

**Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. Jens Volkmann**

**Innervation von Schweißdrüsen bei Patienten mit  
Morbus Parkinson**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät**

**der**

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Jessica Weis**

**aus Regensburg**

**Würzburg, März 2017**

**Referentin:** Prof. Dr. med. Claudia Sommer  
**Korreferent:** Prof. Dr. med. Süleyman Ergün  
**Dekan:** Prof. Dr. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 24.04.2018

**Die Promovendin ist Ärztin**

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Definition der Parkinson-Syndrome.....	1
1.1.1 M. Parkinson.....	1
1.1.2 Multisystematrophie (MSA).....	1
1.1.3 Progressive supranukleäre Paralyse.....	2
1.1.4 Corticobasale Degeneration (CBD).....	2
1.2 Klinisches Bild.....	2
1.2.1 Klinik des M. Parkinson.....	2
1.2.2 Klinik der MSA.....	3
1.2.3 Klinik der PSP.....	3
1.2.4 Klinik der CBD.....	3
1.3 Epidemiologie.....	4
1.3.1 Epidemiologie M. Parkinson.....	4
1.3.2 Epidemiologie MSA.....	4
1.3.3 Epidemiologie PSP.....	4
1.3.4 Epidemiologie CBD.....	4
1.4 Ätiologie der Parkinson-Syndrome.....	5
1.5 Pathophysiologie.....	6
1.5.1 Pathophysiologie des M. Parkinson.....	6
1.5.2 Pathophysiologie der MSA.....	7
1.5.3 Pathophysiologie der PSP.....	7
1.5.4 Pathophysiologie der CBD.....	7
1.6 Diagnostik.....	8
1.6.1 Diagnostik des M. Parkinson.....	8
1.6.2 Diagnostik der MSA.....	9
1.6.3 Diagnostik der PSP.....	10
1.6.4 Diagnostik der CBD.....	11
1.7 Therapie.....	11
1.7.1 Therapie M. Parkinson.....	11
1.7.2 Therapie der atypischen Parkinson-Syndrome.....	12
1.8 Hautbiopsien bei Patienten mit M. Parkinson.....	13

1.9 $\alpha$ -Synuclein .....	16
1.10 Tyrosinhydroxylase .....	17
1.10 Neuropeptide.....	18
1.10.1 Vasoaktives intestinales Peptid.....	18
1.10.2 Substanz P.....	18
1.10.3 Calcitonine gene related peptide.....	19
1.11 Synaptische Proteine .....	19
1.11.1 Synaptophysin.....	19
1.11.2 Synaptosom assoziiertes Protein von 25 kD .....	20
1.12 Zielsetzung und Hypothese der Arbeit .....	20
1.12.1 Hypothese .....	21
1.12.2 Zielsetzung.....	21
2. Patienten, Material und Methoden.....	22
2.1 Patientenkollektiv .....	22
2.2. Klinische Untersuchungen .....	23
2.2.1 Schweregrad/Erkrankungsdauer/Medikation.....	23
2.2.2 Fragebögen zum Parkinson-Syndrom.....	23
2.2.3 Blutentnahmen .....	24
2.2.4 Elektroneurografie .....	24
2.2.5 Quantitative sensorische Testung .....	25
2.2.6 Hautstanzbiopsien.....	26
2.3. Immunhistochemie .....	26
2.3.1 PGP 9.5 .....	27
2.3.1.1 Bestimmung der intraepidermalen Nervenfaserdichte .....	27
2.3.2 Schweißdrüsen-Innervation .....	28
2.3.2.1 Vasoaktives intestinales Peptid und p- $\alpha$ -Synuclein .....	28
2.3.2.2 Anti-Tyrosinhydroxylase und p- $\alpha$ -Synuclein .....	29
2.3.2.3 Substanz P und p- $\alpha$ -Synuclein.....	30
2.3.2.4 Calcitonine gene related peptide und p- $\alpha$ -Synuclein.....	30
2.3.2.5 Auswertung der Schweißdrüsen-Innervation .....	31
2.3.3 Veränderungen im Bereich der Synapsen der Schweißdrüsen.....	32
2.3.3.3 SNAP 25 und Synaptophysin.....	32

2.3.3.4 Nicht-phosphoryliertes $\alpha$ -Synuclein und Synaptophysin .....	33
2.3.3.5 Auswertung der synaptischen Veränderungen.....	34
2.4 Statistische Auswertung der Daten .....	34
3. Ergebnisse .....	36
3.1 Klinische Daten .....	36
3.2 Fragebögen.....	37
3.3 Laborchemie .....	37
3.4 Elektrophysiologischer Befund .....	38
3.5 QST- Befund .....	38
3.6 Hautbiopsiebefunde .....	40
3.6.1 Intraepidermale Nervenfaserdichte .....	40
3.6.2 Schweißdrüseninnervation mit PGP9.5-immunreaktiven Nervenfasern	43
3.6.3 VIP-positive Schweißdrüseninnervation .....	44
3.6.4 TH-positive Schweißdrüseninnervation.....	46
3.6.5 SP-positive Schweißdrüseninnervation.....	47
3.6.6 CGRP-positive Schweißdrüseninnervation .....	49
3.6.7 Synaptophysin-positive Schweißdrüseninnervation .....	50
3.6.8 Schweißdrüseninnervation mit Nervenfasern, die immunreaktiv für natives $\alpha$ -Synuclein sind .....	52
3.6.9 SNAP-25-Innervation .....	55
3.7 P- $\alpha$ -Synuclein.....	57
4. Diskussion .....	59
4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	59
4.2. Neuropathie bei M. Parkinson? .....	59
4.2.1 Elektrophysiologie .....	59
4.2.2 Quantitativ sensorische Testung.....	61
4.2.3 Intraepidermale Nervenfaserdichte .....	62
4.3 Laborchemie .....	63
4.4. Innervation von Schweißdrüsen .....	64
4.5 Pathologie an Synapsen .....	65
4.6 $\alpha$ -Synuclein Aggregationen .....	67
4.7 Kritikpunkte .....	68

4.8 Klinische Relevanz.....	69
5. Zusammenfassung.....	70
6. Literaturverzeichnis	
7. Anhang.....	

# **1. Einleitung**

## **1.1 Definition der Parkinson-Syndrome**

Die Parkinson-Erkrankung ist eine der häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen weltweit und bis zum Jahr 2030 wird basierend auf Daten von 2005 mit einem Anstieg der Patienten um 50% gerechnet (Dorsey et al., 2007). Erstmals wurde sie im 19. Jahrhundert von James Parkinson beschrieben (Parkinson, 1817). Es handelt sich bei den Parkinson-Syndromen um akinetisch-rigide Bewegungsstörungen, welche durch einen frühen Zelltod dopaminerger Neurone in der Substantia nigra bedingt sind (Kalia & Lang, 2015). Nach aktueller Wissenslage zeigt sich die Parkinson-Erkrankung als Multisystemerkrankung, welche nicht nur durch extrapyramidale Symptome, sondern auch durch autonome Symptome, psychiatrische Symptome, Riech- und Schlafstörungen gekennzeichnet ist und sowohl das zentrale, als auch das periphere und autonome Nervensystem betrifft (Jellinger, 2012).

### **1.1.1 M. Parkinson**

Der idiopathische M. Parkinson ist eine typischerweise asymmetrische, akinetisch-rigide Bewegungsstörung. Die Erkrankung zeichnet sich außerdem durch einen Ruhe-bzw. Haltetremor und Störungen der Körperhaltung und des Gleichgewichts aus. Das Krankheitsbild gehört zu den  $\alpha$ -Synucleinopathien (Hufschmidt & Amtage, 2013; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.1.2 Multisystematrophie (MSA)**

Die MSA gehört wie der idiopathische Morbus Parkinson zu den  $\alpha$ -Synucleinopathien, tritt sporadisch auf und befällt nach aktuellen Erkenntnissen zentral-motorische, zerebelläre, pontin-medulläre und präganglionäre autonome Anteile des Nervensystems (Hufschmidt & Amtage, 2013; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.1.3 Progressive supranukleäre Paralyse**

Die PSP wurde erstmals von Steele, Richardson und Olszewski 1963 beschrieben (Richardson et al., 1963). Sie gehört zu den Tauopathien und zeigt zumeist eine symmetrisch, axial betonte Symptomatik. Führend ist eine vertikale supranukleäre Blickparese in Kombination mit einem akinetisch-rigiden Parkinson-Syndrom, welches wenig responsiv auf L-Dopa ist. Weiterhin kommt es charakteristischerweise schon früh im Krankheitsverlauf zu häufigen Stürzen (Hufschmidt & Amtage, 2013; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.1.4 Corticobasale Degeneration (CBD)**

Die CBD wird den Tauopathien zugeordnet. Sie stellt sich asymmetrisch als hypokinetisch-rigides Syndrom dar. Häufig kommt es zu Apraxie, Demenz, Dystonien und Myoclonien (Hufschmidt & Amtage, 2013; Litvan et al., 2003).

## **1.2 Klinisches Bild**

### **1.2.1 Klinik des M. Parkinson**

Der M. Parkinson äußert sich definitionsgemäß als A- bzw. Bradykinese. Zu den vier motorischen Kardinalsymptomen gehören außerdem Rigor, 4-6 Hz Ruhe-und/oder Haltetremor und eine posturale Instabilität (Hufschmidt & Amtage, 2013; Kalia & Lang, 2015). Im Verlauf (oder auch schon vor Auftreten der Kardinalsymptome) können sich weitere motorische Symptome wie z.B. Mikrographie, Hypomimie, Hypophonie, Dysarthrophonie und Dysphagie nachweisen lassen. Darüber hinaus kann es zu fakultativen sensorischen, vegetativen, psychischen und kognitiven Symptomen kommen. Häufig treten vegetative Störungen wie Obstipation, Harndrang, orthostatische Hypotension, Hyperhidrosis und sexuelle Dysfunktion auf. Ebenfalls liegen häufig eine REM-Schlafverhaltensstörung und eine Einschränkung des Geruchsinnes vor. Die nicht motorischen Symptome können Jahre vor den motorischen Symptomen auftreten. Innerhalb des idiopathischen M. Parkinson unterscheidet man je nach vorherrschender Symptomatik vier Subtypen. Den akinetisch-rigiden-Typ, den



Äquivalenz-Typ, den Tremordominanz- Typ und den monosymptomatischen Ruhetremor (Eggert et al., 2012; Kalia & Lang, 2015; Schwarz & Storch, 2007).

### **1.2.2 Klinik der MSA**

Die MSA präsentiert sich mit autonomen Funktionsstörungen. Die Mehrzahl der Patienten zeigt eine orthostatische Dysregulation. Auch die Blasen- und Mastdarmfunktion sowie die erektile Funktion sind häufig beeinträchtigt. Weiterhin kann es zu cerebellären Symptomen, wie Ataxie, Dysarthrie und Okulomotorikstörungen kommen. Auch Dystonien sind bei MSA-Patienten häufiger zu beobachten. Man unterscheidet zwischen der MSA-P (80%), bei welcher die Parkinson-Symptome in Form eines symmetrisch akinetisch-rigiden Syndroms dominieren, und der MSA-C (20%), bei welcher vor allem die cerebellären Symptome das klinische Bild prägen (Eggert et al., 2012; Hufschmidt & Amtage, 2013; Schwarz & Storch, 2007; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.2.3 Klinik der PSP**

Die progressive supranukleäre Blickparese beginnt meist nach dem 40. Lebensjahr und äußert sich vor allem in einer supranukleären vertikalen Blickparese und einer posturalen Instabilität mit vermehrten Stürzen im ersten Jahr nach Erkrankungsbeginn. Es handelt sich um ein symmetrisch akinetisches Syndrom mit proximal bzw. axial betontem Rigor (Hufschmidt & Amtage, 2013; Litvan et al., 2003; Schwarz & Storch, 2007).

### **1.2.4 Klinik der CBD**

Die kortikobasale Degeneration ist ein asymmetrisches akinetisch-rigides Syndrom. Bei der Mehrzahl der Patienten findet sich eine einseitige ideomotorische Apraxie. Weiterhin kann es zu einem einseitigen irregulären Halte- und Aktionstremor sowie Myoklonien kommen. Von vielen Patienten wird zudem das Phänomen der fremden Hand (Alien limb-Phänomen) beschrieben. Bei einigen Patienten finden sich Zeichen einer frontotemporalen Demenz (Eggert et al., 2012; Schwarz & Storch, 2007; Strzelczyk et al., 2008).

## **1.3 Epidemiologie**

### **1.3.1 Epidemiologie M. Parkinson**

Die Parkinson-Erkrankung ist eine altersabhängige Erkrankung. Die Prävalenz in Deutschland wird mit 100-200:100.000 und in der Gruppe der über 65-Jährigen mit 1800:100.000 Einwohnern angegeben (Eggert et al., 2012). Afrikaner und Asiaten erkranken weniger häufig als Europäer und Amerikaner (Muangpaisan et al., 2009; Okubadejo et al., 2006). Das männliche Geschlecht ist in einigen Studien etwas häufiger von der Erkrankung betroffen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 55 Jahren (de Lau & Breteler, 2006; Hufschmidt & Amtage, 2013).

### **1.3.2 Epidemiologie MSA**

Die Prävalenz der MSA liegt bei etwa 1,9:100.000 (Tison et al., 2000). Auch hier sind Frauen und Männer in etwa gleichhäufig betroffen. Der Erkrankungsbeginn liegt in der sechsten Lebensdekade (Wenning et al., 2004).

### **1.3.3 Epidemiologie PSP**

Für die PSP liegt die Prävalenz bei etwa 6:100.000 (Schrag et al., 1999). Die Erkrankung betrifft häufiger Männer in einem Verhältnis von 3:2. Die meisten Erkrankungen treten sporadisch auf und nur selten familiär. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 63 Jahren (Hufschmidt & Amtage, 2013; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.3.4 Epidemiologie CBD**

Die CBD gehört zu den seltenen Erkrankungen unter den Parkinson-Syndromen. Die Prävalenz wird auf 1,7:100.000 geschätzt (Morimatsu & Negoro, 2002). Die meisten Patienten erkranken zwischen dem 60. und 65. Lebensjahr (Hufschmidt & Amtage, 2013; Strzelczyk et al., 2008).

## 1.4. Ätiologie der Parkinson-Syndrome

Die Ursache für den Verlust dopaminerger Neurone ist in der Mehrzahl der Fälle unbekannt. Man nimmt an, dass die Parkinson-Syndrome durch ein komplexes Zusammenspiel genetischer Faktoren und Umweltfaktoren entstehen. Eine wichtige Rolle spielen eine pathologische Proteinaggregation, inflammatorische Prozesse, eine mitochondriale Dysfunktion und ein gestörtes Ubiquitin-Proteasom-System (Kalia & Lang, 2015). Diskutiert wird ein erhöhtes Krankheitsrisiko für Personen mit einer Exposition gegenüber Pestiziden sowie in der Landwirtschaft Tätige. Auch häufige Schädelhirntraumata, wie sie beispielsweise bei Boxern auftreten, erhöhen die Wahrscheinlichkeit ein Parkinson-Syndrom zu entwickeln (Noyce et al., 2012). Ein häufiger genetischer Risikofaktor stellt die Mutation des Glucocerebrosidase-Gens, dessen Enzym beim Morbus Gaucher erniedrigt ist, dar (Sidransky & Lopez, 2012). In den letzten 15 Jahren wurden zahlreiche Gene identifiziert, welche an der Parkinson-Erkrankung beteiligt sind (Kalia & Lang, 2015). Beim autosomal-dominant vererbten M. Parkinson ist die häufigste Ursache eine Mutation der Leucine-rich-repeat-Kinase 2 (LRRK2), welche durch PARK8 auf Chromosom 12p11.2-q13.1 codiert wird. Die LRRK2 spielt eine Rolle in vielen zellulären Prozessen, im Membrantransport und in der Proteinsynthese (Sanna et al., 2012; Zimprich et al., 2004). Die häufigste LRRK2-Mutation resultiert wiederum in einer Gly2019Ser Aminosäure Substitution, welche die Kinase-Aktivität des Proteins steigert (Dzamko & Halliday, 2012). Eine weitere autosomal dominante Mutation ist die des ersten identifizierten Gens SNCA, welches für  $\alpha$ -Synuclein codiert (Polymeropoulos et al., 1997). Die häufigste Mutation des autosomal-rezessiv vererbten M. Parkinson ist die der Ubiquitin-Protein-Ligase Parkin, welche von PARK 2 auf Chromosom 6q25-27 codiert wird (Hufschmidt & Amthage, 2013; Shimura et al., 2001). Weiterhin werden auch protektive Faktoren in der Literatur diskutiert. So sollen zum Beispiel Rauchen, Kaffeeconsum und Kalziumkanalblocker das Risiko reduzieren ein Parkinson-Syndrom zu entwickeln (Noyce et al., 2012).

## 1.5. Pathophysiologie

### 1.5.1 Pathophysiologie des M. Parkinson

Beim M. Parkinson kommt es zu einem Untergang dopaminerger Neurone in der Pars compacta der Substantia nigra (Kalia & Lang, 2015). Am stärksten betroffen ist hierbei die ventrolaterale Schicht (Fearnley & Lees, 1991). Weiterhin kommt es zu einem neuronalen Verlust (catecholaminerger, serotonerger, cholinерger und dopaminerger Neurone) in anderen Regionen des Gehirns, beispielsweise im Locus coeruleus, in den Raphe- Kernen, im Ncl. Basalis Meynert, im dorsalen Vagus-Kern, im Bulbus olfactorius, im Cortex cerebri und in den peripheren sympathischen und parasympathischen Ganglien (Dickson, 2012; Kalia & Lang, 2015). Es findet eine pathologische Proteinaggregation statt, wobei sich sogenannte Lewy-Körperchen intrazellulär ablagern, welche hauptsächlich aus fehlgefaltetem unlöslichem  $\alpha$ -Synuclein bestehen. (Goedert et al., 2013; Spillantini et al., 1997). Die  $\alpha$ -Synuclein-Ablagerungen finden sich nicht nur im Gehirn, sondern auch im Rückenmark und multisystemisch im Nervus vagus, in sympathischen Ganglien, im enterischen Nervensystem und Gastrointestinaltrakt und in Speicheldrüsen (Beach et al., 2010). Nach aktuellen Erkenntnissen entwickeln sich die Pathologien einem bestimmten Muster folgend. Braak und Kollegen haben ein Model mit sechs verschiedenen Stadien entwickelt. Nach dieser pathologischen Stadieneinteilung beginnt die Erkrankung peripher, über den olfaktorischen Bulbus und den dorsalen motorischen Kern des Nervus vagus und breitet sich über den Hirnstamm ins limbische System und den Neokortex aus (Braak et al., 2003). A-Synuclein scheint hierbei in einem Prionen-ähnlichen Mechanismus von Zelle zu Zelle übertragen zu werden (Desplats et al., 2009; Kordower et al., 2008; Li et al., 2008). Diskutiert wird auch, ob bzw. inwieweit entzündliche Veränderungen in der Substantia nigra und oxidativer Stress an den degenerativen Prozessen beteiligt sind. In Studien konnte eine Expression von proinflammatorischen Zytokinen in glialen Zellen der Substantia nigra nachgewiesen werden. (Boka et al., 1994; Hunot et al., 1999). Weiterhin scheint eine Beeinträchtigung des Komplex I der Atmungskette eine Rolle in der

Pathogenese zu spielen. Schapira und Kollegen konnten in einer Studie eine Reduktion der NADH-Ubiquinon- Reduktase feststellen (Schapira et al., 1990).

### **1.5.2 Pathophysiologie der MSA**

Neuropathologisch zeigen sich oligodendrogliale zytoplasmatische Einschlusskörperchen, welche aus  $\alpha$ -Synuclein-, Ubiquitin- und Tau-positiven Inklusionen bestehen (Papp et al., 1989; Strzelczyk et al., 2008). Es kommt zum Zelluntergang mit einer reaktiven Gliose sowie zu einer Myelindegeneration striatonigraler und olivopontocerebellärer Strukturen (Gilman et al., 2008).

### **1.5.3 Pathophysiologie der PSP**

Charakteristisch für die PSP sind sogenannte „neurofibrillary tangles“, Ablagerungen einer Tau-Isoform mit 4-facher Wiederholung (Buee & Delacourte, 1999; Strzelczyk et al., 2008) und ein Neuronenverlust mit reaktiver Gliose (Hauw et al., 1994). Von den Veränderungen sind besonders der Nucleus subthalamicus, Globus pallidus, die pontinen Kerne, das periaquäduktale Grau und die Substantia nigra betroffen (Rajput & Rajput, 2001).

### **1.5.4 Pathophysiologie der CBD**

Auch bei der CBD finden sich Tau-immunreaktive neuronale und gliale Einschlüsse und astrozytäre Plaques. Die Ablagerungen zeigen sich in Form sogenannter „pre-tangles“ (Dickson et al., 2002). Die Tau-Läsionen finden sich vor allem im frontoparietalen und motorischen Kortex. Zusätzlich konnten bei der CBD geschwollene achromatische kortikale Neurone gefunden werden (Dickson et al., 2002).

## 1.6. Diagnostik

### 1.6.1 Diagnostik des M. Parkinson

Eine sichere Diagnosestellung ist nur postmortem durch den Nachweis von Lewy-Körperchen verbunden mit einer Degeneration der Pars compacta der Substantia nigra möglich (Gibb & Lees, 1988; Kalia & Lang, 2015). Es erfolgt vorwiegend eine klinische Diagnose durch die Kardinalsymptome Bradykinese, Rigor, Tremor und posturale Instabilität (Hughes et al., 2002; Litvan et al., 2003). In der klinischen Untersuchung zeigen sich eine Bewegungsverarmung und eine verminderten Bewegungsamplitude. Typischerweise beginnt die Symptomatik asymmetrisch. Bei der Mehrzahl der Patienten kann ein Ruhetremor, typischerweise ein sogenannter Pillendreher-Tremor, von 4-6 Hz, aber auch ein Haltetremor beobachtet werden. 25% der Patienten zeigen allerdings keine Tremor-Symptomatik. Der Rigor wird von den Patienten häufig zuerst als unspezifischer Schmerz im Arm oder Rückenbereich wahrgenommen. Bei der passiven Bewegung der Extremitäten beobachtet man einen gleichförmig zähen Widerstand mit fakultativem Zahnradphänomen. Dieser Rigor lässt sich verstärken oder initiieren durch Willkürbewegungen der kontralateralen Extremität. Die posturale Instabilität prüft man, indem man die Fallneigung des Patienten nach Zug an beiden Schultern beobachtet (Eggert et al., 2012; Hufschmidt & Amtage, 2013). Die Einteilung nach Krankheitsschwere erfolgt mithilfe der Klassifikation nach Höhn und Yahr (Hoehn & Yahr, 1967). Als wichtigste Bewertungsskalen stehen außerdem der „Unified Parkinson’s disease Rating scale“ Fragebogen zur Evaluation der motorischen Symptome (Goetz et al., 2008) und der „Non-motor symptoms scale“ Fragebogen zur Bewertung der nicht-motorischen Symptome (Storch et al., 2010) zur Verfügung. Als Zusatzdiagnostik besteht die Möglichkeit zur Durchführung eines L-Dopa Testes. Hierbei wird dem Patienten eine Testdosis L-Dopa verabreicht und Teil III des UPDRS vor und 30 min nach Medikamentengabe bestimmt. Ein positiver Test mit einer Verbesserung der Symptomatik um > 20% stützt die Diagnose eines Parkinson-Syndroms. Bei begründetem Verdacht sollte außerdem ein Morbus Wilson mittels Laboranalyse

ausgeschlossen werden (Eggert et al., 2012). Weiterhin gibt es verschiedene bildgebende Verfahren zur Unterstützung der Diagnose. In der Hirnparenchym-Sonografie kann beispielsweise eine Hyperechogenität in der Substantia nigra für das idiopathische Parkinson-Syndrom erkannt werden (Berg et al., 2001). Aussagen über das präsynaptische nigrostriatale System können mittels  $^{123}\text{I}$ -N- $\omega$ -fluoropropyl-2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-iodophenyl)nortropane- Einzelphotonen –Emmisionscomputertomographie (FP-CIT-SPECT) oder Fluorodopa-Positronen-Emmisionstomographie (PET) getroffen werden. In der FP-CIT-SPECT Untersuchung kann die Dichte der Dopamintransporter im Striatum dargestellt werden (van Dyck et al., 2002). Die Decarboxylaseaktivität, welche man im Fluorodopa-PET darstellen kann, ergibt Rückschlüsse über die Dopaminsynthese (Kuwabara et al., 1993; Sossi et al., 2004). Die bildgebenden Untersuchungen können beim M. Parkinson eine asymmetrisch reduzierte dopaminerge Funktion im Putamen darstellen. Das postsynaptische striatale System kann mithilfe der  $^{123}\text{I}$ -Iodobenzamid (IBZM)-SPECT oder Racloprid-PET beurteilt werden. Hierbei wird die Dopamin-2-Rezeptor-Dichte bewertet (Schwarz et al., 1994). In einer  $^{123}\text{I}$ - Metaiodobenzylguanidin (MIBG)-Szintigrafie kann sich sehr früh eine postganglionäre sympathische Denervierung des Herzens zeigen (Courbon et al., 2003; Salsone et al., 2012). Bei frühem Erkrankungsbeginn sollte eine genetische Untersuchung durchgeführt werden. Als zusätzliche Diagnostik der nicht-motorischen Symptome können eine Polysomnografie, eine olfaktorische Testung (Muller et al., 2002) und eine Kipptisch-Untersuchung durchgeführt sowie die sympathische Hautantwort (Bordet et al., 1996) und die Kolontransitzeit bestimmt werden (Eggert et al., 2012; Schwarz & Storch, 2007).

### **1.6.2 Diagnostik der MSA**

Hinweisend auf eine MSA sind ein sporadisches Auftreten nach dem 30. Lebensjahr, das Bestehen ausgeprägter autonomer Symptome, cerebellärer Symptome, das Vorhandensein von Pyramidenbahnzeichen und das Minderansprechen auf eine Therapie mit L-Dopa (Litvan et al., 2003). In der Magnetresonanztomographie (MRT) kann man als typischen Befund für die

MSA Hyper- und Hypointensitäten im Putamen erkennen (Kraft et al., 1999). Weiterhin kann sich in der T2-Wichtung ein hyperintenser Saum zwischen Putamen und Klastrum und das sogenannte „Hot-cross-bun-sign“ in der Pons darstellen (Schrag et al., 2000). In der  $^{123}\text{I}$ -IBZM-SPECT lässt sich eine verminderte postsynaptische Dopamin D2-Rezeptor-Dichte im Striatum darstellen. Eine Verminderung striataler Dopamintransporter lässt sich in der FP-CIT-SPECT erkennen. Weiterhin kann ein  $^{18}\text{F}$ -Fluor-Deoxyglucose PET angefertigt werden, in welchem sich v.a. bei MSA-P ein verminderter Glucose-Metabolismus im Putamen zeigen lässt, wohingegen es bei der MSA-C zu einem verminderten Metabolismus in Hirnstamm und Cerebellum kommt (Poston & Eidelberg, 2010; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.6.3 Diagnostik der PSP**

Im Vordergrund stehen die okulären Symptome. Es können sowohl vertikale Sakkadenstörungen als auch eine vertikale Blickparese beobachtet werden. Dies lässt sich mithilfe eines Elektrookulogramms objektivieren (Strzelczyk et al., 2008). In der MRT-Aufnahme können sich eine ausgeprägte Atrophie des Mittelhirns, im Fachjargon als „mickey-mouse sign“ bezeichnet, eine Atrophie des Putamens, des Pallidums und des frontalen Kortex abzeichnen (Oba et al., 2005). In fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung kann es zu einer Atrophie des rostradorsalen Anteils der Mittelhirnhaube, auch als „hummingbird sign“ (Kato et al., 2003) bezeichnet, kommen. Weiterhin kann es zu einer Vergrößerung des 3. Ventrikels kommen (Groschel et al., 2006). Zur Abgrenzung von der Erkrankung des M. Parkinson oder anderen atypischen Parkinson-Syndromen eignet sich das  $^{18}\text{F}$ -Fluorodeoxyglucose-PET. Hierin kommt es bei der PSP zu einem Hypometabolismus im frontalen und frontomesialen Bereich sowie im Mesencephalon. Weiterhin lässt sich abgrenzend zur MSA und zum M. Parkinson bei der PSP kein trigemino-zervikaler-Reflex auslösen (Hufschmidt & Amtage, 2013; Strzelczyk et al., 2008).



#### **1.6.4 Diagnostik der CBD**

Im MRT sieht man im Verlauf eine fokale oder asymmetrische frontoparietale kortikale Atrophie (Soliveri et al., 1999). Zur Abgrenzung anderer Parkinson-Syndrome kann ein  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET angefertigt werden. Hierbei stellt sich ein verminderter Glukosemetabolismus im frontoparietalen Bereich kontralateral zur betroffenen Seite dar (Eidelberg et al., 1991; Schwarz & Storch, 2007).

Basalganglien und Thalamus können sich ebenfalls hypoperfundiert präsentieren (Eggert et al., 2012; Hufschmidt & Amtage, 2013).

### **1.7. Therapie**

#### **1.7.1 Therapie M. Parkinson**

Die vorhandenen Therapiemöglichkeiten stellen ausschließlich eine symptomatische Behandlung dar. Eine kausale Therapie existiert bislang noch nicht. Die Wahl der Medikation richtet sich vor allem nach dem Alter bei Erstdiagnose. Patienten mit einem Alter < 70 Jahren sollten, falls vermeidbar, keine Monotherapie mit L-Dopa erhalten, da es bei früher und langjähriger Anwendung zu Spätkomplikationen kommen kann. Hier wird ein Therapiebeginn mit Monoaminoxidase (MAO)-B-Hemmern, dem N-Methyl-D-Aspartat- Antagonisten (NMDA) Amantadin oder Dopamin-Agonisten bevorzugt. Bei ausgeprägtem Ruhetremor kann eine Therapie mit Anticholinergika oder dem NMDA-Antagonisten Budipin erwogen werden. Bei Patienten > 70 Jahren wird eine Monotherapie mit L-Dopa in fester Kombination mit einem Decarboxylase-Inhibitor bevorzugt. Zur Wirkungsverbesserung können zusätzlich Catechol-O-Methyltransferase- (COMT) und MAO-B-Inhibitoren eingesetzt werden. Auch eine Kombination mit Dopamin-Agonisten ist möglich. L- Dopa kann sowohl in oraler Form als auch in fortgeschrittenen Stadien intrajejunal mithilfe einer Duodopa-Pumpe verabreicht werden. Aufgrund der Langzeitkomplikationen von Levodopa-Präparaten sollte die geringstmögliche Dosierung, die zur Symptomverbesserung ausreicht, angestrebt werden. Ebenso wichtig wie die richtige Medikamenteneinstellung ist die nichtmedikamentöse Therapie mit Physio- und Ergotherapie sowie Logopädie.

Bei erheblichen Nebenwirkungen der medikamentösen Therapie, Wirkungsfluktuationen, einer medikamentös nicht einstellbaren Tremorsymptomatik oder ausgeprägten Dyskinesien ist die tiefe Hirnstimulation eine sinnvolle therapeutische Option. Je nach führender Symptomatik kommen verschiedene Stimulationorte in Betracht. Der Nucleus ventralis intermedius wird vorwiegend bei therapieresistentem einseitigem Tremor stimuliert. Eine Elektrodenlage im Nucleus subthalamicus kann bei Dyskinesien, off-Phasen, Akinese und Rigor mit oder ohne Tremor in Erwägung gezogen werden. Eine ähnliche Wirkung wie die Stimulation des Nucleus subthalamicus bietet die Elektrodenpositionierung im Globus pallidus internus. Allerdings erbringt diese Lage weniger neuropsychiatrische Nebenwirkungen. Medikamentös induzierte Psychosen werden mit atypischen Neuroleptika wie Clozapin oder Quetiapin behandelt. Eine im Rahmen der Parkinson-Erkrankung auftretende Demenz kann, unter Berücksichtigung möglicher Nebenwirkungen, mit Cholinesterasehemmern behandelt werden. Eine erektile Dysfunktion wird mit Phosphodiesterase-5-Hemmern behandelt. Bei Schluckstörungen im fortgeschrittenen Stadium muss gegebenenfalls über eine gastroduodenale Sondenversorgung nachgedacht werden (Eggert et al., 2012; Hufschmidt & Amtage, 2013; Kalia & Lang, 2015; Schwarz & Storch, 2007; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.7.2 Therapie der atypischen Parkinson-Syndrome**

Bis dato besteht keine kausale Therapie für die Behandlung der atypischen Parkinson-Erkrankungen. Bei der MSA sprechen initial etwa ein Drittel der Patienten auf eine Therapie der Parkinson-Symptome mit L-Dopa oder Dopaminagonisten an. Es besteht die Möglichkeit eines Therapieversuches mit Amantadin. Der  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-Agonist Midodrin kann bei orthostatischer Dysregulation verordnet werden. Ebenso sollten eine Kompressionstherapie der Unterschenkel und eine erhöhte Salzzufuhr stattfinden. Blasenstörungen können mit Anticholinergika behandelt werden. Bei fokalen Dystonien kann gegebenenfalls eine Behandlung mit Botulinum-Toxin durchgeführt werden. Auch ein geringer Anteil der PSP-Patienten spricht zu Beginn auf eine Therapie

mit L-Dopa, Dopaminagonisten und Amantadin an. Eine leichte Verbesserung konnte bei einigen Patienten durch das trizyklische Antidepressivum Amitriptylin beobachtet werden. Das Benzodiazepin ähnliche Zolpidem kann zu einer Verbesserung der Okulomotorik und der Bewegungsstörung beitragen. Zusätzlich kann eine Prismenbrille verordnet werden. Ein Blepharospasmus kann mit Botulinum-Toxin Injektionen gelindert werden. Bei der CBD kann ebenfalls ein Therapieversuch mit L-Dopa unternommen werden. Zur Behandlung von Myoklonien wird das Benzodiazepin Clonazepam, zur Verbesserung des Aktions- und Haltetremors ein Betablocker wie Propranolol und zur Behandlung von Dystonien Botulinum-Toxin oder das Myotonolytikum Baclofen angewandt (Eggert et al., 2012; Hufschmidt & Amtage, 2013; Schwarz & Storch, 2007; Smith et al., 2016; Strzelczyk et al., 2008).

### **1.8 Hautbiopsien bei Patienten mit M. Parkinson**

Die Pathologien, die durch  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen verursacht werden sind multisystemisch. Sie involvieren Teile des Rückenmarkes, das autonome, das enterische und das periphere Nervensystem, sympathische und parasympathische Ganglien und Plexus sowie die Haut (Jellinger, 2012). Hautbiopsien sind in der Neurologie ein etabliertes diagnostisches Mittel und werden häufig bei Patienten mit Verdacht auf eine Small-fiber-Neuropathie angewendet (Lauria et al., 2010).

Mithilfe von Hautbiopsien können Veränderungen des peripheren und autonomen Nervensystems untersucht werden. Insbesondere durch das Vorhandensein von Schweißdrüsen und Erector pili Muskeln besteht die Möglichkeit pathologische Veränderungen an den Synapsen außerhalb des ZNS zu untersuchen. In den letzten Jahren ist die Untersuchung des peripheren Nervensystems immer mehr in den Mittelpunkt der Parkinson-Forschung gerückt. Es scheint, dass es zu einer Häufung von Polyneuropathien bei Patienten mit M. Parkinson kommt (Comi et al., 2014; Rajabally & Martey, 2011). Mehrere Gruppen fanden mithilfe von Hautbiopsien einen signifikanten Verlust an intraepidermalen Nervenfasern bei Patienten mit M. Parkinson im Vergleich zu Kontrollpersonen ähnlichen Alters (Doppler et al., 2014; Nolano et

al., 2008; Wang et al., 2013). Fraglich ist noch die Ursache des Nervenfaserverlustes. Einerseits gibt es die Hypothese, dass  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen direkt die peripheren Nervenfasern schädigen könnten und direkt mit dem Ausmaß der autonomen Dysfunktion korrelieren (Wang et al., 2013). Andererseits könnten auch die medikamentöse Therapie mit L-Dopa und ein Vitaminmangel (insbesondere Vitamin B6 und B12) die Neuropathie bedingen. Es gibt Hinweise über eine mögliche Korrelation zwischen der Einnahme von Levodopa und einem erniedrigten Vitamin B12 Spiegel, welcher wiederum ursächlich für eine Neuropathie sein kann (Rajabally & Martey, 2011; Santos-Garcia et al., 2012). Es wurde vermutet, dass L-Dopa eine Nervenschädigung hervorrufen kann, indem es mit dem Homocystein/Vitamin B12 Zyklus interferiert (Comi et al., 2014). Weiterhin kann der M. Parkinson nach wie vor nur postmortem durch den Nachweis von  $\alpha$ -Synuclein in der Substantia nigra sicher diagnostiziert werden. Es gibt jedoch Hinweise zu abnormen  $\alpha$ -Synuclein Akkumulationen außerhalb des Gehirns. Hierzu gibt es teils widersprüchliche Studienergebnisse. Eine Forschungsgruppe um Lebouvier konnte mithilfe von Kolonbiopsien Lewy-Körperchen in Neuronen des enterischen Nervensystems bei Patienten mit M. Parkinson nachweisen, nicht aber bei gesunden Kontrollpersonen (Lebouvier et al., 2010), wohingegen eine andere Forschungsgruppe auch  $\alpha$ -Synuclein-Ansammlungen in Kolonbiopsien gesunder Kontrollpersonen fand (Visanji et al., 2015). Ein höheres diagnostisches Potenzial scheinen Biopsien der submandibulären Speicheldrüsen zu haben (Fasano et al., 2015). In einer postmortem Studie konnten  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen bei allen Patienten mit M. Parkinson nachgewiesen werden (Beach et al., 2010). Auch Adler et al. konnten bei 75% ihrer Patienten mithilfe einer Nadelbiopsie der Glandula submandibularis Lewy-Körperchen nachweisen (Adler et al., 2014). Weiterhin erhofft man sich, dass die Haut die cerebralen Pathologien widerspiegeln kann und man somit eine frühdiagnostische minimalinvasive und einfache Methode zur Verfügung hat, um M. Parkinson früher erkennen und behandeln zu können. In den letzten Jahren gab es diesbezüglich eine positive Entwicklung. Fand 2009 eine Forschungsgruppe um Miki lediglich in 2 von 20 Patienten  $\alpha$ -Synuclein-

Akkumulationen (Miki et al., 2010), so haben sich die Ergebnisse mittlerweile durch sensitivere Antikörper und Optimierungen hinsichtlich der Anzahl der Biopsien sowie der Entnahmestellen verbessert (Doppler et al., 2014). Eine Forschungsgruppe um Donadio konnte sogar in allen untersuchten Patienten  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen nachweisen, wohingegen die Kontrollgruppe diesbezüglich keine pathologischen Veränderungen zeigte (Donadio et al., 2014). Weiterhin fanden sich in einigen Studien die pathologischen Ablagerungen vorzugsweise in der Nähe autonomer Strukturen, wie Schweißdrüsen, Erector pili Muskeln und Blutgefäßen (Miki et al., 2010; Wang et al., 2013; Zange et al., 2015). Schwierig bleibt weiterhin die Abgrenzung der atypischen Parkinson-Syndrome. Man erhofft sich, dass prämortem bei der Unterscheidung der atypischen Syndrome vom M. Parkinson pathologische Unterschiede von Hautbiopsien hilfreich sein könnten. Fand man bei Biopsien von Patienten mit M. Parkinson regelhaft  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen (Donadio et al., 2014; Doppler et al., 2015; Wang et al., 2013), so konnten bei Patienten mit PSP oder CBD, welche zu den Tauopathien gehören, keine derartigen Aggregationen festgestellt werden (Donadio et al., 2014; Doppler et al., 2015; Ikemura et al., 2008). Bei der MSA, welche zu den Synucleinopathien gehört konnten durch Autopsien postmortem  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen in sympathischen Ganglien detektiert werden (Nishie et al., 2004; Sone et al., 2005). Demgegenüber stehen negative Studienergebnisse von Ikemura und Zange, die in Hautbiopsien bei MSA-Patienten keine Ablagerungen nachweisen konnten (Ikemura et al., 2008; Zange et al., 2015). In den letzten Jahren gewann man zunehmend Erkenntnisse, welche vermuten lassen, dass nicht, wie bisher angenommen, ein neuronaler Zelltod die Hauptursache der Parkinson- Erkrankung ist, sondern eine Fehlfunktion bestehender Zellen ursächlich für die Parkinson-Erkrankung ist (Garcia-Reitböck et al., 2010; Schulz-Schaeffer, 2010). In Studien konnten kleine unlösliche  $\alpha$ -synuclein-Aggregate präsynaptisch lokalisiert werden (Kramer & Schulz-Schaeffer, 2007; Spinelli et al., 2014). Es wird vermutet, dass diese präsynaptischen Ablagerungen die synaptische Funktion und letztendlich die Freisetzung von Neurotransmittern beeinflussen (Garcia-Reitböck et al., 2010; Nemani et al.,

2010; Scott et al., 2010). Eine verminderte Freisetzung von Neurotransmittern könnte wiederum zu einer Degeneration postsynaptischer Dendriten führen, wodurch die klinischen Symptome der Neurodegeneration ausgelöst würden (Nagerl et al., 2004; Schulz-Schaeffer, 2015). Dass der Verlust von Dendriten eine Rolle in der Pathophysiologie der Parkinson-Erkrankung spielt, konnte in Mausmodellen (Day et al., 2006; Solis et al., 2007) und in postmortem Studien (McNeill et al., 1988; Zaja-Milatovic et al., 2005) nachgewiesen werden. Wünschenswert wäre eine genauere Untersuchung der humanen synaptischen Veränderungen in vivo. Außerhalb des ZNS sind Synapsen vor allem an Schweißdrüsen auffindbar und somit stellt die Hautbiopsie ein mögliches Hilfsmittel dar, um synaptische Pathologien zu erforschen.

## **1.9 $\alpha$ -Synuclein**

$\alpha$ -Synuclein ist ein Protein, das vom PARK1-Gen kodiert wird. Es besteht aus 140 Aminosäuren und ist Bestandteil der Lewy-Körperchen. Es existieren zwei weitere homologe Proteine,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Synuclein. Assoziiert mit neurodegenerativen Erkrankungen ist am häufigsten  $\alpha$ -Synuclein (George, 2002; Rassow, 2006).

$\alpha$ - und  $\beta$ -Synuclein sind sich am ähnlichsten und finden sich vermehrt präsynaptisch (Jakes et al., 1994), wobei  $\alpha$ -Synuclein von der Polo-like Kinase 2, der Casein-Kinase 1 und der Casein-Kinase 2 an Serin 129 und 87 phosphoryliert wird (Okochi et al., 2000). Physiologisch findet man in gesunden Gehirnen weniger als 5% des  $\alpha$ -Synucleins an Serin 129 phosphoryliert, wohingegen bei Patienten mit Parkinson-Syndromen ca. 89% an Serin 129 phosphoryliert ist (Visanji et al., 2011). Katecholamine, wie z. B. Dopamin interagieren mit  $\alpha$ -Synuclein, was wiederum dessen Aggregation zu verhindern scheint (Chua & Tang, 2011). Man nimmt an, dass  $\alpha$ -Synuclein einen maßgeblichen Einfluss auf die Freisetzung von Neurotransmittern hat (Liu et al., 2004) und am Aufbau des präsynaptischen Vesikel-Pools beteiligt ist (Cabin et al., 2002). Lewy-Körperchen, Einschlusskörperchen im Cytoplasma von Neuronen und Lewy-Neuriten sowie axonale Ablagerungen bei Morbus Parkinson, enthalten  $\alpha$ -Synuclein. An bevorzugten Stellen der

Proteinablagerungen (Substantia nigra, Locus coeruleus) konnte man einen Untergang von Neuronen nachweisen (Wakabayashi et al., 2007). Weiterhin wird angenommen, dass die  $\alpha$ -Synuclein Aggregate eine mitochondriale Dysfunktion begünstigen (Langston et al., 1983; Winklhofer & Haass, 2010). Man nimmt an, dass  $\alpha$ -Synuclein vom enterischen Nervensystem durch synaptische Zell-zu-Zell-Übertragung über sympathische und parasympathische Nerven zum ZNS gelangt (Klingelhoefer & Reichmann, 2015). Mittlerweile gibt es Hinweise, dass eine größere Anzahl der  $\alpha$ -Synuclein-Aggregate nicht in Lewy-Körperchen, sondern präsynaptisch in kleinen Ablagerungen lokalisiert ist (Kramer & Schulz-Schaeffer, 2007). Diese Aggregate könnten eine synaptische Dysfunktion verursachen und für die neurodegenerativen Symptome verantwortlich sein. In Untersuchungen bei Patienten mit einer Lewy-Körperchen-Demenz fand man Zusammenhänge zwischen dem fast vollständigen Verlust von Dendriten und der präsynaptischen Akkumulation kleiner  $\alpha$ -Synuclein-Ablagerungen (Kramer & Schulz-Schaeffer, 2007). Weiterhin postulierten Milber et al., dass der Untergang von Neuronen und die zelluläre Dysfunktion den Lewy-Körperchen vorausgehen (Milber et al., 2012). Man nimmt an, dass Lewy-Körperchen das Resultat einer zytoprotektiven Antwort sind, um potentiell schädliche Proteine abzubauen (Ardley et al., 2003; McNaught et al., 2002).

### **1.10 Tyrosinhydroxylase**

Die Tyrosinhydroxylase (TH) ist das geschwindigkeitsbestimmende Enzym in der Dopamin-Synthese, welches Tyrosin zu L-Dopa umwandelt (Gerlach et al., 2003). Die Regulation der TH-Aktivität erfolgt durch Phosphorylierung dreier Serine, Serin 19, 31 und 40 (Gordon et al., 2008). Es wird angenommen, dass es zu einer Interaktion zwischen  $\alpha$ -Synuclein und der Tyrosinhydroxylase kommt, die vermutlich zu einer Reduktion der TH-Aktivität führt (Perez et al., 2002). Weiterhin wurden in Hautbiopsien bei Patienten mit M. Parkinson  $\alpha$ -Synuclein- Ablagerungen vor allem in TH positiven Nervenfasern entdeckt (Doppler et al., 2014).

## **1.10 Neuropeptide**

### **1.10.1 Vasoaktives intestinales Peptid**

Vasoaktives intestinales Peptid (VIP) ist ein Neuropeptid und besteht aus 28 Aminosäuren. Hauptbildungsort stellt der Gastrointestinaltrakt dar (Heinrich et al., 2014). Es ist weit verbreitet und kommt nicht nur im Gastrointestinaltrakt sondern auch in der Lunge, im zentralen und im peripheren Nervensystem vor. VIP ist an verschiedenen Prozessen wie zum Beispiel der Vasodilatation und der Relaxation der glatten Muskulatur beteiligt. In der Haut kommt VIP vor allem an ekkrinen Schweißdrüsen, aber auch an Gefäßen und freien Nervenendigungen vor. Hier agiert das Neuropeptid vorwiegend als starker Vasodilatator und fördert an Schweißdrüsen die Schweißsekretion und die Akkumulation von Adenosinmonophosphat (Hautmann et al., 1999; Morell et al., 2012). In einer Studie mit Katzen wurde gezeigt, dass VIP an Acetylcholinesterase-reichen, cholinergen sympathischen Nervenfasern vorzufinden ist (Lundberg et al., 1982). In verschiedenen Studien wurde die Verteilung von VIP in der Haut untersucht. Die Gruppe um Maria Nolano fand beispielsweise eine für VIP untypische Verteilung in der papillären Dermis der Haut von Patienten mit M. Parkinson (Nolano et al., 2008). Eine andere Gruppe um Morihiro Kawada fand bei Patienten, die an M. Parkinson erkrankt waren eine reduzierte Expression von VIP in den Nervenfasern um Schweißdrüsen (Kawada et al., 2009).

### **1.10.2 Substanz P**

Substanz P (SP) ist ein Neuropeptid und gehört zu den Tachykininen. Es stammt von einem Vorläuferprotein, Präprotachikinin A, ab. Tachikinine kommen vor allem im ZNS vor. Die höchsten Konzentrationen an SP finden sich in den Basalganglien, der Amygdala, im Locus coeruleus und in den Raphekernen. Weiterhin findet sich SP an primär afferenten Neuronen. In der Haut kommt es vor allem an freien Nervenenden und an Gefäßen vor, aber auch an Schweißdrüsen. Es spielt eine entscheidende Rolle bei der Schmerzweiterleitung. Als Cotransmitter wird es zusammen mit Glutamat aus



den zentralen Nervenendigungen der primär afferenten Neuronen freigesetzt und wirkt exzitatorisch an der ersten Synapse der Schmerzbahn. Es ist außerdem ein starker Vasodilator und erhöht die Gefäßpermeabilität (Freissmuth et al., 2012; Lotti et al., 1995). Es wird angenommen, dass SP unter anderem durch die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine den dopaminergen Zellverlust im ZNS verstärkt (Thornton & Vink, 2015; Wang et al., 2014). In früheren Studien fanden sich reduzierte SP Konzentrationen im Putamen von Patienten mit M. Parkinson (Fernandez et al., 1996). In Hautbiopsien von Parkinson Patienten aus dem Bereich des Rückens, Ober- und Unterschenkels zeigte sich ein Verlust von SP positiven intraepidermalen Nervenfasern (Doppler et al., 2014).

### **1.10.3 Calcitonine gene related peptide**

Calcitonine gene related peptide (CGRP) ist ein Neuropeptid, bestehend aus 37 Aminosäuren. Es wird im Hypothalamus gebildet und wird vor allem in Neuronen des zentralen und peripheren Nervensystems exprimiert. Man findet CGRP vor allem in C- und Ad- Fasern mit perivaskulärer Lokalisation. CGRP wird oft zusammen mit SP gefunden. Es ist der stärkste mikrovaskuläre Vasodilator, wirkt als Chemokin für eosinophile Granulozyten und ist an der Schmerzentstehung beteiligt (Heinrich et al., 2014; Russell et al., 2014).

## **1.11 Synaptische Proteine**

### **1.11.1 Synaptophysin**

Synaptophysin ist ein membranöses Glykoprotein von synaptischen Vesikeln. Man findet es in allen Neuronen und endokrinen Zellen. Die genaue Funktion von Synaptophysin ist bislang noch nicht bekannt. Man vermutet, dass es eine Rolle bei der vesikulären Endozytose spielt ("Synaptophysin 1, "). Eine Studie mit genetisch veränderten Mäusen für humanes  $\alpha$ -Synuclein zeigte eine ungleichmäßige Verteilung von Synaptophysin im Striatum der veränderten Mäuse im Vergleich mit gesunden Kontrollmäusen (Garcia-Reitböck et al., 2010).

### **1.11.2 Synaptosom assoziiertes Protein von 25 kD**

Synaptosom assoziiertes Protein (SNAP 25) gehört zum SNARE-Komplex. Der SNARE-Komplex ist an der Fusion von Vesikeln beteiligt und besteht aus dem vesikulären SNARE-Protein Synaptobrevin und den beiden target-SNARE-Proteinen Syntaxin und SNAP-25. Aus diesen wird ein stabiler Komplex aus vier  $\alpha$ -Helices gebildet, welcher für die Anlagerung der Vesikelmembran an die Plasmamembran sorgt. Die Fusion wird durch eine calciumabhängige Konformationsänderung des Vesikeltransmembranproteins Synaptotagmin ausgelöst (Heinrich et al., 2014). SNAP-25 ist ein Schlüsselsubstrat des CSP $\alpha$ /SGT/Hsc70 Komplexes. Es ist normalerweise ungefaltet, wird jedoch während jeder synaptischen Vesikelfusion gefaltet. Der CSP $\alpha$ /SGT/Hsc70 Komplex bringt SNAP 25 zusammen mit Syntaxin 1 und Synaptobrevin 2/VAMP 2 in den SNARE-Komplex (Sharma et al., 2011). Es wird angenommen, dass die synaptische Ansammlung von  $\alpha$ -Synuclein zu einer Umverteilung der SNARE-Proteine SNAP -25, Syntaxin 1 und Synaptobrevin 2, einer hiermit verbundenen reduzierten Exozytose-Rate und einer verminderten Dopamin Freisetzung führt (Garcia-Reitböck et al., 2010). Als Schlussfolgerung dieser Ergebnisse vermutet man, dass die Parkinson-Erkrankung an den Synapsen beginnen könnte und über eine axonale Degeneration im Striatum zu einer Degeneration der dopaminergen Neurone in der Substantia nigra führen könnte (Garcia-Reitböck et al., 2010).

### **1.12 Zielsetzung und Hypothese der Arbeit**

M. Parkinson wird derzeit als Multisystemerkrankung verstanden. In der vorliegenden Arbeit sollte daher in Hautbiopsien die autonome Beteiligung mithilfe der Beurteilung von Schweißdrüsen untersucht werden. Die Arbeit sollte zeigen, ob die Schweißdrüsen-Innervation bei Patienten mit Morbus Parkinson reduziert ist und ob es eine Korrelation mit  $\alpha$ -Synuclein-Pathologien in der Haut gibt. Zum anderen wird die Rolle der synaptischen Dysfunktion in der aktuellen Parkinsonforschung intensiv diskutiert. Daher sollte die Verteilung der SNARE-Proteine an den Synapsen zwischen Hautnerven und Schweißdrüsen untersucht werden.

### **1.12.1 Hypothese**

1. Die autonome Innervation von Schweißdrüsen ist bei Patienten mit M. Parkinson reduziert.
2. Bei Parkinson-Patienten kommt es zu einer gestörten Verteilung synaptischer Proteine an autonom regulierten Schweißdrüsen.
3. Die Untersuchung von dermalen  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen in Hautbiopsien kann in der Frühdiagnostik des M. Parkinson eingesetzt werden.

### **1.12.2 Zielsetzung**

1. Untersuchung der autonomen Beteiligung bei M. Parkinson anhand der dermalen Schweißdrüseninnervation.
2. Untersuchung der Verteilung der SNARE-Proteine an dermalen Schweißdrüsen.

## **2. Patienten, Material und Methoden**

### **2.1 Patientenkollektiv**

Die biometrische Planung basierte auf der primären Hypothese, dass die Innervation von Schweißdrüsen bei Patienten mit M. Parkinson im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen reduziert ist. Basierend auf bestehenden Studien mit ähnlichem Studiendesign (Dabby et al., 2006) gingen wir von einer Effektgröße von 0,81 aus. Für den zweiseitigen Mann-Whitney-U-Test ergibt sich bei einer Power von 0,85 und einem Signifikanzniveau von 0,05 eine erforderliche Fallzahl von 30 Personen pro Gruppe.

Anhand dieser Planung wurden in die Studie 30 Patienten (14 Frauen, 16 Männer) mit M. Parkinson und 19 Patienten (4 Frauen, 15 Männer) mit atypischem Parkinson-Syndrom eingeschlossen. Weiterhin wurden 30 gesunde Probanden (14 Frauen, 16 Männer) rekrutiert. Der Altersdurchschnitt der Patienten mit idiopathischem M. Parkinson lag bei 66,1 Jahren (von 46 bis 85 Jahre), der der atypischen Parkinson Patienten bei 70 Jahren (von 59 bis 79 Jahre). Das gesunde Probandenkollektiv zeigte einen Altersdurchschnitt von 54,4 Jahren (von 23 bis 77 Jahre). Alle Patienten wurden im Zeitraum von 2012 bis 2015 einerseits an der neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Würzburg, andererseits an der Paracelsus-Klinik Kassel rekrutiert, wo sie sich jeweils zur stationären bzw. ambulanten Diagnostik und Behandlung befanden. Zu Beginn legten wir einige Ein- und Ausschlusskriterien fest. Die M. Parkinson-Patienten wurden basierend auf den Diagnosekriterien der United Kingdom Parkinson's disease Society Brain Bank (Hughes et al., 2002), die Patienten mit atypischem Parkinsonsyndrom basierend auf den Gilman Kriterien (Gilman et al., 2008) in die Studie eingeschlossen. Es wurden keine Patienten in die Studie eingeschlossen, bei welchen aufgrund von Vorerkrankungen oder Genussgiften eine Beeinträchtigung der peripheren Nerven vermutet wurde. Kriterien für den Studienausschluss stellten die Vordiagnosen eines Diabetes mellitus, einer Polyneuropathie und eines chronischen Alkoholabusus dar. Die Kontrollgruppe wurde zum einen aus Patienten, die wegen einer anderen Erkrankung (z.B.

Schwindel, Migräne, transitorische ischämische Attacke) am Universitätsklinikum Würzburg behandelt wurden, rekrutiert, andererseits nahmen Angestellte der Klinik und Familienangehörige an der Studie teil. Die Kontrollpersonen durften weder klinische Merkmale einer Parkinsonerkrankungen, noch einer Erkrankung des peripheren Nervensystems aufweisen. Auch hier galten die oben genannten Ausschlusskriterien. Alle Studienteilnehmer wurden sowohl mündlich als auch schriftlich über die Studie aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Studie wurde von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Würzburg positiv bewertet (Nr. 94/11).

## **2.2. Klinische Untersuchungen**

### **2.2.1 Schweregrad/Erkrankungsdauer/Medikation**

Der Schweregrad der Parkinson-Erkrankung wurde durch die Einteilung von Höhn und Yahr (Hoehn & Yahr, 1967) differenziert. Bei allen Patienten wurden der Zeitpunkt der Erstmanifestation der Erkrankung und die Erstdiagnose eines Parkinson -Syndroms anamnestisch eruiert. Des Weiteren wurden die Familienanamnese und relevante Vorerkrankungen durch Anamnese und Durchsicht der Krankenakte dokumentiert. Zudem wurden die Patienten hinsichtlich der Medikamenteneinnahme befragt. Zum einen wurden alle relevanten Parkinson- Pharmaka erfasst, zum anderen die kumulative Levodopa-Dosis seit der ersten Einnahme errechnet.

### **2.2.2 Fragebögen zum Parkinson-Syndrom**

Die Schwere und damit Beeinträchtigung durch die nicht-motorischen Symptome wurde durch zwei standardisierte Fragebögen erhoben, zum einen durch die deutsche Fassung der „Non-motor symptom assessment scale for Parkinson’s disease“ (NMSS) (Storch et al., 2010), zum anderen durch Teil eins der „Unified Parkinson’s disease rating scale“ (UPDRS) (Goetz et al., 2008). Der NMSS-Fragebogen testet ausschließlich nicht motorische Symptome. Er besteht aus neun Bereichen mit 30 Fragen, die autonome und andere nicht-motorische Funktionsstörungen erfassen sollen. Der Patient muss einerseits die

Schwere der Symptome, andererseits die Häufigkeit der Symptome auf einer Skala festlegen. Die UPDRS besteht aus vier Teilen. Im ersten Teil werden nicht-motorische Beeinträchtigungen im täglichen Leben, wie beispielsweise Tagesmüdigkeit oder depressive Stimmung, erfragt. Der zweite Teil erfragt motorische Beeinträchtigungen im alltäglichen Leben, wobei beispielsweise Probleme beim Sprechen oder Schreiben betrachtet werden. Der dritte Teil umfasst die klinische Überprüfung der motorischen Fähigkeiten und im letzten Teil wird der Patient nach motorischen Komplikationen, wie Dyskinesien oder Dystonien befragt.

### **2.2.3 Blutentnahmen**

Um einen Vitaminmangel, wie er als Folge der Levodopa-Therapie beschrieben ist (Rajabally & Martey, 2011; Toth et al., 2008), als Ursache für einen Nervenfaserverlust auszuschließen und um andererseits eine mögliche medikamentenassoziierte Neuropathie durch Levodopa Toxizität nachweisen zu können, wurden Vitamin B12, Vitamin B6, Folsäure, Homocystein und Methylmalonsäure bei allen Patienten im Serum bestimmt.

### **2.2.4 Elektroneurografie**

Um eine Beteiligung großkalibriger Fasern im Sinne einer Polyneuropathie auszuschließen, erhielten die Patienten und Patientinnen eine elektrophysiologische Untersuchung des N. suralis nach einem standardisierten Protokoll (Kimura, 2001). Durchgeführt wurde eine sensible antidrome Neurographie des Nerven. Die Stimulation erfolgte im Bereich der Wadenmitte, abgeleitet wurde mit Oberflächenelektroden hinter dem Malleolus lateralis. Eine reduzierte Nervenleitgeschwindigkeit deutet auf Läsionen der Myelinscheide, eine Verringerung des sensiblen Nervenaktionspotenzials auf Läsionen des Axons hin. Als standardisierte untere Normwerte gelten in unserem elektrophysiologischen Labor für <65-Jährige eine Amplitude  $\geq 10\mu\text{V}$ , für >65-Jährige eine Amplitude  $\geq 5\mu\text{V}$  und für alle Altersgruppen eine NLG  $>40\text{m/s}$ .

### **2.2.5 Quantitative sensorische Testung**

Anhand der quantitativen sensorischen Testung (QST) können isolierte Neuropathien der kleinen dünn bemarkten und unbemarkten Nervenfasern, sogenannte Small-fiber-Neuropathien, welche in der Neurographie nicht nachweisbar sind, detektiert werden. Die PatientInnen und Kontrollpersonen wurden im QST-Labor der Neurologischen Klinik nach dem standardisierten Protokoll des Deutschen Forschungsnetzwerks für Neuropathischen Schmerz (DFNS) (Rolke et al., 2006) getestet (QST-Gerät: Somedic, Hörby, Schweden). Jedoch erhielten nicht alle Patienten eine QST. 9 Patienten der Paracelsus-Klinik Kassel konnten nicht getestet werden, da die Untersuchungen nicht an der Uniklinik Würzburg erfolgten. Bei 9 weiteren Patienten des Universitätsklinikums war die Untersuchung aufgrund mangelnder Mobilität oder kognitiven Einschränkungen nicht möglich. Die Messungen erfolgten standardisiert an der Wange als Kontrollregion und am Fußrücken als Testareal. Zum einen wurden Temperatur- und Schmerzempfinden getestet, um die Funktion der dünn- und unbemarkten Nervenfasern zu erfassen. Zum anderen wurde die Oberflächensensibilität, welche durch die dickbemarkten Nervenfasern vermittelt wird, getestet. Im Einzelnen überprüft die QST die Schwelle für Wärme- und Kälteempfinden (warm-/cold detection threshold, WDT/CDT), die Schwelle für das Empfinden alternierender Wärme- und Kältereize (thermal sensory limen, TSL), die Schwelle für schmerzhaftes Hitze- und Wärmeempfinden (cold/heat pain threshold, CPT/HPT), die Schwelle für taktile Reize (mechanical detection threshold, MDT), die Schwelle für schmerzhaft mechanische Reize (mechanical pain detection threshold, MPPT), die Empfindlichkeit für schmerzhaft mechanische Reize (mechanical pain sensitivity, MPS), die Allodynie (dynamic mechanical allodynia, DMA), das sogenannte wind-up ratio (WUR), die Pallästhesie (vibration detection threshold, VDT) und die Schwelle für das Empfinden schmerzhaften lokalen Druckes (pressure pain threshold, PPT).

## **2.2.6 Hautstanzbiopsien**

Alle Patienten und Kontrollpersonen erhielten eine Hautbiopsie des Unterschenkels (10 cm oberhalb des Malleolus lateralis), des Oberschenkels (12 cm unterhalb der Spina iliaca anterior), des Rückens (Höhe TH12) und des Zeigefingers (lateral an der Phalanx proximalis). Die vier Biopsieorte wurden zuerst sorgfältig desinfiziert. Anschließend wurde an jeder der Entnahmestellen ca. 1ml des Lokalanästhetikums Scandicain 1% injiziert. Unter sterilen Bedingungen wurde mithilfe einer Hautstanze ein 5mm großes Stück Haut an Unterschenkel, Oberschenkel und Rücken und ein 3 mm großes Stück Haut am Zeigefinger entnommen. Die Wundflächen wurden mit Klammerpflastern versorgt. Die entnommenen Hautproben wurden für 30 min in 4% Paraformaldehyd fixiert. Nachfolgend wurden die Proben dreimal in 0,1 M Phosphatpuffer gewaschen und schließlich über Nacht in 10% Saccharose bei 4°C gelagert. Zur Vorbereitung auf die Immunhistochemie wurden die Proben in Tissue-Tec eingebettet und kryokonserviert.

## **2.3. Immunhistochemie**

Bei allen Proben wurden Fluoreszenz-Färbungen durchgeführt. Von den kryokonservierten Proben wurden am Mikrotom (CM 3050S, Leica, Wetzlar, Deutschland) 40 µm bzw. 20 µm Schnitte angefertigt und auf Super Frost Objektträger aufgebracht, für 30 min luftgetrocknet und bei -33°C eingefroren. Zur Immunofluoreszenz-Färbung wurden die Schnitte wieder aufgetaut und 30 min an der Luft getrocknet. Anschließend wurden die Proben in 10% BSA in PBS geblockt. Nach 30 min wurde die Blockierungslösung durch Abklopfen entfernt und der Primärantikörper aufgetragen. Dieser wurde bei Raumtemperatur (Anti-PGP 9.5) bzw. -20°C (alle weiteren Antikörper) über Nacht inkubiert. Am darauffolgenden Tag wurden die Schnitte dreimal in PBS gewaschen und anschließend mit dem Fluoreszenz-konjugierten Sekundärantikörper für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden die Proben dreimal in PBS gewaschen und schließlich mit Vectashield (Vectashield Mounting Medium with DAPI, Vector Laboratories, Burlingame, USA) eingedeckt.



### **2.3.1 PGP 9.5**

Für die Beurteilung der intraepidermalen Nervenfasern wurden jeweils drei 40 µm dicke Schnitte eines Präparates verwendet. Es wurde eine Einfachfärbung mit dem axonalen Marker anti-PGP9.5 verwendet (Kaninchen-Ak, Ultracclone Limited, Isle of Wight, England, 1:800). Als Sekundärantikörper wurde ein Alexa Fluor Cy3 Antikörper (Cy<sup>TM</sup> 3 konjugierter Ziegen-Ak gegen Kaninchen-Antigene, Jackson ImmunoResearch, Pennsylvania, USA, 1:50) verwendet.

#### **2.3.1.1 Bestimmung der intraepidermalen Nervenfaserdichte**

Zur Bestimmung der IENFD wurden die mit PGP 9.5 Antikörpern inkubierten Schnitte an einem Mikroskop (Axiophot 2, Zeiss, Göttingen, Deutschland) mit einer Axiocam MRm Kamera (Zeiss) und der SPOT Software (Diagnostic Instruments, Inc, Sterling Heights, Michigan, USA) ausgewertet. Für jedes einzelne Präparat wurden die Länge und Breite der Epidermis und die Anzahl der intraepidermalen Nervenfasern bestimmt. Zur Längenbestimmung der Epidermis wurden Bilder jedes Präparates mit einer 2,5-fachen Vergrößerung, zur Breitenbestimmung Bilder mit einer 40-fachen Vergrößerung angefertigt und die Längen- bzw. Breitenmaße mithilfe der SPOT Software ausgemessen. Die intraepidermale Nervenfaserdichte wurde anhand der publizierten standardisierten Zählregeln ermittelt (Lauria et al., 2005). Es wurden alle Nervenfasern gezählt, welche die Dermis/Epidermis-Grenze überschreiten. Fasern, die sich an genau dieser Grenze teilten wurden als einzelne Fasern berücksichtigt. Zuletzt wurde die intraepidermale Nervenfaserdichte mit dem Quotienten aus der gezählten Anzahl von Nervenfasern und der errechneten Länge des Schnittes bestimmt.

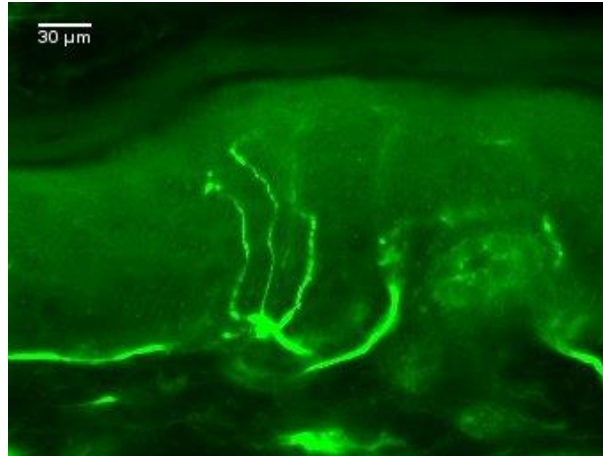


Abb. 1: PGP 9.5 positive intraepidermale Nervenfasern in der Epidermis einer gesunden Kontrollperson (Objektiv 40x)

### 2.3.2 Schweißdrüsen-Innervation

Zur Beurteilung der Schweißdrüsen-Innervation wurden pro Patient drei 20  $\mu\text{m}$  dicke Schnitte eines Präparates verwendet. Die Schnitte wurden mit verschiedenen Antikörpern gegen spezifische Neuropeptide und Enzyme bearbeitet. Es wurden immer Doppelfärbungen mit Antikörpern gegen phosphoryliertes  $\alpha$ -Synuclein (p-  $\alpha$ -Synuclein) verwendet, zum einen um Material zu sparen, zum anderen um gegebenenfalls die Kolokalisation der Bindung von anti-p- $\alpha$ -Synuclein und den folgenden Antikörpern nachweisen zu können.

#### 2.3.2.1 Vasoaktives intestinales Peptid und p- $\alpha$ -Synuclein

Zur Beurteilung der für vasoaktives intestinales Peptid (VIP) positiven Fasern wurde eine Doppelfärbung mit Antikörpern gegen VIP (Kaninchen-Ak, Immunostar, Hudson, USA, 1:1000) und Antikörpern gegen p- $\alpha$ -Synuclein (Maus- Ak, Covance, Princeton, USA, 1:500) verwendet. Als Zweitantikörper dienten ein Alexa Fluor Cy3-konjugierter- Antikörper gegen Maus-IgG (Cy<sup>TM</sup>3 Esel-Ak gegen Maus-Antigene, JacksonImmunoResearch, Pennsylvania, USA, 1:50) und ein Alexa Fluor Antikörper gegen Kaninchen-IgG (488 konjugierter Esel-Ak gegen Kaninchen-Antigen, Jackson ImmunoResearch, Pennsylvania, USA, 1:200).

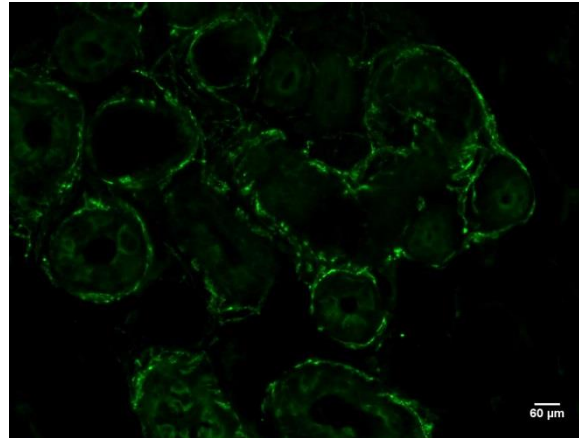


Abb.2: VIP-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli eines gesunden Probanden (Objektiv 20x)

### 2.3.2.2 Anti-Tyrosinhydroxylase und p- $\alpha$ -Synuclein

Zur Beurteilung der Innervation der Schweißdrüsen mit Tyrosinhydroxylase wurde eine Doppelfärbung mit Anti- Tyrosinhydroxylase (Meerschweinchen- Ak, Synaptic Systems, Göttingen, Deutschland, 1:500) und einem Antikörper gegen p- $\alpha$ -Synuclein verwendet. Als Zweitantikörper dienten ein Alexa Fluor Anti Meerschweinchen-Ak (488 konjugierter Ziegen-IgG-Ak gegen Meerschweinchen-Antigene, Jackson ImmunoResearch, Pennsylvania, USA, 1:200) und ein Alexa Fluor Cy3 Antikörper gegen Maus-IgG.

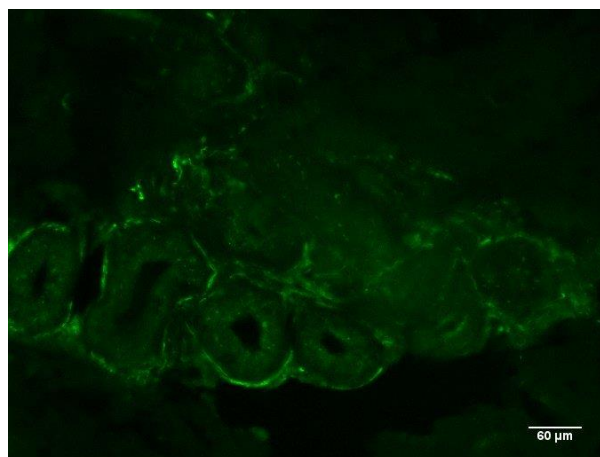


Abb. 3: TH-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli bei einem gesunden Probanden (Objektiv 20x)

### 2.3.2.3 Substanz P und p- $\alpha$ -Synuclein

Um die Substanz P (SP) positiven Fasern beurteilen zu können, wurden die Präparate mit Antikörpern gegen Substanz P (Kaninchen-Antikörper, Immunostar, Hudson, USA, 1:100) und Antikörpern gegen p- $\alpha$ -Synuclein gefärbt. Als Zweitantikörpern dienten dieselben Fluoreszenzantikörper, welche für die VIP-Färbung verwendet wurden.

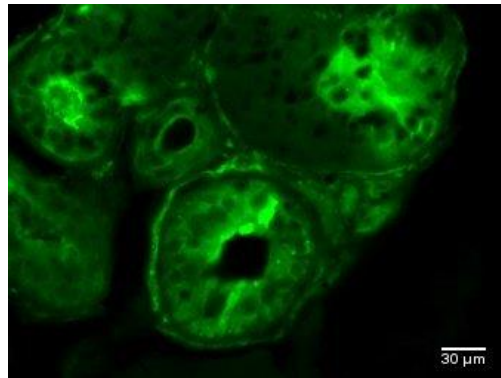


Abb. 4: SP-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli eines gesunden Probanden (Objektiv 40x)

### 2.3.2.4 Calcitonine gene related peptide und p- $\alpha$ -Synuclein

Zur Beurteilung der Calcitonine gene related peptide (CGRP) positiven, die Schweißdrüse umgebenden Fasern wurde eine Doppelfärbung mit Antikörpern gegen CGRP (Kaninchen-Ak, Peninsula Laboratories International, Inc, San Carlos, USA, 1:500) und wiederum dem Antikörper gegen p- $\alpha$ -Synuclein angefertigt. Als Zweitantikörper wurden erneut, die bei VIP beschriebenen Antikörper verwendet.

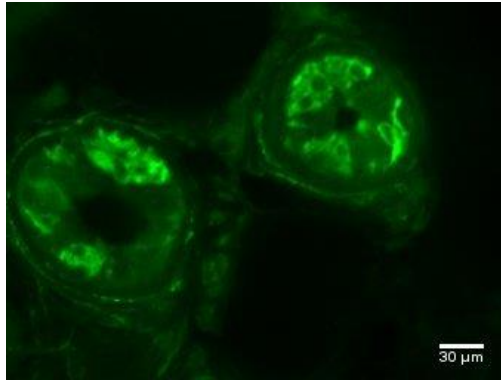


Abb. 5: CGRP-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli eines gesunden Probanden (Objektiv 40x)

### 2.3.2.5 Auswertung der Schweißdrüsen-Innervation

Die Auswertung der Innervation erfolgte an einem Fluoreszenz-Mikroskop (Ax10, Zeiss) mit CARV II System. Für die Innervation mit PGP 9.5 wurden mithilfe der Visiview Software (Visitron GmbH, Puchheim, Deutschland) Z-Stapel-Bilder mit einem Abstand von 0,5 $\mu$ m angefertigt. Hierzu wurde eine 20-fache Vergrößerung genutzt. Anschließend wurden die Bilder mit der ImageJ-Software (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA) bearbeitet. Es wurde eine Maximum-Projektion der Bilderstapel erstellt. Mithilfe der Flächenauswahl (Freehand selections) wurde der auszuwertende Bereich jeweils auf die abgebildeten Schweißdrüsentubuli beschränkt. Der Schwellenwert wurde mittels ImageJ mit dem Treshold-Modus und der Auswahl Default Red (15-255) ermittelt und daraus der prozentuale Anteil der gefärbten Fläche an der Gesamtfläche der Tubuli errechnet. Somit erhielt man einen Prozentwert, der angab wieviel Fläche der Tubuli tatsächlich innerviert waren. Für die restlichen Färbungen (*VIP*, *SP*, *TH*, *CGRP*) konnte diese Technik aufgrund erhöhter Hintergrund-Färbung nicht verwendet werden. Hier wurden jeweils alle Tubuli, die in einem Schnitt enthalten waren gezählt, anschließend alle Tubuli, die mindesten zur Hälfte von immunreaktiven Nervenfasern umrundet waren und schließlich der Quotient aus der Gesamtzahl der Tubuli und der Anzahl der von immunreaktiven Nervenfasern umrundeten Tubuli gebildet.

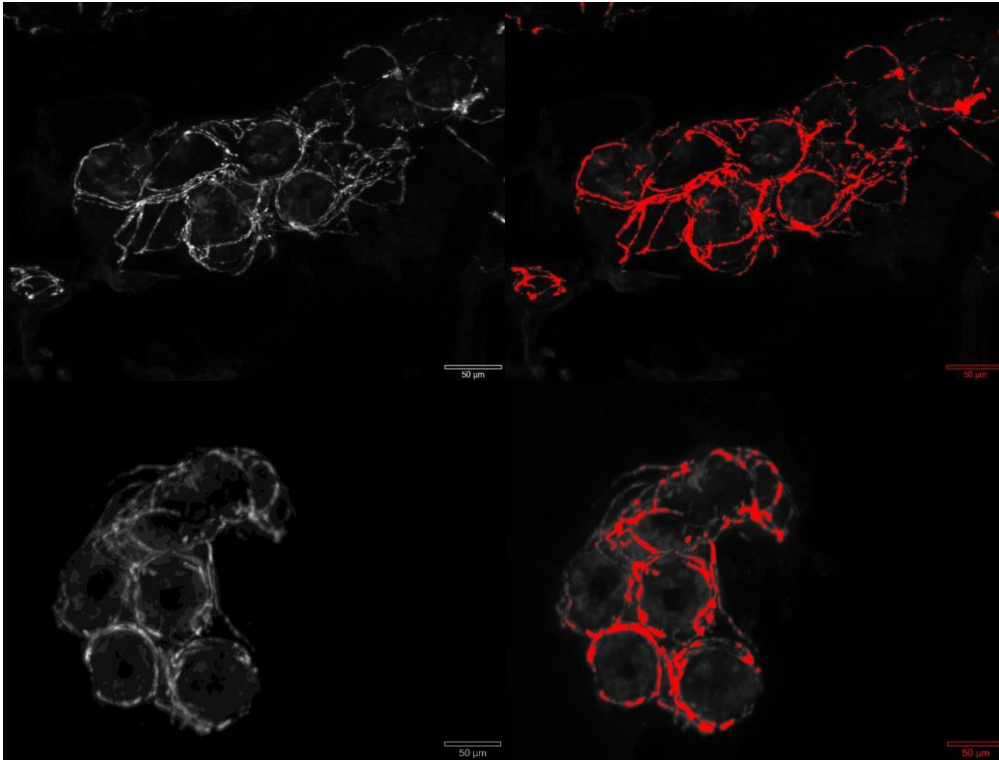
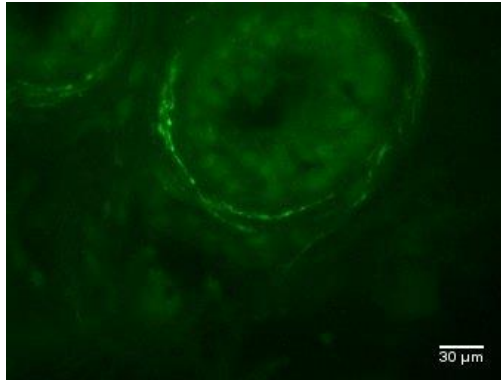


Abb. 6: von immunofluoreszierenden PGP 9.5 positiven Nervenfasern umrandete Schweißdrüsentubuli, oben: gesunder Proband, unten: Patient mit M. Parkinson

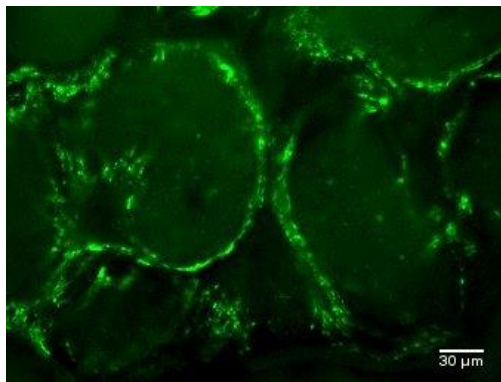
### 2.3.3 Veränderungen im Bereich der Synapsen der Schweißdrüsen

#### 2.3.3.3 SNAP 25 und Synaptophysin

Zur Untersuchung pathologischer Veränderungen an den Synapsen der Schweißdrüsen wurde eine Doppelfärbung mit einem Antikörper gegen das Synaptosom assoziierte Protein SNAP 25 (monoklonaler Maus-AK, synaptic systems, Göttingen, Deutschland, 1:500) und ein Antikörper gegen Synaptophysin (Kaninchen-Ak, Chemicon International, Hofheim am Taunus, Deutschland, 1:1000) verwendet. Als Zweitantikörper dienten ein Alexa Fluor Cy3 Antikörper gegen Maus-Antigene (s.oben) und ein Alexa Fluor Antikörper gegen Kaninchen-Antigene (s. oben).



*Abb. 7: SNAP 25-immunreaktive Nervenfasern um einen Schweißdrüsentubulus eines gesunden Probanden (Objektiv 40x)*



*Abb. 8: Synaptophysin-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli eines gesunden Probanden (Objektiv 40x)*

#### **2.3.3.4 Nicht-phosphoryliertes $\alpha$ -Synuclein und Synaptophysin**

Es wurde wiederum eine Doppelfärbung mit Antikörpern gegen Synaptophysin verwendet. Hinzu kamen Antikörper gegen nicht-phosphoryliertes  $\alpha$ -Synuclein (Maus-Ak, Acris Antibodies, San Diego, USA, 1:100). Als Zweitantikörper dienten abermals die oben genannten Alexa Fluor Cy3 Antikörper und Alexa Fluor Cy3 Antikörper gegen Maus-Antigene.

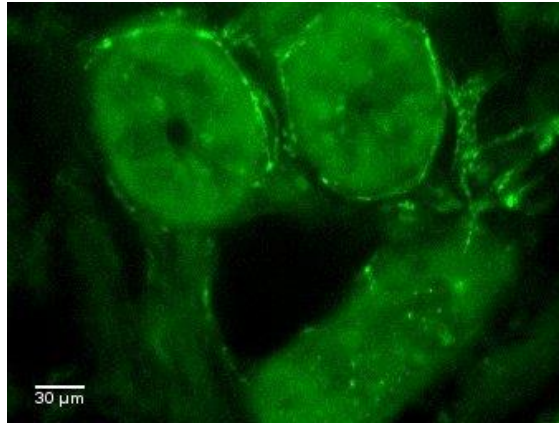


Abb. 9: Immunreaktive Nervenfasern für natives  $\alpha$ -Synuclein um Schweißdrüsentubuli eines gesunden Probanden (Objektiv 40x)

### 2.3.3.5 Auswertung der synaptischen Veränderungen

Zur Auswertung von Synaptophysin und nativem  $\alpha$ -Synuclein wurden wie oben bereits beschrieben zuerst alle Schweißdrüsen-Tubuli eines Präparates ausgezählt, danach alle Tubuli, die mindestens zur Hälfte vom Fluoreszenzsignal umgeben waren und anschließend der Quotient aus beiden Werten gebildet.

Zur Auswertung von SNAP 25 wurde eine semiquantitative Methode verwendet. Eine Auszählung der, die Schweißdrüsentubuli umgebenden Nervenfasern konnte bei dieser Färbung nicht erfolgen, da insgesamt zu wenig Fasern angefärbt waren. Die Schweißdrüsen-Tubuli eines Präparates wurden nach der Menge der gefärbten Nervenfasern beurteilt. Hierfür wurde eine Skala von 0-3 verwendet. Wobei 0 keine Anfärbung und 3 die größte Menge an immunreaktiven Nervenfasern bedeutet.

## 2.4 Statistische Auswertung der Daten

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der Software SPSS 21. Für die Mittelwert-Vergleiche wurden nach Überprüfung der Daten auf Normalverteilung mithilfe des Shapiro-Wilk-Testes entweder der Student-t Test für normal verteilte Daten oder der Mann-Whitney-U-Test für nicht normal verteilte Daten verwendet. Für den Vergleich dreier Gruppen bei der Auswertung der intraepidermalen Nervenfaserdichte wurde auf die einfaktorielle Varianzanalyse



und den Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben zurückgegriffen. Bei der einfaktoriellen Varianzanalyse erfolgte weiterhin eine Post-Hoc-Analyse nach Tamhane. Zur Prüfung von Korrelationen zwischen den untersuchten Parametern wurde bei Normalverteilung der Gruppen die Korrelation nach Pearson durchgeführt. Waren die Werte nicht normal verteilt wurde die Korrelation nach Spearman überprüft.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Klinische Daten

Es wurden insgesamt 49 Patienten (18 Frauen, 31 Männer) untersucht. Hierunter waren 30 Patienten mit der Diagnose eines M. Parkinson, die restlichen 19 Patienten hatten die Diagnose eines atypischen Parkinson-Syndroms (11 MSA, 5 PSP, 3 CBD). Die durchschnittliche Erkrankungsdauer der Patienten mit M.Parkinson lag bei 12,7 Jahren und der durchschnittliche Schweregrad der Erkrankung bei Stadium 3 nach Höhn & Yahr. Hingegen betrug die durchschnittliche Erkrankungsdauer der Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom 4,7 Jahre und der Schweregrad nach Höhn & Yahr lag durchschnittlich bei Stadium 4. (vgl. Tabelle 1)

	Idiopathischer Morbus Parkinson	Atypische Parkinson-Syndrome
Anzahl	30	19
♀	14	4
♂	16	15
Ø Alter (σ)	66,1 (8,9)	70 (5,6)
Ø Erkrankungsdauer (σ)	12,7 (8,8) Jahre	4,7 (3,5) Jahre
Ø H&Y Stadium (σ)	3 (1,1)	4 (0,9)
Ø UPDRS- Punkte (σ)	66,3 (24,9)	93,3 (41,5)
Ø NMS-Punkte (σ)	58 (45,8)	74,2 (43,9)

*Tabelle 1 Klinische Daten und Auswertung der Fragebögen im Überblick*

H&Y Stadium	Anzahl M. Parkinson	Anzahl atypische Parkinson-Syndrome
I	2	0
II	7	1
II-III	3	0
III	8	5
III-IV	2	1
IV	3	3
IV-V	1	3
V	4	6

*Tabelle 2: Anzahl der Patienten geordnet nach H&Y Stadium.*

### **3.2 Fragebögen**

Beim UPDRS Fragebogen ergab sich für die Patienten mit M. Parkinson ein Mittelwert von 66,3. Nach Befragung mithilfe des NMS-Fragebogen zeigte sich ein Durchschnittswert von 58,0. Betrachtete man hierbei nur die Werte der autonomen Symptome ergab sich ein Mittelwert von 19,8. Für die Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom lag der durchschnittliche Wert im NMS bei 74,2, im UPDRS bei 93,3. (vgl. Tabelle 1)

### **3.3 Laborchemie**

Die Vitamin B12 Werte waren mit einem medianen Wert von 369 pg/ml (s. Tabelle 3) bei keinem Patienten erniedrigt, wohingegen vier Patienten mit M. Parkinson erhöhte Werte der Methylmalonsäure im Blut zeigten, was auf einen latenten Vitamin B12 Mangel hindeutet. Weiterhin ließen sich bei drei Patienten mit M. Parkinson und einem Patienten mit PSP erniedrigte Vitamin B6 Spiegel im Blut nachweisen. Für die Auswertung der Homocystein-Werte ergab sich ein medianer Wert von 14,9 µmol/l (s. Tabelle 3). Dabei fielen 15 Patienten mit M. Parkinson, vier Patienten mit MSA und ein Patient mit PSP mit erhöhten Homocystein-Werten in der Laboranalyse auf. Es konnte keine Korrelation zwischen Homocystein-Spiegel und kumulativer Levodopa-Dosis nachgewiesen

werden. Allerdings ist eine signifikant positive Korrelation zwischen Erkrankungsschwere und Homocystein-Spiegel zu vermerken. (Höhn&Yahr und Homocystein: Korrelationskoeffizient 0,58 und  $p=0,004$ , UPDRS und Homocystein Korrelationskoeffizient 0,48 und  $p=0,02$ , NMS und Homocystein: Korrelationskoeffizient 0,46 und  $p=0,03$ )

	Normwerte	Median und Spannweite
Vitamin B12	197-866 pg/ml	369 (214-1734) pg/ml
Vitamin B6	3,6-18 ng/ml	10 (2-70) ng/ml
Folsäure	2-9,1 ng/ml	7,9 (2,7-17,8) ng/ml
Homocystein	5-13 $\mu\text{mol/l}$	14,9 (8,2-270,4) $\mu\text{mol/l}$
Methylmalonsäure	50-300 nmol/l	136,4 (1-423,8) nmol/l

*Tabelle 3: Mediane mit Spannweite der Vitamin-Bestimmungen.*

### 3.4 Elektrophysiologischer Befund

Betrachtet wurden bei der Suralis-Neurographie einerseits die Nervenleitgeschwindigkeit in m/s, andererseits die Amplitude der sensiblen Nervenaktionspotenziale (SNAP) in  $\mu\text{V}$ . Es zeigten sich bei einem Patienten mit M. Parkinson und einem Patienten mit PSP erniedrigte Nervenleitgeschwindigkeiten. Drei Patienten mit PSP, ein Patient mit MSA, ein Patient mit CBD und 9 Patienten mit M. Parkinson hatten ein erniedrigtes SNAP. Bei zwei Patienten mit MSA konnte keine Reizantwort abgeleitet werden. Es konnte keine Korrelation zwischen der SNAP-Amplitude und der Erkrankungsdauer sowie der Levodopa-Dosis festgestellt werden.

### 3.5 QST- Befund

Getestet wurden 17 Patienten mit M. Parkinson. Aufgrund einer Kooperation mit einer externen Klinik sowie körperlicher und kognitiver Einschränkungen verschiedener Patienten war es nicht möglich alle in die Studie eingeschlossenen Patienten mit M. Parkinson mithilfe der QST zu untersuchen. Die QST-Werte wurden anhand von Referenzdaten von Magerl et al.

ausgewertet (Magerl et al., 2010). Es konnten signifikante Unterschiede im Bereich der taktilen Empfindungsschwelle (MDT), der mechanischen Schmerzschwelle (MPT) und bei der Schmerzschwelle für mechanischen Druck (PPT) beobachtet werden. Bei der MDT zeigte sich bei der Patientengruppe am Testareal eine signifikant erhöhte Empfindungsschwelle ( $p=0,001$ ), das heißt die Patienten konnten mechanische Reize schlechter detektieren als Gesunde. Bei der MPT und der PPT zeigten sich sowohl im Bereich des Test- ( $p=0,007$  bzw.  $0,0001$ ) sowie im Bereich des Kontrollareals ( $p=0,006$  bzw.  $0,002$ ) signifikant niedrigere Schmerzschwellen bei der Patientengruppe, das heißt diese waren empfindlicher für mechanische Schmerzreize als Kontrollen. (s. Abb. 4).

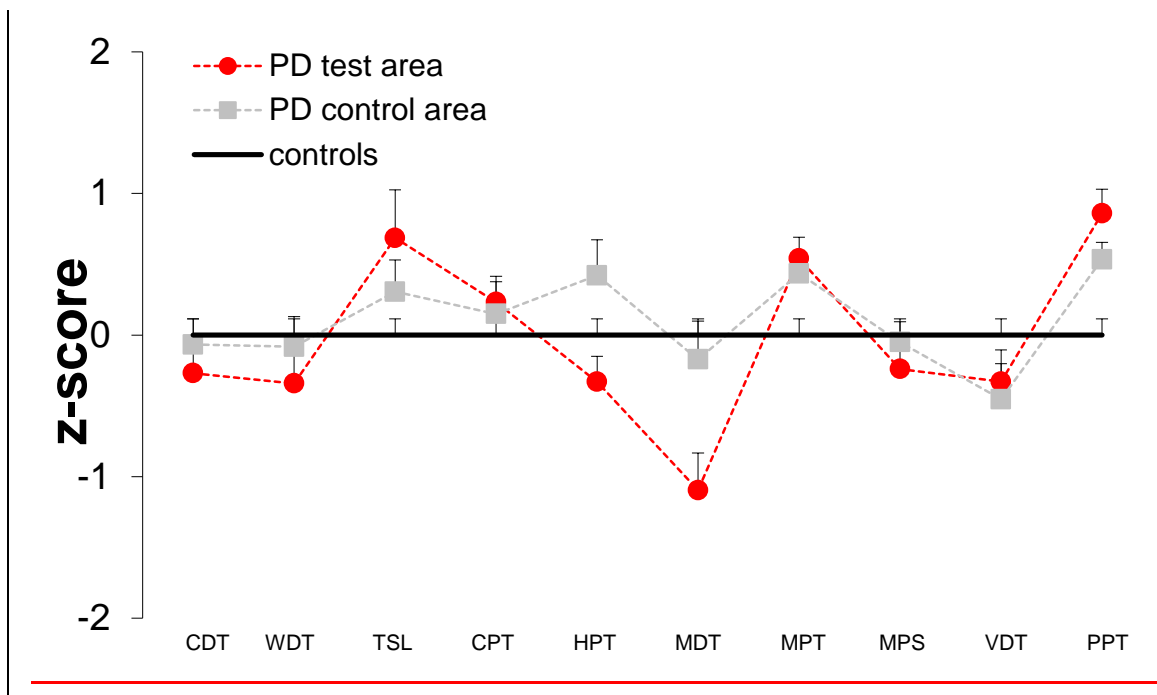


Abb. 10: Auswertung der QST-Ergebnisse M.Parkinson vs. gesunde Probanden mithilfe des Z-scores  
 Legende: CDT: Kaltdetektionsschwelle, WDT: Warmdetektionsschwelle, TSL: Temperaturunterscheidungsschwelle, CPT: Kälteschmerzschwelle, HPT: Hitzeschmerzschwelle, MDT: mechanische Detektionsschwelle, MPT: mechanische Schmerzschwelle, MPS: mechanische Schmerzsensibilität, VDT: Vibrationsdetektionsschwelle, PPT: Druckschmerzschwelle. Negative Z-Scores bedeuten Funktionsverlust, positive Z-scores bedeuten Funktionsgewinn.

## 3.6 Hautbiopsiebefunde

### 3.6.1 Intraepidermale Nervenfaserdichte

Die Nervenfasern im Unterschenkel wurden bei 28 Patienten mit M. Parkinson, 18 Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom und 30 gesunden Probanden untersucht. Die Nervenfasern im Oberschenkel wurden bei 30 Patienten mit M. Parkinson, 19 Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom und bei 30 gesunden Probanden bestimmt. Bei der Untersuchung der Nervenfasern im Rücken wurde bei 29 Patienten mit Morbus Parkinson, bei 19 Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom und bei 28 Kontrollpersonen die Nervenfaserdichte ermittelt. Für die im Finger untersuchten Nervenfasern lagen Präparate von 24 Patienten mit Morbus Parkinson, 10 untersuchten Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom 25 gesunden Probanden vor (s. Tabelle 4). Bei der Untersuchung der IENF im Unterschenkel und im Finger zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Die intraepidermale Nervenfaserdichte im Oberschenkel war bei der Gruppe der atypischen Parkinson-Patienten signifikant vermindert ( $p=0,041$ ) im Vergleich zu den gesunden Probanden (vgl. Abb. 11 und 13). Die markantesten Unterschiede fanden sich bei den IENF des Rückens. (s. Abb. 12 und 13) Hier war die Nervenfaserdichte sowohl bei der Gruppe der Patienten mit M. Parkinson als auch bei der Gruppe mit atypischen Parkinson-Syndromen signifikant vermindert im Vergleich mit den gesunden Kontrollpersonen ( $p$ -Wert jeweils 0,0001). Im Hinblick auf die Testung von Abhängigkeiten bestanden keine Korrelationen zwischen Alter und IENFD, Levodopa- Dosis und IENFD, MMA- bzw. Homocystein-Spiegel, sowie zwischen Nervenamplitude und IENFD, Vitamin B12-, Vitamin B6-, Folsäure-Spiegel und IENFD.

	M. Parkinson	Atypische Parkinson-Syndrome	Kontrollen
Unterschenkel	6,0 (1,9-14,4)	6,3 (0,1-11,5)	5,8 (1,3-12,3)
Oberschenkel	9,9 (1,5-19,0)	9,1 (1,5-18,8)*	11,9 (5,2-27,3)
Rücken	21,0 (6,4-33,3)*	19,6 (11,0-28,7)*	29,3 (14,0-46,7)
Finger	3,7 (0,6-9,3)	3,8 (1,3-7,0)	3,8 (1,1-9,3)

Tabelle 4: Mediane (mit Spannweite) der intraepidermalen Nervenfaserdichte in Nervenfasern/mm für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger. \* Signifikant reduzierte Nervenfaserdichte im Oberschenkel der atypischen Parkinson-Patienten ( $p=0,041$ ), im Rücken der M. Parkinson-Patienten ( $p=0,0001$ ) und im Rücken der atypischen Parkinson-Patienten ( $p=0,0001$ )

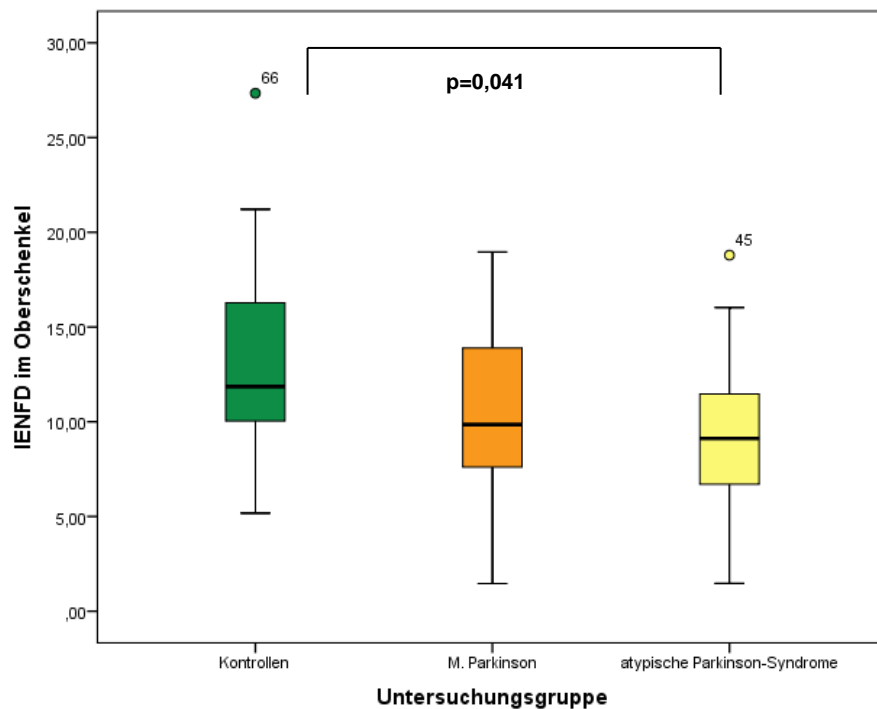


Abb. 11: Darstellung der Mediane der IENFD in Nervenfasern/mm im Oberschenkel mit einem signifikanten Unterschied zwischen atypischen Parkinsonpatienten und Kontrollen ( $p= 0,041$ )

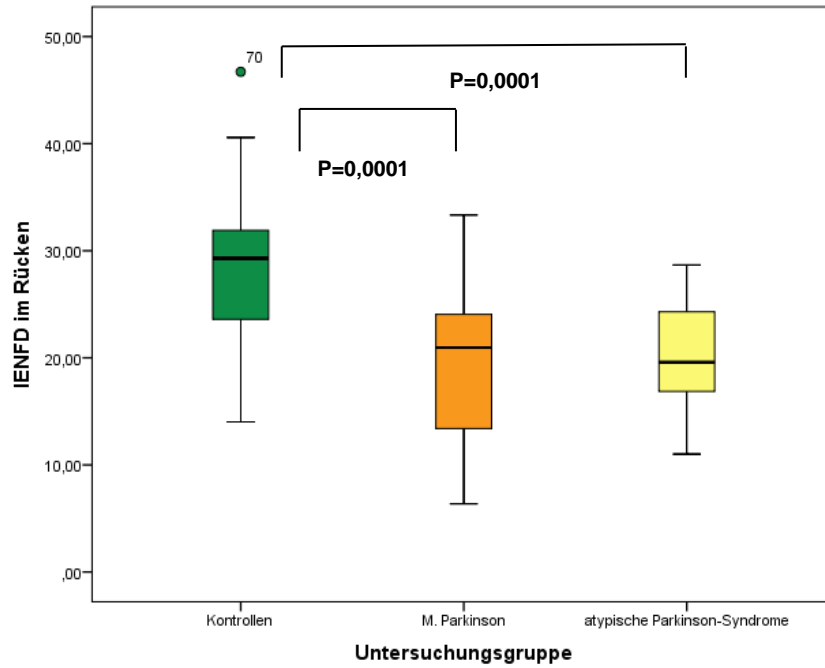


Abb. 12: Darstellung der Mediane der IENFD in NF/mm im Rücken mit einem signifikanten Unterschied zwischen Kontrollgruppe und der Gruppe der M. Parkinsonpatienten ( $p=0,0001$ ) sowie der atypischen Parkinsonpatienten ( $p=0,0001$ )

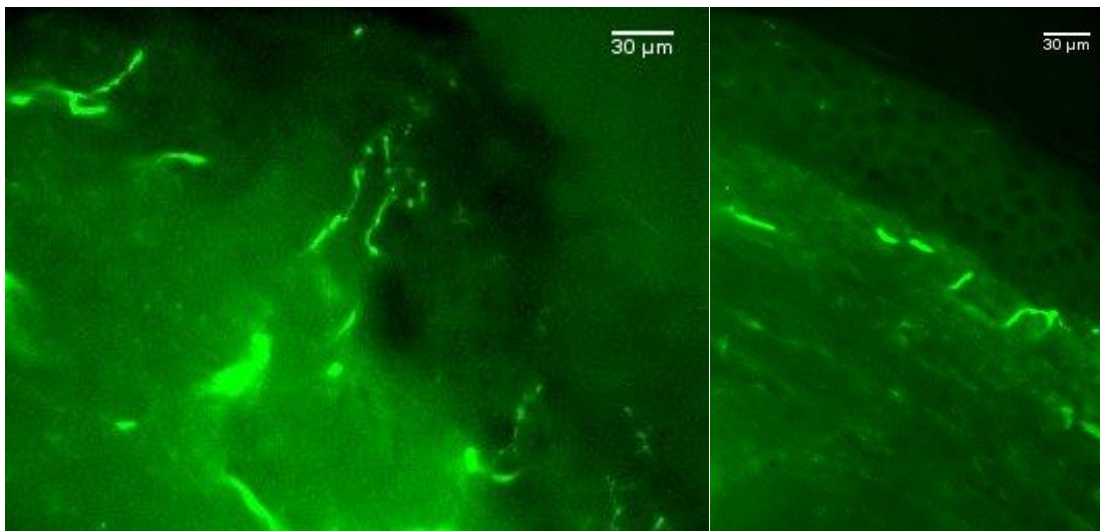


Abb. 13: PGP 9.5 positive intraepidermale Nervenfasern im Oberschenkel bei einem gesunden Probanden (links) und einem Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom (rechts) (Objektiv 40x)



### 3.6.2 Schweißdrüseninnervation mit PGP9.5-immunreaktiven Nervenfasern

Bei der Untersuchung der Schweißdrüsen-Innervation mit PGP9.5-immunreaktiven Nervenfasern fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit M. Parkinson und den gesunden Kontrollpersonen (vgl. Abb. 14). Im Unterschenkel betrug der mediane Prozentsatz der innervierten Fläche 11,6 (5,5-20,6) % bei den M. Parkinson Patienten und 12,2 (4,6-36,9) % bei den Kontrollpersonen. In den Hautbiopsien des Oberschenkels lag der mittlere Wert bei 15,5 (2,8-33,2) % der Fläche bei den Patienten und 15,8 (8,0-28,7) % bei der Kontrollgruppe. Bei den Biopsien des Rückens zeigte sich bei den Patienten eine mittlere innervierte Fläche von 17,8 (9,3-37,9) %, bei den Kontrollen eine Fläche von 19,2 (9,1-35,5) %. In den Biopsien des Fingers fanden sich mediane Werte von 10,5 (5,5-19,1) % für die Patientengruppe und 12,3 (0,2-19,8) % für die Kontrollgruppe. (vgl. Tabelle 5) Weiterhin konnte keine Korrelation zwischen der Schweißdrüsen-Innervation und dem Nachweis von p- $\alpha$ -Synuclein nachgewiesen werden.

PGP 9.5 positive Schweißdrüseninnervation	M. Parkinson	Kontrollen
Unterschenkel	11,6 (5,5-20,6) %	12,2 (4,6-36,9) %
Oberschenkel	15,5 (2,8-33,2) %	15,8 (8,0 -28,7) %
Rücken	17,8 (9,3-37,9) %	19,2 (9,1 -35,5) %
Finger	10,5 (5,5-19,1) %	12,3 (0,2-19,8) %

*Tabelle 5: Mediane (mit Spannweite) der PGP 9.5 positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger*

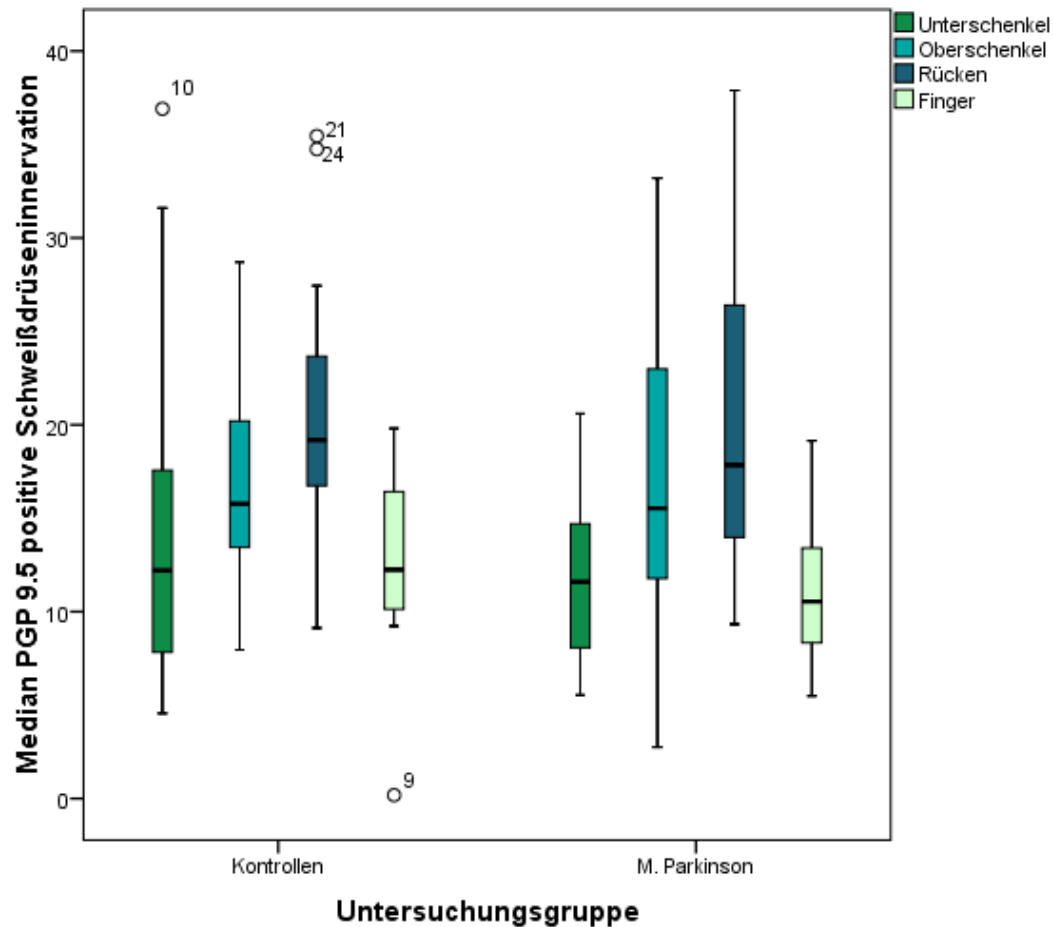


Abb. 14: Darstellung der PGP 9.5 positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent in Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger ohne signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe

### 3.6.3 VIP-positive Schweißdrüseninnervation

Bei der Untersuchung der VIP-immunreaktiven Schweißdrüseninnervation fand sich bei den Patienten mit M. Parkinson im Unterschenkel eine signifikante Reduktion (vgl. Abb. 15) im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe ( $p=0,008$ ). Der mediane Wert der Patienten lag hier bei 50 (6,3-100) % VIP-positiver Fläche, bei den Probanden lag der mediane Wert bei 63,3 (41,7-100) %. Keine signifikanten Unterschiede fanden sich hingegen bei den Hautbiopsien des Oberschenkel und des Rückens (s. Tabelle 6). Ein signifikanter Unterschied bestand auch bei den Biopsien des Fingers ( $p=0,043$ ). Hier zeigte sich eine signifikant angehobene Nervenfaserdichte bei den Patienten im Vergleich mit der Kontrollgruppe. Es konnten keine Korrelationen

zwischen der VIP-Nervenfaserdichte und p- $\alpha$ -Synuclein sowie Faktoren wie der Erkrankungsdauer, dem H&Y Stadium sowie den Skalen der beiden Fragebögen beobachtet werden.

VIP positive Schweißdrüseninnervation	M. Parkinson	Kontrollen
Unterschenkel	50 (6,25-100) % *	63,34 (41,67-100) %
Oberschenkel	72,11 (6,75-100) %	69,05 (28,57-93,34) %
Rücken	79,52 (0-100) %	78,57 (55,56-100) %
Finger	59,70 (18,18-100) % *	37,98 (0-66,22) %

Tabelle 6: Mediane (mit Spannweite der VIP positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger. \* Signifikant reduzierte VIP-positive Innervation im Unterschenkel ( $p=0,008$ ) und signifikant angehobene Innervation im Finger ( $p=0,043$ ) der Patienten.

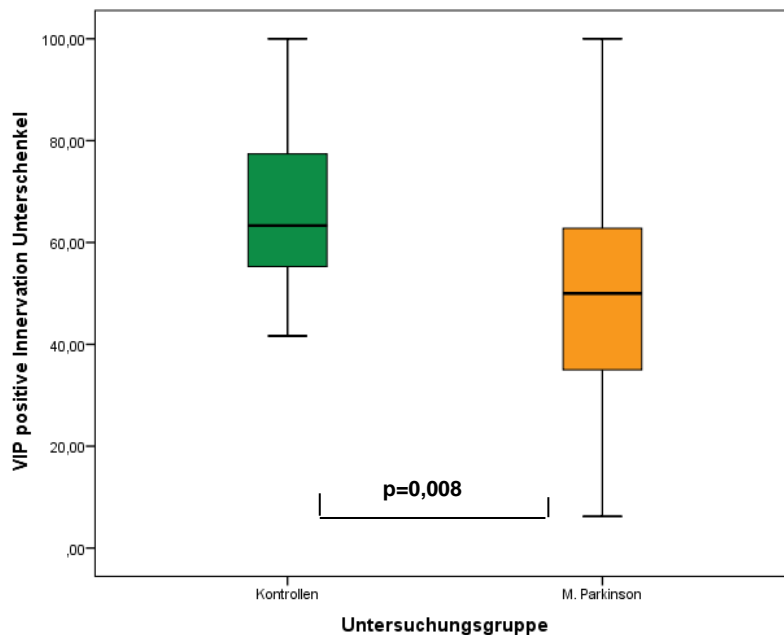


Abb. 15: Darstellung der Mediane der VIP-positiven Innervation der Schweißdrüsen in Prozent am Unterschenkel, signifikanter Unterschied zwischen M. Parkinson Patienten und Kontrollen ( $p= 0,008$ )

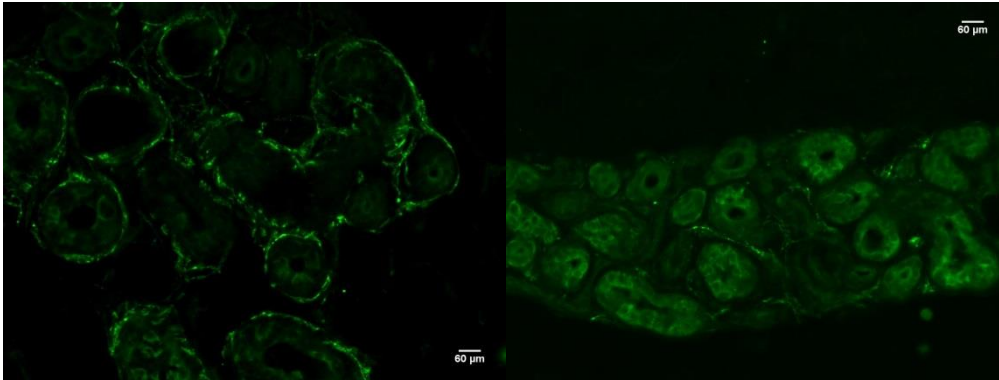


Abb. 16: VIP-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli im Unterschenkel eines gesunden Probanden (links) und eines Patienten mit M. Parkinson (rechts) (Objektiv 20x)

### 3.6.4 TH-positive Schweißdrüseninnervation

Die Untersuchung der TH-immunreaktiven Schweißdrüseninnervation erbrachte keine Unterschiede zwischen den M. Parkinson Patienten und den gesunden Probanden (s. Tabelle 7 und Abb. 17). Es konnte keine Korrelation zwischen der Nervenfaserdichte und dem Vorkommen von p- $\alpha$ -Synuclein nachgewiesen werden. Auch bestand keine Korrelation zwischen den Ergebnissen der Fragebögen und der Nervenfaserdichte. Allerdings zeigte sich eine negative Korrelation zwischen der TH-positiven Nervenfaserdichte (Korrelationskoeffizient -0,6) im Unterschenkel und dem Erkrankungsstadium nach H&Y ( $p=0,027$ ).

TH positive Schweißdrüseninnervation	M. Parkinson	Kontrollen
Unterschenkel	36,9 (0-82,4) %	56,6 (4,7-91,7)%
Oberschenkel	58,4 (0-87,5) %	50,4 (0-71,8) %
Rücken	55,6 (16,7-100) %	45,8 (7,9-91,3) %
Finger	23,1 (0-66,7) %	25,6 (0-48,2) %

Tabelle 7: Mediane (mit Spannweite) der TH positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger

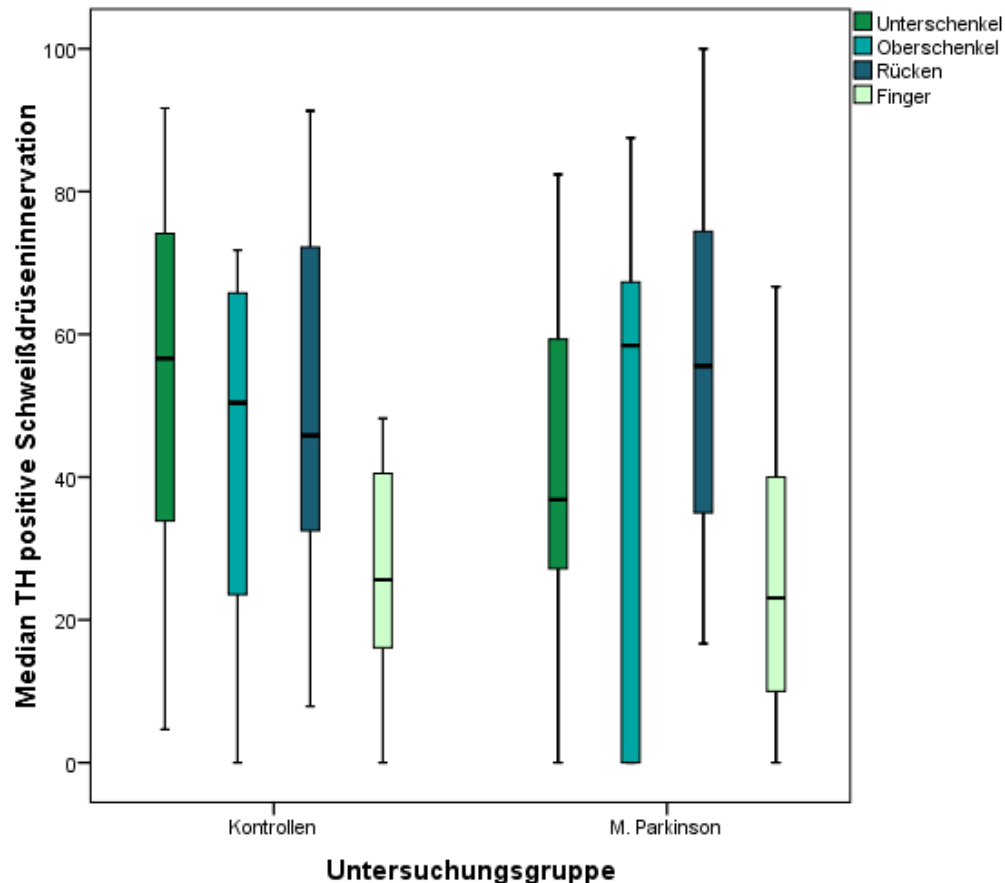


Abb. 17: Darstellung der TH-positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent in Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger ohne signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe

### 3.6.5 SP-positive Schweißdrüseninnervation

Die Untersuchung der Hautbiopsien im Hinblick auf die SP-immunreaktive Innervation der Schweißdrüsen ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe (s. Tabelle 8 und Abb. 18). Es zeigte sich eine gering reduzierte Dichte in Unterschenkel, Rücken und Finger der Patienten mit M. Parkinson verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe. Es ließen sich keine Korrelationen zwischen der SP-positiven Nervenfaserdichte und dem Vorhandensein von p- $\alpha$ -Synuclein, dem H&Y-Stadium sowie der UPDRS-Skala finden. Es fand sich eine positive Korrelation (Korrelationskoeffizient 0,8) zwischen der Dichte SP-positiver Nervenfasern im Finger und der Erkrankungsdauer ( $p=0,009$ ).

SP positive Schweißdrüseninnervation	M. Parkinson	Kontrollen
Unterschenkel	22,8 (0-100) %	48,1 (0-73,3) %
Oberschenkel	55 (0-100) %	59,7 (18,2-95,8)
Rücken	45,2 (15,4-75) %	58,3 (0-84,2) %
Finger	19,7 (0-53,3) %	25,3 (0-85,0) %

Tabelle 8: Mediane (mit Spannweite) der SP positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger

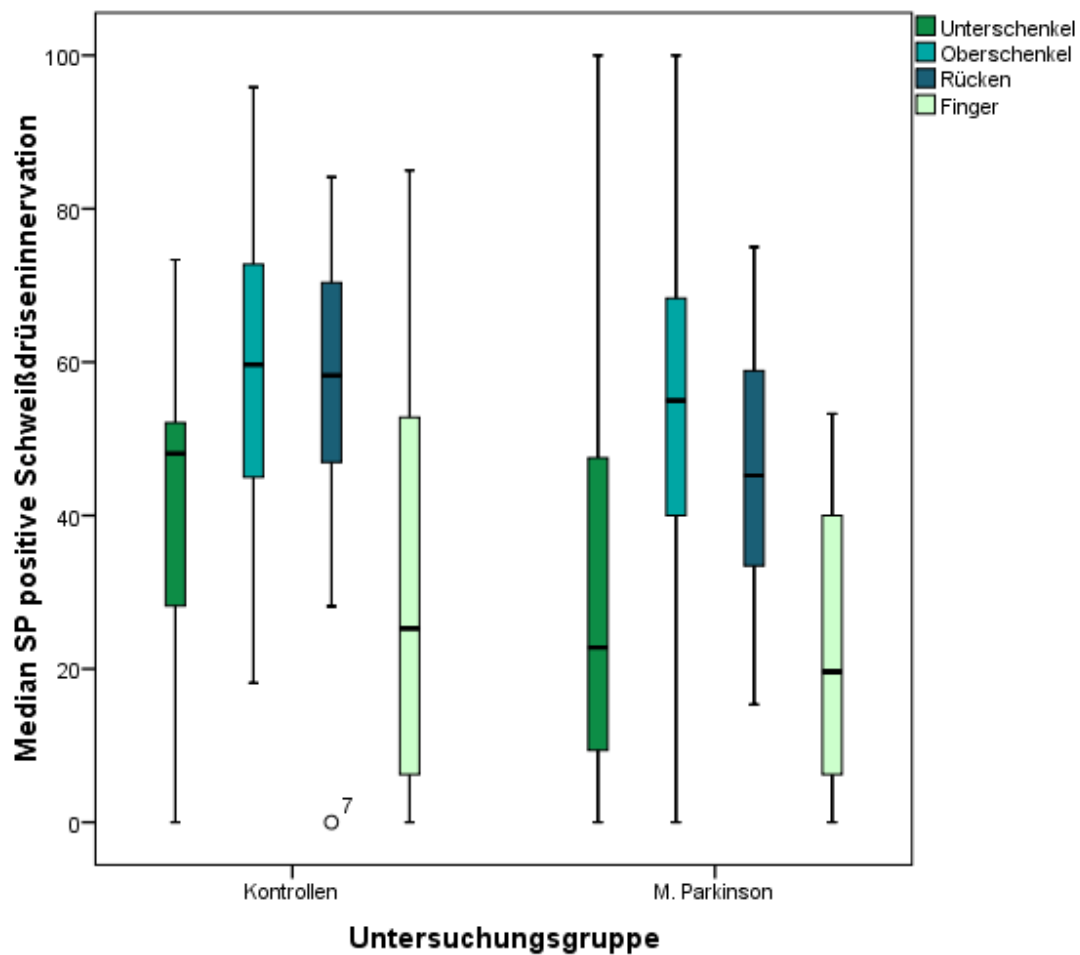


Abb. 18: Darstellung der SP-positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent in Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger ohne signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe

### 3.6.6 CGRP-positive Schweißdrüseninnervation

Bei der Untersuchung der CGRP-immunreaktiven Schweißdrüseninnervation zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe (s. Abb. 19). Eine leicht reduzierte mittlere Schweißdrüseninnervation fand sich im Unterschenkel und im Finger von Patienten mit M. Parkinson verglichen mit gesunden Kontrollpersonen. (s. Tabelle 9) Bei der Untersuchung auf Korrelationen fanden sich keine Zusammenhänge mit dem Nachweis von p- $\alpha$ -Synuclein, mit der Erkrankungsdauer, dem Erkrankungsstadium nach H&Y sowie der Punktzahl der beiden Fragebögen.

CGRP positive Schweißdrüseninnervation	M. Parkinson	Kontrollen
Unterschenkel	41,7 (0-85,7) %	50,3 (23,8-100) %
Oberschenkel	68,3 (0-100) %	65,7 (35,7-100) %
Rücken	69,2 (12-100) %	60,7 (0-100) %
Finger	33,3 (0-57,1) %	43,7 (0-74,8) %

*Tabelle 9: Mediane (mit Spannweite) der CGRP positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger*

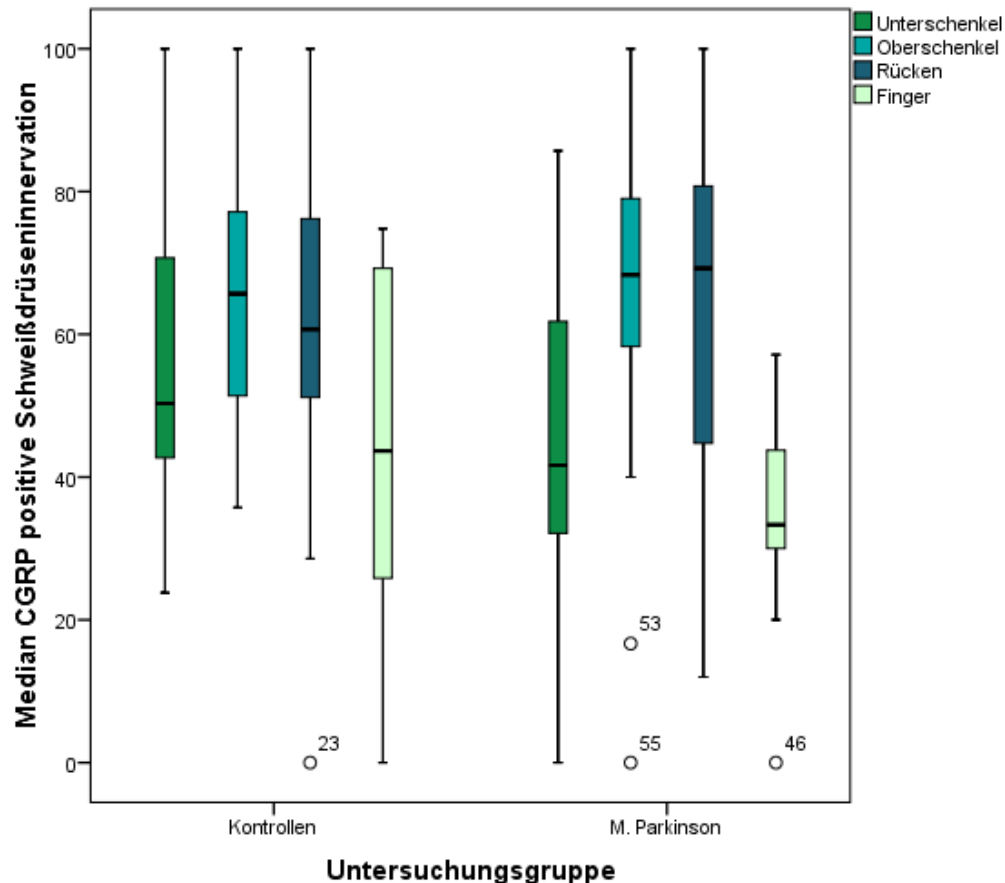


Abb. 19: Darstellung der CGRP positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent in Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger ohne signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe

### 3.6.7 Synaptophysin-positive Schweißdrüseninnervation

Hier fand sich eine signifikant reduzierte Immunreaktivität im Unterschenkel der Patientengruppe verglichen mit der gesunden Probandengruppe ( $p=0,007$ , s. Abb. 14). Die mittlere Anzahl immunreaktiver Schweißdrüsentubuli im Unterschenkel lag bei der Patientengruppe bei 20 (0-88,9) %, bei der Kontrollgruppe bei 58,1 (0-94,4) %. In den anderen Körperpartien zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (s. Tabelle 10 und Abb. 20). Im Hinblick auf andere untersuchte Parameter wie p- $\alpha$ -Synuclein, Erkrankungsdauer, Erkrankungsschwere und Ergebnisse der Fragebögen fanden sich keine Korrelationen.



Synaptophysin positive Schweißdrüseninnervation	M. Parkinson	Kontrollen
Unterschenkel	20 (0-88,9) % *	58,1 (0-94,4) %
Oberschenkel	66,7 (0-100) %	69,3 (0-100) %
Rücken	84,5 (71,0-100) %	83,1 (0-100) %
Finger	39,6 (25-62,5) %	44,5 (0-66,7)%

Tabelle 10: Mediane (mit Spannweite) der Synaptophysin positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger. \* Signifikant reduzierte Synaptophysin positiven Innervation im Unterschenkel ( $p=0,007$ ) der Patienten.

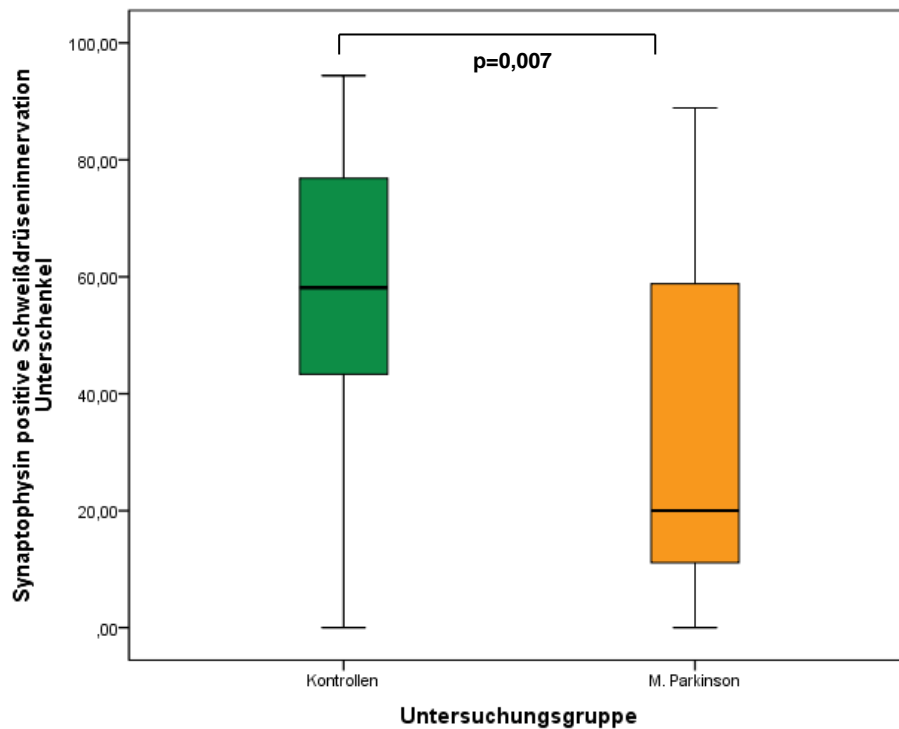


Abb. 20: Darstellung der Mediane der Synaptophysin-immunreaktiven Schweißdrüsentubuli im Unterschenkel in Prozent mit signifikantem Unterschied zwischen Kontrollgruppe und Patientengruppe ( $p=0,007$ )

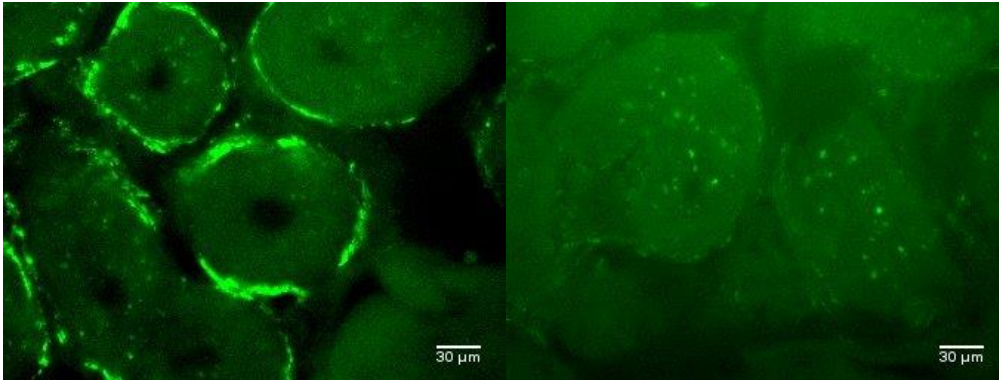


Abb. 21: Synaptophysin-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli im Unterschenkel eines gesunden Probanden (links) und eines Patienten mit M. Parkinson (rechts) (Objektiv 40x)

### 3.6.8 Schweißdrüseninnervation mit Nervenfasern, die immunreaktiv für natives $\alpha$ -Synuclein sind

Nervenfasern, die immunreaktiv für natives  $\alpha$ -Synuclein sind, können sowohl bei Patienten als auch Kontrollen in Nervenfasern um Schweißdrüsen und anderen autonomen Strukturen nachgewiesen werden und wurden auf Veränderungen innerhalb der Patientengruppe untersucht. Es zeigte sich eine signifikante Reduktion immunreaktiver Schweißdrüsentubuli in Biopsaten des Unterschenkels ( $p=0,009$ , s. Abb. 22) und des Rückens ( $p=0,013$ , s. Abb. 23) von Patienten mit M. Parkinson verglichen mit der Kontrollgruppe. Die mediane Anzahl immunreaktiver Schweißdrüsentubuli im Unterschenkel wurde mit 15,2 (0-90,3) % in der Patientengruppe und 33,3 (0-85,7) % in der Kontrollgruppe berechnet. Im Rücken ergab sich für die M. Parkinson-Patienten ein mittlerer Wert von 34,5 (0-75) %, für die gesunden Probanden ein mittlerer Wert von 55,4 (12,5-100) %. (s. Tabelle 11) In Bezug auf positive oder negative Korrelationen stellten sich keine signifikanten Ergebnisse dar.

Natives $\alpha$ -Synuclein positive Schweißdrüseninnervation	M. Parkinson	Kontrollen
Unterschenkel	15,2 (0-90,3) % *	33,3 (0-85,7) %
Oberschenkel	33,3 (0-60) %	45,0 (0-67,5) %
Rücken	34,4 (0-75) % *	55,4 (12,5-100) %
Finger	16,3 (0-51,5) %	23,5 (0-52,8) %

Tabelle 11: Mediane (mit Spannweite) der natives  $\alpha$ -Synuclein positiven Schweißdrüseninnervation in Prozent für Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger. \* Signifikant reduzierte Immunreaktivität im Unterschenkel ( $p=0,009$ ) und im Rücken ( $p=0,013$ ) der Patienten.

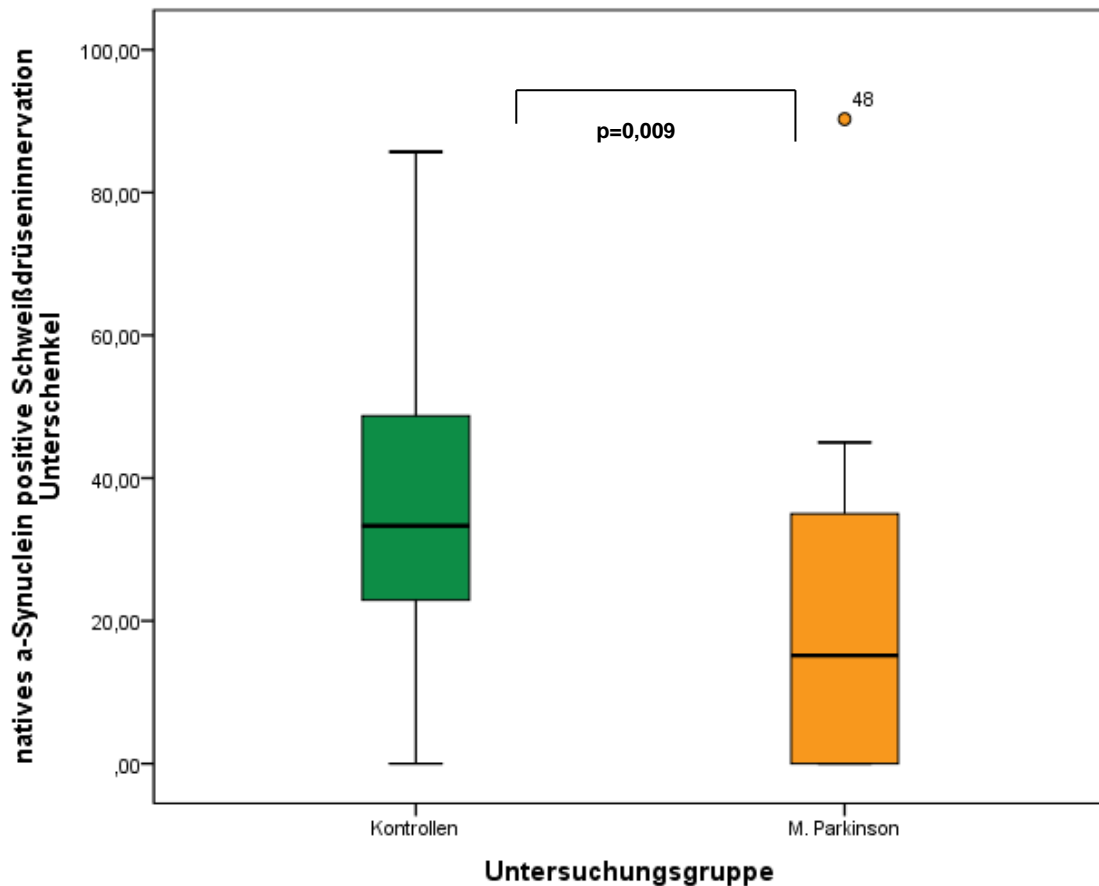


Abb. 22: Darstellung der Mediane der positiven Schweißdrüseninnervation für natives  $\alpha$ -Synuclein im Unterschenkel in Prozent mit signifikantem Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ( $p=0,009$ )

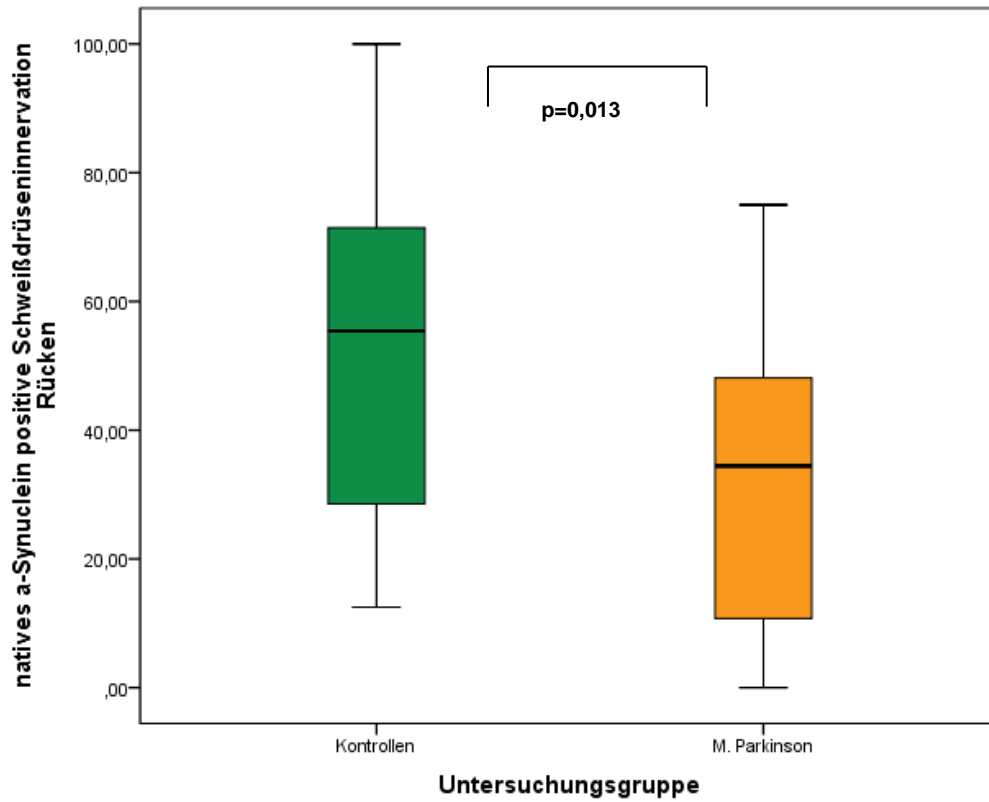


Abb. 23: Darstellung der Mediane der positiven Schweißdrüseninnervation für natives  $\alpha$ -Synuclein im Rücken in Prozent mit signifikantem Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ( $p=0,013$ )

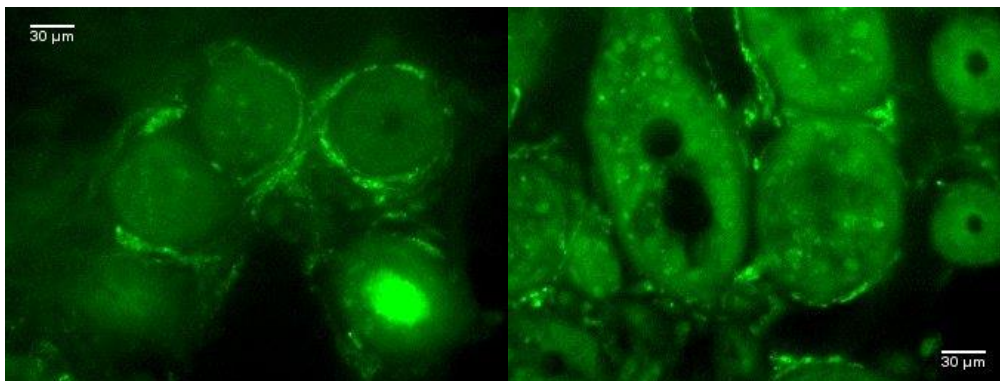


Abb. 24: Immunreaktive Nervenfasern für natives  $\alpha$ -Synuclein um Schweißdrüsentubuli im Rücken eines gesunden Probanden (links) und eines Patienten mit M. Parkinson (rechts) (Objektiv 40x)

### 3.6.9 SNAP-25-Innervation

Im Unterschenkel von Patienten mit M. Parkinson zeigte sich eine signifikante Minderverteilung von SNAP 25 verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe (s. Abb. 25). Der mittlere Wert der SNAP-positiven Schweißdrüsentubuli betrug bei der Patientengruppe 0,00001 (0-1) %, bei der Kontrollgruppe 0,00001 (0-3) % ( $p=0,023$ ). Eine negative Korrelation (Korrelationskoeffizient -0,6) konnte zwischen der Immunreaktivität im Unterschenkel und dem Vorkommen von p- $\alpha$ -Synuclein mit einem p-Wert von 0,007 nachgewiesen werden. Es zeigte sich weiterhin eine negative Korrelation (Korrelationskoeffizient -0,6) zwischen paravertebraler Nervenfaserdichte und Erkrankungsstadium nach H&Y ( $p=0,009$ ).

SNAP positive Schweißdrüseninnervation im Unterschenkel					
		Gruppe		Gesamt	
		Kontrollen	M. Parkinson		
SNAP Unterschenkel	,00	Anzahl	13	14	27
		% der Gesamtzahl	31,0%	33,3%	64,3%
	,50	Anzahl	2	2	4
		% der Gesamtzahl	4,8%	4,8%	9,5%
	1,00	Anzahl	5	1	6
		% der Gesamtzahl	11,9%	2,4%	14,3%
	1,50	Anzahl	1	0	1
		% der Gesamtzahl	2,4%	0,0%	2,4%
	2,00	Anzahl	2	0	2
		% der Gesamtzahl	4,8%	0,0%	4,8%
	3,00	Anzahl	2	0	2
		% der Gesamtzahl	4,8%	0,0%	4,8%
	Gesamt	Anzahl	25	17	42
		% der Gesamtzahl	59,5%	40,5%	100,0%

Tabelle 11: Kreuztabelle der SNAP positiven Schweißdrüseninnervation im Unterschenkel für Patienten mit M. Parkinson und gesunde Kontrollen.

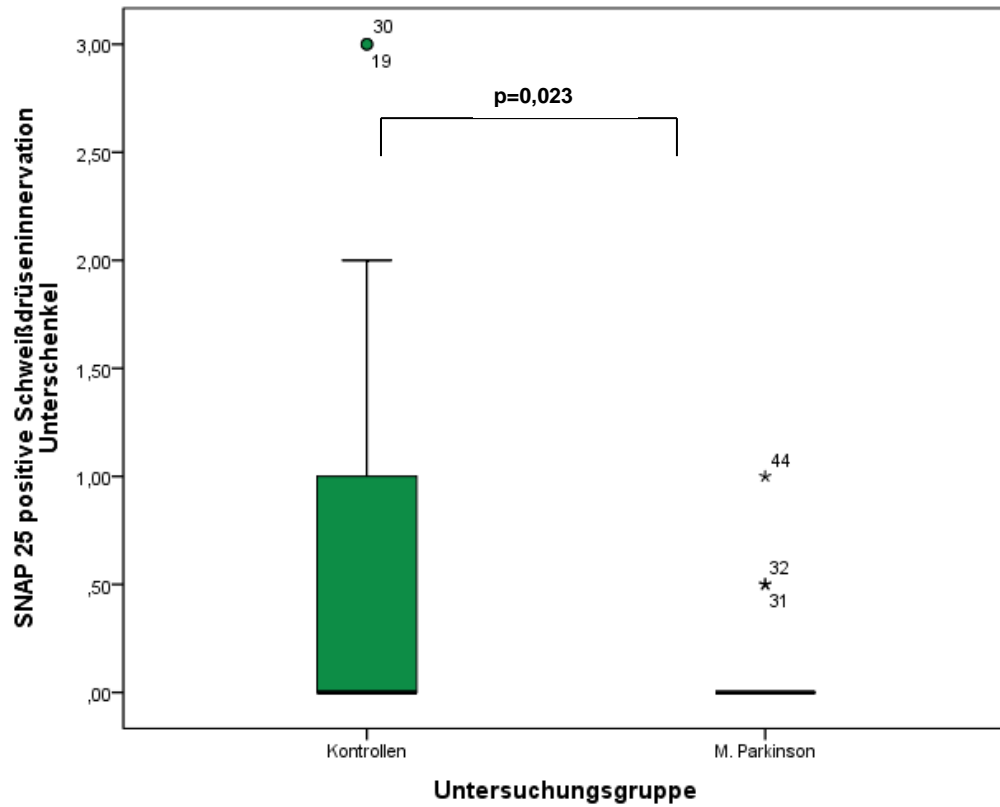


Abb. 25: Darstellung der Mediane der SNAP25-positiven Nervenfaserdichte in Prozent im Unterschenkel mit einem signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ( $p=0,023$ )

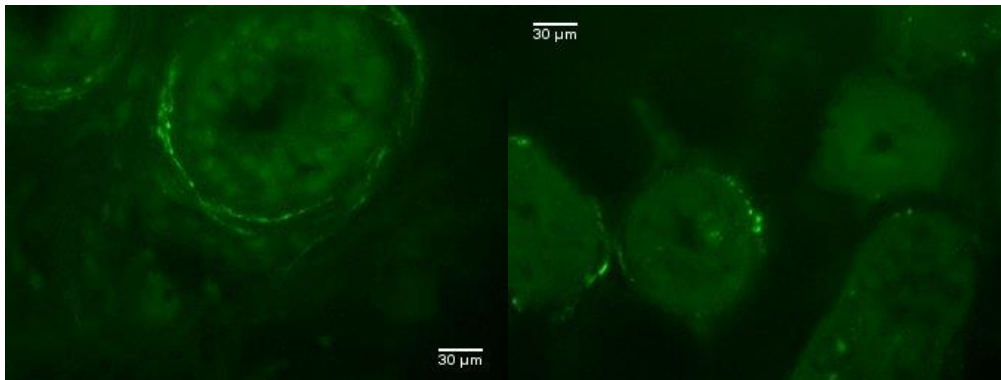


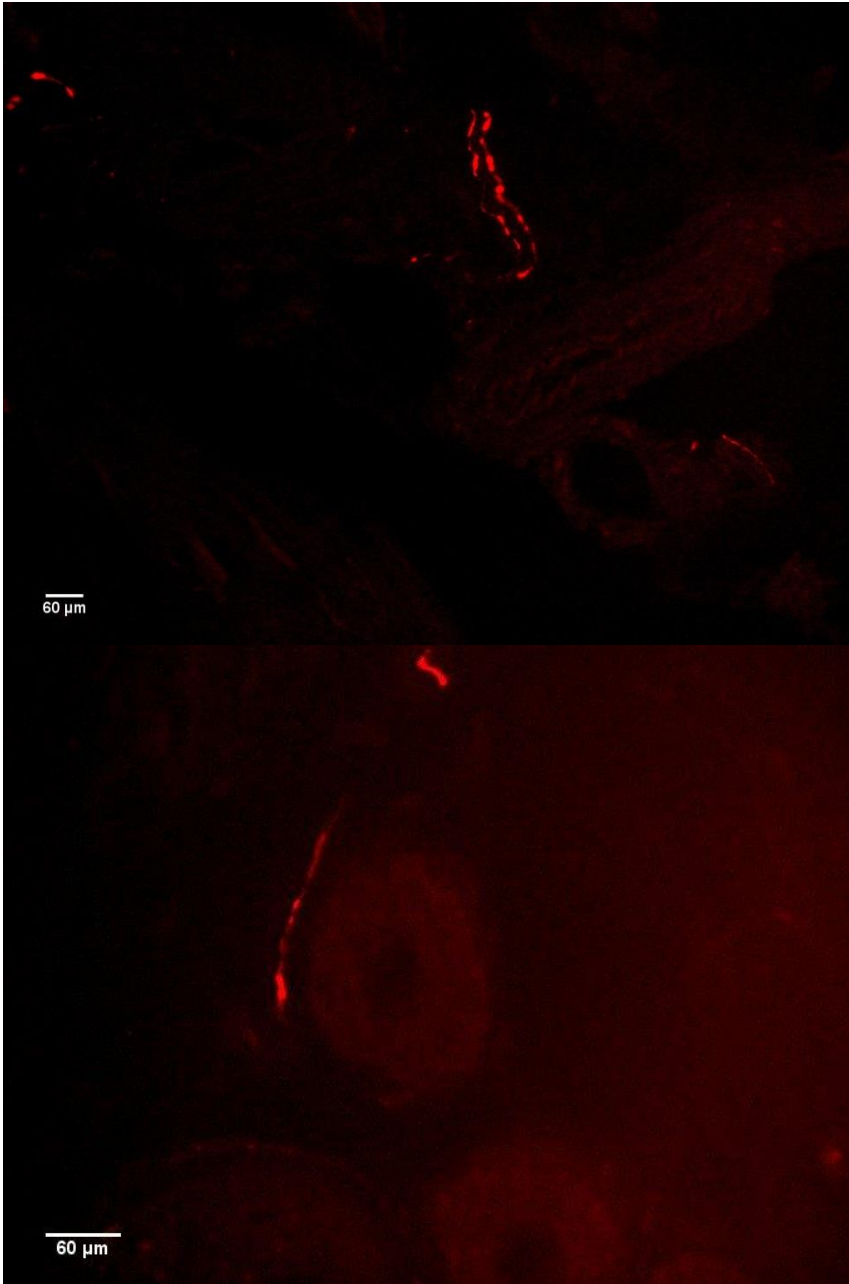
Abb. 26: SNAP 25-immunreaktive Nervenfasern um Schweißdrüsentubuli im Unterschenkel eines gesunden Probanden (links) und eines Patienten mit M. Parkinson (rechts) (Objektiv 40x)

### 3.7 P- $\alpha$ -Synuclein

P- $\alpha$ -Synuclein konnte bei 71,9% der Patienten (23 von insgesamt 32 Patienten) mit idiopathischem M. Parkinson gefunden werden. Die Ablagerungen fanden sich in Nervenfasern um Blutgefäße, Schweißdrüsen, in Erector pili Muskeln sowie in dermalen Nervenfaserbündeln. Nur bei 3 der 23 p- $\alpha$ -Synuclein positiven Parkinson Patienten konnte p- $\alpha$ -Synuclein an Nervenfasern um Schweißdrüsen nachgewiesen werden. Etwas häufiger, bei 7 von 23 Patienten, wurden Ablagerungen in Nervenfasern von Erector pili Muskeln festgestellt. Am häufigsten fanden sich die p- $\alpha$ -Synuclein-positiven Fasern um Blutgefäße verteilt (12 Patienten) und als dermale Nervenfaserbündel (19 Patienten). In den Biopsaten der 30 Kontrollpersonen konnten in keiner einzigen Anfärbung p- $\alpha$ -Synuclein detektiert werden.

Bei den Patienten mit atypischem Parkinsonsyndrom fanden sich bei den MSA Patienten p- $\alpha$ -Synuclein positive Fasern, wohingegen bei den Patienten mit PSP und CBD keine Ablagerungen gefunden werden konnten. Bei insgesamt 8 von insgesamt 11 MSA-P-Patienten zeigten sich positive Fasern. Hierbei fanden sich bei 3 Patienten Ablagerungen um Blutgefäße, bei einem Patienten an Schweißdrüsen und bei 8 Patienten als Nervenfaserbündel.

Interessanterweise war p- $\alpha$ -Synuclein bei 6 von diesen 8 positiven MSA-P Patienten (75%) an somatosensiblen Fasern des subepidermalen Plexus zu finden. Lediglich bei 3 von insgesamt 23 positiv detektierten Patienten mit M. Parkinson (13,0%) fand sich p- $\alpha$ -Synuclein an dieser Position (Signifikanz  $p=0,031$ ). In den insgesamt 31 positiv bewerteten Patienten fanden sich die Ablagerungen bei 14 im Unterschenkel, bei 19 im Oberschenkel, bei 17 im Rücken und bei 8 im Finger. Es konnten keine Korrelationen zwischen der Erkrankungsdauer/-schwere und dem Nachweis der positiven Ablagerungen festgestellt werden. Eine signifikante negative Korrelation konnte zwischen SNAP 25 positiver Nervenfaserdichte im Unterschenkel und p- $\alpha$ -Synuclein nachgewiesen werden. (s. 3.6.9) Es konnten keine Korrelationen zwischen der intraepidermalen Nervenfaserdichte und p- $\alpha$ -Synuclein gefunden werden.



*Abb.20: p- $\alpha$ -Synuclein an dermalen Nervenfaserbündeln (oben) und um einen Schweißdrüsentubulus (unten) bei einem Patienten mit Morbus Parkinson*



## **4. Diskussion**

### **4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse**

In der vorliegenden Arbeit wurden Hautbiopsien von Patienten mit M. Parkinson und atypischem Parkinsonsyndrom bezüglich synaptischer Pathologien sowie der Beteiligung des peripheren und autonomen Nervensystems am Krankheitsprozess im Vergleich mit einer gesunden Kontrollkohorte untersucht. Im Konkreten wurden die intraepidermale Nervenfaserdichte bestimmt, die Innervation der Schweißdrüsen mithilfe von VIP, TH, SP, CGRP und nativem  $\alpha$ -Synuclein überprüft sowie die Synapsen nach Fehl- bzw. Umverteilungen von Synaptophysin und SNAP 25 untersucht. Hinsichtlich der Schweißdrüseninnervation fanden sich signifikante Unterschiede in der Dichte der VIP-Fasern. Bei den weiteren untersuchten Proteinen konnten im Gegensatz zu anderen Arbeitsgruppen keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden. Im Bereich der Synapsen zeigte sich bei den M. Parkinson Patienten eine signifikante Reduktion der Synapsenmarker im Vergleich zu den Kontrollpersonen. Weiterhin konnte ein sich vom M. Parkinson unterscheidendes Verteilungsmuster von p- $\alpha$ -Synuclein bei MSA-Patienten beobachtet werden mit überwiegender Beteiligung der somatosensiblen Nervenfasern bei der MSA im Gegensatz zu einem Überwiegen der autonomen Fasern beim M. Parkinson.

### **4.2. Neuropathie bei M. Parkinson?**

#### **4.2.1 Elektrophysiologie**

Mithilfe der elektrophysiologischen Untersuchung wurde die Beteiligung der großkalibrigen Nervenfasern untersucht. In der Literatur liegen diesbezüglich unterschiedliche Ergebnisse vor. In der vorliegenden Arbeit konnten anhand der sensiblen Neurografie Beeinträchtigungen der großkalibrigen Nervenfasern einerseits im Sinne einer Schädigung der Myelinscheide (Nervenleitgeschwindigkeit reduziert bei einem M. Parkinson Patienten und einem PSP-Patient), andererseits im Sinne einer Axonschädigung (SNAP

reduziert in 9 M. Parkinson Patienten, 3 PSP-, einem MSA- und einem CBD-Patienten) bei einigen Patienten nachgewiesen werden. Allerdings lag bei einem Patienten mit erniedrigter NLG und SNAP ein fraglich erhöhter Alkoholkonsum vor, bei drei der Patienten mit atypischem Parkinsonsyndrom wurde eine sensomotorische Polyneuropathie unklarer Genese nachgewiesen. Ähnliche Ergebnisse hinsichtlich einer Schädigung großkalibriger Nerven wurden von Toth und Doppler erzielt (Doppler et al., 2014; Toth et al., 2008). Eine Korrelation zwischen erniedrigter NLG/SNAP und erniedrigter Vitaminlevel bei M. Parkinson-Patienten, wie sie bei Toth et al. beschrieben wurde, konnte nicht nachgewiesen werden. Gegensätzliche Ergebnisse erhielten Nolano und Donadio. Die beiden Forschungsgruppen konnten keine Unterschiede zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe in der elektrophysiologischen Untersuchung feststellen (Donadio et al., 2014; Nolano et al., 2008). Es liegen verschieden Studien zur Ursachenforschung einer Polyneuropathie bei Patienten mit M. Parkinson vor. So konnten Siebert et al. in einer Studie in Axonen des Nervus suralis von Mäusen und in einem humanen Nervus suralis Präparat  $\alpha$ -Synuclein Aggregate nachweisen und vermuteten, dass diese den axonalen Transport beeinflussen (Siebert et al., 2010). Studien zu autosomal rezessiv vererbtem Parkinson (PARK 2) zeigten eine erniedrigte SNAP in elektrophysiologischen Untersuchungen bei Patienten mit der vererbten Parkinsonerkrankung (Ohsawa et al., 2005; Okuma et al., 2003). Nachdem von Shimura et al. nachgewiesen wurde, dass Parkin als eine Ubiquitin-Protein-Ligase am Abbau von Proteinen beteiligt ist (Shimura et al., 2000), wurde vermutet, dass die periphere Neuropathie durch Akkumulation von schädlichen Substraten bedingt ist (Okuma et al., 2003). In der vorliegenden Arbeit konnte weder ein Zusammenhang mit der Erkrankungsdauer und der Levodopa-Dosis, noch mit dem Patientenalter hergestellt werden. Auszuschließen ist eine altersbedingte axonale Schädigung jedoch nicht. Der idiopathische M. Parkinson ist eine Erkrankung des höheren Alters und es ist bekannt, dass die SNAP altersabhängig abnimmt (Rivner et al., 2001). In der vorliegenden Arbeit wurde nur der Nervus suralis untersucht und dies bei einer kleinen Patientengruppe. Um eine Aussage treffen zu können, müsste man

elektrophysiologische Untersuchungen an unterschiedlichen Nerven und einer größeren Kohorte durchführen.

#### **4.2.2 Quantitativ sensorische Testung**

Mit dieser Untersuchung sollte die Beeinträchtigung der kleinkalibrigen und großkalibrigen Nervenfasern quantifiziert werden. Es zeigten sich signifikante Unterschiede im Bereich der taktilen Empfindungsschwelle, der mechanischen Schmerzschwelle und der Schmerzschwelle für mechanischen Druck. Während die Unterschiede für die taktile Empfindungsschwelle, welche zu den Large-fiber-Qualitäten gehört, längenabhängig waren, waren die Unterschiede für die mechanische Schmerzschwelle und die Schmerzschwelle für mechanischen Druck, welche zu den small-fiber-Qualitäten gehören, längenunabhängig. Es scheint, dass sowohl großkalibrige als auch kleinkalibrige Fasern beim M. Parkinson beeinträchtigt werden können. Auch Nolano et al. konnten signifikante Ergebnisse nachweisen. Sie fanden eine Erhöhung der taktilen und thermalen Detektionsschwelle und eine Minderung der mechanischen Schmerzschwelle im Vergleich mit einer Kontrollgruppe (Nolano et al., 2008). Doppler et al. konnten 2014 keine signifikanten Unterschiede zwischen Parkinson- und Kontrollgruppe feststellen (Doppler et al., 2014). Eine weitere Studie der Forschungsgruppe um Lin aus dem Jahr 2016 überprüfte die Involvierung kleinkalibriger Nervenfasern bei M. Parkinson und fand in 32% der untersuchten Patienten von der Norm abweichende Werte für die thermale Detektionsschwelle (Lin et al., 2016). Die Frage ist, inwieweit eine beginnende Small-fiber-Affektion bei Parkinson-Patienten sich bereits in einer QST-Untersuchung widerspiegelt bzw. wie sensitiv diese ist. In einem gewissen Maße sind die untersuchten Parameter, beispielsweise die verschiedenen Schmerzschwellen, individuell sehr unterschiedlich. Weiterhin müssten zur Präselektion alle gesunden Probanden eine elektrophysiologische Untersuchung, eine genauere Anamnese, eine Bestimmung der Vitamin B12-Werte und einen OGTT erhalten, um das Risikoprofil zu verbessern. Eine weitere Einschränkung ist die geringe Fallzahl an Patienten.

### 4.2.3 Intraepidermale Nervenfaserdichte

Die Intention der Untersuchung der intraepidermalen Nervenfasern war ebenfalls die Überprüfung einer Schädigung kleinkalibriger somatosensibler A-, delta- und C-Nervenfasern. In früheren Studien konnte eine längenabhängige Reduktion der kleinkalibrigen Nervenfasern bei Parkinson-Patienten nachgewiesen werden. Wang et al. sowie Doppler et al. fanden eine reduzierte intraepidermale Nervenfaserdichte, abnehmend vom Rücken bzw. Oberschenkel zum Unterschenkel, bei M. Parkinson-Patienten verglichen mit einer gesunden Kontrollgruppe (Doppler et al., 2014; Wang et al., 2013). In der vorliegenden Kohorte konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden. Bei den Biopsien des Unterschenkels zeigten sich keine signifikanten Unterschiede und bei den Biopsien des Oberschenkels zeigte sich lediglich bei den atypischen Patienten eine signifikante Reduzierung der IENFD. Eindeutige Ergebnisse wurden bei den Biopsien des Rückens erreicht (signifikante Reduktion bei idiopathischem M. Parkinson und atypischem Parkinson-Syndrom). Geht man davon aus, dass  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen direkt die peripheren Nervenfasern schädigen (Siebert et al., 2010), wären diese Ergebnisse insofern plausibel, dass sich außerhalb des Gehirns die meisten  $\alpha$ -Synuclein-Ablagerungen in unmittelbarer Nähe des ZNS finden lassen (Donadio et al., 2014) und die paravertebalen Biopsien der vorliegenden Studie im Vergleich mit den anderen Biopsiestellen in nächster Nähe des Rückenmarks liegen. In der vorliegenden Arbeit fanden sich die meisten Ablagerungen im Rücken (und im Oberschenkel). Es konnte keine Korrelation zwischen  $\alpha$ -Synuclein-Ablagerungen und der intraepidermalen Nervenfaserdichte nachgewiesen werden. Die meisten  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen fanden sich in autonomen und nicht in somatosensiblen Nervenfasern. Auch hinsichtlich des Alters bestand kein Zusammenhang. Ein mögliches Problem der vorliegenden Arbeit stellen die vergleichsweise unterdurchschnittlichen Werte der Kontrollgruppe dar. Obwohl bei den gesunden Probanden etwaige Risiken wie Diabetes mellitus, Alkoholabusus und bestehende Polyneuropathie anamnestisch ausgeschlossen wurden, zeigte die untersuchte Gruppe eine durchschnittlich eher geringe Dichte intraepidermaler Nervenfasern. Zur verbesserten Selektion hätte man

auch bei den gesunden Probanden eine elektrophysiologische Untersuchung, einen oralen Glukosetoleranztest und eine Bestimmung zumindest von Vitamin B12 durchführen müssen.

### **4.3 Laborchemie**

Es sollte überprüft werden, ob verschiedene Laborparameter im Vitamin B12 Stoffwechsel bei Parkinson-Patienten vermindert sind und inwieweit diese Veränderungen mit einer Levodopa-Therapie korrelieren. In früheren Studien fanden sich erniedrigte VitaminB12-Werte in Korrelation mit der kumulativen Levodopatherapie, zusätzlich auch erhöhte Homocystein- und Methylmalonsäure-Werte als indirekte Hinweise auf einen Vitamin B12-Mangel (Rajabally & Martey, 2011; Toth et al., 2008). In der vorliegenden Arbeit konnten im Gegensatz zu den genannten Studien keine erniedrigten Vitamin B12-Werte in der Patientengruppe dargelegt werden. Allerdings fanden sich bei vier Parkinson-Patienten erhöhte Methylmalonsäure-Werte. In Studien fand man einen erhöhten Homocystein-Spiegel bei M. Parkinson Patienten und postulierte einen Zusammenhang mit Levodopa (Allain et al., 1995). Wiederum gibt es Studien, welche einen Anstieg der mittleren Homocystein-Level nach Beginn einer Therapie mit Levodopa nachweisen konnten (Yasui et al., 2003). Müller et al. stellten 2004 einen Zusammenhang zwischen der Levodopa-Einnahme, erhöhten Homocystein-Spiegeln und einer axonalen Neurodegeneration des N. suralis fest (Muller et al., 2004). In insgesamt 20/33 Patienten dieser Arbeit fanden sich erhöhte Homocystein-Spiegel. Bei 8 dieser Patienten konnte gleichfalls eine erniedrigte SNAP festgestellt werden. 9 weitere Patienten mit erniedrigter SNAP zeigten normale Homocystein-Werte. Diese Ergebnisse könnten die These von Toth unterstützen, dass die Akkumulation von Homocystein und Methylmalonsäure, als mögliche neurotoxische Metabolite, zu einer axonalen Schädigung der Nerven führen und eine Polyneuropathie bedingen kann (Toth et al., 2008). Allerdings ist Homocystein ein sehr empfindlicher Laborparameter, dessen Auswertung eine sehr akkurate Lagerung und schnelle Aufarbeitung erfordert. Es könnten möglicherweise falsch-hohe Werte durch fehlerhafte Arbeitsstrukturen erreicht

worden sein. Weiterhin müsste eine laborchemische Analyse bei den gesunden Probanden vorgenommen werden, um auszuschließen, dass kein altersabhängiger Anstieg von Homocystein zugrunde liegt.

#### **4.4. Innervation von Schweißdrüsen**

Parkinson-Patienten berichten, neben den motorischen Symptomen, häufig über Beeinträchtigungen des autonomen Nervensystems. In der Haut werden unter anderem Schweißdrüsen über das autonome Nervensystem innerviert und sind durch Hautbiopsien leicht zugänglich. Mithilfe der Quantifizierung der Schweißdrüseninnervation und der Untersuchung verschiedener Neuropeptide, welche die sympathische Nervenfunktion beeinflussen, sollten die multisystemischen pathologischen Veränderungen bei Parkinson-Patienten verifiziert werden. Bereits 2006 untersuchten Dabby et al. die Innervation des autonomen Nervensystems mittels Hautbiopsien bei Parkinson-Patienten und fanden eine reduzierte Nervenfaserdichte um Schweißdrüsen, Blutgefäße und Erector pili Muskeln (Dabby et al., 2006). Kawada et al. publizierten 2009 ihre Ergebnisse zur Dishydrosis bei Parkinson-Patienten. Sie fanden unter anderem eine reduzierte VIP-Expression im Bereich von Schweißdrüsen der Patientengruppe (Kawada et al., 2009). Doppler et al. fanden eine Reduktion der SP-positiven und CGRP positiven intraepidermalen Nervenfasern bei Biopsien des Unter-, Oberschenkels und Rückens (Doppler et al., 2014). Eine erniedrigte Dichte TH-positiver Fasern finden sich im Putamen bereits in frühen Stadien des M. Parkinson, später im gesamten nigrostriatalen System (Chu et al., 2012). In der vorliegenden Arbeit wurde die Schweißdrüseninnervation mithilfe des axonalen Markers PGP 9.5 sowie die VIP-, TH-, SP-, CGRP-positiven Nervenfasern um Schweißdrüsen überprüft. Im Gegensatz zu oben erwähnten Forschungsergebnissen konnten keine signifikanten Unterschiede bzw. deutliche Pathologien an den Schweißdrüsen konstatiert werden. Es fand sich lediglich eine signifikant verminderte VIP-positive Nervenfaserdichte im Unterschenkel bei der Gruppe der idiopathischen Parkinson-Patienten. Schon 1990 vermuteten Wakabayashi et al. anhand einer Studie am enterischen Nervensystem, dass das VIP Neuronen System in den Krankheitsprozess der

Parkinson-Erkrankung involviert ist (Wakabayashi et al., 1990). Die vorliegenden Ergebnisse für VIP, als cholinerges Marker, könnten möglicherweise als Korrelat der Dyshidrosis bei Parkinson-Patienten angesehen werden (Kawada et al., 2009). Trotz der negativen Ergebnisse der vorliegenden Studie kann, verifiziert durch unter anderem oben erwähnte Studien, davon ausgegangen werden, dass das autonome Nervensystem bei der Parkinson-Erkrankung involviert ist. Die vorliegenden Ergebnisse sprechen allerdings eher gegen eine Schädigung von Nervenfasern durch p- $\alpha$ -Synuclein. An TH-positiven, adrenergen Fasern wurden in vorhergehenden Studien vermehrt  $\alpha$ -Synuclein-Ablagerungen gefunden (Wang et al., 2013). Würde man von einer direkten Schädigung durch p- $\alpha$ -Synuclein ausgehen, müsste die TH-positive Schweißdrüseninnervation bei den Parkinson-Patienten deutlich vermindert sein. Eine Limitation der Studie ergab sich durch die ausschließliche Untersuchung von Schweißdrüsen. Diese waren nicht in jeder entnommenen Biopsie enthalten. Somit wurde die Zahl der ausgewerteten Proben verringert. Weiterhin könnte das ausgewählte Auswertungsverfahren der Innervation von Schweißdrüsen mit ImageJ nicht sensitiv genug gewesen sein, um bestehende Pathologien nachzuweisen.

#### **4.5 Pathologie an Synapsen**

Die aktuellen wissenschaftlichen Ergebnisse rücken eine synaptische Dysfunktion in den Fokus der Ursachenforschung der Parkinsonerkrankung (Schulz-Schaeffer, 2010). Es gibt Hinweise, dass die neuronale Dysfunktion und der Verlust von Neuronen auftreten, bevor Lewy-Körperchen detektiert werden können (Milber et al., 2012) und dass diese Lewy-Pathologien ein Korrelat der Detoxifikation darstellen (Schulz-Schaeffer, 2012). Eine Hypothese ist, dass kleine  $\alpha$ -Synuclein Aggregate über einen Aggresom-abhängigen Prozess von der Peripherie zum Zentrosom transportiert werden, um sequestriert zu werden und somit als Lewy-Körperchen in Neuronen erfassbar werden (McNaught et al., 2002). Kramer et al. konnten 2007 in Homogenaten menschlicher Gehirne von Patienten mit Lewy-Körperchen-Demenz eine Akkumulation kleiner  $\alpha$ -Synuclein Aggregate an präsynaptischen

Nervenendigungen nachweisen und stellten, als Korrelat für die synaptische Dysfunktion, eine Reduktion der präsynaptischen Marker, Synaptophysin und Syntaxin, und des postsynaptischen Markers PSD95 fest (Kramer & Schulz-Schaeffer, 2007). In transgenetisch veränderten Mäusen für humanes  $\alpha$ -Synuclein (1-120) konnten eine synaptische Akkumulation von verkürztem  $\alpha$ -Synuclein sowie, im Gegensatz zur Gruppe der Kontrollmäuse, inhomogen verteiltes Synaptophysin und SNAP 25 im Striatum gefunden werden (Garcia-Reitböck et al., 2010). Auch Sharma et al. stellten 2012 in einer Arbeit mit Cystein-String-Protein- $\alpha$  Knockout-Mäusen, einem Mausmodell für Neurodegeneration, eine defekte SNAP 25 Funktion und dadurch wiederum eine Störung im Aufbau des SNARE-Komplexes fest (Sharma et al., 2012a). In einer zweiten Arbeit konnte durch die Gabe von Proteasom-Inhibitoren eine Erhöhung der funktionalen SNAP25 Konzentration und eine Steigerung des Aufbaus des SNARE-Komplexes erreicht werden (Sharma et al., 2012b). Weiterhin zeigte sich eine mäßige Reduktion der synaptischen Proteine, Synaptobrevin 2, Synaptophysin,  $\alpha$ -Synuclein und vGAT im ZNS von Alzheimer- und M. Parkinson-Patienten (Sharma et al., 2012b). Ziel der vorliegenden Arbeit war Veränderungen an sudomotorischen Synapsen durch Untersuchungen von Schweißdrüsen zu erfassen. Hierfür wurde die Nervenfaserdichte von nicht-phosphoryliertem  $\alpha$ -Synuclein, SNAP 25 und Synaptophysin bestimmt. Es zeigte sich, übereinstimmend mit oben genannten Ergebnissen, eine signifikant reduzierte Synaptophysin Konzentration im Unterschenkel von Patienten mit M. Parkinson. Auch bei der Untersuchung auf natives  $\alpha$ -Synuclein, welches physiologischerweise an den Synapsen vorliegt, zeigten sich sowohl bei Biopsien des Unterschenkels als auch des Rückens von Parkinson-Patienten eine signifikant reduzierte Nervenfaserdichte. Eine Vermutung hierfür ist, dass dieser Verlust an nativem  $\alpha$ -Synuclein durch vermehrte Aggregationen zustande kommt (Sharma et al., 2012b). Denkbar ist jedoch auch eine Abnahme der  $\alpha$ -Synuclein-Immunreaktivität durch einen Verlust an Synapsen. Bei der Untersuchung von SNAP 25 zeigte sich im Gegensatz zu den, von Garcia-Reitböck et al. gefundenen inhomogenen Verteilungen im Striatum, eine reduzierte SNAP 25-Immunreaktivität im



Unterschenkel bei Patienten mit idiopathischem M. Parkinson. Die vorliegenden Forschungsergebnisse unterstützen die Hypothese oben genannter Studien, dass bei M. Parkinson ein pathologischer Prozess an den Synapsen stattfindet und zeigen erstmals, dass dieser auch an peripheren autonomen Synapsen abläuft. Weiterhin konnten Pathologien schon prämortem festgestellt werden, was die Untersuchung von Schweißdrüsen durch minimalinvasive Hautbiopsien für die weitere Forschung auf diesem Gebiet interessant macht. Die Untersuchungen dieser Arbeit haben allerdings Limitationen, da nicht in allen Biopsie-Präparaten Schweißdrüsen gefunden werden konnten. Als Konsequenz müssen einerseits größere Patientengruppen untersucht werden, andererseits wäre eine Überlegung, neben Schweißdrüsen zusätzlich Erector pili Muskeln in der Haut zu untersuchen, welche ebenfalls autonome Synapsen aufweisen. Auch für die Auswertung müssen noch einheitlichere und sensitivere Verfahren entwickelt werden, um bessere Ergebnisse zu erzielen.

#### **4.6 $\alpha$ -Synuclein Aggregationen**

Seit einigen Jahren versuchen verschiedene Forschungsgruppen  $\alpha$ -Synuclein-Ablagerungen als Marker für M. Parkinson in unterschiedlichen Geweben nachzuweisen. Erfolgreich war man bisher bei Biopsien der Haut, des Kolons und der submandibulären Speicheldrüse (Beach et al., 2010; Donadio et al., 2014; Lebouvier et al., 2010). In der vorliegenden Arbeit wurden Biopsien des Unterschenkels, des Oberschenkels, des Rückens und des Fingers auf p- $\alpha$ -Synuclein untersucht. Es fanden sich keine  $\alpha$ -Synuclein Ablagerungen in der gesunden Kontrollgruppe, allerdings in fast 72% der Patienten mit M. Parkinson. Donadio et al. fanden in ihrer Untersuchung 2014 bei allen Biopsien ihrer Patienten p- $\alpha$ -Synuclein. Sie nahmen paravertebrale Biopsien, im Bereich C8 und Biopsien des Oberschenkels und Unterschenkels. Zur Verbesserung der Ergebnisse wurde an den drei Biopsiestellen 3- 4cm entfernt von der ersten Entnahmestelle eine weitere Biopsie entnommen (Donadio et al., 2014). Zange et al. nahmen Biopsien vom Unterarm der klinisch stärker beeinträchtigten Seite und untersuchten autonome Strukturen auf p- $\alpha$ -Synuclein. Sie fanden ebenfalls bei allen Parkinson-Patienten Ablagerungen, allerdings ist einschränkend

anzumerken, dass die Auswertung unverblindet erfolgte (Zange et al., 2015). Folglich scheint die Hautbiopsie als diagnostisches Mittel in Frage zu kommen. Allerdings muss eine größere Anzahl an Patienten untersucht werden und die Untersuchungstechniken, -methoden müssen vereinheitlicht werden, um eine Aussage über die Sensitivität treffen zu können. Ebenso muss überprüft werden, ob p- $\alpha$ -Synuclein auch in sehr frühen Krankheitsstadien oder sogar in prämotorischen Stadien nachgewiesen werden kann (Stokholm et al., 2016; Vilas et al., 2016).

Differentialdiagnostisch konnten keine  $\alpha$ -Synuclein-Ablagerungen bei Patienten mit PSP und CBD gefunden werden. Bei der MSA, welche zu den Synucleinopathien gehört, konnte bei beinahe 73 % der Patienten p- $\alpha$ -Synuclein nachgewiesen werden. Interessanterweise konnten bei 75% dieser positiven MSA-Patienten die Ablagerungen an somatosensiblen Fasern des subepidermalen Plexus gefunden werden, wohingegen sich bei Patienten mit M. Parkinson nur 13% Ablagerungen an dieser Stelle darstellen ließen. Diese Ergebnisse könnten ein wichtiger Aspekt bei der Unterscheidung zwischen MSA und idiopathischem M. Parkinson, welche sich bisher in frühen Krankheitsstadien als schwierig gestaltet, sein. Allerdings müssen hierfür Studien mit größeren Probandenzahlen durchgeführt werden.

#### **4.7 Kritikpunkte**

Ein wichtiger Kritikpunkt ist wohl die Anzahl der Patienten. Um aussagekräftige und für die Klinik umsetzbare Ergebnisse zu erhalten, müsste eine viel größere Kohorte sowohl an Patienten als auch an Kontrollen untersucht werden. Ein weiterer zu berücksichtigender Punkt ist, dass die Kontrollgruppe bei Untersuchung der Innervationsdichte einer umfassenderen Untersuchung zum Ausschluss einer Neuropathie unterzogen werden müsste. Um das neuropathische Risikoprofil zu verbessern, sollten die gesunden Probanden eine ausführliche Anamnese, eine elektrophysiologische Untersuchung, eine Blutentnahme mit Bestimmung von (zumindest) Vitamin B12, B6 und Folsäure und einen oralen Glukosetoleranztest erhalten. Des Weiteren müsste man die elektrophysiologische Untersuchung, neben der des Nervus suralis, auf andere

Nerven ausweiten, um eine Schädigung ursächlich mit der Parkinson-Erkrankung in Verbindung bringen zu können. Die Entnahme von Hautbiopsien sollte vereinheitlicht werden und die Ergebnisse müssten im Verlauf der Erkrankung verifiziert werden.

Die Suche nach p- $\alpha$ -Synuclein in der Haut ist nach aktuellem Forschungsstand noch nicht umsetzbar für die frühdiagnostische Untersuchung. Wichtig wäre hierbei die Untersuchung sehr früher Stadien der Erkrankung und ein einheitliches Schema zur Entnahme und Aufarbeitung der Biopsien. Auch für die Untersuchung von Synapsen müsste die Entnahme von Biopsien hinsichtlich des Entnahmeortes und der Anzahl der entnommenen Biopsien optimiert werden. Auch könnte die Untersuchung synaptischer Pathologien auf Erector pili Muskeln ausgeweitet werden. Ziel sollte sein, bei zumindest einem Präparat jedes Patienten Schweißdrüsen oder Erector pili Muskeln zu finden, um somit eine sichere Untersuchung der Synapsen zu garantieren.

Diesbezüglich bestünde auch die Möglichkeit Stufenschnitte anzufertigen.

Desweiteren muss die Auswertungsmethodik hinsichtlich der Innervation von autonomen Strukturen verbessert werden. ImageJ zeigt hierfür vermutlich nicht genügend sensitive Ergebnisse.

#### **4.8 Klinische Relevanz**

In der vorliegenden Arbeit war eines der Ziele die Bewertung von Hautbiopsien als diagnostisches Mittel. P- $\alpha$ -Synuclein wird als Biomarker für M. Parkinson angesehen und so wurden in den letzten Jahren verschiedene Gewebe und Sekrete auf das Vorliegen pathologischer Ablagerungen untersucht (Abd-Elhadi et al., 2016; Beach et al., 2010; Donadio et al., 2014; Shannon et al., 2012).

Auch wenn sich in vielen dieser Studien, wie auch der vorliegenden Arbeit, positive Ergebnisse zeigen, wird es wohl noch ein großer Schritt sein, bis Hautbiopsien in der Frühdiagnostik von M. Parkinson klinisch eingesetzt werden können. Hierfür muss eine höhere Sensitivität und Spezifität erreicht werden.

Des Weiteren ist noch nicht ausreichend untersucht, inwieweit  $\alpha$ -Synuclein Aggregationen in frühen Krankheitsstadien bzw. vor dem Vorhandensein klinischer Symptome detektiert werden können.

Auch gibt es aktuell ein Umdenken im Bereich der pathophysiologischen Ursachenforschung, wobei die Ergebnisse von Schulz-Schäfer, Garcia-Reitböck, Sharma sowie ihren Kollegen neue Perspektiven eröffnen (Garcia-Reitböck et al., 2010; Schulz-Schaeffer, 2015; Sharma et al., 2012a). Aus diesem Grund war ein weiteres Ziel dieser Studie Pathologien an Synapsen in vivo nachzuweisen. Hierbei konnte eine Reduktion präsynaptischer Proteine nachgewiesen werden. Falls sich die Vermutung bestätigt, dass die synaptische Dysfunktion ursächlich für die Parkinson-Erkrankung ist und den Lewy-Pathologien vorausgeht, könnte die Hautbiopsie und die damit verbundene Untersuchung von Synapsen an Schweißdrüsen und Erector pili Muskeln zu einem wichtigen diagnostischen Mittel werden.

## **5. Zusammenfassung**

Die Forschung auf dem Gebiet der Parkinson-Erkrankung erlebt einen großen Wandel. Eindeutig ist mittlerweile, dass es zu kurz gefasst wäre diese Erkrankung auf die motorischen Symptome zu beschränken. In den letzten Jahren wurde durch intensive Forschung bewiesen, dass der idiopathische M. Parkinson eine multisystemische Erkrankung ist, welche verschiedene Teile des Nervensystems betreffen kann (Beach et al., 2010; Jellinger, 2012). Um die zugrundeliegende Pathophysiologie und die Beteiligung des autonomen Nervensystems bei M. Parkinson näher zu untersuchen, wurden für diese Studie 30 Patienten mit idiopathischem M. Parkinson, 19 Patienten mit atypischem Parkinsonsyndrom und 30 gesunde Probanden am Universitätsklinikum Würzburg und an der Paracelsus-Elena-Klinik Kassel rekrutiert. Um Beeinträchtigungen von groß- und kleinkalibrigen Nervenfasern einschätzen zu können, wurden eine Neurografie des N. suralis sowie eine quantitativ sensorische Testung durchgeführt. Zur Bewertung einer möglichen toxischen Komponente von Levodopa gegenüber einer direkten Schädigung peripherer Nerven durch p- $\alpha$ -Synuclein wurden am Vitamin B12 Stoffwechsel beteiligte Proteine im Blut bestimmt. Alle Patienten und Probanden erhielten Hautbiopsien an Unterschenkel, Oberschenkel, Rücken und Finger, um

anschließend eine immunhistochemische Aufarbeitung der Präparate durchführen zu können. Einerseits wurde die Beteiligung somatosensibler Nervenfasern mithilfe der Auszählung intraepidermaler Nervenfasern (PGP 9.5) bewertet. Andererseits wurden die Schweißdrüsen auf Pathologien der sympathischen Nervenfasern (VIP, TH, SP, CGRP) und der sudomotorischen Synapsen (SNCA, Synaptophysin, SNAP 25) untersucht. Weiterhin wurde versucht p- $\alpha$ -Synuclein, als Biomarker der Parkinson-Erkrankung, in der Haut nachzuweisen.

In der laborchemischen Untersuchung konnte bei insgesamt 20 Patienten ein erhöhter Homocystein-Spiegel und eine positive Korrelation mit der Erkrankungsschwere ( $p=0,004$ ) nachgewiesen werden, wodurch sich ein krankheitsabhängiger Anstieg eines Metaboliten, der eventuell eine toxische Wirkung auf Nervenfasern haben könnte, vermuten ließe.

In der elektrophysiologischen Untersuchung des N. suralis fanden sich bei insgesamt 14 Patienten erniedrigte Werte der SNAP, ohne Korrelation zu Levodopa-Dosis oder Patientenalter, was eine axonale Beeinträchtigung der großkalibrigen Nervenfasern als spezifische Manifestation der Parkinson-Erkrankung möglich macht.

Im Hinblick auf eine reduzierte Schweißdrüsen-Innervation bei M. Parkinson-Patienten zeigte sich eine verminderte VIP-Dichte im Unterschenkel der Parkinson-Patienten ( $p=0,008$ ), was eine Beeinträchtigung der Schweißdrüsenfunktion bei der Patientengruppe vermuten lässt.

Positive Ergebnisse konnten auch hinsichtlich pathologischer Prozesse an den Synapsen und der Detektion von nativem  $\alpha$ -Synuclein erzielt werden. Es zeigte sich sowohl eine Reduktion von nativem  $\alpha$ -Synuclein (Unterschenkel,  $p=0,009$  und Rücken,  $p=0,013$ ), Synaptophysin (Unterschenkel,  $p=0,007$ ) als auch SNAP 25 (Unterschenkel,  $p=0,023$ ) an den untersuchten Schweißdrüsen der Patientengruppe. Bei der Untersuchung von SNAP 25 zeigte sich des Weiteren eine negative Korrelation zwischen der SNAP 25 Dichte im Unterschenkel und p- $\alpha$ -Synuclein ( $p=0,007$ ). Diese Ergebnisse bekräftigen die Hypothese, dass ein pathologischer Prozess an den Synapsen bei M. Parkinson vorliegt.

Bei der Suche nach p- $\alpha$ -Synuclein wurden beinahe 72% der Parkinson-Patienten positiv getestet, wohingegen keiner der gesunden Probanden p- $\alpha$ -Synuclein in der Haut zeigte. Weiterhin konnte bei 75% der positiv getesteten MSA-Patienten p- $\alpha$ -Synuclein an somatosensiblen Nervenfasern des subepidermalen Plexus nachgewiesen werden, wohingegen es bei den M. Parkinson Patienten nur 13% waren. Diese Resultate machen die Hautbiopsie für die Differentialdiagnose der Parkinson-Erkrankung interessant. Die Ergebnisse der zugrundeliegenden Arbeit zeigen, dass die Hautbiopsie als frühdiagnostisches Mittel und in der Differentialdiagnose ein hohes Potenzial hat. Die Erforschung von Pathologien an Synapsen wird in der Zukunft an großer Bedeutung gewinnen und scheint ein wichtiger Ansatz, um die Pathophysiologie des M. Parkinson genauer zu verstehen. Wünschenswert wäre hierdurch die Entwicklung kausaler Therapiemöglichkeiten. Die Hautbiopsie könnte dabei von Vorteil sein, da sich eine Pathologie in vivo untersuchen lässt und man nicht auf Ergebnisse von Autopsien angewiesen ist.

## 6. Literaturverzeichnis

- Abd-Elhadi, S., Basora, M., Vilas, D., Tolosa, E., & Sharon, R. (2016). Total alpha-synuclein levels in human blood cells, CSF, and saliva determined by a lipid-ELISA. *Anal Bioanal Chem*, *408*(27), 7669-7677.  
doi:10.1007/s00216-016-9863-7
- Adler, C. H., Dugger, B. N., Hinni, M. L., Lott, D. G., Driver-Dunckley, E., Hidalgo, J., et al. (2014). Submandibular gland needle biopsy for the diagnosis of Parkinson disease. *Neurology*, *82*(10), 858-864.  
doi:10.1212/WNL.0000000000000204
- Allain, P., Le Bouil, A., Cordillet, E., Le Quay, L., Bagheri, H., & Montastruc, J. L. (1995). Sulfate and cysteine levels in the plasma of patients with Parkinson's disease. *Neurotoxicology*, *16*(3), 527-529.
- Ardley, H. C., Scott, G. B., Rose, S. A., Tan, N. G., Markham, A. F., & Robinson, P. A. (2003). Inhibition of proteasomal activity causes inclusion formation in neuronal and non-neuronal cells overexpressing Parkin. *Mol Biol Cell*, *14*(11), 4541-4556. doi:10.1091/mbc.E03-02-0078
- Beach, T. G., Adler, C. H., Sue, L. I., Vedders, L., Lue, L., White lli, C. L., et al. (2010). Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta Neuropathol*, *119*(6), 689-702. doi:10.1007/s00401-010-0664-3
- Berg, D., Siefker, C., & Becker, G. (2001). Echogenicity of the substantia nigra in Parkinson's disease and its relation to clinical findings. *J Neurol*, *248*(8), 684-689.

- Boka, G., Anglade, P., Wallach, D., Javoy-Agid, F., Agid, Y., & Hirsch, E. C. (1994). Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, *172*(1-2), 151-154.
- Bordet, R., Benhadjali, J., Destee, A., Hurtevent, J. F., Bourriez, J. L., & Guieu, J. D. (1996). Sympathetic skin response and R-R interval variability in multiple system atrophy and idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord*, *11*(3), 268-272. doi:10.1002/mds.870110309
- Braak, H., Del Tredici, K., Rub, U., de Vos, R. A., Jansen Steur, E. N., & Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*, *24*(2), 197-211.
- Buee, L., & Delacourte, A. (1999). Comparative biochemistry of tau in progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration, FTDP-17 and Pick's disease. *Brain Pathol*, *9*(4), 681-693.
- Cabin, D. E., Shimazu, K., Murphy, D., Cole, N. B., Gottschalk, W., McIlwain, K. L., et al. (2002). Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. *J Neurosci*, *22*(20), 8797-8807.
- Chu, Y., Morfini, G. A., Langhamer, L. B., He, Y., Brady, S. T., & Kordower, J. H. (2012). Alterations in axonal transport motor proteins in sporadic and experimental Parkinson's disease. *Brain*, *135*(Pt 7), 2058-2073. doi:10.1093/brain/aws133
- Chua, C. E., & Tang, B. L. (2011). Rabs, SNAREs and alpha-synuclein-- membrane trafficking defects in synucleinopathies. *Brain Res Rev*, *67*(1-2), 268-281. doi:10.1016/j.brainresrev.2011.03.002



- Comi, C., Magistrelli, L., Oggioni, G. D., Carecchio, M., Fleetwood, T., Cantello, R., et al. (2014). Peripheral nervous system involvement in Parkinson's disease: evidence and controversies. *Parkinsonism Relat Disord*, 20(12), 1329-1334. doi:10.1016/j.parkreldis.2014.10.010
- Courbon, F., Brefel-Courbon, C., Thalamas, C., Alibelli, M. J., Berry, I., Montastruc, J. L., et al. (2003). Cardiac MIBG scintigraphy is a sensitive tool for detecting cardiac sympathetic denervation in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 18(8), 890-897. doi:10.1002/mds.10461
- Dabby, R., Djaldetti, R., Shahmurov, M., Treves, T. A., Gabai, B., Melamed, E., et al. (2006). Skin biopsy for assessment of autonomic denervation in Parkinson's disease. *J Neural Transm*, 113(9), 1169-1176. doi:10.1007/s00702-005-0431-0
- Day, M., Wang, Z., Ding, J., An, X., Ingham, C. A., Shering, A. F., et al. (2006). Selective elimination of glutamatergic synapses on striatopallidal neurons in Parkinson disease models. *Nat Neurosci*, 9(2), 251-259. doi:10.1038/nn1632
- de Lau, L. M., & Breteler, M. M. (2006). Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*, 5(6), 525-535. doi:10.1016/S1474-4422(06)70471-9
- Desplats, P., Lee, H. J., Bae, E. J., Patrick, C., Rockenstein, E., Crews, L., et al. (2009). Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(31), 13010-13015. doi:10.1073/pnas.0903691106
- Dickson, D. W. (2012). Parkinson's disease and parkinsonism: neuropathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2(8). doi:10.1101/cshperspect.a009258

- Dickson, D. W., Bergeron, C., Chin, S. S., Duyckaerts, C., Horoupian, D., Ikeda, K., et al. (2002). Office of Rare Diseases neuropathologic criteria for corticobasal degeneration. *J Neuropathol Exp Neurol*, 61(11), 935-946.
- Donadio, V., Incensi, A., Leta, V., Giannoccaro, M. P., Scaglione, C., Martinelli, P., et al. (2014). Skin nerve alpha-synuclein deposits: a biomarker for idiopathic Parkinson disease. *Neurology*, 82(15), 1362-1369.  
doi:10.1212/WNL.0000000000000316
- Doppler, K., Ebert, S., Uceyler, N., Trenkwalder, C., Ebentheuer, J., Volkman, J., et al. (2014). Cutaneous neuropathy in Parkinson's disease: a window into brain pathology. *Acta Neuropathol*, 128(1), 99-109.  
doi:10.1007/s00401-014-1284-0
- Doppler, K., Weis, J., Karl, K., Ebert, S., Ebentheuer, J., Trenkwalder, C., et al. (2015). Distinctive Distribution of phospho-alpha-synuclein in dermal nerves in multiple system atrophy. *Mov Disord*. doi:10.1002/mds.26293
- Dorsey, E. R., Constantinescu, R., Thompson, J. P., Biglan, K. M., Holloway, R. G., Kieburtz, K., et al. (2007). Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*, 68(5), 384-386. doi:10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03
- van Dyck, C. H., Seibyl, J. P., Malison, R. T., Laruelle, M., Zoghbi, S. S., Baldwin, R. M., et al. (2002). Age-related decline in dopamine transporters: analysis of striatal subregions, nonlinear effects, and hemispheric asymmetries. *Am J Geriatr Psychiatry*, 10(1), 36-43.

- Dzamko, N., & Halliday, G. M. (2012). An emerging role for LRRK2 in the immune system. *Biochem Soc Trans*, 40(5), 1134-1139.  
doi:10.1042/BST20120119
- Eggert, K. M., Oertel, W. H., & Reichmann, H. (2012, 11.10.2015). Parkinson-Syndrom - Diagnostik und Therapie. Retrieved from <http://www.dgn.org/leitlinien/2346-II-09-2012-parkinson-syndrome-diagnostik-und-therapie>
- Eidelberg, D., Dhawan, V., Moeller, J. R., Sidtis, J. J., Ginos, J. Z., Strother, S. C., et al. (1991). The metabolic landscape of cortico-basal ganglionic degeneration: regional asymmetries studied with positron emission tomography. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 54(10), 856-862.
- Fasano, A., Visanji, N. P., Liu, L. W., Lang, A. E., & Pfeiffer, R. F. (2015). Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol*, 14(6), 625-639. doi:10.1016/S1474-4422(15)00007-1
- Fearnley, J. M., & Lees, A. J. (1991). Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*, 114 ( Pt 5), 2283-2301.
- Fernandez, A., de Ceballos, M. L., Rose, S., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1996). Alterations in peptide levels in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease. *Brain*, 119 ( Pt 3), 823-830.
- Freissmuth, Michael, Offermanns, Stefan, & Böhm, Stefan. (2012). *Pharmakologie & Toxikologie*. Heidelberg: Springer.
- Garcia-Reitböck, P., Anichtchik, O., Bellucci, A., Iovino, M., Ballini, C., Fineberg, E., et al. (2010). SNARE protein redistribution and synaptic failure in a

- transgenic mouse model of Parkinson's disease. *Brain*, 133(Pt 7), 2032-2044. doi:10.1093/brain/awq132
- George, J. M. (2002). The synucleins. *Genome Biol*, 3(1), REVIEWS3002.
- Gerlach, Manfred, Reichmann, Heinz, & Riederer, Peter. (2003). *Die Parkinson-Krankheit*. Wien [u.a.]: Springer.
- Gibb, W. R., & Lees, A. J. (1988). The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 51(6), 745-752.
- Gilman, S., Wenning, G. K., Low, P. A., Brooks, D. J., Mathias, C. J., Trojanowski, J. Q., et al. (2008). Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology*, 71(9), 670-676. doi:10.1212/01.wnl.0000324625.00404.15
- Goedert, M., Spillantini, M. G., Del Tredici, K., & Braak, H. (2013). 100 years of Lewy pathology. *Nat Rev Neurol*, 9(1), 13-24. doi:10.1038/nrneurol.2012.242
- Goetz, C. G., Tilley, B. C., Shaftman, S. R., Stebbins, G. T., Fahn, S., Martinez-Martin, P., et al. (2008). Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord*, 23(15), 2129-2170. doi:10.1002/mds.22340
- Gordon, S. L., Quinsey, N. S., Dunkley, P. R., & Dickson, P. W. (2008). Tyrosine hydroxylase activity is regulated by two distinct dopamine-binding sites. *J Neurochem*, 106(4), 1614-1623. doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05509.x

- Groschel, K., Kastrup, A., Litvan, I., & Schulz, J. B. (2006). Penguins and hummingbirds: midbrain atrophy in progressive supranuclear palsy. *Neurology*, 66(6), 949-950. doi:10.1212/01.wnl.0000203342.77115.bf
- Hautmann, G., Campanile, G., Bianchi, B., & Lotti, T. (1999). Alcohol intake, cytokines, neuropeptides, and the skin. *Clin Dermatol*, 17(4), 391-394.
- Hauw, J. J., Daniel, S. E., Dickson, D., Horoupian, D. S., Jellinger, K., Lantos, P. L., et al. (1994). Preliminary NINDS neuropathologic criteria for Steele-Richardson-Olszewski syndrome (progressive supranuclear palsy). *Neurology*, 44(11), 2015-2019.
- Heinrich, Peter C., Löffler, Georg, & Petrides, Petro E. (2014). *Löffler, Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. Berlin [u.a.]: Springer.
- Hoehn, M. M., & Yahr, M. D. (1967). Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*, 17(5), 427-442.
- Hufschmidt, Andreas, & Amtage, Florian. (2013). *Neurologie compact*. Stuttgart [u.a.]: Thieme.
- Hughes, A. J., Daniel, S. E., Ben-Shlomo, Y., & Lees, A. J. (2002). The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. *Brain*, 125(Pt 4), 861-870.
- Hunot, S., Dugas, N., Faucheux, B., Hartmann, A., Tardieu, M., Debre, P., et al. (1999). FcepsilonRII/CD23 is expressed in Parkinson's disease and induces, in vitro, production of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha in glial cells. *J Neurosci*, 19(9), 3440-3447.
- Ikemura, M., Saito, Y., Sengoku, R., Sakiyama, Y., Hatsuta, H., Kanemaru, K., et al. (2008). Lewy body pathology involves cutaneous nerves. *J*

- Neuropathol Exp Neurol*, 67(10), 945-953.  
doi:10.1097/NEN.0b013e318186de48
- Jakes, R., Spillantini, M. G., & Goedert, M. (1994). Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS Lett*, 345(1), 27-32.
- Jellinger, K. A. (2012). Neuropathology of sporadic Parkinson's disease: evaluation and changes of concepts. *Mov Disord*, 27(1), 8-30.  
doi:10.1002/mds.23795
- Kalia, L. V., & Lang, A. E. (2015). Parkinson's disease. *Lancet*, 386(9996), 896-912. doi:10.1016/S0140-6736(14)61393-3
- Kato, N., Arai, K., & Hattori, T. (2003). Study of the rostral midbrain atrophy in progressive supranuclear palsy. *J Neurol Sci*, 210(1-2), 57-60.
- Kawada, M., Tamada, Y., Simizu, H., Yanagishita, T., Yamashita, N., Ishida, N., et al. (2009). Reduction in QSART and vasoactive intestinal polypeptide expression in the skin of Parkinson's disease patients and its relation to dyshidrosis. *J Cutan Pathol*, 36(5), 517-521. doi:10.1111/j.1600-0560.2008.01086.x
- Kimura, Jun. (2001). *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle*. Oxford [u.a.]: Oxford Univ. Press.
- Klingelhoefer, L., & Reichmann, H. (2015). Pathogenesis of Parkinson disease--the gut-brain axis and environmental factors. *Nat Rev Neurol*, 11(11), 625-636. doi:10.1038/nrneurol.2015.197
- Kordower, J. H., Chu, Y., Hauser, R. A., Freeman, T. B., & Olanow, C. W. (2008). Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral

transplants in Parkinson's disease. *Nat Med*, 14(5), 504-506.

doi:10.1038/nm1747

- Kraft, E., Schwarz, J., Trenkwalder, C., Vogl, T., Pfluger, T., & Oertel, W. H. (1999). The combination of hypointense and hyperintense signal changes on T2-weighted magnetic resonance imaging sequences: a specific marker of multiple system atrophy? *Arch Neurol*, 56(2), 225-228.
- Kramer, M. L., & Schulz-Schaeffer, W. J. (2007). Presynaptic alpha-synuclein aggregates, not Lewy bodies, cause neurodegeneration in dementia with Lewy bodies. *J Neurosci*, 27(6), 1405-1410.  
doi:10.1523/JNEUROSCI.4564-06.2007
- Kuwabara, H., Cumming, P., Reith, J., Leger, G., Diksic, M., Evans, A. C., et al. (1993). Human striatal L-dopa decarboxylase activity estimated in vivo using 6-[18F]fluoro-dopa and positron emission tomography: error analysis and application to normal subjects. *J Cereb Blood Flow Metab*, 13(1), 43-56. doi:10.1038/jcbfm.1993.7
- Langston, J. W., Ballard, P., Tetrud, J. W., & Irwin, I. (1983). Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*, 219(4587), 979-980.
- Lauria, G., Cornblath, D. R., Johansson, O., McArthur, J. C., Mellgren, S. I., Nolano, M., et al. (2005). EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. *Eur J Neurol*, 12(10), 747-758.  
doi:10.1111/j.1468-1331.2005.01260.x
- Lauria, G., Hsieh, S. T., Johansson, O., Kennedy, W. R., Leger, J. M., Mellgren, S. I., et al. (2010). European Federation of Neurological

Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *Eur J Neurol*, 17(7), 903-912, e944-909. doi:10.1111/j.1468-1331.2010.03023.x

Lebouvier, T., Neunlist, M., Bruley des Varannes, S., Coron, E., Drouard, A., N'Guyen, J. M., et al. (2010). Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson's disease and its relationship with symptoms. *PLoS One*, 5(9), e12728. doi:10.1371/journal.pone.0012728

Li, J. Y., Englund, E., Holton, J. L., Soulet, D., Hagell, P., Lees, A. J., et al. (2008). Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nat Med*, 14(5), 501-503. doi:10.1038/nm1746

Lin, C. H., Chao, C. C., Wu, S. W., Hsieh, P. C., Feng, F. P., Lin, Y. H., et al. (2016). Pathophysiology of Small-Fiber Sensory System in Parkinson's Disease: Skin Innervation and Contact Heat Evoked Potential. *Medicine (Baltimore)*, 95(10), e3058. doi:10.1097/MD.0000000000003058

Litvan, I., Bhatia, K. P., Burn, D. J., Goetz, C. G., Lang, A. E., McKeith, I., et al. (2003). Movement Disorders Society Scientific Issues Committee report: SIC Task Force appraisal of clinical diagnostic criteria for Parkinsonian disorders. *Mov Disord*, 18(5), 467-486. doi:10.1002/mds.10459

Liu, S., Ninan, I., Antonova, I., Battaglia, F., Trinchese, F., Narasanna, A., et al. (2004). alpha-Synuclein produces a long-lasting increase in



neurotransmitter release. *EMBO J*, 23(22), 4506-4516.

doi:10.1038/sj.emboj.7600451

Lotti, T., Hautmann, G., & Panconesi, E. (1995). Neuropeptides in skin. *J Am Acad Dermatol*, 33(3), 482-496.

Lundberg, J. M., Hokfelt, T., Anggard, A., Terenius, L., Elde, R., Markey, K., et al. (1982). Organizational principles in the peripheral sympathetic nervous system: subdivision by coexisting peptides (somatostatin-, avian pancreatic polypeptide-, and vasoactive intestinal polypeptide-like immunoreactive materials). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79(4), 1303-1307.

Magerl, W., Krumova, E. K., Baron, R., Tolle, T., Treede, R. D., & Maier, C. (2010). Reference data for quantitative sensory testing (QST): refined stratification for age and a novel method for statistical comparison of group data. *Pain*, 151(3), 598-605. doi:10.1016/j.pain.2010.07.026

McNaught, K. S., Shashidharan, P., Perl, D. P., Jenner, P., & Olanow, C. W. (2002). Aggresome-related biogenesis of Lewy bodies. *Eur J Neurosci*, 16(11), 2136-2148.

McNeill, T. H., Brown, S. A., Rafols, J. A., & Shoulson, I. (1988). Atrophy of medium spiny I striatal dendrites in advanced Parkinson's disease. *Brain Res*, 455(1), 148-152.

Miki, Y., Tomiyama, M., Ueno, T., Haga, R., Nishijima, H., Suzuki, C., et al. (2010). Clinical availability of skin biopsy in the diagnosis of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 469(3), 357-359.

doi:10.1016/j.neulet.2009.12.027

- Milber, J. M., Noorigian, J. V., Morley, J. F., Petrovitch, H., White, L., Ross, G. W., et al. (2012). Lewy pathology is not the first sign of degeneration in vulnerable neurons in Parkinson disease. *Neurology*, *79*(24), 2307-2314. doi:10.1212/WNL.0b013e318278fe32
- Morell, M., Souza-Moreira, L., & Gonzalez-Rey, E. (2012). VIP in neurological diseases: more than a neuropeptide. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, *12*(4), 323-332.
- Morimatsu, M., & Negoro, K. (2002). [Provisional diagnostic criteria of corticobasal degeneration (CBD) and the survey of patients with CBD in Japan]. *Rinsho Shinkeigaku*, *42*(11), 1150-1153.
- Muangpaisan, W., Hori, H., & Brayne, C. (2009). Systematic review of the prevalence and incidence of Parkinson's disease in Asia. *J Epidemiol*, *19*(6), 281-293.
- Muller, A., Mungersdorf, M., Reichmann, H., Strehle, G., & Hummel, T. (2002). Olfactory function in Parkinsonian syndromes. *J Clin Neurosci*, *9*(5), 521-524.
- Muller, T., Renger, K., & Kuhn, W. (2004). Levodopa-associated increase of homocysteine levels and sural axonal neurodegeneration. *Arch Neurol*, *61*(5), 657-660. doi:10.1001/archneur.61.5.657
- Nagerl, U. V., Eberhorn, N., Cambridge, S. B., & Bonhoeffer, T. (2004). Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron*, *44*(5), 759-767. doi:10.1016/j.neuron.2004.11.016
- Nemani, V. M., Lu, W., Berge, V., Nakamura, K., Onoa, B., Lee, M. K., et al. (2010). Increased expression of alpha-synuclein reduces

- neurotransmitter release by inhibiting synaptic vesicle recluster after endocytosis. *Neuron*, 65(1), 66-79. doi:10.1016/j.neuron.2009.12.023
- Nishie, M., Mori, F., Fujiwara, H., Hasegawa, M., Yoshimoto, M., Iwatsubo, T., et al. (2004). Accumulation of phosphorylated alpha-synuclein in the brain and peripheral ganglia of patients with multiple system atrophy. *Acta Neuropathol*, 107(4), 292-298. doi:10.1007/s00401-003-0811-1
- Nolano, M., Provitera, V., Estraneo, A., Selim, M. M., Caporaso, G., Stancanelli, A., et al. (2008). Sensory deficit in Parkinson's disease: evidence of a cutaneous denervation. *Brain*, 131(Pt 7), 1903-1911.  
doi:10.1093/brain/awn102
- Noyce, A. J., Bestwick, J. P., Silveira-Moriyama, L., Hawkes, C. H., Giovannoni, G., Lees, A. J., et al. (2012). Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Ann Neurol*, 72(6), 893-901.  
doi:10.1002/ana.23687
- Oba, H., Yagishita, A., Terada, H., Barkovich, A. J., Kutomi, K., Yamauchi, T., et al. (2005). New and reliable MRI diagnosis for progressive supranuclear palsy. *Neurology*, 64(12), 2050-2055.  
doi:10.1212/01.WNL.0000165960.04422.D0
- Ohsawa, Y., Kurokawa, K., Sonoo, M., Yamada, H., Hemmi, S., Iwatsuki, K., et al. (2005). Reduced amplitude of the sural nerve sensory action potential in PARK2 patients. *Neurology*, 65(3), 459-462.  
doi:10.1212/01.wnl.0000171859.85078.3d

- Okochi, M., Walter, J., Koyama, A., Nakajo, S., Baba, M., Iwatsubo, T., et al. (2000). Constitutive phosphorylation of the Parkinson's disease associated alpha-synuclein. *J Biol Chem*, 275(1), 390-397.
- Okubadejo, N. U., Bower, J. H., Rocca, W. A., & Maraganore, D. M. (2006). Parkinson's disease in Africa: A systematic review of epidemiologic and genetic studies. *Mov Disord*, 21(12), 2150-2156. doi:10.1002/mds.21153
- Okuma, Y., Hattori, N., & Mizuno, Y. (2003). Sensory neuropathy in autosomal recessive juvenile parkinsonism (PARK2). *Parkinsonism Relat Disord*, 9(5), 313-314.
- Papp, M. I., Kahn, J. E., & Lantos, P. L. (1989). Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration, olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome). *J Neurol Sci*, 94(1-3), 79-100.
- Parkinson, James. (1817). *An essay on the shaking palsy*. London: Wittingham & Rowland.
- Perez, R. G., Waymire, J. C., Lin, E., Liu, J. J., Guo, F., & Zigmond, M. J. (2002). A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *J Neurosci*, 22(8), 3090-3099. doi:20026307
- Polymeropoulos, M. H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S. E., Dehejia, A., Dutra, A., et al. (1997). Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*, 276(5321), 2045-2047.
- Poston, K. L., & Eidelberg, D. (2010). FDG PET in the Evaluation of Parkinson's Disease. *PET Clin*, 5(1), 55-64. doi:10.1016/j.cpet.2009.12.004

- Rajabally, Y. A., & Martey, J. (2011). Neuropathy in Parkinson disease: prevalence and determinants. *Neurology*, *77*(22), 1947-1950. doi:10.1212/WNL.0b013e31823a0ee4
- Rajput, A., & Rajput, A. H. (2001). Progressive supranuclear palsy: clinical features, pathophysiology and management. *Drugs Aging*, *18*(12), 913-925.
- Rassow, Joachim. (2006). *Biochemie*. Stuttgart: Thieme.
- Richardson, J. C., Steele, J., & Olszewski, J. (1963). Supranuclear Ophthalmoplegia, Pseudobulbar Palsy, Nuchal Dystonia and Dementia. A Clinical Report on Eight Cases of "Heterogenous System Degeneration". *Trans Am Neurol Assoc*, *88*, 25-29.
- Rivner, M. H., Swift, T. R., & Malik, K. (2001). Influence of age and height on nerve conduction. *Muscle Nerve*, *24*(9), 1134-1141.
- Rolke, R., Baron, R., Maier, C., Tolle, T. R., Treede, R. D., Beyer, A., et al. (2006). Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. *Pain*, *123*(3), 231-243. doi:10.1016/j.pain.2006.01.041
- Russell, F. A., King, R., Smillie, S. J., Kodji, X., & Brain, S. D. (2014). Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*, *94*(4), 1099-1142. doi:10.1152/physrev.00034.2013
- Salsona, M., Labate, A., & Quattrone, A. (2012). Cardiac denervation precedes nigrostriatal damage in idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder. *Mov Disord*, *27*(8), 1068-1069. doi:10.1002/mds.25002

- Sanna, G., Del Giudice, M. G., Crosio, C., & Iaccarino, C. (2012). LRRK2 and vesicle trafficking. *Biochem Soc Trans*, *40*(5), 1117-1122.  
doi:10.1042/BST20120117
- Santos-Garcia, D., de la Fuente-Fernandez, R., Valdeoriola, F., Palasi, A., Carrillo, F., Grande, M., et al. (2012). Polyneuropathy while on duodenal levodopa infusion in Parkinson's disease patients: we must be alert. *J Neurol*, *259*(8), 1668-1672. doi:10.1007/s00415-011-6396-z
- Schapira, A. H., Cooper, J. M., Dexter, D., Clark, J. B., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1990). Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem*, *54*(3), 823-827.
- Schrag, A., Ben-Shlomo, Y., & Quinn, N. P. (1999). Prevalence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy: a cross-sectional study. *Lancet*, *354*(9192), 1771-1775.
- Schrag, A., Good, C. D., Miszkiel, K., Morris, H. R., Mathias, C. J., Lees, A. J., et al. (2000). Differentiation of atypical parkinsonian syndromes with routine MRI. *Neurology*, *54*(3), 697-702.
- Schulz-Schaeffer, W. J. (2010). The synaptic pathology of alpha-synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol*, *120*(2), 131-143.  
doi:10.1007/s00401-010-0711-0
- Schulz-Schaeffer, W. J. (2012). Neurodegeneration in Parkinson disease: moving Lewy bodies out of focus. *Neurology*, *79*(24), 2298-2299.  
doi:10.1212/WNL.0b013e318278b6a7

- Schulz-Schaeffer, W. J. (2015). Is Cell Death Primary or Secondary in the Pathophysiology of Idiopathic Parkinson's Disease? *Biomolecules*, 5(3), 1467-1479. doi:10.3390/biom5031467
- Schwarz, J., Antonini, A., Tatsch, K., Kirsch, C. M., Oertel, W. H., & Leenders, K. L. (1994). Comparison of 123I-IBZM SPECT and 11C-raclopride PET findings in patients with parkinsonism. *Nucl Med Commun*, 15(10), 806-813.
- Schwarz, Johannes, & Storch, Alexander. (2007). *Parkinson-Syndrome*. Stuttgart: Kohlhammer.
- Scott, D. A., Tabarean, I., Tang, Y., Cartier, A., Masliah, E., & Roy, S. (2010). A pathologic cascade leading to synaptic dysfunction in alpha-synuclein-induced neurodegeneration. *J Neurosci*, 30(24), 8083-8095. doi:10.1523/JNEUROSCI.1091-10.2010
- Shannon, K. M., Keshavarzian, A., Mutlu, E., Dodiya, H. B., Daian, D., Jaglin, J. A., et al. (2012). Alpha-synuclein in colonic submucosa in early untreated Parkinson's disease. *Mov Disord*, 27(6), 709-715. doi:10.1002/mds.23838
- Sharma, M., Burre, J., Bronk, P., Zhang, Y., Xu, W., & Sudhof, T. C. (2012a). CSPalpha knockout causes neurodegeneration by impairing SNAP-25 function. *EMBO J*, 31(4), 829-841. doi:10.1038/emboj.2011.467
- Sharma, M., Burre, J., & Sudhof, T. C. (2011). CSPalpha promotes SNARE-complex assembly by chaperoning SNAP-25 during synaptic activity. *Nat Cell Biol*, 13(1), 30-39. doi:10.1038/ncb2131

- Sharma, M., Burre, J., & Sudhof, T. C. (2012b). Proteasome inhibition alleviates SNARE-dependent neurodegeneration. *Sci Transl Med*, *4*(147), 147ra113. doi:10.1126/scitranslmed.3004028
- Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S., Mizuno, Y., Asakawa, S., Minoshima, S., et al. (2000). Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet*, *25*(3), 302-305. doi:10.1038/77060
- Shimura, H., Schlossmacher, M. G., Hattori, N., Frosch, M. P., Trockenbacher, A., Schneider, R., et al. (2001). Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science*, *293*(5528), 263-269. doi:10.1126/science.1060627
- Sidransky, E., & Lopez, G. (2012). The link between the GBA gene and parkinsonism. *Lancet Neurol*, *11*(11), 986-998. doi:10.1016/S1474-4422(12)70190-4
- Siebert, H., Kahle, P. J., Kramer, M. L., Isik, T., Schluter, O. M., Schulz-Schaeffer, W. J., et al. (2010). Over-expression of alpha-synuclein in the nervous system enhances axonal degeneration after peripheral nerve lesion in a transgenic mouse strain. *J Neurochem*, *114*(4), 1007-1018. doi:10.1111/j.1471-4159.2010.06832.x
- Smith, W., Wan, H., Much, D., Robinson, A. G., & Martin, P. (2016). Clinical benefit of midodrine hydrochloride in symptomatic orthostatic hypotension: a phase 4, double-blind, placebo-controlled, randomized, tilt-table study. *Clin Auton Res*, *26*(4), 269-277. doi:10.1007/s10286-016-0363-9



- Solis, O., Limon, D. I., Flores-Hernandez, J., & Flores, G. (2007). Alterations in dendritic morphology of the prefrontal cortical and striatum neurons in the unilateral 6-OHDA-rat model of Parkinson's disease. *Synapse*, *61*(6), 450-458. doi:10.1002/syn.20381
- Soliveri, P., Monza, D., Paridi, D., Radice, D., Grisoli, M., Testa, D., et al. (1999). Cognitive and magnetic resonance imaging aspects of corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Neurology*, *53*(3), 502-507.
- Sone, M., Yoshida, M., Hashizume, Y., Hishikawa, N., & Sobue, G. (2005). alpha-Synuclein-immunoreactive structure formation is enhanced in sympathetic ganglia of patients with multiple system atrophy. *Acta Neuropathol*, *110*(1), 19-26. doi:10.1007/s00401-005-1013-9
- Sossi, V., de la Fuente-Fernandez, R., Holden, J. E., Schulzer, M., Ruth, T. J., & Stoessl, J. (2004). Changes of dopamine turnover in the progression of Parkinson's disease as measured by positron emission tomography: their relation to disease-compensatory mechanisms. *J Cereb Blood Flow Metab*, *24*(8), 869-876. doi:10.1097/01.WCB.0000126563.85360.75
- Spillantini, M. G., Schmidt, M. L., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q., Jakes, R., & Goedert, M. (1997). Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*, *388*(6645), 839-840. doi:10.1038/42166
- Spinelli, K. J., Taylor, J. K., Osterberg, V. R., Churchill, M. J., Pollock, E., Moore, C., et al. (2014). Presynaptic alpha-synuclein aggregation in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurosci*, *34*(6), 2037-2050. doi:10.1523/JNEUROSCI.2581-13.2014

- Stokholm, M. G., Danielsen, E. H., Hamilton-Dutoit, S. J., & Borghammer, P. (2016). Pathological alpha-synuclein in gastrointestinal tissues from prodromal Parkinson disease patients. *Ann Neurol*, *79*(6), 940-949. doi:10.1002/ana.24648
- Storch, A., Odin, P., Trender-Gerhard, I., Fuchs, G., Reifschneider, G., Ray Chaudhuri, K., et al. (2010). [Non-motor Symptoms Questionnaire and Scale for Parkinson's disease. Cross-cultural adaptation into the German language]. *Nervenarzt*, *81*(8), 980-985. doi:10.1007/s00115-010-3010-z
- Strzelczyk, A., Moller, J. C., Stamelou, M., Matusch, A., & Oertel, W. H. (2008). [Atypical Parkinson syndromes]. *Nervenarzt*, *79*(10), 1203-1220; quiz 1221-1202. doi:10.1007/s00115-008-2559-2
- Synaptophysin 1. Retrieved from <https://www.sysy.com/products/s-physin1/gen.php>
- Thornton, E., & Vink, R. (2015). Substance P and its tachykinin NK1 receptor: a novel neuroprotective target for Parkinson's disease. *Neural Regen Res*, *10*(9), 1403-1405. doi:10.4103/1673-5374.165505
- Tison, F., Yekhlief, F., Chrysostome, V., & Sourgen, C. (2000). Prevalence of multiple system atrophy. *Lancet*, *355*(9202), 495-496. doi:10.1016/S0140-6736(00)82050-4
- Toth, C., Brown, M. S., Furtado, S., Suchowersky, O., & Zochodne, D. (2008). Neuropathy as a potential complication of levodopa use in Parkinson's disease. *Mov Disord*, *23*(13), 1850-1859. doi:10.1002/mds.22137
- Vilas, D., Iranzo, A., Tolosa, E., Aldecoa, I., Berenguer, J., Vilaseca, I., et al. (2016). Assessment of alpha-synuclein in submandibular glands of

patients with idiopathic rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: a case-control study. *Lancet Neurol*, 15(7), 708-718. doi:10.1016/S1474-4422(16)00080-6

Visanji, N. P., Marras, C., Kern, D. S., Al Dakheel, A., Gao, A., Liu, L. W., et al. (2015). Colonic mucosal a-synuclein lacks specificity as a biomarker for Parkinson disease. *Neurology*, 84(6), 609-616. doi:10.1212/WNL.0000000000001240

Visanji, N. P., Wislet-Gendebien, S., Oschipok, L. W., Zhang, G., Aubert, I., Fraser, P. E., et al. (2011). Effect of Ser-129 phosphorylation on interaction of alpha-synuclein with synaptic and cellular membranes. *J Biol Chem*, 286(41), 35863-35873. doi:10.1074/jbc.M111.253450

Wakabayashi, K., Takahashi, H., Ohama, E., & Ikuta, F. (1990). Parkinson's disease: an immunohistochemical study of Lewy body-containing neurons in the enteric nervous system. *Acta Neuropathol*, 79(6), 581-583.

Wakabayashi, K., Tanji, K., Mori, F., & Takahashi, H. (2007). The Lewy body in Parkinson's disease: molecules implicated in the formation and degradation of alpha-synuclein aggregates. *Neuropathology*, 27(5), 494-506.

Wang, N., Gibbons, C. H., Lafo, J., & Freeman, R. (2013). alpha-Synuclein in cutaneous autonomic nerves. *Neurology*, 81(18), 1604-1610. doi:10.1212/WNL.0b013e3182a9f449

Wang, Q., Chu, C. H., Qian, L., Chen, S. H., Wilson, B., Oyarzabal, E., et al. (2014). Substance P exacerbates dopaminergic neurodegeneration

- through neurokinin-1 receptor-independent activation of microglial NADPH oxidase. *J Neurosci*, *34*(37), 12490-12503.  
doi:10.1523/JNEUROSCI.2238-14.2014
- Wenning, G. K., Colosimo, C., Geser, F., & Poewe, W. (2004). Multiple system atrophy. *Lancet Neurol*, *3*(2), 93-103.
- Winklhofer, K. F., & Haass, C. (2010). Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*, *1802*(1), 29-44.  
doi:10.1016/j.bbadis.2009.08.013
- Yasui, K., Nakaso, K., Kowa, H., Takeshima, T., & Nakashima, K. (2003). Levodopa-induced hyperhomocysteinaemia in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand*, *108*(1), 66-67.
- Zaja-Milatovic, S., Milatovic, D., Schantz, A. M., Zhang, J., Montine, K. S., Samii, A., et al. (2005). Dendritic degeneration in neostriatal medium spiny neurons in Parkinson disease. *Neurology*, *64*(3), 545-547.  
doi:10.1212/01.WNL.0000150591.33787.A4
- Zange, L., Noack, C., Hahn, K., Stenzel, W., & Lipp, A. (2015). Phosphorylated alpha-synuclein in skin nerve fibres differentiates Parkinson's disease from multiple system atrophy. *Brain*, *138*(Pt 8), 2310-2321.  
doi:10.1093/brain/awv138
- Zimprich, A., Biskup, S., Leitner, P., Lichtner, P., Farrer, M., Lincoln, S., et al. (2004). Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron*, *44*(4), 601-607.  
doi:10.1016/j.neuron.2004.11.005

## 7. Anhang

### Geräte

Gerät	Bezeichnung	Hersteller
CCD-Kamera		Visitron Systems, Tuchheim, Deutschland
Mikroskop	Axiophot2	Zeiss, Göttingen, Deutschland
Mikroskop	Ax10	Zeiss, Göttingen, Deutschland
Mikrotom	CM 3050 S	Leica, Wetzlar, Deutschland
Pipetten	Eppendorf reference 5 µl, 10 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
QST-Gerät		Somedic, Hörby, Schweden

### Materialien

Art	Bezeichnung	Hersteller
Kanülen	Hypodermic Needle-Pro	Smiths Medical ASD, Keene, USA
Pipettenspitzen	5, 10, 100, 200, 1000	Sarstedt, Nürnbrecht, Deutschland
Skalpell		Braun, Tuttlingen, Deutschland
Sterile Einmalspritze 5 ml		Braun, Melsungen, Deutschland
Sterile Hautstanze für Hautbiopsien	Biopsy punch 3mm, 5mm	FA Stiefel, Smith Kline, Berks, England
Sterile Heftpflaster	Leukostrip	Smith&Nephew, Medical Limited, England

## Antikörper, Medikamente und Reagenzien

Art	Bezeichnung	Hersteller
BSA	Bovines Serumalbumin 10%	Laboreigene Herstellung
DABCO	1,4 Diazabicyclo-Octan	
Einbettmittel	Tissue Tek	Sakura, Zoeterwoude, Niederlande
Lokalanästhetikum	Scandicain 1%	Astra Zeneca, Wedel, Deutschland
PBS	Phosphat-Puffer-Saline	Laboreigene Herstellung
PFA	Paraformaldehyd 4%	Laboreigene Herstellung
Primäre Ak	PGP 9.5, 1:800	Ultra Clone, Isle of Wigh, England
	p- $\alpha$ -synuclein, Maus- IgG-Ak, 1:500	Covance, Princeton, USA
	VIP, Kaninchen-IgG-Ak, 1:1000	Immunostar, Hudson, USA
	Substanz P, Kaninchen- IgG-Ak, 1:100	Immunostar, Hudson, USA
	CGRP, Kaninchen-IgG- Ak, 1:500	Peninsula Laboratories International Inc., San Carlos, USA
	TH, Meerschweinchen- IgG-Ak, 1:200	Synaptic Systems, Göttingen, Deutschland
	SNAP 25, Maus-IgG-Ak, 1:500	Synaptic Systems, Göttingen, Deutschland
	Synaptophysin, Kaninchen-IgG-Ak, 1:1000	Chemicon International, Hofheim am Taunus, Deutschland
	Nicht-p- $\alpha$ -synuclein, Maus-IgG-Ak, 1:100	Acris Antibodies, San Diego, USA
	Sekundäre Ak	Cyanine 3 konjugierter Ziegen-IgG-Ak gegen Kaninchen, 1:50
Cyanine 3 konjugierter Esel-IgG-Ak gegen Maus, 1:50		Jackson ImmunoResearch, Pennsylvania, USA
Alexa Fluor 488 konjugierter Esel-IgG-Ak gegen Kaninchen, 1:200		Jackson ImmunoResearch, Pennsylvania, USA
Alexa Fluor konjugierter Ziegen-IgG-Ak gegen Meerschweinchen, 1:200		Jackson ImmunoResearch, Pennsylvania, USA
Stabilisierungsmittel	Vectashield Mounting Medium with DAPI	Vector Laboratories, Burlingame, USA
Triton		

## Software

Art	Bezeichnung	Hersteller
Auswertung IENFD	SPOT Software	Diagnostic Instruments, Inc, Sterling Heights, Michigan, USA
Auswertung Schweißdrüsen-Innervation	Visiview Software	Visitron GmbH, Puchheim, Deutschland
	ImageJ-Software	Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen danken, ohne die die Fertigstellung der Dissertation nicht möglich gewesen wäre

- Frau Prof. Dr. med Claudia Sommer für die Überlassung und Betreuung des Dissertationsthemas
- Frau Dr. med Kathrin Doppler für die geduldige und unermüdliche Anleitung und Betreuung der Dissertation
- Allen Mitarbeitern des histologischen Labors und der AG Sommer, insbesondere Frau Barbara Dekant, Frau Barbara Broll, Frau Hiltrud Klüpfel und Frau Kathleen Stahl, für die geduldige Anleitung, Hilfestellung und Unterstützung
- Allen Patienten und Probanden für die Teilnahme an der Studie
- Meiner Familie und meinen Freunden für ihre Geduld, Unterstützung und Motivation



