie am besten zutrifft.

- Ich bemerke keine wesentliche behinderung. Zittern und steifigkeit treten bei mir beide nur auf ein- und derselben körperseite auf (entweder beides nur rechtsseitig oder beides nur linksseitig).
- Ich bemerke eine leichte behinderung. Meine symptome treten rechts- und linksseitig auf. Ich habe beim gehen keinerlei probleme mit dem gleichgewicht.
- Ich bemerke eine mässige behinderung. Beim gehen treten schwierigkeiten auf: ich bin unsicher beim wenden, oder es besteht die gefahr, beim gehen zu stürzen.
- Ich bemerke eine schwere behinderung. Ich kann aber noch gehen.
- Ich bemerke eine sehr schwere behinderung. Ich bin bettlägerig oder auf einen rollstuhl angewiesen.

- Meine Hauptsymptome sind
 - Steifigkeit
 - Zittern
 - Steifigkeit und Zittern

..1.1.1.1.1.1 Freezing

Bei der Parkinson-Erkrankung kann ein „Freezing“ (= „Einfrieren“) als Symptom auftreten. Es handelt sich dabei um plötzliche, vorübergehende und relativ kurze Bewegungsblockaden. Derartige Bewegungsblockaden werden häufig als Gefühl das „Einfrierens“ oder „Festklebens“ erlebt. Sie können beim Gehen, bei Bewegungen mit Armen und Händen, z.B. beim Schreiben, aber auch beim Sprechen auftreten. Ausgelöst werden diese Blockaden sei verschiedenen Situationen, z.B. vor Türschwellen oder bei Zeitdruck.

- Erleben Sie Freezing?

ja nein

- Wenn ja, wie häufig erleben Sie Freezing?

täglich 2-4-mal pro Woche 2-4-mal pro Monat seltener nie

- Ist Ihnen Freezing schon einmal während des Autofahrens als Fahrer passiert?

ja nein

6.4 Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrer an der Universität Ulm sowie Philipps-Universität Marburg waren die Damen und Herren:

Adler; Back; Bandmann; Bien; Bunjes; Dodel; Gerngroß; Hamer; Hartmann; Hautmann, Hemmer; Herrmann; Hombach; Kaschka; Kinzl; Kornhuber; Kreienberg; Lang; Lemberg; Ludolph; Möller; Oertel; Pilgrim; Reither; Richter; Rettinger; Rosenow; Schepelmann; Sommer; Spieker; Sunder-Plasmann; Wagner.

6.5 Lebenslauf

Geburt	12.07.1970	in Karaganda /Kasachstan
Schule	1977-1983 1983-1991 06/91	Mittelschule in Karaganda Hans-und Sophie Scholl Gymnasium, Ulm Abschlußprüfung Abitur
Berufsausbildung	1991-1993 09/93	Ausbildung zur medizinisch- Technischen Assistentin, Universität Ulm Abschlußprüfung
Studium	10/93 09/95 08/96 09/98 05/00	Studium der Humanmedizin, Universtität Ulm Ärztliche Vorprüfung Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Praktisches Jahr	04/99-08/99 08/99-12/99 12/99-03/00	Neurologie, Bundeswehrkrankenhaus Ulm Chirurgie, Kantonsspital St.Gallen, Schweiz Innere Medizin, University of Texas, MD Anderson Cancer Center, Houston/TX, USA
Doktorarbeit	10/00-10/04	Klinik für Neurologie/ Philipps- Universität Marburg, „Untersuchung der Dopaminrezeptor- sowie Hypocretin-Gen-Polymorphismen bei Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken““
Arbeitstätigkeit	07/00-12/01 Seit 01/2002	Ärztin im Praktikum, Klinik für Neurologie/ Philipps-Universität Marburg Wissenschaftliche Assistentin, Klinik für Neurologie/Philipps-Universität Marburg

Ida Rissling

6.6 Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Dr. med. J. C. Möller, der mir mit großem Enthusiasmus und unerschütterlichem Optimismus bei der Themenstellung und Durchführung dieser wissenschaftlichen Arbeit zur Seite stand. Sein stetes Engagement und seine Bereitschaft zu fruchtbaren und fachlichen Diskussionen waren eine große Hilfe und ein wesentlicher Bestandteil für das Gelingen der Arbeit und weckten mein Interesse für das faszinierende Gebiet der Neurogenetik.

Zu großem Dank bin ich auch Herrn Prof. Dr. W. H. Oertel verpflichtet. Als Direktor der Klinik für Neurologie hat er die Voraussetzungen und Bedingungen geschaffen, die die Erstellung dieser Dissertation erst möglich machten.

Für die finanzielle Unterstützung sind dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (01GI9901/1, 01GS0118 und 01GS0168) sowie der uneingeschränkten Unterstützung der Firma SmithKline Beecham in München zu danken.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des Neurobiologischen Labors der Klinik für Neurologie Marburg, insbesondere bei Frau Christine Höft, Frau Sabine Anfimov, Frau Rosemarie Burmester, Frau Annette Hehenkamp, Frau Kerstin Schlegel, Frau Dr. Sabine Cepok sowie Frau Susanne Stei für ihre geduldigen Anleitungen und Unterstützung bei der Labor- und Auswertetechniken. Frau Sabine Lnenicka danke ich für die kritische Durchsicht und Korrektur dieser Arbeit.

Meinen Freunden und Eltern danke ich für die moralische Unterstützung bei der Durchführung und beim Schreiben dieser Arbeit.

6.7 Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Humanmedizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

„Untersuchung der Dopaminrezeptor- sowie Hypocretin-Gen-Polymorphismen bei Parkinson-Patienten mit „Schlafattacken““

im Medizinischen Zentrum für Nervenheilkunde, Klinik für Neurologie der Philipps-Universität Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. W. H. Oertel mit Unterstützung durch Herrn Dr. J. C. Möller ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine andere als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischem Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Teile dieser Arbeit wurden in den folgenden Publikationsorganen oder bei folgenden Kongressen veröffentlicht bzw. vorgestellt:

- I. Rissling, J. C. Möller, O. Bandmann, K. Stiasny, Y. Körner, H.-P. Krüger, W. H. Oertel: Dopamine Receptor Gene Polymorphisms in Parkinson's Disease (PD) Patients reporting „Sleep Attacks“ – A preliminary Study. Aktuelle Neurologie. Vol 28 (S2), September 2001, 94.
- I. Rissling, J. C. Möller, Y. Körner, C. Roth, O. Bandmann, K. Stiasny, H.-P. Krüger, W. H. Oertel: The preprohypocretin polymorphism – 909C/T in Parkinson's disease (PD) patients reporting „sleep attacks“. Aktuelle Neurologie. Vol 29 (S2), September 2002, 194.

- I. Rissling, J. C. Möller, Y. Körner, C. Roth, O. Bandmann, K. Stiasny, H.-P. Krüger, W. H. Oertel: Candidate gene analysis in Parkinson's disease (PD) patients reporting „sleep attacks“. NGFN/DHGP Symposium 2002.
- I. Rissling, J. C. Möller, Y. Körner, C. Roth, O. Bandmann, K. Stiasny, W. H. Oertel: Dopamine receptor and hypocretin gene polymorphisms in Parkinson's disease (PD) patients reporting „sleep attacks“. Movement Disorders. Vol 17 (S5), 2002, P 422.
- I. Rissling, F. Geller, O. Bandmann, K. Stiasny, Y. Körner, F. Geller, C. Roth, W.H. Oertel, J.C. Möller: Dopamine receptor gene polymorphisms in PD patients reporting "sleep attacks", Movement Disorders, in press.

Die Arbeit wurde finanziell vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (01GI9901/1, 01GS0118, and 01GS0168) sowie der Firma SmithKline Beecham in München unterstützt.

Marburg im Juni 2004

Ida Rissling