

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

**Generierung und Charakterisierung eines neuen Mausmodells des Morbus
Parkinson durch AAV1/2 vermittelte Überexpression von humanem
mutiertem A53T- α -Synuclein in der Substantia nigra**

Inauguraldissertation

**zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von
Laura-Christin Klaus
aus Siegen**

Würzburg, Dezember 2020

Referent: Prof. Dr. med. Chi Wang Ip

Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. Manfred Lutz

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 18.05.2021

Die Promovendin ist Ärztin.

In Erinnerung an Opa Paul.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Morbus Parkinson	1
1.2. Klassifikation/ Symptome/ Verlaufsformen	2
1.3. Epidemiologie	4
1.4. Ätiologie	6
1.4.1. Genetische Faktoren	6
1.4.2. Umweltfaktoren und Toxine	8
1.4.3. Metabolische Faktoren/ Zelluläre Mechanismen	11
1.5. Pathophysiologie	20
1.5.1. Degeneration	21
1.5.2. Lewy-Körper	23
1.6. Diagnostik	26
1.7. Therapiemöglichkeiten	28
1.8. α -Synuclein	29
1.9. Auf α -Synuclein basierende Parkinson-Tiermodelle	34
1.10. Zielsetzung dieser Arbeit	36
2. Material und Methoden	39
2.1. Versuchstiere	39
2.2. Stereotaktische Operation/ Vektorinjektion	39
2.3. Verhaltensexperimente	41
2.3.1. RotaRod	42
2.3.2. Open Field	43
2.3.3. Apomorphintest	44
2.3.4. Zylindertest	46
2.4. Transkardiale Perfusion/ Gehirnentnahme/ Gewebeverarbeitung	47
2.5. Immunhistochemie	49
2.5.1. Anfertigung der Gehirnschnitte	49
2.5.2. Färbungen	49
2.6. Auswertung	53
2.6.1. Immunhistochemische Auswertung	53
2.6.2. Statistische Auswertung	55
3. Ergebnisse	57
3.1. Auswirkungen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion in die rechte Substantia nigra auf die Verhaltensexperimente	57
3.1.1. RotaRod	57
3.1.2. Open Field	58

3.1.3. Apomorphintest	59
3.1.4. Zylindertest	59
3.2. Auswirkungen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion in die rechte Substantia nigra auf die immunhistochemischen Untersuchungen	61
3.2.1. Tyrosinhydroxylasefärbung	61
3.2.2. Immunfluoreszenzdoppelfärbung Tyrosinhydroxylase und α -Synuclein	65
3.3. Übersicht über Untersuchungsergebnisse der kanadischen Kooperationspartner	67
4. Diskussion	69
4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse	69
4.2. Methoden und Ergebnisse	70
4.2.1. Verhaltensexperimente	70
4.2.2. Immunhistochemie	72
4.2.3. Limitationen/ Einschränkungen	78
4.3. Schlussfolgerung/ Bedeutung/ Ausblick	79
5. Zusammenfassung	81
Literaturverzeichnis	83
A. Anhang	
A.1. Arbeitsmaterialien (Geräte/ Software/ Gebrauchsmaterial)	
A.2. Verwendete Chemikalien	
A.3. Antikörper	
A.4. Hergestellte Lösungen	
Danksagung	
Veröffentlichungen	

Teile der in dieser Dissertation beschriebenen Ergebnisse sind in einer internationalen peer-reviewed Fachzeitschrift mit mir als Co-Autorin veröffentlicht worden:

Chi Wang Ip, **Laura-Christin Klaus**, Akua A. Karikari, Naomi P. Visanji, Jonathan M. Brotchie, Anthony E. Lang, Jens Volkmann und James B. Koprach (2017). "AAV1/2-induced overexpression of A53T- α -synuclein in the substantia nigra results in degeneration of the nigrostriatal system with Lewy-like pathology and motor impairment: A new mouse model for Parkinson's disease". In: *Acta Neuropathologica Communications* 5.1, S. 11. ISSN: 2051-5960. DOI: 10.1186/s40478-017-0416-x.

Diese Arbeit enthält in einigen Abschnitten wörtlich oder inhaltlich entnommene Textpassagen aus dem im Rahmen des Projektes entstandenen Paper und Poster (vgl. Anhang „Veröffentlichungen“). Für evtl. nicht zitierte Stellen gilt, dass sie sich auf diese beziehen.

Abbildungsverzeichnis

1.	Schematische Darstellung der typischen Körperhaltung eines Parkinson-Patienten. Entnommen aus (Gowers 1887). Gemeinfrei nach UrhG §64.	1
2.	Vereinfachte Darstellung des Verschaltungsmodells der Basalganglien bei a) normalen Verhältnissen und b) Morbus Parkinson. (+) erregender/ (-) hemmender Einfluss der Projektionen auf die Zielgebiete. Entnommen aus (Benninghoff et al. 2008). Verwendungserlaubnis von Elsevier erteilt am 07.04.2020.	22
3.	Physiologische und pathologische Funktionen von α -Synuclein. Entnommen aus (Koprach et al. 2017). Verwendungserlaubnis von Springer Nature erteilt am 24.08.2020.	33
4.	Aufbau des Operationssettings (Operationsmikroskop, stereotaktisches Mikroinjektor-Robotersystem, Hochgeschwindigkeitsbohrer, stereotaktischer Rahmen mit Mousaufsatz, Wärmematte mit rektaler Thermosonde, vorbereitete Maus mit rasierter Kopfhaut und Augensalbe).	40
5.	Übersicht über die Mausverteilung (n = Anzahl der Tiere) auf die Injektionsgruppen und weitere Gewebeverarbeitung (Fixierungsart: fresh, PFA = Paraformaldehyd).	41
6.	Übersicht über den Versuchsaufbau (fett dargestellt) und den zeitlichen Verlauf der Verhaltensexperimente.	42
7.	Versuchsaufbau RotaRod (a) und Open Field (b+c).	43
8.	Versuchsaufbau Zylindertest.	47
9.	Abbildungen des Maushirnatlas, die zur Bestimmung der zu färbenden Gehirnregion (braun markiert) als Orientierung genutzt wurden. Entnommen aus (Paxinos und Franklin 2001). Verwendungserlaubnis von Elsevier erteilt am 24.09.2020.	50
10.	Verlauf der RotaRod-Testung. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Der Stern markiert den signifikanten Unterschied in der ersten postoperativen Woche zwischen den beiden Gruppen (*p < 0,05).	57
11.	Open Field-Testung - (a) zurückgelegte Gesamtdistanz (cm) und (b) Durchschnittsgeschwindigkeit (cm/s) der beiden Versuchsgruppen im Verlauf des Experiments. Angegebene Daten in MW \pm SEM.	58
12.	Apomorphintest - mittlere Anzahl der Rechtsdrehungen nach Apomorphingabe über einen Zeitraum von 5 Minuten bei beiden Versuchsgruppen in der 4. und 9. postoperativen Woche. Angegebene Daten in MW \pm SEM.	59

13.	Zylindertest - Präferenz der Vorderpfotennutzung bei den Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Kontrollgruppe in der 5. und 9. postoperativen Woche. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Die Sterne markieren signifikante p-Werte zwischen den beiden Gruppen (***p < 0,001, *p < 0,05). Der Prozentsatz gibt die Präferenz der Vorderpfoten wie folgt an: 50% = symmetrischer Gebrauch beider Vorderpfoten; < 50% = Präferenz der linken Vorderpfote; > 50% = Präferenz der rechten Vorderpfote (vgl. auch Abschnitt 2.3.4) (Ip et al. 2017b).	60
14.	Zylindertest - exemplarische Abbildung einer Maus der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe mit Präferenz der rechten Vorderpfote bei der Berührung der inneren Oberfläche des Zylinders.	60
15.	Exemplarische Aufnahmen der TH-Färbung im Bereich der SN beider Versuchsgruppen 10 Wochen nach Injektion.	62
16.	Relative Anzahl TH+ dopaminerger Neurone in der SN 10 Wochen nach AAV1/2-Injektion. Die Werte für die injizierte (rechte) Seite wurden jeweils ins Verhältnis zur nicht-injizierten (linken) Seite gesetzt. Die Balken stellen die relative Anzahl dopaminerger Neurone in Prozent dar. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Die Sterne markieren den signifikanten Untergang der dopaminergen Neurone von ~22% auf der Seite ipsilateral zur Injektion in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe (**p < 0,01).	62
17.	Gegenüberstellung der TH-gefärbten Regionen des Striatums beider Versuchsgruppen 10 Wochen nach Injektion.	63
18.	Relative optische Dichte der TH+ Fasern im Striatum 10 Wochen nach AAV1/2-Injektion. Die Werte für die injizierte (rechte) Seite wurden jeweils ins Verhältnis zur nicht-injizierten (linken) Seite gesetzt. Die Balken stellen die relative optische Dichte in Prozent dar. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Der Stern markiert die signifikante Abnahme der optischen Dichte um ~20% auf der Seite ipsilateral zur Injektion in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe (*p < 0,05).	64
19.	Exemplarische Aufnahmen der TH/ α -Syn-Immunfluoreszenzdoppelfärbung im Bereich der rechten, injizierten SN beider Versuchsgruppen AAV1/2-EV (a)-(c) und AAV1/2-A53T- α -Syn (d)-(i) 10 Wochen nach Injektion. TH+ dopaminerge Neurone kommen rot und humanes mutiertes A53T- α -Syn grün zur Darstellung. Im Overlay (ol) zeigt sich eine potenzielle Kolo-kalisation. Abbildungen (g)-(i) zeigen ein Neuron der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe in Vergrößerung. Die dargestellten Bilder wurden bereits veröffentlicht in (Ip et al. 2017b). Verwendungserlaubnis von Springer Nature erteilt am 07.04.2020.	66

Tabellenverzeichnis

1.	Übersicht über die klassischen motorischen Kardinalsymptome und Beispiele, wie sie sich manifestieren können (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014; Sitzer und Steinmetz 2011).	2
2.	Fakultative nicht-motorische Begleitsymptome (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014; Dexter und Jenner 2013; Sitzer und Steinmetz 2011; Chaudhuri und Schapira 2009; Muzerengi et al. 2007).	3
3.	Ätiologische Klassifikation der Parkinson-Syndrome (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Sitzer und Steinmetz 2011).	5

Abkürzungsverzeichnis

α	Alpha
α -Syn	α -Synuclein
α -Syn+	α -Synuclein-positiv
AAV	Adeno-assoziierte Viren/ virale (Vektoren)
AK	Antikörper
Aqua dest.	Aqua destillata = destilliertes Wasser = dH ₂ O
ATP	Adenosin-5'-Triphosphat
β	Beta
bit	Einheit für die Anzahl der (Farb-)Abstufungen
BSA	bovine serum albumin, Rinderserumalbumin
°C	Grad Celsius
C57BL/6	häufiger Inzuchtstamm von Labormäusen
cCT	craniale Computertomographie
CD4/8/25+	CD4/8/25-Rezeptor-positiv
cm	Zentimeter
cMRT	craniale Magnetresonanztomographie
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
D1/D2	Dopaminrezeptor Typ 1/2
DA	Dopamin
DAB(-Tabletten)	3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid Dihydrat
DABCO®	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DAT	Dopamintransporter
deg	degree = Grad (hier für mittlerer Drehwinkel)
dH ₂ O	destilliertes Wasser = Aqua dest.
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid, Dihydroxyphenylelessigsäure
ENS	enterisches Nervensystem
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EV	empty vector, leerer Vektor
FoxP3+	Forkhead-Box-Protein P3-positiv
γ	Gamma
g	Gramm
GFP	grün fluoreszierendes Protein
gp	genomic particles/ Genompartikel
h	Stunde
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HCl	Salzsäure
HLA-DR	Human Leukocyte Antigen - DR isotype (= MHC-Klasse-II-Zelloberflächenrezeptor)
HPLC	high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HVA	homovanillic acid, Homovanillinsäure
IgG (H+L)	Immunglobulin G (schwere + leichte Ketten)

IL-1 β /2/6	Interleukin-1 β /2/6
INF- γ	Interferon- γ
IPS	Idiopathisches Parkinson-Syndrom (= MP, PD)
KCl	Kaliumchlorid
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
L-Dopa	Levodopa
LK	Lewy-Körper, Englisch: LB = Lewy bodies
Lsg.	Lösung
M	Molarität (Stoffmengenkonzentration)
MDS-UPDRS	Movement Disorder Society-sponsored revision of the UPDRS
MHC	major histocompatibility complex, Haupthistokompatibilitätskomplex
min	Minute
μ l	Mikroliter
μ m	Mikrometer
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MP	Morbus Parkinson (= IPS, PD)
MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin
MPPP	1-Methyl-4-phenyl-4-propion-oxy-piperidin
MW	Mittelwert
n	Anzahl der untersuchten Tiere
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid (= Kochsalz)
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat
NaOH	Natriumhydroxid, hier Natronlauge
Ncl.	Nucleus
NeuN	Neuronal Nuclei (Biomarker für Neurone)
NeuN+	Neuronal Nuclei-positiv
NGS	normal goat serum, normales Ziegen Serum
NMDA-Antagonist	N-Methyl-D-Aspartat-Antagonist
NMS	nicht-motorische Symptome
6-OHDA	6-Hydroxydopamin
ODCC	optische Dichte Corpus callosum
OP	Operation
OT	Objektträger
PANDA	Parkinson Neuropsychometric Dementia Assessment
PBS	phosphate buffered saline, Phosphatgepufferte Salzlösung
PD	Parkinson's disease (= MP, IPS)
PEG	perkutane endoskopische Gastrostomie
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFA	Paraformaldehyd

PNS	peripheres Nervensystem
REM-Schlaf	Rapid Eye Movement-Schlaf
RT	Raumtemperatur
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RNS	reaktive Stickstoffspezies
s	Sekunde
SEM	standard error of the mean, Standardfehler des Mittelwerts
SN	Substantia nigra
SNpc	Substantia nigra pars compacta
SNARE	soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor
SPECT	single photon emission computed tomography, Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie
TH	Tyrosinhydroxylase
TH+	Tyrosinhydroxylase-positiv
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
UPDRS	Unified Parkinson's Disease Rating Scale
UPS	Ubiquitin-Proteasomen-System
wt	Wildtyp
ZNS	zentrales Nervensystem

Übersicht über direkt mit der Pathogenese von MP assoziierte Loci, Gene und zugehörige Proteine:

Locus	Gen	Protein
PARK1/4	SNCA *	α -Syn
PARK2	PRKN	Parkin
PARK6	PINK1	PTEN-induced (putative) kinase 1
PARK7	DJ-1	protein deglycase DJ-1/ PD protein 7
PARK8	LRRK2	Leucine-rich repeat (serine/ threonine-protein) kinase 2

für weitergehende Informationen vgl. z.B. (Koprach et al. 2017; Ozansoy und Başak 2013)

* Mutationen im SNCA-Gen:

A53T	Alanin 53 Threonin
A30P	Alanin 30 Prolin
A53E	Alanin 53 Glutaminsäure
E46K	Glutaminsäure 46 Lysin

1. Einleitung

1.1. Morbus Parkinson

Der britische Arzt und Apotheker James Parkinson (1755-1824) beschrieb erstmals 1817 in „An essay on the shaking palsy“ anhand von sechs Fällen einige der charakteristischen Symptome der später durch Jean-Martin Charcot (1825-1893) nach ihm benannten und näher definierten Parkinson-Krankheit (Parkinson 1817; Parkinson 2002; Fahn 2003; Lees 2007; Goedert et al. 2013; Toodayan 2018).

Morbus Parkinson (MP) (Synonyme: Idiopathisches Parkinson-Syndrom (IPS), Parkinson-Krankheit, Englisch: Parkinson's disease (PD)) ist eine langsam progressiv verlaufende idiopathische Erkrankung der Basalganglien, die klinisch durch motorische Kardinalsymptome sowie fakultative nicht-motorische Begleitsymptome (NMS) (vgl. Abschnitt 1.2) charakterisiert und neuropathologisch durch eine chronische Degeneration dopaminerger Neurone und das Auftreten einer Lewy-Pathologie in der Substantia nigra pars compacta (SNpc) (vgl. Abschnitt 1.5) definiert ist (Koprach et al. 2017; Hacke 2015; Oliveras-Salvá et al. 2013; Sitzer und Steinmetz 2011; Koprach et al. 2011; Nussbaum und Ellis 2003; Spillantini et al. 1997).



Abbildung 1: Schematische Darstellung der typischen Körperhaltung eines Parkinson-Patienten. Entnommen aus (Gowers 1887). Gemeinfrei nach UrhG §64.

1.2. Klassifikation/ Symptome/ Verlaufsformen

Der MP ist klinisch durch das obligate Vorliegen einer Brady- und Hypokinese (bei maximaler Ausprägung Akinese) sowie mindestens einem weiteren der folgenden motorischen Kardinalsymptome, die in unterschiedlicher Ausprägung auftreten können, charakterisiert: (Ruhe-)Tremor, muskulärer Rigor und posturale Instabilität (vgl. Tabelle 1). Fakultativ können verschiedenste NMS auftreten, da die Neurodegeneration im Verlauf der Erkrankung sowohl das zentrale als auch periphere Nervensystem (ZNS/ PNS) betreffen kann (vgl. Tabelle 2) (Koprach et al. 2017; Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014; Dexter und Jenner 2013; Sitzler und Steinmetz 2011; Frank et al. 2006; Gelb et al. 1999; Hughes et al. 1992).

Motorische Kardinalsymptome (T-R-A-P)	Beispiele/ Manifestation
Brady-/ Hypokinese, bei maximaler Ausprägung Akinese	typisches Gangbild (vornübergebeugte Haltung, leichte Flexion der Unterarme im Ellenbogengelenk (vgl. Abbildung 1), vermindertes Mitschwingen der Arme, verkürzte Schrittlänge, Trippelschritte, bei Körperwendungen mehrere kleine Zwischenschritte), „start hesitation“/ „freezing“-Effekt, Festination, Brady-/ Dysdiadochokinese, Mikrographie, Hypomimie/ Maskengesicht, selteneres Schlucken, Hypophonie
(Ruhe-)Tremor („Zittern“)	klassischer Parkinsontremor (Frequenz ca. 4-6 Hertz), Auftreten bei unterstützten Armen in Ruhe, Aktivierbarkeit durch Emotionen oder geistige Beschäftigung, Amplitudenabnahme typischerweise beim Beginn von Willkürbewegungen; Pillendreher-Phänomen; seltenerer Formen: Halte-/ Aktions-tremor
Rigor	Muskeltonuserhöhung, auch in Ruhe - dadurch häufig Schmerzen/ Verspannungen im Schulter-Arm-/ Nackenbereich, Zahnradphänomen
Posturale Instabilität (Haltungsinstabilität)	Gang-/ Standunsicherheit, Verminderung der Stellreflexe/ Störung gleichgewichtserhaltender Reflexe, mehrere Ausfallschritte/ hohe Wendeschrittzahl/ Trippelschritte - Folge: zunehmende Fallneigung/ Stürze

Tabelle 1: Übersicht über die klassischen motorischen Kardinalsymptome und Beispiele, wie sie sich manifestieren können (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014; Sitzler und Steinmetz 2011).

Nicht-motorische Begleitsymptome	Beispiele
sensibel	Dys-/ Parästhesien, Schmerzen, Hyposmie
vegetativ/ autonom	Störungen von Blutdruck (z.B. orthostatische Hypotonie), Temperaturregulation (Hyperhidrosis), Blasen- und Darmfunktion (z.B. Obstipation) sowie sexuellen Funktionen (z.B. erektile Dysfunktion), Seborrhoe (Salbengesicht), Hypersalivation, Dysphagie, Schlafregulationsstörungen
psychisch/ psychiatrisch	Depression, Angst- und Schlafstörungen, Apathie, Wahrnehmungsstörungen (v.a. optische Halluzinationen), Störungen der Denkinhalte (Parkinson-Psychose), Verhaltens-/ Impulskontrollstörungen (z.B. Spiel-/ Kaufsucht, Hypersexualität)
kognitiv	frontale Störungen, Bradyphrenie, Störungen der Handlungsplanung/ Strategiebildung (dysexekutives Syndrom), Gedächtnis-/ Orientierungsstörungen bis hin zur Demenz
Schlafstörungen	REM-Schlafverhaltensstörungen, Tagesmüdigkeit, Schlafattacken, Schlaflosigkeit
Fatigue/ Müdigkeit	im Zusammenhang mit Schlafstörungen, depressiven Störungen oder als eigenständiges Symptom

Tabelle 2: Fakultative nicht-motorische Begleitsymptome (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014; Dexter und Jenner 2013; Sitzer und Steinmetz 2011; Chaudhuri und Schapira 2009; Muzerengi et al. 2007).

Einige NMS (z.B. Hyposmie, REM-Schlafverhaltensstörungen, Obstipation oder Depressionen) können dem Auftreten motorischer Symptome um viele Jahre vorausgehen, aber auch zeitgleich oder erst später im Krankheitsverlauf auftreten (Hacke 2015; Beitz 2014; Dexter und Jenner 2013; Postuma et al. 2012; Sitzer und Steinmetz 2011; Chaudhuri und Schapira 2009). NMS können in allen Krankheitsstadien auftreten, wobei ihre Häufigkeit mit der Schwere bzw. dem Fortschreiten der Erkrankung zunimmt (Muzerengi et al. 2007; Chaudhuri und Schapira 2009; Dexter und Jenner 2013). Sie können sich als Teil der Erkrankung entwickeln, aber auch durch die Therapie gefördert oder sogar hervorgerufen werden. Psychosen, orthostatische Hypotonie oder Schlafattacken können beispielsweise mit einer L-Dopa (Levodopa)-Dosierung oder -Nebenwirkung zusammenhängen (Lim und Lang 2010; Beitz 2014). Die überwiegende Mehrheit der Parkinson-Patienten ist im Verlauf der Erkrankung von NMS betroffen, die die Lebensqualität beeinträchtigen (Global Parkinson's Disease Survey Steering Committee 2002; Muzerengi et al. 2007; Chaudhuri und Schapira 2009; Löhle et al. 2009; Martinez-Martin et al. 2011; Beitz 2014; Duncan et al. 2014; Kalia und Lang 2015; Koprach et al. 2017).

Parkinson-Syndrome werden ätiologisch in vier Gruppen eingeteilt:

- Idiopathisches Parkinson-Syndrom
- genetische Formen des Parkinson-Syndroms
- atypische Parkinson-Syndrome (Parkinson-Syndrome im Rahmen einer anderen neurodegenerativen Erkrankung)
- symptomatische (sekundäre) Parkinson-Syndrome

Das IPS lässt sich je nach Ausprägung der motorischen Kardinalsymptome weiter in folgende Verlaufsformen unterteilen: Akinetisch-rigider Typ, Äquivalenz-Typ, Tremordominanz-Typ (prognostisch günstig) und monosymptomatischer Ruhetremor (seltene Variante) (vgl. auch Tabelle 3) (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Sitzer und Steinmetz 2011). Übergänge zwischen den Typen, z.B. vom Tremordominanz- in den Äquivalenz-Typ, sind möglich (Hacke 2015).

Anhand pathologischer Kriterien können die neurodegenerativen Parkinson-Syndrome (IPS und atypische Parkinson-Syndrome) zusätzlich in Synucleinopathien (IPS, Multisystematrophie, Demenz vom Lewy-Körper-Typ) und Tauopathien (progressive supranukleäre Blickparese, kortikobasale Degeneration) differenziert werden (Koprach et al. 2017; Deuschl et al. 2016; Recchia et al. 2004).

Differentialdiagnostisch ist der MP - auf den sich diese Doktorarbeit im Weiteren konzentriert - von den oben genannten atypischen und sekundären Parkinson-Syndromen, essenziellem Tremor und Depressionen, die Parkinson-ähnliche Symptome hervorrufen können, abzugrenzen (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014).

1.3. Epidemiologie

MP ist mit ca. 75% das häufigste der Parkinson-Syndrome (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015). Es handelt sich um die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung nach Morbus Alzheimer (Nussbaum und Ellis 2003; Lau und Breteler 2006; Wirdefeldt et al. 2011; Dexter und Jenner 2013; Goedert et al. 2013) und die häufigste neurodegenerative Bewegungsstörung (Koprach et al. 2017; Sitzer und Steinmetz 2011; Eriksen et al. 2003).

Weltweit sind schätzungsweise mehr als 10 Millionen (Parkinson's Foundation 2020), in Europa ca. 1,2 Millionen und in Deutschland ca. 220.000 Menschen

1. Idiopathisches Parkinson-Syndrom - ca. 75% aller Parkinson-Syndrome
<ul style="list-style-type: none"> • Verlaufsformen je nach Ausprägung motorischer Symptome: <ul style="list-style-type: none"> • akinetisch-rigider Typ • Äquivalenz-Typ • Tremordominanz-Typ • monosymptomatischer Ruhetremor (seltene Variante)
2. Genetische Formen des Parkinson-Syndroms
<ul style="list-style-type: none"> • monogenetische Formen (PARK 1-16)
3. Atypische Parkinson-Syndrome (im Rahmen anderer neurodegenerativer Erkrankungen)
<ul style="list-style-type: none"> • Multisystematrophie: Parkinson-Typ oder zerebellärer Typ • Demenz vom Lewy-Körper-Typ • progressive supranukleäre Blickparese • kortikobasale Degeneration
4. Symptomatische (sekundäre) Parkinson-Syndrome
<ul style="list-style-type: none"> • vaskulär (z.B. subkortikale arteriosklerotische Enzephalopathie = Morbus Binswanger) • Normaldruckhydrozephalus • medikamenteninduziert (u.a. klassische Neuroleptika, Antiemetika, Reserpin, Lithium, Valproinsäure, Calciumantagonisten: Cinna-/ Flunarizin) • tumorbedingt • posttraumatisch • toxininduziert (z.B. Kohlenmonoxid, Mangan) • metabolisch (z.B. Morbus Wilson, Hypoparathyreoidismus) • entzündlich (AIDS-Enzephalopathie oder seltene Enzephalitiden, z.B. im Rahmen einer Virusenzephalitis oder postenzephalitisch (Encephalitis lethargica))

Tabelle 3: Ätiologische Klassifikation der Parkinson-Syndrome (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Sitzler und Steinmetz 2011).

betroffen (Deuschl et al. 2016; Gustavsson et al. 2011), wobei Prävalenz- und Inzidenzschätzungen von MP stark variieren und ein Vergleich daher schwierig ist (Muangpaisan et al. 2011; Wirdefeldt et al. 2011; Campenhausen et al. 2005).

Prävalenz und Inzidenz steigen mit zunehmendem Alter an (Muangpaisan et al. 2011; Dexter und Jenner 2013; Pringsheim et al. 2014; Hacke 2015; Deuschl et al. 2016; Koprach et al. 2017; Parkinson's Foundation 2020). Aufgrund des demografischen Wandels ist in den nächsten Jahren mit einem erheblichen Anstieg der Prävalenz zu rechnen (Dorsey et al. 2007; Sherer et al. 2012; Beitz 2014; Deuschl et al. 2016). Dies verdeutlicht die gesundheitsökonomische Bedeutung der Erkrankung und damit den Bedarf weiterer Forschung (Dexter und Jenner 2013; Gustavsson et al. 2011; Campenhausen et al. 2005).

Neben dem Alter stellen auch Geschlecht, Ethnie und geographische Lage Einflussfaktoren auf die Häufigkeit der Erkrankung dar (Deuschl et al. 2016; Pringsheim et al. 2014; Beitz 2014; Wirdefeldt et al. 2011; van den Eeden et al. 2003).

1.4. Ätiologie

Die letztendliche(n) Ursache(n) von MP ist/ sind bislang nicht abschließend geklärt (Tolleson und Fang 2013; Beitz 2014; Hacke 2015; Koprach et al. 2017). Wahrscheinlich sind die meisten idiopathischen Parkinson-Fälle auf ein komplexes Zusammenspiel mehrerer genetischer, umweltbedingter, metabolischer und immunologischer Faktoren zurückzuführen (multifaktorielle Genese) (Fahn 2003; Bekris et al. 2010; Sherer et al. 2012; Hacke 2015; Koprach et al. 2017). Der größte Risikofaktor für die Erkrankung ist das Alter (Hacke 2015; Beitz 2014; Sherer et al. 2012; Schapira und Jenner 2011; Collier et al. 2011). Im Folgenden werden einzelne mögliche ätiologische Einflussfaktoren noch genauer ausgeführt:

1.4.1. Genetische Faktoren

Genetische Analysen haben gezeigt, dass Veränderungen in bestimmten Genen Risikofaktoren für die Entwicklung idiopathischer Parkinson-Erkrankungen darstellen. Etwa 20% der idiopathischen, sporadischen Parkinson-Patienten berichten über eine familiäre Vorgeschichte (Tolleson und Fang 2013; Ozansoy und Başak 2013; Bekris et al. 2010).

Die Liste der an MP beteiligten Gene und Loci wird zunehmend größer (Farrer 2006; Bekris et al. 2010; Koprach et al. 2017). Mutationen in mindestens fünf Genen können direkt mit der Pathogenese der Parkinson-Krankheit in Zusammenhang gebracht werden: SNCA, LRRK2, PINK1, PRKN und DJ-1 (für weitere Ausführungen vgl. (Koprach et al. 2017); für Erläuterungen der Abkürzungen vgl. Abkürzungsverzeichnis). Diese Mutationen wirken sich auf zelluläre Mechanismen aus, die als mögliche Ursachen von MP diskutiert werden (vgl. auch Abschnitte 1.4.3.1 und 1.8) (Tolleson und Fang 2013). Die Gene DJ-1, PRKN und PINK1 konnten z.B. mit der mitochondrialen Funktion in Verbindung gebracht werden (Schon und Przedborski 2011). In der postmortalen Analyse der Gehirne von Parkinson-Patienten, die die oben genannten Mutationen trugen, konnte bei den meisten eine Lewy-Pathologie nachgewiesen werden. Das deutet darauf hin, dass diese

unterschiedlichen pathogenen Ursachen von MP überwiegend mit α -Synuclein (α -Syn)-Aggregation in Verbindung gebracht werden können (Koprach et al. 2017).

LRRK2-Mutationen scheinen die Anfälligkeit dopaminerger Neurone für andere mit der Parkinson-Krankheit assoziierte Stressoren zu erhöhen (Saha et al. 2009), den vesikulären Transport, die Autophagie (= Autophagozytose), Proteinsynthese und Zytoskelettfunktion zu beeinflussen und häufig zur Degeneration und zum Tod von dopaminerger Neuronen zu führen (Martin et al. 2014; Smith et al. 2006). Auch Li et al. (2014) konnten eine Verbindung von LRRK2 mit verschiedenen möglichen pathogenen Mechanismen der Parkinson-Erkrankung, wie z.B. α -Syn, Entzündungsreaktionen, oxidativem Stress, mitochondrialer Dysfunktion sowie Autophagie (Autophago-Lysosomen-System), nachweisen (Li et al. 2014). LRRK2 ist in Lewy-Körpern (LK) vorhanden und seine Toxizität scheint von der Anwesenheit von α -Syn abhängig zu sein (Martin et al. 2014). Diesen Zusammenhang zwischen LRRK2 und SNCA-Proteinen zeigten auch Lin et al. (2009) auf: Die Überexpression von LRRK2 förderte die abnorme Aggregation und somatische Akkumulation von α -Syn und somit die α -Syn-induzierte Zytotoxizität/ Neurodegeneration (Lin et al. 2009).

SNCA war das erste Gen, das mit der Parkinson-Krankheit in Verbindung gebracht wurde und bislang ist kein anderes Gen so eng mit dieser Erkrankung verbunden. Es kodiert für das Protein α -Syn und wurde erstmals von Polymeropoulos et al. (1997) beschrieben (Polymeropoulos et al. 1997; Ozansoy und Başak 2013; Koprach et al. 2017). Die A53T-Mutation war die erste Missense-Mutation im SNCA-Gen, die identifiziert und mit autosomal-dominantem MP assoziiert wurde (Polymeropoulos et al. 1997; Ozansoy und Başak 2013; Koprach et al. 2017). Neben weiteren Missense-Mutationen im SNCA-Gen, wie z.B. A30P, E46K oder A53E (Krüger et al. 1998; Zarranz et al. 2004; Pasanen et al. 2014), können auch Multiplikationen im normalen SNCA-Gen, wie z.B. Duplikationen oder Triplikationen, genetische Ursache der Parkinson-Krankheit sein (Chartier-Harlin et al. 2004; Singleton et al. 2003). Dies zeigt, dass nicht nur mutiertes α -Syn, sondern auch der Wildtyp (wt) pathogen ist, wenn dieser überexprimiert wird (Ozansoy und Başak 2013; Farrer et al. 2004). Das klinische Bild (Beginn/ Schwere/ Verlaufsform der Erkrankung) variiert je nach zugrunde liegender Mutation bzw. Multiplikation des Gens. Patienten mit einer A53T-Mutation haben beispielsweise ein relativ frühes Anfangsalter und eine stark ausgeprägte Parkinson-Symptomatik mit häufiger Demenz (Krüger et al. 1998; Spira et al. 2001; Farrer et al. 2004; Zarranz et al. 2004; Nishioka et al. 2006; Fuchs et al. 2007; Ozansoy und Başak 2013).

Phänotypanalysen zeigten, dass der Schweregrad der Erkrankung mit der SN-CA-Kopienzahl korreliert. Dies lässt darauf schließen, dass hohe α -Syn-Konzentrationen tatsächlich den neurodegenerativen Prozess triggern können (Ibáñez et al. 2004; Ibáñez et al. 2009; Oliveras-Salvá et al. 2013; Allen Reish und Standaert 2015). Schließlich unterstützen auch genomweite Assoziationsstudien diese wichtige Rolle von α -Syn in der Pathogenese von MP (Oliveras-Salvá et al. 2013; Satake et al. 2009; Simón-Sánchez et al. 2009), auf die in Abschnitt 1.4.3.4 und 1.8 noch genauer eingegangen wird.

1.4.2. Umweltfaktoren und Toxine

Es gibt zahlreiche Studien zum Einfluss verschiedener Umweltfaktoren als mögliche Ursache(n) von MP. Der Beitrag von Herbiziden (z.B. Paraquat) und Pestiziden (z.B. Rotenon) wird weiterhin diskutiert (Tolleson und Fang 2013; Tanner et al. 2011; McCormack et al. 2002; Betarbet et al. 2000). Die Exposition gegenüber Umweltfaktoren wie Pestiziden konnte mit einem erhöhten Risiko für MP in Verbindung gebracht werden (Hubble et al. 1993; Wirdefeldt et al. 2011; Sherer et al. 2012), allerdings gibt es keine ausreichenden Daten für einen kausalen Zusammenhang (Freire und Koifman 2012; Wirdefeldt et al. 2011; Brown et al. 2006; Dick 2006; Li et al. 2005).

In experimentellen Tierversuchsmodellen führten Paraquat, das oxidativen Stress verursacht, und Rotenon, das den Komplex-I der mitochondrialen Atmungskette hemmt (Sherer et al. 2007; Greenamyre et al. 1999), sowohl zur Degeneration nigraler dopaminerger Neurone als auch zu Verhaltensänderungen, die mit der menschlichen Parkinson-Erkrankung assoziiert sind (Tanner et al. 2011; Henchcliffe und Beal 2008; Cicchetti et al. 2005; McCormack et al. 2002; Betarbet et al. 2000). Außerdem interagieren beide mit α -Syn (Uversky et al. 2001; Uversky et al. 2002; Di Monte 2003; Brown et al. 2006). In nigralen Neuronen von mit Rotenon behandelten Ratten konnte eine Akkumulation von LK-ähnlichen fibrillären zytosmatischen Einschlüssen, die Ubiquitin und α -Syn enthielten, nachgewiesen werden (Betarbet et al. 2000; Henchcliffe und Beal 2008). In einem anderen Tiermodell zeigte sich ebenfalls, dass niedrige Dosen von chronisch und intragastral verabreichtem Rotenon die α -Syn-Akkumulation u.a. im enterischen Nervensystem (ENS), im Nucleus (Ncl.) dorsalis des Nervus (N.) vagus und in der Substantia nigra (SN) induzierten (Pan-Montojo et al. 2010). Es konnte gezeigt werden, dass Rotenon die Freisetzung von α -Syn durch enterische Neurone fördert und dass

freigesetztes enterisches α -Syn von präsynaptischen sympathischen Neuriten aufgenommen und retrograd in das Soma transportiert wird, wo es sich anreichert. Diese Ergebnisse legen nahe, dass Pestizide die Progression der MP-Pathologie einleiten können, dass diese auf dem transneuronalen und retrograden axonalen Transport von α -Syn basiert und dass sich die Parkinson-Erkrankung durch einen transsynaptischen Mechanismus im gesamten ZNS ausbreiten könnte (Pan-Montojo et al. 2010; Pan-Montojo et al. 2012).

Beide Toxine sind toxikologisch bzw. strukturell verwandt mit MPTP (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) (Brown et al. 2006; Goldman und Tanner 1998), einem Neurotoxin, das beim Menschen Parkinson-ähnliche Symptome auslöst. Dies wurde erstmals in Kalifornien in den frühen achtziger Jahren bei vier drogenabhängigen jungen Patienten nach intravenöser Verabreichung einer illegalen Droge festgestellt. MPTP entsteht als Nebenprodukt bei der unsachgemäßen Herstellung der Designerdroge MPPP (1-Methyl-4-phenyl-4-propion-oxy-piperidin, auch als „synthetisches Heroin“ bezeichnet) und führte zu Symptomen wie u.a. Bradykinese bis hin zur Akinese, Tonuserhöhung, Steifheit und gebeugter Haltung. In dem von Davis et al. (1979) berichteten Fall konnten post-mortem sogar neuropathologische Veränderungen wie Degeneration von nigralen Neuronen und das Auftreten einer LK-ähnlichen Struktur nachgewiesen werden (Davis et al. 1979; Langston et al. 1983; Snyder und D'Amato 1986).

In Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass MPTP zu einer selektiven Degeneration von dopaminergen Neuronen in der SN führt (Langston et al. 1984; Tipton und Singer 1993; Tanner et al. 2011; Dexter und Jenner 2013). Es wirkt über verschiedene Mechanismen toxisch auf die betroffenen Nervenzellen (Przedborski und Vila 2003; Tipton und Singer 1993). MPTP, wie Rotenon auch, hemmt u.a. den Komplex-I der mitochondrialen Atmungskette (Tanner et al. 2011; Davey und Clark 1996; Nicklas et al. 1985). Bei Patienten mit MP konnten post-mortem Komplex-I-Defekte der mitochondrialen Atmungskette in der SN aufgezeigt werden (Schapira et al. 1990; Tipton und Singer 1993; Janetzky et al. 1994; Keeney et al. 2006; Henchcliffe und Beal 2008; Dexter und Jenner 2013). In einem Primatenmodell konnte nach Exposition gegenüber MPTP eine Aggregation von α -Syn in der SN beobachtet werden. Diese Aggregate waren jedoch anders als die für die Parkinson-Pathologie charakteristischen LK (Kowall et al. 2000; Dong et al. 2002; Betarbet et al. 2002).

Das ursprünglich 1959 von Senoh isolierte 6-OHDA (6-Hydroxydopamin) ist ein Dopamin (DA)-Derivat, das durch seine zusätzliche Hydroxyl-Gruppe toxisch auf dopaminerge Neurone wirkt und ebenfalls als möglicher Faktor in der Pathogenese des MP diskutiert wird (Senoh et al. 1959; Jellinger et al. 1995; Blum et al. 2001; Schober 2004; Blesa et al. 2012). Es konnte in menschlichen Gehirnen und im Urin von Parkinson-Patienten nachgewiesen werden (Andrew et al. 1993; Curtius et al. 1974). Eine in-vitro-Studie zeigte, dass die Neurotoxizität von 6-OHDA durch extrazelluläre Autooxidation und die Induktion von oxidativem Stress initiiert wird (Hanrott et al. 2006). Der durch 6-OHDA ausgelöste oxidative Stress führte u.a. zu einer Mitochondriendysfunktion (Schober 2004; Hanrott et al. 2006; Kupsch et al. 2014). 6-OHDA scheint sowohl über apoptotische als auch nekrotische Mechanismen den Zelltod zu induzieren (Hanrott et al. 2006; Woodgate et al. 1999; Ochu et al. 1998; Walkinshaw und Waters 1994). Obwohl 6-OHDA nicht zur Bildung von Proteinaggregaten oder LK führt, wurde berichtet, dass es mit α -Syn interagiert (Blesa et al. 2012; Blandini et al. 2008).

Exkurs: Auf Toxinen basierende Tiermodelle des Morbus Parkinson

Basierend auf diesen Erkenntnissen wurden MPTP- und 6-OHDA-Tiermodelle entwickelt, die zu den am besten charakterisierten und am häufigsten eingesetzten, traditionellen, auf Toxinen basierenden Modellen des MP gehören. Sie basieren auf der Abtötung dopaminerger Neurone und haben sich zwar nicht bei der Identifizierung von Wirkstoffen, die den Krankheitsverlauf verlangsamen, stoppen oder umkehren könnten, als hilfreich erwiesen, dafür aber u.a. bei der Entwicklung von therapeutischen Strategien zur Behandlung motorischer Symptome und bei der Untersuchung von Nebenwirkungen im Zusammenhang mit DA-Ersatztherapien (Schober 2004; Bové und Perier 2012; Koprach et al. 2017). Anhand dieser Modelle wurde zudem die Rolle von anderen potenziellen Auslösern der Erkrankung, wie z.B. oxidativem Stress, mitochondrialer Dysfunktion, Entzündung/ Neuroinflammation und Beeinträchtigung des Proteinabbaus, untersucht (Bové und Perier 2012). Die Toxinmodelle sind akut, schnell und modellieren nicht die molekulare Pathologie des MP: Sie rufen einen DA-Verlust-Phänotyp ohne fortschreitenden Verlauf der Pathologie hervor. Spontane Verhaltensdefizite erforderten in diesen Modellen einen > 80%-igen Verlust der striatalen dopaminergen Innervation und > 50%-igen Verlust von dopaminergen Neuronen der SN.

Außerdem können sie keine α -Syn-Pathologie modellieren und es kommt auch nicht zur Bildung von LK (Kirik et al. 1998; Beal 2001; Betarbet et al. 2002; Kaur et al. 2003; Mayo et al. 2005; Blesa et al. 2012; Bové und Perier 2012; Koprach et al. 2017). Dies ahmt weder die frühen Stadien des MP, noch den beim Menschen zentralen, über Jahrzehnte langsam progredienten, degenerativen Verlauf der Pathologie nach. Zudem hinterlassen diese Modelle wenig anatomisches Substrat, an dem krankheitsmodifizierende Arzneimittelwirkungen gezeigt werden könnten (Koprach et al. 2017; Schober 2004). Dazu scheinen die auf AAV- α -Syn basierenden Modelle besser geeignet zu sein, die ein Modell repräsentieren, das der menschlichen Pathologie am nächsten kommt (vgl. Abschnitt 1.9) (Koprach et al. 2017; Recchia et al. 2004).

In zahlreichen Studien wurden andere Risikofaktoren im Zusammenhang mit MP untersucht. Obwohl die epidemiologischen Belege nicht so robust sind und die Evidenz limitiert ist, sind u.a. die Auswirkungen von Lebensraum, beruflicher oder umweltbedingter Exposition gegenüber z.B. Metallen, Lebensstilfaktoren und Ernährung beispielhaft zu nennen (für eine Übersicht vgl. (Wirdefeldt et al. 2011); weitere Quellen: (Beitz 2014; Tanner et al. 2009; Elbaz und Tranchant 2007; Di Monte 2003; Hubble et al. 1993)).

Außerdem wurden potenziell protektive Faktoren analysiert. Nikotin und Koffein scheinen z.B. das Risiko für MP verringern zu können und neuroprotektive Effekte zu haben (Gorell et al. 1999; Ross und Petrovitch 2001; Chen et al. 2001; Hernán et al. 2002; Di Monte 2003; Elbaz und Tranchant 2007; Tanner et al. 2009; Quik et al. 2009; Wirdefeldt et al. 2011; Kiyohara und Kusuhara 2011; Sherer et al. 2012; Palacios et al. 2012; Dexter und Jenner 2013). Andere potenziell protektive Faktoren sind nicht ausreichend definiert. Es gab jedoch Hinweise, dass Medikamente, wie z.B. Ibuprofen (Chen et al. 2005; Gagne und Power 2010; Sherer et al. 2012) oder Calciumantagonisten (Ascherio und Tanner 2009; Becker et al. 2008; Surmeier 2007), sowie körperliche Aktivität (Zigmond et al. 2009) einen positiven Effekt haben und das Risiko für MP verringern können (Dexter und Jenner 2013).

1.4.3. Metabolische Faktoren/ Zelluläre Mechanismen

Verschiedene zelluläre Mechanismen wie oxidativer Stress, mitochondriale Dysfunktion, proteasomale und lysosomale Dysfunktion/ Ubiquitin-Proteasomen-Sys-

tem (UPS), neuroinflammatorische Veränderungen und die Bildung pathologischer Einschlüsse/ Proteinaggregationen kommen als mögliche Ursachen in Betracht (Tolleson und Fang 2013; Dexter und Jenner 2013; Fahn 2003).

1.4.3.1. Oxidativer Stress/ Mitochondriale Dysfunktion

Mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress sind seit langem als potenzielle pathophysiologische Mechanismen der Parkinson-Krankheit involviert und konnten auch bei Patienten mit MP nachgewiesen werden (Schapira et al. 1990; Ilić et al. 1998; Betarbet et al. 2000; Di Monte et al. 2002; Henchcliffe und Beal 2008; Zhou et al. 2008; Schapira und Jenner 2011; Tanner et al. 2011; Vinish et al. 2011; Varçin et al. 2012; Tolleson und Fang 2013). Genetische Formen von MP, die auf Mutationen im SNCA-, PRKN-, PINK1- oder DJ-1-Gen beruhen, wurden mit diesen Mechanismen assoziiert. Auch die möglicherweise zur Pathogenese der Parkinson-Erkrankung beitragenden Umweltfaktoren/ Toxine können die mitochondriale Aktivität beeinflussen (Fahn und Cohen 1992; Henchcliffe und Beal 2008; Schapira 2008; Zhou et al. 2008; Schapira 2011; Schapira und Jenner 2011; Tanner et al. 2011; Varçin et al. 2012; Dexter und Jenner 2013). Mutationen in den oben beschriebenen Genen können u.a. zu strukturellen und funktionellen Veränderungen der Mitochondrien und zu einer Abnahme der Komplex-I-Aktivität führen. Der Funktionsverlust von insbesondere DJ-1, aber auch PRKN und PINK1, verringert den mitochondrialen Schutz vor oxidativem Stress, was wiederum die mitochondriale Dysfunktion erhöht und damit wiederum zu oxidativem Stress führt (Dexter und Jenner 2013; Schapira und Jenner 2011; Schapira 2011; Schapira 2008; Henchcliffe und Beal 2008). Außerdem scheinen z.B. Mutationen in SNCA, PRKN und DJ-1 auch zur Beeinträchtigung des Proteinabbaus mit einer Anhäufung von toxischen Proteinen zu führen, die nicht über das UPS abgebaut werden können (Fahn 2003).

Eine Zelle befindet sich im oxidativen Stress, wenn die Menge der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) einen bestimmten Schwellenwert überschreitet. Dies erfolgt entweder wenn ROS überproduziert werden oder wenn die zellulären antioxidativen Abwehrmechanismen nicht ausreichen, um die Menge der ROS unter einem bestimmten Schwellenwert zu halten und die Zelle nicht mehr effektiv funktioniert, was zum Zelltod führt (Tolleson und Fang 2013; Varçin et al. 2012; Yacoubian und Standaert 2009). Zu den freien Radikalen gehören ROS und reaktive Stickstoffspezies (RNS). Während des Zellstoffwechsels entstehen in der Regel einige

dieser Substanzen: Superoxidanion, Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Stickstoffmonoxid, Peroxynitrit, Nitroxyl und Hydroxylradikal (Stefanoni et al. 2011). Diese Produkte können für die Schädigung von Proteinen, Lipiden und (Desoxyribo-)Nukleinsäuren verantwortlich sein. In der SN von Patienten mit MP wurden oxidative Schäden an diesen Strukturen gefunden (Varçin et al. 2012; Stefanoni et al. 2011; Yacoubian und Standaert 2009; Henschcliffe und Beal 2008; Dalle-Donne et al. 2003; Zhang et al. 1999; Alam et al. 1997; Dexter et al. 1994; Dexter et al. 1989a). Unter physiologischen Bedingungen werden freie Radikale durch Antioxidantien schnell in ungiftige Moleküle umgewandelt, die die Oxidation anderer Moleküle verhindern und so die Zelle vor oxidativem Stress schützen (Stefanoni et al. 2011).

Das Gehirn scheint im Vergleich zu anderen Organen anfälliger für oxidativen Stress und daraus resultierende oxidative Schäden zu sein (Varçin et al. 2012). Gerade auch dopaminerge Neurone sind anfällig gegenüber oxidativem Stress, da toxische Zwischenprodukte des DA-Katabolismus ROS produzieren können und wichtige Antioxidantien wie Glutathion in diesen Neuronen bereits erniedrigt sind (Tolleson und Fang 2013; Varçin et al. 2012; Stefanoni et al. 2011; Yacoubian und Standaert 2009; Henschcliffe und Beal 2008; Hastings et al. 1996; Sofic et al. 1992; Perry und Yong 1986).

Oxidativer Stress im Rahmen von MP scheint durch unterschiedliche Mechanismen ausgelöst zu werden, z.B. durch Veränderungen der Eisenakkumulation in der SN, Calciumkanalaktivität, Proteolyse (proteasomal und lysosomal), α -Syn-Aggregation und das Vorhandensein von mutierten Proteinen (z.B. DJ-1) (Dexter und Jenner 2013; Schapira und Jenner 2011; Surmeier 2007; Tofaris und Spillantini 2005; Riederer et al. 1989; Dexter et al. 1989b). Mitochondriale Dysfunktion führt ebenfalls zu oxidativem Stress (Henschcliffe und Beal 2008; Fahn 2003). Mitochondrien sind die Hauptproduzenten von ROS im Gehirn (Tolleson und Fang 2013; Yan et al. 2013; Dumont und Beal 2011) und eine Beeinträchtigung ihrer normalen Funktion führt einerseits zu einer übermäßigen Produktion von ROS, die dann die Mitochondrien weiter schädigen können, andererseits zu einer verminderten ATP (Adenosin-5'-Triphosphat)-Produktion (Varçin et al. 2012; Yacoubian und Standaert 2009; Fahn 2003; Sherer et al. 2002). Vor allem Defekte in der mitochondrialen Komplex-I-Aktivität scheinen eine Rolle zu spielen, die auch in der SN von Parkinson-Patienten nachgewiesen werden konnten (vgl. auch Ausführungen zu MPTP) (Varçin et al. 2012; Schapira 2011; Schapira und Gegg 2011; Henschcliffe und Beal 2008; Schapira et al. 1990). Komplex-I befindet sich in der inneren Mitochondrienmembran und ist Teil des oxidativen Phosphorylierungssys-

tems, das für die Bildung von zellulärem ATP verantwortlich ist (Varçin et al. 2012; Chaturvedi und Beal 2008; Swerdlow et al. 1996). Komplex-I-Defekte können die Anfälligkeit von Neuronen für Exzitotoxizität durch Veränderung des Calciumhaushaltes und/ oder veränderte ATP-Konzentrationen erhöhen (Sherer et al. 2002). Reduzierte ATP-Konzentrationen wiederum führen zu einer Beeinträchtigung von energieabhängigen Prozessen, wie z.B. dem Abbau/ der Clearance von Proteinen und Organellen (z.B. Entfernung geschädigter Mitochondrien) (Dexter und Jenner 2013; Stefanoni et al. 2011).

Oxidativer Stress trägt zur Kaskade bei, die zur DA-Zelldegeneration bei MP führt. Er ist allerdings eng mit anderen Komponenten des degenerativen Prozesses (z.B. der mitochondrialen Dysfunktion, Exzitotoxizität und Entzündung) verbunden und lässt sich nur schwer davon abgrenzen. Daher ist es schwierig zu bestimmen, ob oxidativer Stress als Auslöser zu diesen Ereignissen führt und/ oder eine Folge davon ist. Oxidativer Stress beeinträchtigt z.B. den Proteinabbau und eine Beeinträchtigung der proteasomalen Funktion wiederum führt zur Bildung von freien Radikalen und oxidativem Stress, sodass eine Art sich selbst antreibender Kreislauf entsteht (Jenner 2003).

Erhöhte Eisenwerte in der SN von Parkinson-Patienten (Dexter et al. 1989b; Riederer et al. 1989; Sofic et al. 1988) begünstigen Schäden durch freie Radikale, insbesondere in Gegenwart von Neuromelanin (Yacoubian und Standaert 2009). Eisen ist potenziell destruktiv, weil es aktiv an chemischen Reaktionen beteiligt ist, die freie Radikale produzieren, einschließlich des Katabolismus von DA selbst. Insbesondere dopaminerge Zellen scheinen anfällig gegenüber erhöhtem Eisen-gehalt zu sein und selektiv geschädigt zu werden (Mochizuki und Yasuda 2012; Tolleson und Fang 2013). Dopaminerge Neurone enthalten signifikante Mengen an Neuromelanin (Xuan et al. 2011), das als Reservoir für überschüssiges Eisen dient und freie Radikale binden soll. Wenn die Eisenbindungsstellen des Neuromelanins gesättigt sind, kann die vermehrte Freisetzung von Redox-aktivem Eisen durch eine Fenton-ähnliche Reaktion zu einer vermehrten Sauerstoffradikal-Produktion und die Bildung freier Radikale zu einer größeren zellulären Toxizität führen (Tolleson und Fang 2013; Mochizuki und Yasuda 2012; Gerlach et al. 2003). Altersbedingte Anhäufungen von Neuromelanin führen scheinbar zu einer Überexpression von α -Syn, wodurch dopaminerge Neurone anfälliger für Schädigungen werden (Xuan et al. 2011). Eisen und freie Radikal-Produzenten, wie z.B. DA oder H_2O_2 , stimulieren die Bildung intrazellulärer Aggregate, die α -Syn und Ubiquitin enthalten (Ostremova-Golts et al. 2000). Möglicherweise bewirkt α -Syn zusammen

mit Eisen und DA die Induktion der Lewy-Pathologie und des Zelltodes bei MP (Ostrerova-Golts et al. 2000).

Es gibt Hinweise auf einen plausiblen Zusammenhang zwischen oxidativer Schädigung und Bildung der für MP charakteristischen LK-Proteinaggregate: Oxidativer Stress induziert die Akkumulation und Aggregation von α -Syn und beeinträchtigt die proteasomale Ubiquitinierung und den Abbau von Proteinen (Stefanoni et al. 2011; Henchcliffe und Beal 2008; Jenner 2003; Fahn 2003; Conway et al. 2001). Die Überexpression von α -Syn kann zu erhöhtem oxidativem Stress und verminderter mitochondrialer Komplex-I-Aktivität führen. Der oxidative Stress wiederum induziert eine weitere Aggregation von α -Syn in toxische Formen, was wiederum die Mitochondrien weiter schädigen und zur Produktion von mehr ROS führen kann (Song et al. 2015; Xie und Chung 2012; Gao et al. 2008). Außerdem kann die Überexpression von α -Syn das Proteinabbausystem (UPS und Autophagie) beeinflussen. Das beeinträchtigte Proteinabbausystem wiederum führt zu weiterer Akkumulation von α -Syn und es entsteht auch hier eine Art sich selbst verstärkender Kreislauf (Song et al. 2015; Emmanouilidou et al. 2010; Cuervo et al. 2004).

1.4.3.2. Ubiquitin-Proteasomen-System

Der Nachweis einer Akkumulation von mehreren Proteinen (insbesondere α -Syn) in LK in degenerierenden dopaminergen Neuronen der SN führte zu der Idee, dass der Katabolismus unerwünschter, beschädigter oder mutierter Proteine bei MP gestört sein und dies zu Zellaggregation und neuronalem Tod führen könnte (Dexter und Jenner 2013; McNaught und Jenner 2001; Giasson et al. 2000; Spillantini et al. 1998). Daraufhin wurde u.a. die Rolle des UPS in der Pathogenese von MP untersucht (Dexter und Jenner 2013).

Das UPS stellt eine Art Proteinqualitätskontrolle dar und sorgt für den Abbau von u.a. fehlgefalteten, mutierten oder beschädigten Proteinen (Olanow und McNaught 2006; Nandi et al. 2006). Es gibt genetische, pathologische und experimentelle Hinweise, dass die Neurodegeneration bei MP mit einem Defekt in der Fähigkeit des UPS zusammenhängt, unerwünschte Proteine zu entfernen, was wiederum Proteinakkumulation, Aggregation und Zytotoxizität zur Folge hat (Olanow und McNaught 2006). In-vitro- und in-vivo-Laborexperimente unterstützen diese Feststellung. Es konnte gezeigt werden, dass die Hemmung der UPS-Funktion durch

Verabreichung von Proteasom-Inhibitoren eine selektive Degeneration dopaminerger Neurone verbunden mit der Bildung von α -Syn- und Ubiquitin-positiven LK-ähnlichen Einschlüssen induzieren kann (Olanow und McNaught 2006; Fornai et al. 2003; McNaught et al. 2002b; McNaught et al. 2002c; Rideout et al. 2001). In post-mortem-Untersuchungen von Parkinson-Patienten konnten in der SNpc strukturelle und funktionelle Defekte von 26/20S-Proteasomen und eine reduzierte proteasomale Aktivität nachgewiesen werden (McNaught et al. 2003; McNaught et al. 2002a; McNaught und Jenner 2001). Außerdem wurde eine 22-24 kDa schwere α -Syn-Spezies entdeckt, die zwar ein- bis dreifach ubiquitiniert war, aber nicht durch die Proteasomen abgebaut werden konnte (Tofaris et al. 2003). Es wurde berichtet, dass α -Syn die proteasomale Aktivität in konzentrationsabhängiger Weise durch direkte Interaktion mit dem 26S-Proteasomen-Komplex hemmen kann und eine beeinträchtigte proteasomale Aktivität wiederum die Akkumulation von α -Syn verstärkt, was zu einer weiteren Beeinträchtigung der proteasomalen Aktivität führt (Eriksen et al. 2003; Giasson und Lee 2003).

Wie bereits in Abschnitt 1.4.3.1 beschrieben, gibt es einen Zusammenhang zwischen oxidativem Stress, veränderter Ubiquitinierung und dem Abbau von Proteinen. Oxidativer Stress kann diese Prozesse direkt beeinträchtigen und Produkte oxidativer Schädigung können das 26S-Proteasom schädigen. Eine Beeinträchtigung der Proteasomenfunktion wiederum führt zur Bildung von freien Radikalen und oxidativem Stress (Jenner 2003). Ist die Funktion des UPS beeinträchtigt, ist u.a. auch die Entfernung von defekten, oxidative Radikale-produzierenden Mitochondrien gestört (Tolleson und Fang 2013; Brunk und Terman 2002).

1.4.3.3. Immunologische und (neuro-)inflammatorische Faktoren/ Prozesse

Neuroinflammation ist ein bekanntes neuropathologisches Merkmal des MP, wobei umstritten ist, ob sie Ursache und/ oder Folge der Neurodegeneration ist (Ip et al. 2015). Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass Neuroinflammation ein möglicher pathogenetischer Faktor ist, der an der Degeneration dopaminerger Neurone beteiligt ist und zur Progression der Erkrankung beitragen kann (Ip et al. 2015; Qian et al. 2010; Hirsch und Hunot 2009; Yacoubian und Standaert 2009; Gao und Hong 2008; McGeer und McGeer 2007; Tansey et al. 2007; Herrera et al. 2005). Insbesondere die Rolle der Mikroglia als Teil des angeborenen Immunsystems wurde in mehreren Studien untersucht (Ip et al. 2015; Qian et al. 2010; Hirsch und Hunot 2009; Gao und Hong 2008; Bartels und Leenders 2007; Herrera et al. 2005;

McGeer et al. 1988b). In post-mortem-Untersuchungen von Parkinson-Patienten konnten aktivierte und HLA-DR-positive Mikroglia zusammen mit LK und freiem Melanin in der SNpc nachgewiesen werden (McGeer et al. 1988b; Imamura et al. 2003; Orr et al. 2005).

Außerdem konnten in Blutproben, im Liquor und in nigrostriatalen Gehirnregionen von Parkinson-Patienten erhöhte proinflammatorische Zytokine, wie z.B. Interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-6, Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interferon- γ (INF- γ) nachgewiesen werden (Mogi et al. 1994a; Mogi et al. 1994b; Mogi et al. 1996a; Mogi et al. 1996b; Mogi et al. 2007; Stypuła et al. 1996; Dobbs et al. 1999). Das Komplementsystem scheint ebenfalls an der Pathogenese beteiligt zu sein, da erhöhte Serumspiegel von Komplementproteinen und deren Vorhandensein in LK bei Parkinson-Patienten nachgewiesen wurden (Yamada et al. 1992; Goldknopf et al. 2006; Yacoubian und Standaert 2009).

Wie Mikroglia bei MP aktiviert werden, ist noch nicht vollständig geklärt, aber sowohl Zytokine als auch α -Syn spielen eine Rolle. In in-vitro-Studien und Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass sowohl modifiziertes α -Syn (aggregierte Form oder durch oxidative Stressreaktionen hervorgerufene nitrierte Form) als auch eine Überexpression von α -Syn zu Mikroglia-Aktivierung führen können (Meda et al. 1995; Zhang et al. 2005; McGeer und McGeer 2007; Benner et al. 2008; Reynolds et al. 2008a; Reynolds et al. 2008b; Theodore et al. 2008; Yacoubian und Standaert 2009; Watson et al. 2012; Allen Reish und Standaert 2015). Auch aus untergehenden Neuronen in die extrazelluläre Umgebung freigesetztes Neuromelanin kann Mikroglia aktivieren (Mochizuki und Yasuda 2012; Zhang et al. 2011; Zecca et al. 2008). Aktivierte Mikroglia können sowohl zytotoxische Verbindungen (z.B. ROS und RNS) als auch proinflammatorische Zytokine (z.B. TNF- α , INF- γ und IL-1 β) exprimieren. Dadurch verursachen sie oxidative Schäden, verstärken die Neuroinflammation und führen zum dopaminergen Zelltod bei MP (Varçin et al. 2012; Mochizuki und Yasuda 2012; Dumont und Beal 2011; Qian et al. 2010; Long-Smith et al. 2009; McGeer und McGeer 2007; Whitton 2007; Block und Hong 2005; Choi et al. 2005; Hunot et al. 1999; Meda et al. 1995; Banati et al. 1993). Neuronaler Zelltod sowie dadurch hervorgerufene entzündliche Prozesse und Freisetzung von aggregiertem α -Syn und Neuromelanin können wiederum Mikroglia und die damit verbundene Produktion von proinflammatorischen Faktoren aktivieren. Dies führt zu einer weiteren Entzündungsreaktion sowie persistierender und fortschreitender Neurodegeneration bei MP (Block und Hong 2005; Zhang et al. 2005; Reynolds et al. 2008a; Mochizuki und Yasuda 2012).

Mikroglia spielen demnach eine entscheidende Rolle bei der Bildung eines sich selbst antreibenden Zyklus, der zu anhaltender chronischer Neuroinflammation führt und die fortschreitende Neurodegeneration bei MP fördert (Qian et al. 2010; Block und Hong 2005).

Die Rolle des adaptiven Immunsystems bei MP ist weitaus weniger erforscht, aber es gibt Hinweise, dass es ebenfalls zur Pathogenese beiträgt (Lindestam Arlehamn et al. 2020; Sommer et al. 2018; Sulzer et al. 2017; Ip et al. 2015; Qian et al. 2010). In post-mortem-Untersuchungen von Parkinson-Patienten konnte eine T-Lymphozyten (kurz: T-Zell)-Infiltration (CD4+ und zytotoxische CD8+ Populationen) in der SNpc nachgewiesen werden (McGeer et al. 1988a; Brochard et al. 2009; Ip et al. 2015). Außerdem konnten in Blutproben von Parkinson-Patienten veränderte T-Lymphozytenzahlen aufgezeigt werden (Fiszer et al. 1994a; Fiszer et al. 1994b; Bas et al. 2001; Baba et al. 2005; Saunders et al. 2012; Stevens et al. 2012). Es zeigten sich u.a. eine Zunahme der proinflammatorischen CD8+ T-Zellzahl (Baba et al. 2005; Ip et al. 2015) und/ oder eine Verringerung der CD4+ T-Zellzahl (Bas et al. 2001; Baba et al. 2005; Stevens et al. 2012). Andererseits könnte das adaptive Immunsystem auch eine neuroprotektive Wirkung haben. In verschiedenen Studien konnte bei Parkinson-Patienten z.B. eine Zunahme antiinflammatorischer CD4+CD25+ oder CD4+Foxp3+ regulatorischer T-Zellen gezeigt werden (Bas et al. 2001; Rosenkranz et al. 2007; Reynolds et al. 2007; Reynolds et al. 2009; Ip et al. 2015). Dichotomie ist ein bekannter Aspekt des Immunsystems, das sowohl pro- als auch antiinflammatorische humorale und zelluläre Komponenten enthält, die sich bei der Neurodegeneration/ -regeneration gegenseitig entgegenwirken. Dies wurde bereits bei Multipler Sklerose, aber auch bei weniger entzündlichen, neurodegenerativen Erkrankungen beschrieben (Ip et al. 2015; Hestvik 2010; Wyss-Coray und Mucke 2002).

Außerdem scheint es einen Zusammenhang zwischen α -Syn und dem adaptiven Immunsystem zu geben. Eine Überexpression von humanem α -Syn löste in Mausmodellen des MP neben einer Mikroglia-Aktivierung auch eine adaptive Immunantwort aus und führte über beide Mechanismen zu Neuroinflammation und -degeneration dopaminergischer Neurone (Theodore et al. 2008; Cao et al. 2010). Des Weiteren konnte in Tiermodellen gezeigt werden, dass auch modifizierte, von α -Syn abgeleitete Peptide T-Zell-Antworten induzieren können und dass bei MHC-II-defizienten Mäusen die α -Syn-induzierte Mikroglia-Aktivierung, Antigen-Präsentation, CD4+ T-Zellproliferation und Degeneration dopaminergischer Neurone verhindert werden konnte. Dies deutet auf eine zentrale Rolle von MHC-II bei der

α -Syn-induzierten Aktivierung der angeborenen und erworbenen Immunantworten bei MP hin (Benner et al. 2008; Harms et al. 2013; Sulzer et al. 2017). Zudem konnte gezeigt werden, dass dopaminerge Neurone der SN MHC-Klasse-I exprimieren (u.a. durch Aktivierung von Zytokinen, die von durch α -Syn oder Neuromelanin aktivierten Mikroglia freigesetzt wurden) und dass CD8⁺ zytotoxische T-Zellen dopaminerge Neurone abtöten, die eine geeignete Kombination von MHC-I und präsentierten Peptid (Antigen) aufweisen (Cebrián et al. 2014; Sulzer et al. 2017). Es scheint eine Assoziation von MP mit spezifischen MHC-Allelen zu geben. Eine Studie zeigte, dass bestimmte von α -Syn abgeleitete Peptide als antigene Epitope fungieren können, die von MHC-Allelen präsentiert, von T-Zellen erkannt werden und eine Immunantwort bei Parkinson-Patienten hervorrufen (Sulzer et al. 2017).

In Blutproben von Parkinson-Patienten wurden in frühen Krankheitsstadien erhöhte und mit fortschreitender Erkrankung verminderte Antikörper (AK)-Spiegel gegen α -Syn nachgewiesen. Diesen AK wurde eine potenziell neuroprotektive Wirkung zugeschrieben, wobei ein unzureichend niedriger AK-Spiegel in späteren Krankheitsstadien die Neurodegeneration begünstigte (Yanamandra et al. 2011; Ip et al. 2015). Klinische Studien mit AK gegen α -Syn sind bereits in der Entwicklung. Es wird getestet, ob Therapien, die die Bildung von verändertem α -Syn verhindern, in der prodromalen Phase von MP - von der angenommen wird, dass sie mindestens ein Jahrzehnt vor dem Auftreten der motorischen Symptome existiert - das Auftreten von Symptomen verzögern oder sogar verhindern können (Allen Reish und Standaert 2015).

Ein vielversprechender Ansatz sind die Ergebnisse der klinischen Phase-I-Studie des österreichischen Biotechnologie-Unternehmens AFFiRiS AG: Bei Parkinson-Patienten im Frühstadium löste die Grundimmunisierung mit PD01A (spezifisches aktives Immuntherapeutikum gegen α -Syn) eine spezifische humorale Immunantwort gegen α -Syn aus und erzeugte einen immunologischen „Memory-Effekt“, der während der Auffrischimpfungen reaktiviert und verstärkt wurde. Die Boosterimmunisierungen riefen eine (bis zum Ende der Studie) anhaltende α -Syn-spezifische AK-Reaktion hervor. Es wurde zudem berichtet, dass diese aktive Anti- α -Syn-Immuntherapie mit einer Verringerung der Konzentration von α -Syn-Oligomeren im Liquor der Parkinson-Patienten assoziiert war, was möglicherweise einen krankheitsmodifizierenden Effekt haben könnte. Diese Resultate legen nahe, dass die Immunisierung mit PD01A eine erfolgsversprechende Strategie für die langfristige Behandlung der Parkinson-Krankheit sein könnte und unterstützen die weitere Entwicklung und Untersuchung der klinischen Wirksam-

keit des Immuntherapeutikums in einer klinischen Phase-II-Studie, die für die zweite Hälfte des Jahres 2020 geplant ist (Volc et al. 2020; AFFiRiS AG 2020).

1.4.3.4. α -Synuclein

Die zentrale Rolle von α -Syn in der Pathogenese von MP verdeutlichen u.a. schon die zuvor beschriebenen Ausführungen zu den einzelnen möglichen ätiologischen Faktoren, die nahezu alle in Zusammenhang mit α -Syn gebracht werden können. Es handelt sich um das primär aggregierende Protein bei MP und ist daher als Beispiel für Proteinakkumulation/ -aggregation und Fehlfaltung zu nennen - Mechanismen, die ebenfalls an der Pathogenese von MP beteiligt sind (Yacoubian und Standaert 2009; Ozansoy und Başak 2013; Oliveras-Salvá et al. 2013; Allen Reish und Standaert 2015; Koprach et al. 2017). Auf seine Rolle wird in Abschnitt 1.8 noch genauer eingegangen.

1.4.3.5. Fazit

Oxidative Schäden, mitochondriale Dysfunktion, Akkumulation und Aggregation von Proteinen, Entzündungsreaktionen und Beeinträchtigung der Protein-Clearance/ des Proteinabbaus stellen komplexe, ineinandergreifende, teils sich überschneidende Pathologien dar, die bei der Zerstörung von Neuronen zusammenspielen (Schapira 2011; Halliwell 2006; Fahn 2003). Dies unterstreicht die Vielfalt möglicher Ursachen des Zelltodes bei MP, aber auch die gemeinsamen Endwege, über die der neuronale Untergang stattfindet (Dexter und Jenner 2013).

1.5. Pathophysiologie

Unabhängig von der Ätiologie ist das konstante charakteristische pathologische Merkmal des MP die Degeneration von melaninhaltigen dopaminergen Neuronen in der SNpc, der Verlust von ins Striatum projizierenden dopaminergen Fasern sowie in den meisten Fällen die Anhäufung von unlöslichen Proteinaggregaten in überlebenden dopaminergen Neuronen in der SNpc, sog. LK und -Neuriten, deren Hauptbestandteil α -Syn ist (= Auftreten einer Lewy-Pathologie) (Ip et al. 2017b; Koprach et al. 2017; Hacke 2015; Beitz 2014; Dexter und Jenner 2013; Sitzler und Steinmetz 2011; Koprach et al. 2011; Koprach et al. 2010; Schober 2004;

Fahn 2003). In pathologischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass im Verlauf der Erkrankung neben der SN sowohl das gesamte ZNS als auch weite Teile des PNS von dem für die Erkrankung typischen Zelluntergang und α -Syn-Ablagerungen betroffen sein können (Hacke 2015).

1.5.1. Degeneration

Durch den Untergang der neuromelaninhaltigen dopaminergen Neurone in der SNpc im Mittelhirn, die über ihre Axone ins Striatum projizieren (= nigrostriatales dopaminerges System), kommt es in den Basalganglien zu einem DA-Mangel, auf den viele der zentralen motorischen Symptome des MP zurückgeführt werden können (Hacke 2015; Dryanovski et al. 2013; Sitzer und Steinmetz 2011; González-Hernández et al. 2010; Schober 2004; Fahn 2003). Der Verlust von Nervenzellen (nigrostriatalen Neuronen) wird von einem Anstieg an Gliazellen in der SN (Gliose) und einem Verlust von normalerweise in dopaminergen Neuronen enthaltenem Neuromelanin (Depigmentierung) begleitet (Fahn 2003; Beitz 2014).

Exkurs: (Neuro-)Anatomie und Physiologie

Hinweis: Nachstehend wird lediglich ein grober Überblick zur Thematik gegeben. Für weitergehende Informationen sei auf entsprechende Lehrwerke verwiesen.

Zu den Basalganglien gehören im klassisch-anatomischen Sinne das Striatum, das sich aus Ncl. caudatus und Putamen zusammensetzt, und das Pallidum (= Globus pallidus). Funktionell werden im weiteren Sinne auch der Ncl. subthalamicus und die SN hinzugezählt (Benninghoff et al. 2008; Sitzer und Steinmetz 2011; Trepel 2015). Die Basalganglien sind mit dem Kortex und dem Thalamus verschaltet. Ihre Funktion besteht in der Planung und Ausführung bzw. Unterdrückung von Bewegungsabläufen sowie deren motorischen Feinabstimmung und Koordination (Sitzer und Steinmetz 2011; Benninghoff et al. 2008). Innerhalb der Basalganglien können zwei Wege der Verarbeitung unterschieden werden: ein direkter, bewegungsfördernder (exzitatorischer) und ein indirekter, bewegungshemmender (inhibitorischer) Weg (Sitzer und Steinmetz 2011; Benninghoff et al. 2008). Um zu verstehen, wie ein DA-Mangel zur gestörten Motorik bei MP führt, wird im Folgenden

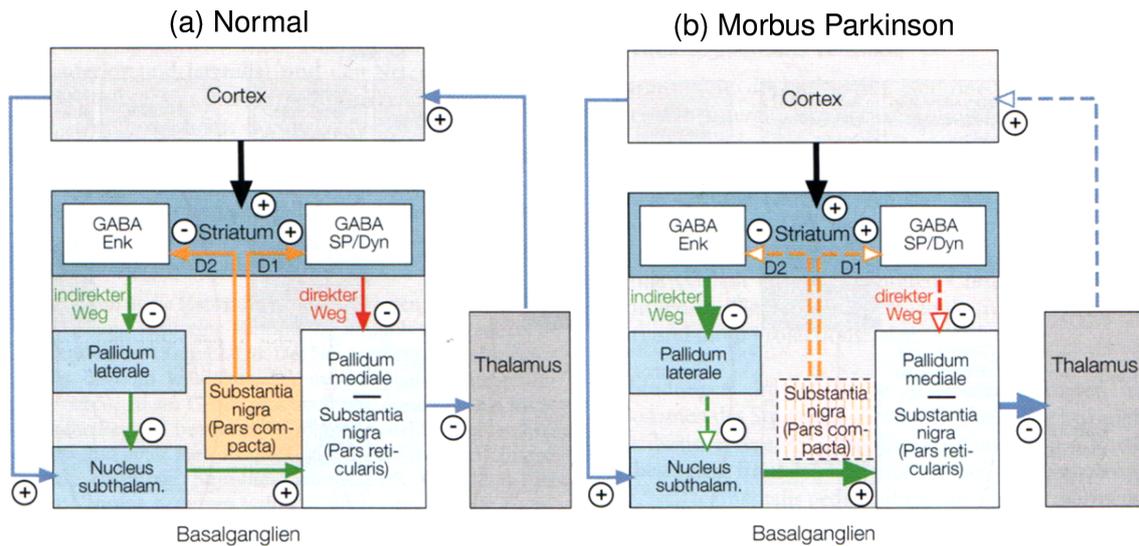


Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung des Verschaltungsmodells der Basalganglien bei a) normalen Verhältnissen und b) Morbus Parkinson. (+) erregender/ (-) hemmender Einfluss der Projektionen auf die Zielgebiete. Entnommen aus (Benninghoff et al. 2008). Verwendungserlaubnis von Elsevier erteilt am 07.04.2020.

kurz auf die Rolle der SN in dem Verschaltungsmodell eingegangen: Der aus den im Striatum endenden Efferenzen der SNpc freigesetzte Neurotransmitter DA wirkt einerseits über D1-Rezeptoren aktivierend auf den direkten Weg und andererseits über D2-Rezeptoren inhibitorisch auf den indirekten Weg. Die dadurch erfolgte Schwächung des indirekten Weges reduziert dessen hemmende Wirkung auf die motorische Aktivität und es kommt somit insgesamt zu einer Steigerung der Motorik (vgl. Abb. 2 (a)). Bei MP kommt es bedingt durch die Degeneration der dopaminergen Neurone der SNpc und dem daraus resultierenden DA-Mangel an den striatären Rezeptoren zu einer verminderten D1-vermittelten Aktivierung des direkten und einer reduzierten D2-vermittelten Inhibition des indirekten Weges. D.h. die hemmende Wirkung des Globus pallidus internus auf den Thalamus wird gesteigert und die bewegungsfördernde Wirkung thalamokortikaler Verbindungen reduziert, sodass es insgesamt zu hypokinetischen Störungen (Brady-/ Akinese) kommt (vgl. Abb. 2 (b)) (Sitzer und Steinmetz 2011; Benninghoff et al. 2008; Fahn 2003; Penney und Young 1986).

Die nigrostriatale Degeneration geht dem Auftreten motorischer Symptome mit einem geschätzten Verlust von ~30% an SN-Neuronen und einem noch höheren Verlust an striatalen Fasern voraus. Diese neuropathologischen Veränderungen können sich schon einige Jahre vor dem Auftreten offensichtlicher motorischer

Symptome zeigen (Cheng et al. 2010; Gazewood et al. 2013; Kordower et al. 2013; Beitz 2014; Ip et al. 2017b; Koprach et al. 2017). Der fortschreitende Verlust der nigrostriatalen dopaminergen Neurone und die damit verbundene Reduktion der DA-Konzentration in SN und Striatum korrelieren mit der zunehmenden Schwere der Bradykinese bei MP (je ausgeprägter der Neuronenverlust und damit je niedriger die DA-Konzentration, desto stärker die Bradykinese) (Fahn 2003; Bernheimer et al. 1973).

Zudem betrifft der Nervenzelluntergang bereits in frühen Krankheitsstadien auch Neurone anderer Transmittersysteme, deren Schädigung die NMS des MP erklärt: während z.B. eine Verminderung der Neurotransmitter Noradrenalin und Serotonin im Raphekern mit depressiver Symptomatik assoziiert ist, wird der Acetylcholinmangel im Ncl. basalis Meynert u.a. für die Demenz verantwortlich gemacht (Sitzer und Steinmetz 2011; Fox 2013; Baldus et al. 2015; Hacke 2015). In den Basalganglien findet eine Verschiebung der cholinergen/ dopaminergen Balance statt: durch den entstehenden DA-Mangel kommt es zu einem relativen Acetylcholinüberschuss, der v.a. mit der Tremorsymptomatik und vegetativen Begleitsymptomen assoziiert wird (Benninghoff et al. 2008; Collins-Praino et al. 2011; Fox 2013; Baldus et al. 2015).

1.5.2. Lewy-Körper

Bei den für MP charakteristischen LK handelt es sich um runde, eosinophile, konzentrische, zytoplasmatische intraneuronale Einschlüsse. Sie bestehen aus verschiedenen abgelagerten und aggregierten Proteinen und Lipiden, wobei ihr Hauptbestandteil aggregiertes und post-translational modifiziertes bzw. fehlgefaltetes α -Syn ist (Allen Reish und Standaert 2015; Hacke 2015; Goedert et al. 2013; Sitzer und Steinmetz 2011; Koprach et al. 2010; Shults 2006; Eriksen et al. 2003; Fahn 2003; Spillantini et al. 1998; Spillantini et al. 1997). Diese Proteinaggregate wurden erstmals 1912 von Friedrich Jacob Heinrich Lewy (1885-1950) in Hirnregionen außerhalb der SN beschrieben und 1919 von Konstantin Nikolaevitch Tretiakoff (1892-1958), der ähnliche Aggregate in der SN entdeckte, nach Lewy benannt (corps de Lewy oder Lewy bodies (LB)). Lewy beschrieb neben abnormalen Einschlüssen in Nervenzellkörpern auch ihr Vorkommen in Nervenzellfortsätzen, die später Lewy-Neuriten genannt wurden (Lewy 1912; Tretiakoff 1919; Braak et al. 1994; Goedert et al. 2013).

In den 1990er Jahren wurde α -Syn als Hauptbestandteil der Lewy-Pathologie identifiziert (Spillantini et al. 1997; Spillantini et al. 1998). Es konnte gezeigt werden, dass die Aggregation von α -Syn eine zentrale Rolle bei MP, Demenz vom Lewy-Körper-Typ und Multisystematrophie (= α -Synucleinopathien; vgl. auch Abschnitt 1.2) spielt (Goedert et al. 2013). Die Lewy-Pathologie ist von zentraler Bedeutung für den neurodegenerativen Prozess bei MP - ein kausaler Zusammenhang zwischen Einschlusskörperbildung und dem neurodegenerativen Prozess wird angenommen: α -Syn-Aggregate scheinen zu neuronaler Dysfunktion und Zelltod beizutragen bzw. diese zu verursachen (Goedert et al. 2013; Oliveras-Salvá et al. 2013; Koprach et al. 2010; Satake et al. 2009; Simón-Sánchez et al. 2009; Ibáñez et al. 2004; Polymeropoulos et al. 1997; Spillantini et al. 1997).

Im Jahre 2003 wurde von Braak und Kollegen ein Staging-Schema für MP entwickelt, das den Zusammenhang zwischen dem topographischen Ausmaß/ der zeitlichen Verteilung der LK bzw. α -Syn-Pathologie und der Schwere/ Art der Symptome im Verlauf der Erkrankung beschreibt. Es schlägt vor, dass der pathologische Prozess an zwei Stellen beginnt und in einer topographisch vorhersagbaren Sequenz in 6 Stufen abläuft (sog. Braak-Stadien): Während im ZNS zunächst Medulla oblongata (u.a. mit dem Vagus Kern), Tegmentum pontis (u.a. Locus coeruleus, Raphe Kern) und anteriore olfaktorische Strukturen (Bulbus/ N. olfactorius mit dem Ncl. olfactorius anterior) betroffen sind (Stadium 1 und 2), breitet sich der pathologische Prozess/ die Lewy-Pathologie weiter in das basale Mittel- und Vorderhirn (einschließlich SN, Ncl. basalis Meynert) aus (Stadium 3 und 4) und erreicht schließlich die Assoziationsgebiete und Primärfelder des Neokortex (Stadium 5 und 6) (Braak et al. 2002; Braak et al. 2003b; Braak et al. 2004; Braak et al. 2006; Dexter und Jenner 2013; Goedert et al. 2013; Hacke 2015; Steiner et al. 2018). Das Auftreten von LK in verschiedenen Hirnregionen (Progression durch die Braak-Stadien) verläuft parallel zur Entwicklung der Symptomstärke (Koprach et al. 2010; Kempster et al. 2010; Braak et al. 2005; Saito et al. 2004). Die Stadien 1-2 sind v.a. durch NMS, wie z.B. Hyposmie oder Obstipation, gekennzeichnet. Ab Stadium 3, wenn das Mittelhirn und die SN betroffen sind, treten bei den meisten Patienten die typischen motorischen Symptome des MP auf. In den Endstadien 5-6 manifestiert sich die Erkrankung in all ihren klinischen Dimensionen inklusive kognitiver Beeinträchtigungen (Braak et al. 2002; Braak et al. 2004; Jellinger 2009; Sitzer und Steinmetz 2011; Dexter und Jenner 2013).

Nach der Hypothese von Braak und Kollegen könnte die Parkinson-Pathologie durch ein unbekanntes exogenes neurotropes Lewy-Pathologie-initiiertes Pa-

thogen ausgelöst werden. Dieses Pathogen könnte über die Riechschleimhaut in der Nase und/ oder - durch Verschlucken von Nasensekret - über die Darmmukosa aufgenommen werden und über den N. olfactorius bzw. den N. vagus das ZNS erreichen (sog. „Dual-Hit“-Hypothese) (Braak et al. 2003a; Hawkes et al. 2007; Hawkes et al. 2009; Sitzer und Steinmetz 2011; Beitz 2014; Rietdijk et al. 2017; Steiner et al. 2018). Der pathogene Prozess führt zur Bildung der α -Syn-Aggregate (= LK und -Neurite), die sich nach der Braak-Hypothese in kaudal-rostraler Richtung durch das ZNS ausbreiten und eine prionenähnliche Fähigkeit zur Erzeugung einer Ausbreitungspathologie zwischen Neuronen besitzen (Steiner et al. 2018; Koprich et al. 2017; Rietdijk et al. 2017; Allen Reish und Standaert 2015; Dexter und Jenner 2013; Visanji et al. 2013; Dunning et al. 2012; Sitzer und Steinmetz 2011; Goedert et al. 2010; Braak et al. 2003b). Demzufolge könnte sich pathologisches α -Syn zwischen miteinander verbundenen anatomischen Bereichen sowohl innerhalb des Gehirns als auch vom Riechkolben oder dem ENS zum ZNS ausbreiten (Koprich et al. 2017; Rey et al. 2016; Holmqvist et al. 2014; Braak et al. 2002).

Obwohl z.B. der pathologische Nachweis von LK und -Neuriten in Darmstrukturen, dem Vagusnerv und Gehirnstrukturen (im ENS und PNS) die Braak-Hypothese stützt, wird sie weiterhin kontrovers diskutiert. Auch wenn α -Syn unter bestimmten Bedingungen zwischen Neuronen übertragen werden kann, ist nicht klar, ob dies auch beim Menschen der Fall ist. Die interzelluläre Ausbreitung der α -Syn-Pathologie bei MP konnte nicht endgültig nachgewiesen werden. Es kann somit nicht mit Sicherheit davon ausgegangen werden, dass der prionenartige Transfer von α -Syn zum Fortschreiten der Parkinson-Krankheit beiträgt. Zudem basiert die Braak-Hypothese ausschließlich auf Momentaufnahmen von Degenerationsmustern in unabhängigen postmortalen Parkinson-Fällen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Diagnose und nicht alle Parkinson-Fälle folgen genau diesem formalen Muster der Ausbreitung des Staging-Systems (Steiner et al. 2018; Koprich et al. 2017; Rietdijk et al. 2017; Beitz 2014; Dexter und Jenner 2013; Kalaitzakis et al. 2008).

LK sind ein kardinales pathologisches Merkmal von MP, kommen aber auch bei anderen (neurodegenerativen) Erkrankungen des ZNS vor und lassen sich bei 10% der gesunden älteren Menschen nachweisen (sog. „incidental Lewy-body-disease“) (Hacke 2015; Shults 2006).

1.6. Diagnostik

Da die Diagnosestellung im Frühstadium erschwert sein kann, sollten Patienten mit Verdacht auf MP zu einem Spezialisten mit Erfahrungen in der klinischen Differentialdiagnose von Parkinson-Syndromen überwiesen und die Diagnose regelmäßig reevaluiert werden (Gazewood et al. 2013; Deuschl et al. 2016). MP ist eine klinische Diagnose, die durch eine sorgfältige Anamnese und neurologische Untersuchung unter Verwendung von z.B. den „UK Parkinson's Disease Society Brain Bank Clinical Diagnostic“-Kriterien gestellt werden kann (Hacke 2015; Deuschl et al. 2016). Diese Kriterien beinhalten folgende 3 Punkte zur klinischen Sicherung der Verdachtsdiagnose:

1. Diagnose eines Parkinson-Syndroms durch Vorliegen der motorischen Kardinalsymptome (Brady-/ Akinese und mindestens ein weiteres Symptom: Rigor, Ruhetremor, posturale Instabilität)
2. Vorhandensein unterstützender prospektiv positiver Kriterien für MP (einseitiger Beginn und persistierende (Seiten-)Asymmetrie im Krankheitsverlauf, klassischer Ruhetremor, sehr gutes Ansprechen auf L-Dopa, anhaltende L-Dopa-Ansprechbarkeit für ≥ 5 Jahre, Auftreten von schweren L-Dopa-induzierten Dyskinesien (L-Dopa-Langzeitsyndrom), langsame klinische Progression mit Krankheitsverlauf von ≥ 10 Jahren)
3. Fehlen von Ausschlusskriterien für MP (keine Hinweise auf symptomatische oder atypische Parkinson-Syndrome, wie z.B. Exposition gegenüber Parkinson-auslösenden Medikamenten oder Toxinen, strukturelle Veränderungen in der zerebralen Bildgebung, rezidivierende Schädel-Hirn-Traumata oder diagnostisch gesicherte Enzephalitis in der Vorgeschichte, Nichtansprechen auf hohe Dosen von L-Dopa, supranukleäre Blickparese, frühe schwere Demenz etc.)

(Quellen: „UK Parkinson's Disease Society Brain Bank Clinical Diagnostic Criteria“ in (Gibb und Lees 1988; Hughes et al. 1992; Kalia und Lang 2015; Deuschl et al. 2016)).

Zum Ausschluss möglicher Differentialdiagnosen können unterschiedliche diagnostische Zusatzuntersuchungen durchgeführt werden: Zumindest einmal im Verlauf der Erkrankung sollte eine zerebrale Bildgebung (cCT oder cMRT) zur Detektion von symptomatischen Ursachen, Hinweisen auf atypische Parkinson-

Syndrome oder Begleiterkrankungen (z.B. Raumforderung/ Tumor, Normaldruckhydrozephalus, Mikrogefäßerkrankungen, ischämische Läsion) erfolgen (Hacke 2015; Deuschl et al. 2016). Bei frühem Erkrankungsbeginn vor dem 50. Lebensjahr sollte ein Morbus Wilson ausgeschlossen werden (Hacke 2015). Weitere fakultative Tests und Untersuchungen sind z.B. der L-Dopa-Test, funktionelle bildgebende Verfahren (SPECT, PET), die transkranielle Sonographie des Hirnparenchyms oder eine Elektromyographie mit Oberflächen Elektroden zur Tremormessung. Zur Beurteilung von NMS werden u.a. eine olfaktorische Testung, autonome Funktionsuntersuchungen, Polysomnographie oder neuropsychologische/ -psychiatrische Untersuchungen eingesetzt. Letztere beinhalten z.B. Werkzeuge wie den PANDA-Test (Parkinson Neuropsychometric Dementia Assessment - ein Test mit 5 Aufgaben zur kognitiven Leistungsfähigkeit und 3 Fragen zu Stimmung, Antrieb und Interesse zur Detektion einer demenziellen Symptomatik und depressiven Stimmungslage) (Kalbe et al. 2008) oder die Hamilton-Depressions-Skala (zur Einschätzung des Schweregrades einer Depression) (Hamilton 1960) (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Sitzer und Steinmetz 2011; Muzerengi et al. 2007).

Für das Staging stehen verschiedene Skalen zur Verfügung: Hoehn-Yahr-Skala (5 Stadien zur Bestimmung des Schweregrades) (Hoehn und Yahr 1967) oder UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale - ein Instrument zur Verlaufsbeurteilung von MP mit Bewertung von kognitiven Funktionen, Verhalten und Stimmung, Aktivitäten des täglichen Lebens, motorische Untersuchung und Komplikationen der Behandlung) (Fahn et al. 1987) bzw. der MDS-UPDRS (Movement Disorder Society-sponsored revision of the UPDRS - überarbeitete Version der ursprünglichen Skala) (Goetz et al. 2008) (Hacke 2015; Deuschl et al. 2016). Zusätzlich gibt es auch eine Skala zur Erfassung von NMS (Storch et al. 2010).

Die definitive Sicherung der klinischen Diagnose MP erfordert eine Bestätigung durch den histopathologischen Nachweis von dopaminergem Neuronenverlust und Vorhandensein von LK in der SNpc in post-mortem-Untersuchungen des Hirngewebes von Parkinson-Patienten (Hughes et al. 1992; Gelb et al. 1999; Eriksen et al. 2003; Koprach et al. 2010; Dexter und Jenner 2013; Hacke 2015; Deuschl et al. 2016).

1.7. Therapiemöglichkeiten

Bislang existieren lediglich symptomatische Behandlungsansätze zur Verbesserung motorischer und nicht-motorischer Beeinträchtigungen. Eine Heilung oder bewährte Behandlungsstrategien, die nachweislich den Krankheitsverlauf/ das Fortschreiten des neurodegenerativen Prozesses verzögern, aufhalten oder umkehren (sog. krankheitsmodifizierende kausale oder neuroprotektive Therapie(n)), fehlen noch (Lew 2007; Surmeier 2007; Chesselet und Richter 2011; Sherer et al. 2012; Dexter und Jenner 2013; Beitz 2014). Generell sollte mit der Behandlung frühzeitig, altersgerecht und effizient begonnen werden. Je nach Alter, Krankheitsstadium, vorherrschender Symptomatik und Nutzen-Risiko-Verhältnis der Behandlung stehen unterschiedliche therapeutische Ansätze zur Verfügung (Ferreira et al. 2013; Beitz 2014; Hacke 2015; Deuschl et al. 2016).

Bei den symptomatischen Behandlungen lassen sich konservative, medikamentöse und interventionelle Therapiemaßnahmen unterscheiden: Konservative Begleittherapien, wie z.B. regelmäßige Bewegung, Physiotherapie, Ergotherapie, Logopädie und Psychotherapie/ psychosoziale Beratung, können die Lebensqualität der Patienten fördern und die Funktionsfähigkeit erhalten (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014; Gazewood et al. 2013; Sitzer und Steinmetz 2011; Zigmond et al. 2009). Die unverzichtbare Grundlage der Parkinson-Therapie ist der medikamentöse Ausgleich des DA-Mangels, durch den über viele Jahre eine weitgehend normale Beweglichkeit erhalten werden kann. Mit der medikamentösen Behandlung sollte begonnen werden, sobald funktionelle Beeinträchtigungen auftreten (Beitz 2014; Gazewood et al. 2013; Sitzer und Steinmetz 2011; Miyasaki et al. 2002). Es stehen verschiedene Medikamente zur Verfügung: L-Dopa in Kombination mit einem Decarboxylasehemmer, DA-Agonisten, Hemmstoffe des DA-Abbaus (Monoaminoxidase-B- und Catechol-O-Methyltransferase-Hemmer), NMDA-Antagonisten und Anticholinergika (Deuschl et al. 2016; Hacke 2015; Beitz 2014; Gazewood et al. 2013; Sitzer und Steinmetz 2011). Obwohl die DA-basierten Medikamente einige der motorischen Symptome der Erkrankung wirksam maskieren (v.a. in frühen Stadien der Erkrankung), können sie auch Nebenwirkungen (z.B. Psychosen, Halluzinationen und Impulskontrollstörungen) hervorrufen, mit der Zeit an Wirksamkeit verlieren und zu Dys-/ Hyperkinesien und Fluktuationen führen (Rascol et al. 2003; Sherer et al. 2012; Beitz 2014; Hacke 2015). Sind in fortgeschrittenen Krankheitsstadien schwere motorische Fluktuationen und dopaminerge Dyskinesien durch medikamentöse Kombinationstherapien nicht mehr

gut kontrollierbar, können interventionelle Behandlungsmaßnahmen erwogen werden. Dazu gehören Medikamentenpumpen (z.B. subkutane Apomorphinpumpe oder intrajejunale PEG-Sonde) und/ oder auch - sofern keine Kontraindikationen vorliegen - die Tiefe Hirnstimulation (Sitzer und Steinmetz 2011; Sherer et al. 2012; Gazewood et al. 2013; Beitz 2014; Hacke 2015).

Bei Ratten konnte im AAV1/2-A53T- α -Syn-Modell - einem mechanistisch relevanten Modell des MP - gezeigt werden, dass die Tiefe Hirnstimulation des subthalamischen Kerns einen zusätzlichen potenziell neuroprotektiven und krankheitsmodifizierenden Effekt zu haben scheint (Musacchio et al. 2017).

Experimentelle Therapieansätze, wie z.B. die Gentherapie oder die Möglichkeit einer Impfung gegen α -Syn (vgl. auch Abschnitt 1.4.3.3) befinden sich noch in der Phase der Entwicklung bzw. Testung (Hacke 2015; Beitz 2014; Allen und Feigin 2014; Berry und Foltynie 2011). Es besteht der Bedarf weiterer Forschung an mechanistisch geeigneten Modellen der Erkrankung zur Identifizierung von neuen potenziellen Therapieangriffspunkten und krankheitsmodifizierenden sowie neuroprotektiven Wirkstoffen, sodass MP möglicherweise in Zukunft heilbar sein könnte. Dazu eignen sich z.B. die auf α -Syn basierenden Modelle, die - im Gegensatz zu den auf Toxinen basierenden Modellen - die molekulare Pathologie und den fortschreitenden Verlauf von MP modellieren (Koprach et al. 2017; Beitz 2014; Berry und Foltynie 2011).

1.8. α -Synuclein

Synucleine sind eine Wirbeltier-spezifische Familie reichlich vorhandener neuro-naler Proteine, die sich aus drei eng verwandten Mitgliedern zusammensetzen: α -, β - und γ -Synuclein (Greten-Harrison et al. 2010). α -Syn ist ein Schlüsselprotein, das an der Pathogenese von MP beteiligt ist (Oliveras-Salvá et al. 2013). Die Entdeckung von α -Syn als genetische Ursache der Krankheit (vgl. Abschnitt 1.4.1) und als Hauptbestandteil der LK (Spillantini et al. 1997; Oliveras-Salvá et al. 2013) sowie seine Assoziation mit verschiedenen anderen potenziellen ätiologischen Faktoren (z.B. mit oxidativem Stress/ mitochondrialer Dysfunktion oder Neuroinflammation - vgl. Abschnitte 1.4.3.1, 1.4.3.3 und 1.4.3.4) verdeutlichen dies. α -Syn ist physiologischerweise ein kleines, 14 kDa schweres, lösliches und ursprünglich ungefaltetes Protein. Es wird vorwiegend in Neuronen des ZNS exprimiert und ist an präsynaptischen Endigungen in unmittelbarer Nähe zu synaptischen Vesi-

keln lokalisiert (Jakes et al. 1994; Iwai et al. 1995; Weinreb et al. 1996; Withers et al. 1997; Davidson et al. 1998; Abeliovich et al. 2000; Greenbaum et al. 2005; Yasuda et al. 2013; Böttner et al. 2015; Allen Reish und Standaert 2015). α -Syn existiert in verschiedenen Formen, von denen seine vielfältigen Funktionen abhängen (Koprach et al. 2017). Um die Rolle von α -Syn in der Pathogenese von MP zu verstehen, müssen zwei Ansätze betrachtet werden: einerseits die physiologische Rolle von α -Syn (in seiner physiologischen Form als Monomer und möglicherweise Tetramer) (Luth et al. 2015; Fauvet et al. 2012; Bartels et al. 2011) und welche Auswirkungen der Verlust dieser Funktion auf ansonsten gesunde Neurone hat und andererseits wie abnormales α -Syn (mutierte oder höherwertige Formen, d.h. Oligomere oder Aggregate) degenerative Prozesse initiieren kann. Beide Mechanismen - Funktionsverlust und -erweiterung - tragen wahrscheinlich zur Krankheitsentstehung bei und könnten potenzielle Therapieangriffspunkte darstellen (Koprach et al. 2017).

Die normalen physiologischen Funktionen von α -Syn sind noch nicht vollständig geklärt. Es scheint aber - bedingt durch seine physiologische Lokalisation an der Präsynapse - eine Rolle bei der Regulierung der Exozytose (z.B. bei der Vesikel-Membran-Fusion und der präsynaptischen Neurotransmitter-Freisetzung in dopaminergen Neuronen) zu spielen (Böttner et al. 2015; Logan et al. 2017; Koprach et al. 2017). In α -Syn-defizienten Mäusen konnten funktionelle Defizite im nigrostriatalen DA-System (z.B. eine veränderte DA-Freisetzung und Reduktion des striatalen DA) nachgewiesen werden (Abeliovich et al. 2000). In Gehirnen von Mäusen, denen α - und β -Syn fehlte, wurde ein um ~20% reduzierter DA-Spiegel festgestellt (Chandra et al. 2004). Die Aufhebung der Synucleinexpression in $\alpha\beta\gamma$ -Syn-triple-knockout-Mäusen führte u.a. zu Veränderungen in der synaptischen Struktur und Übertragung (z.B. einer verringerten Größe der exzitatorischen Synapse um ~30%) und zu altersbedingter neuronaler Dysfunktion (Greten-Harrison et al. 2010). Synucleine scheinen wichtige Determinanten der präsynaptischen Terminalgröße zu sein und einen Beitrag zum langfristigen Funktionieren des Nervensystems zu leisten. Veränderungen ihrer physiologischen Funktion scheinen zur Entwicklung von MP beitragen zu können (Greten-Harrison et al. 2010). SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor)-Komplexe sind direkt an der Vesikelfusion, Exozytose und im nigrostriatalen System an der DA-Freisetzung beteiligt. Es konnte gezeigt werden, dass α -Syn als Monomer mit diesen SNARE-Komplexen interagiert und deren Aufbau/ Bildung fördert, während große α -Syn-Oligomere dies indirekt verhindern und somit die DA-Freisetzung hemmen (Burré et al. 2010; Choi et al. 2013; Koprach et al. 2017). Außerdem kann-

te gezeigt werden, dass auch eine Überexpression von α -Syn zu einer reduzierten DA-Freisetzung führt. In bestimmten α -Syn-überexprimierenden Mäusen lagen eine veränderte Clusterbildung von synaptischen Vesikeln und reduzierte Inter-vesikelabstände vor. Dies spiegelt möglicherweise eine Rolle von α -Syn beim vesikulären Recycling wider und erklärt, wie pathologische Formen von α -Syn die Neurotransmitterfreisetzung beeinflussen können (Nemani et al. 2010; Lundblad et al. 2012; Platt et al. 2012; Scott und Roy 2012; Lai et al. 2014; Taylor et al. 2014; Koprach et al. 2017). Da α -Syn mit der Tyrosinhydroxylase (TH) - dem ratenlimitierenden Enzym in der DA-Biosynthese - interagiert, scheint es an der Regulation der DA-Biosynthese beteiligt zu sein (Perez et al. 2002). Des Weiteren scheint physiologisches α -Syn durch Wechselwirkung mit Tubulin eine Rolle bei der Mikrotubulibildung zu spielen und darüber hinaus auch am intrazellulären Transport innerhalb des ER (Endoplasmatischen Retikulum)-Golgi-Netzwerks beteiligt zu sein (Koprach et al. 2017; Toba et al. 2017; Cartelli et al. 2016; Gitler et al. 2008; Cooper et al. 2006). Außerdem wird α -Syn auch außerhalb des ZNS exprimiert, wo seine Funktionen noch nicht geklärt sind, es möglicherweise aber einen Einfluss auf die Lymphozytenentwicklung im blutbildenden System hat (Koprach et al. 2017; Shamel et al. 2016; Shin et al. 2000).

Die genaue pathogene Bedeutung von unlöslichem α -Syn bei MP ist noch weniger klar als seine normalen physiologischen Funktionen. Eine Überexpression von α -Syn und pathologisch veränderten Formen dieses Proteins scheinen aber mit der Pathogenese von MP assoziiert zu sein (Lee und Trojanowski 2006; Bendor et al. 2013; Ip et al. 2017b). Wenn α -Syn von seiner Monomerform zu Strukturen höherer Ordnung (Protofibrillen, Fibrillen und Oligomere) wechselt, verlagert sich auch seine Funktion von der normalen Zellphysiologie hin zur Beteiligung an toxischen Prozessen (Koprach et al. 2017). LK sind die größten und am besten organisierten Formen von α -Syn-Aggregaten (Allen Reish und Standaert 2015). Sie könnten selbst toxisch sein oder als Speicher für fehlgefaltetes α -Syn dienen und damit eine potenziell neuroprotektive Funktion besitzen (Koprach et al. 2017; Stefanoni et al. 2011; Olanow et al. 2004; Conway et al. 2000; Tompkins und Hill 1997). Bei MP und anderen α -Synucleinopathien korreliert der Schweregrad der Erkrankung mit der Tendenz von α -Syn zu Fehlfaltung und Bildung dieser übergeordneten Strukturen (Peelaerts und Baekelandt 2016; Koprach et al. 2017). Wie genau es zur Fehlfaltung und Aggregation von α -Syn kommt, ist nach wie vor Gegenstand der neurodegenerativen Forschung (Peelaerts und Baekelandt 2016). Manche Mutationen (z.B. A30P und A53T) und Multiplikationen des SNCA-Gens führen dazu, dass das kodierte α -Syn eher pathologische Strukturen bildet bzw.

schneller aggregiert. Sporadische Fälle von α -Syn-Transformationen sind hingegen weniger gut verstanden (Koprlich et al. 2017; Narhi et al. 1999). Dopaminerge Neurone der SN (genauer: Nucleus A9 Zellen) sind besonders anfällig für Zelltod sowohl bei MP als auch in experimentellen α -Synucleinopathie-Modellen (German und Manaye 1993; Maingay et al. 2006; Koprlich et al. 2017). Neben ihren strukturellen und funktionellen Besonderheiten (z.B. lange, stark verästelte Axone und außergewöhnlich hohe elektrophysiologische Aktivität), sind diese Neurone umweltbedingten Schädigungen, altersbedingten Beeinträchtigungen der Autophagie und Veränderungen des α -Syn-Proteins ausgesetzt. Dies führt möglicherweise zu α -Syn-Akkumulation und Bildung toxischer, höherwertiger α -Syn-Formen, die deren Vulnerabilität weiter verstärken (Koprlich et al. 2017; Volpicelli-Daley 2017; Guzman et al. 2009; Matsuda et al. 2009; Greenbaum et al. 2005).

Fehlgefaltetes α -Syn beeinträchtigt Protein-Clearance und -Abbau (Hinault et al. 2010; Xilouri et al. 2016), induziert ER-Stress durch Störung des Vesikeltransports zwischen ER und Golgi-Apparat (Cooper et al. 2006; Gitler et al. 2008; Chung et al. 2013; Yasuda et al. 2013), fördert mitochondriale Dysfunktion und oxidativen Stress (Guardia-Laguarta et al. 2014; Dryanovski et al. 2013; Dexter und Jenner 2013; Schapira und Jenner 2011; Devi et al. 2008; Hsu et al. 2000), überwältigt die Calciumpufferkapazität der Zelle (Mosharov et al. 2009), beeinträchtigt den axonalen Transport (Volpicelli-Daley 2017), verstärkt die Neuroinflammation (Wong und Krainc 2017; Kim et al. 2015; Wang et al. 2015; Yacoubian und Standaert 2009; Reynolds et al. 2008a; Zhang et al. 2005) und erleichtert die pathologische Aggregation von anderen Proteinen, wie z.B. Amyloid- β oder Tau (Yoshimoto et al. 1995; Masliah et al. 2001; Giasson et al. 2003; Stefanoni et al. 2011; Guo et al. 2013; Koprlich et al. 2017). Neben den zuvor beschriebenen Erweiterungen des Funktionsumfangs, können die toxischen Formen von α -Syn auch zum Verlust von Funktionen (z.B. beeinträchtigter Neurotransmitterfreisetzung und gestörter Mikrotubulibildung) führen (Koprlich et al. 2017). Für eine Übersicht vgl. Abb. 3.

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass es bei gesunden Menschen altersbedingt zu einem Anstieg von nicht-aggregiertem α -Syn innerhalb von nigralen Neuronen kommt und dass diese Veränderung mit einer altersbedingten Reduktion der TH verbunden war (Chu und Kordower 2007). Bei MP scheinen altersbedingte Anhäufungen von α -Syn durch lysosomale Überforderung zu einer Fehlfaltung und Bildung von Einschlusskörpern des Proteins zu führen und in einer unterschwelligen Degeneration des nigrostriatalen DA zu resultieren (Chu und Kordower 2007). In post-mortem-Untersuchungen von Parkinson-Patienten zeigten sich bei der

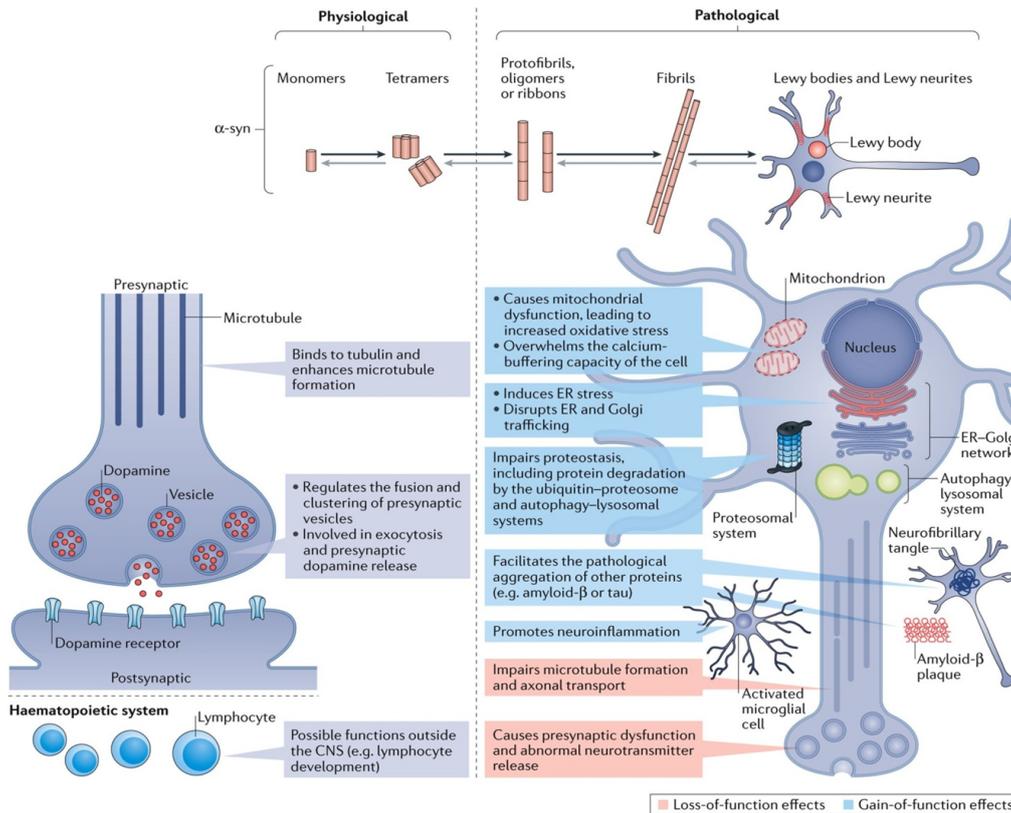


Abbildung 3: Physiologische und pathologische Funktionen von α -Synuclein. Entnommen aus (Koprich et al. 2017). Verwendungserlaubnis von Springer Nature erteilt am 24.08.2020.

Färbung in überlebenden dopaminergen Neuronen überwiegend α -Syn-Aggregate, die resistent gegenüber Proteinverdauungstechniken waren und als unlöslich betrachtet werden (Neumann et al. 2002; Neumann et al. 2004; Chu et al. 2009; Tanji et al. 2010; Koprich et al. 2010).

Basierend auf diesen Erkenntnissen könnte es zwei potenziell wirksame Therapieansätze zur Modifikation/ Prävention von MP geben, mit denen die normale Funktion von α -Syn wiederhergestellt bzw. die durch pathologisches α -Syn hervorgerufenen Funktionserweiterungen/ -verluste verhindert werden könnten: Verhinderung der altersbedingten Anhäufung von nicht-aggregiertem α -Syn auf ein Niveau, das zu Fehlfaltung und Bildung von Einschlusskörpern führt und/ oder eine Löslichmachung von bereits gebildeten α -Syn-Aggregaten (Koprich et al. 2017; Allen Reish und Standaert 2015; Yasuda et al. 2013; Gerard et al. 2010; Koprich et al. 2010; Chu und Kordower 2007; Hayashita-Kinoh et al. 2006; Li et al. 2004). Um die Relevanz/ Wirksamkeit von solchen neuartigen Therapien für MP kritisch zu bewerten, werden auf α -Syn basierende Tiermodelle benötigt. Mit ihnen

könnten neue potenzielle Medikamente entdeckt und präklinisch validiert werden, bevor sie möglicherweise in die klinische Entwicklung überführt werden (Koprach et al. 2010; Koprach et al. 2017).

1.9. Auf α -Synuclein basierende Parkinson-Tiermodelle

Basierend auf den Beobachtungen, dass α -Syn so eng mit der Pathogenese von MP verbunden ist, wurden in den letzten Jahren verschiedene α -Synucleinopathie-Tiermodelle für MP entwickelt (Oliveras-Salvá et al. 2013; für eine Übersicht vgl. (Koprach et al. 2017)): Zahlreiche transgene Mauslinien, die wt- oder mutiertes α -Syn (z.B. humanes A53T- α -Syn, A30P- α -Syn oder beides) überexprimieren, wurden generiert. Diese können zwar einige Merkmale der menschlichen Erkrankung (z.B. die abnormale Akkumulation von α -Syn in nigralen Neuronen) imitieren, der wesentliche Nachteil in den meisten dieser transgenen Modellen ist jedoch die fehlende Reproduzierbarkeit von nigrostriatalen Schäden und der variable Zeitrahmen, um degenerative Veränderungen hervorzurufen (Kahle 2008; Chesselet und Richter 2011; Oliveras-Salvá et al. 2013). Neben transgenen Parkinson-Modellen wurden mehrere auf Genverabreichung basierende Tiermodelle von Synucleinopathien generiert. Dazu wurden lentivirale (Lo Bianco et al. 2002; Lauwers et al. 2003; Lauwers et al. 2007) und adeno-assoziierte virale Vektoren (AAV) verwendet. Letztere weisen eine hohe Affinität zu dopaminergen Neuronen auf und sind aufgrund ihrer Vorteile inzwischen zum Goldstandard für solche Ansätze geworden (Kirik et al. 2002; Burger et al. 2004; Taymans et al. 2007; Markakis et al. 2010; van der Perren et al. 2011; Löw und Aebischer 2012; Koprach et al. 2017). Dennoch weisen auf AAV- α -Syn basierende Modelle je nach Studie, Tierspezies, Serotyp, verabreichtem Gen, Titerhöhe etc. noch einen gewissen Grad an Variabilität - bezogen auf das Ausmaß der Degeneration (20-80% nigraler Neuronenverlust) und die Latenzzeit bis zur Degeneration (8-52 Wochen) - auf (Koprach et al. 2017; Oliveras-Salvá et al. 2013; Chung et al. 2009; St Martin et al. 2007; Maingay et al. 2006; Yamada et al. 2004; Kirik et al. 2003; Kirik et al. 2002; Klein et al. 2002).

Neuere Modelle, die Hybrid-Serotyp-Adeno-assoziierte Viren (= AAV, die zwei virale Serotypen auf ihrer Oberfläche exprimieren) auf der Basis von AAV2 verwenden, führten in kürzeren Zeiträumen (3-16 bzw. 26 Wochen) zu einer teils größeren und weniger variablen Degeneration (40-80% nigraler Neuronenverlust) und riefen teilweise Verhaltensdefizite hervor, die durch Behandlung mit L-Dopa reversibel waren (Koprach et al. 2017; van der Perren et al. 2015; Decressac

et al. 2012; Koprach et al. 2011; Koprach et al. 2010; Sanchez-Guajardo et al. 2010; McFarland et al. 2009; Eslamboli et al. 2007). Bei Ratten und nicht-menschlichen Primaten führte AAV-vermittelte Überexpression von mutiertem A53T- α -Syn zu histologischen und verhaltensbedingten Merkmalen des MP (Kirik et al. 2003; Eslamboli et al. 2007; Koprach et al. 2010; Koprach et al. 2011; van der Perren et al. 2015).

Die Verwendung eines neuartigen AAV1/2-Vektors zur gezielten Überexpression von humanem A53T- α -Syn in der SN führte bei Ratten in zeit- und dosisabhängiger Weise zu Verhaltensauffälligkeiten und Schlüsselmerkmalen der nigrostriatalen Degeneration, die mit MP assoziiert sind (Koprach et al. 2011). AAV1/2 ist ein chimärer Vektor, der die AAV-Serotypen 1 und 2 im Verhältnis 1:1 auf dem viralen Kapsid exprimiert und somit die Vorteile des Serotyps 2 (neuronaler Tropismus und Fähigkeit, hohe Titer zu produzieren) mit denen des Serotyps 1 (ausgezeichnete Fähigkeit, Hirngewebe zu durchdringen) kombiniert (Koprach et al. 2010). Nach Injektion des AAV1/2-Vektors in hoher Titerkonzentration von $5,1 \times 10^{12}$ gp/ml kam es innerhalb von 3 Wochen zu einem schnellen Verlauf der dopaminergen nigrostriatalen Degeneration begleitet von α -Syn-Aggregaten und dystrophen Neuriten im Vergleich zur leeren Vektorkontrollgruppe (EV - empty vector) (Koprach et al. 2010). In dieser Studie konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass ein Teil der hervorgerufenen Pathologie auf eine generelle Proteinüberladung und somit nicht ausschließlich auf A53T- α -Syn zurückzuführen war: In der Kontrollgruppe konnten hohe Titer von AAV1/2-GFP (grün fluoreszierendes Protein) nämlich ebenfalls - wenn auch in geringerem Maße - eine Degeneration von dopaminergen Neuronen in der SN, ohne Anzeichen einer Pathologie auf der Ebene des Striatums, hervorrufen (Koprach et al. 2010; Koprach et al. 2011).

In einer darauffolgenden Studie wurden die Auswirkungen von zwei niedrigeren Titerkonzentrationen desselben Vektors untersucht, um eine Konzentration von Viruspartikeln zu definieren, die eine für humanes A53T- α -Syn spezifische nigrostriatale Pathologie erzeugt (Koprach et al. 2010; Koprach et al. 2011). Eine 1:3-Verdünnung von AAV1/2-A53T- α -Syn (Endtiterkonzentration $1,7 \times 10^{12}$ gp/ml) führte im Verlauf von 6 Wochen zu einer spezifischen und fortschreitenden Degeneration des nigrostriatalen Systems: abnehmende striatale TH-Konzentrationen, steigende DA-Umsätze, zunehmend stärker dystrophische Neuriten, Anstieg und anschließender Rückgang der striatalen DAT (Dopamintransporter)-Bindung, Verlust von dopaminergen Neuronen in der SN und anhaltende Verhaltensauffälligkeit im Sinne einer Asymmetrie bei der Benutzung der Vorderpfoten im Zylindertest

(Koprach et al. 2011). Eine 1:10-Verdünnung von AAV1/2-A53T- α -Syn (Endtiterkonzentration $5,1 \times 10^{11}$ gp/ml) verursachte bei den damit behandelten Ratten nach 3 Wochen Verhaltensbeeinträchtigungen, eine Steigerung des DA-Umsatzes und eine Reduktion des striatalen TH-Spiegels. Diese Auffälligkeiten waren allerdings im Gegensatz zur 1:3-Verdünnung zwischen Woche 3-6 nicht progredient, sondern normalisierten sich, sodass dieses Modell zukünftig zur Untersuchung von endogenen Kompensationsmechanismen verwendet werden könnte (Koprach et al. 2011). In beiden Kontrollgruppen (AAV1/2-EV und -GFP) konnten diese Veränderungen weder nach 3 noch nach 6 Wochen bei keiner der beiden Verdünnungen nachgewiesen werden (Koprach et al. 2011).

Bei nicht-menschlichen Primaten (genauer: Cynomolgus-Makaken) konnte 17 Wochen nach der Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn in die SN - in Abhängigkeit von verwendeter viraler Titerkonzentration und Volumen des viralen Vektors - ein Verlust von dopaminergen Neuronen der SN, eine Reduktion von striatalem DA, eine starke α -Syn-Expression in überlebenden nigralen Neuronen und ein Transport von α -Syn zum Striatum nachgewiesen werden. Trotz der nigrostriatalen Degeneration konnten bisher (noch) keine Verhaltensauffälligkeiten beobachtet werden (Koprach et al. 2016; Koprach et al. 2017).

Es folgten Versuche mit verschiedenen AAV-Serotypen bei Mäusen zur Generierung von Parkinson-Modellen. Diese zeigten jedoch entweder eine Resistenz gegenüber α -Syn-induzierter Neurodegeneration (kein oder nur geringer dopaminerges Neuronenverlust nach relativ langen Expositionszeiten) oder waren so aggressiv, dass sie ein hohes Maß an Neurodegeneration ohne eindeutigen Nachweis einer Lewy-Pathologie hervorriefen und somit nicht die frühen Stadien des MP modellierten (Dong et al. 2002; St Martin et al. 2007; Yasuda et al. 2009; Cao et al. 2010; Ulusoy et al. 2012; Oliveras-Salvá et al. 2013; Song et al. 2015).

1.10. Zielsetzung dieser Arbeit

Die Schlüsselfunktion von α -Syn in der Ätiopathogenese des MP und die Vorteile der Mauspezies, insbesondere mit der Möglichkeit der Genmanipulation, verdeutlichen die Notwendigkeit eines viralen vektorbasierten Parkinson-Mausmodells mit einer Lewy-ähnlichen α -Synucleinopathie. Die Verfügbarkeit eines solchen Modells würde eine Reihe interessanter wissenschaftlicher Möglichkeiten eröffnen, wie z.B. die Übertragung auf transgene und knockout-Mäuse zur Untersuchung

molekularer Mechanismen der Neurodegeneration oder Erforschung und präklinischen Testung krankheitsmodifizierender Therapien bei MP (Oliveras-Salvá et al. 2013).

Keines der existierenden auf AAV- α -Syn basierenden Parkinson-Mausmodelle konnte bisher alle Merkmale der Erkrankung und/ oder die frühen Stadien des MP optimal darstellen. In Ratten- und Affenmodellen konnte hingegen gezeigt werden, dass die AAV1/2-vermittelte Überexpression von humanem mutiertem A53T- α -Syn in der SN zu dopaminerger nigrostriataler Degeneration und Verhaltensauffälligkeiten führte (vgl. Abschnitt 1.9) (Koprach et al. 2010; Koprach et al. 2011; Koprach et al. 2016).

Ziel dieser Doktorarbeit - die im Rahmen eines kollaborativen Projektes mit James B. Koprach und dem Toronto Western Research Institut in Ontario, Kanada entstanden ist - war die Übertragung von diesem auf AAV1/2-A53T- α -Syn basierenden Parkinson-Ratten- und Makakenmodell auf die Mausspezies zur Generierung und Charakterisierung eines neuen Mausmodells des MP, das innerhalb eines praktikablen experimentellen Zeitrahmens zu Verhaltensauffälligkeiten und histopathologischen Merkmalen führt, die der menschlichen Erkrankung ähneln (Ip et al. 2017b).

2. Material und Methoden

Die verwendeten Arbeitsmaterialien (Geräte, Software, Gebrauchsmaterial), Chemikalien und Antikörper (AK) für die immunhistochemischen Färbungen sowie hergestellten Lösungen sind im Anhang A.1 - A.4 detailliert aufgeführt. Sofern nicht anders angegeben, wurde für Laborarbeiten Standardmaterial verwendet.

2.1. Versuchstiere

43 männliche C57BL/6-wt-Mäuse (Gewicht zwischen 24-33 g) wurden von der Charles River Laboratories GmbH in Sulzfeld, Deutschland bezogen und im Alter von 6-12 Wochen untersucht.

Die Mäuse wurden unter Standardbedingungen bei einer Raumtemperatur (RT) von 21 °C und einem 12 h/ 12 h Tag-Nacht-Rhythmus in nahezu pathogenfreier Umgebung einzeln in Makrolonkäfigen mit freiem Zugang zu Futter und Wasser gehalten.

Um den Belastungsgrad im Tierversuch zu ermitteln und eventuelle Abbruchkriterien abzuleiten (Versuchsabbruch bei 15-20 Punkten), wurden die Tiere täglich auf Körpergewicht (KG), Erscheinungsbild, Verhaltensauffälligkeiten und klinischen Zustand kontrolliert und mit 0-20 Punkten bewertet.

Die vorgegebenen Richtlinien bezüglich Pflege, Haltung und Nutzung der Tiere wurden eingehalten. Der Tierversuchsantrag, der zur Durchführung der Tierversuche berechtigt, wurde von der zuständigen Behörde, der Regierung von Unterfranken in Würzburg, Deutschland, genehmigt (AZ-80/13).

2.2. Stereotaktische Operation/ Vektorinjektion

Vor der stereotaktischen Injektion wurden die Mäuse folgendermaßen vorbehandelt: Ihnen wurde ein Anästhetikum (Ketamin-Xylazin-Gemisch - Herstellung vgl. Anhang A.4) intraperitoneal links appliziert, um eine sichere Bewusstlosigkeit, Schmerzfreiheit und Muskelrelaxation zu gewährleisten. Eine ausreichende Narkosetiefe war durch Prüfung des Schmerzreflexes (Schwanz- und Zwischenzehenreflex) sichergestellt.

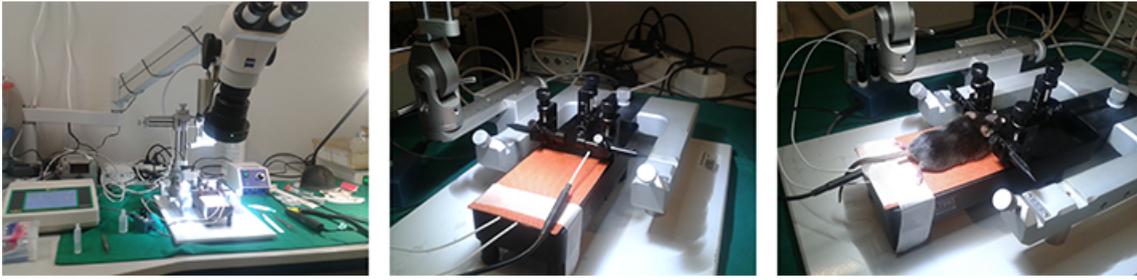


Abbildung 4: Aufbau des Operationssettings (Operationsmikroskop, stereotaktisches Mikroiinjektor-Robotersystem, Hochgeschwindigkeitsbohrer, stereotaktischer Rahmen mit Mausaufsatz, Wärmematte mit rektaler Thermosonde, vorbereitete Maus mit rasierter Kopfhaut und Augensalbe).

Anschließend wurde die Kopfhaut rasiert und die Maus mit der Nase und beidseits unterhalb der Ohren in den stereotaktischen Rahmen fixiert. Durch Unterlegen einer Wärmematte und kontinuierlicher Kontrolle der Körpertemperatur mittels rektaler Thermosonde wurde ein Auskühlen des Tieres verhindert. Die Augen wurden durch Bepanthen® Augensalbe vor Austrocknung geschützt (vgl. Abb. 4). Nach Desinfektion der Kopfhaut mit Cutasept® wurde ein ca. 1 cm langer sagittaler Hautschnitt in der Mittellinie gesetzt, die Haut „aufgeklappt“ und das Bregma - der anatomische Punkt auf dem Schädeldach (Calvaria), an dem die Kranznaht (Sutura coronalis) und die Pfeilnaht (Sutura sagittalis) kreuzen - mit einem sterilen Chirurgiestift markiert. Vom Bregma ausgehend wurde mithilfe des Operationsmikroskopes und der Computersoftware StereoDrive die Injektionsstelle ermittelt und die Schädelkalotte an dieser Stelle mit einem Hochgeschwindigkeitsbohrer eröffnet. Ein Überhitzen wurde durch tupfende Bewegungen und Anfeuchten mit NaCl (Natriumchlorid) 0,9% verhindert und anfallende Knochenspäne mit einem feuchten Wattestäbchen entfernt. Nach kurzem Testen des Mikroiinjektors (eingestellte Fließgeschwindigkeit 0,5 µl/min) wurde die Mikroiinjektionsspritze vom Bregma ausgehend nach folgenden Koordinaten gemäß dem Maushirnatlas von Paxinos und Franklin (2001) ausgerichtet: anteroposterior -3,1 mm, mediolateral -1,4 mm, dorsoventral -4,4 mm. Die Injektion erfolgte somit einseitig in die rechte SN.

Es standen insgesamt zwei Injektionslösungen zur Verfügung: Jedem Tier wurden entweder 1,5 µl AAV1/2-A53T-α-Syn (n = 22) oder der Kontrollgruppe 1,5 µl leerer AAV1/2-Vektor (n = 21) jeweils in einer Konzentration von $5,16 \times 10^{12}$ gp/ml injiziert. In den präoperativen Verhaltenstestungen ergaben sich keine gravierenden Unterschiede, sodass die Verteilung der Mäuse auf die jeweilige Injektionsgruppe

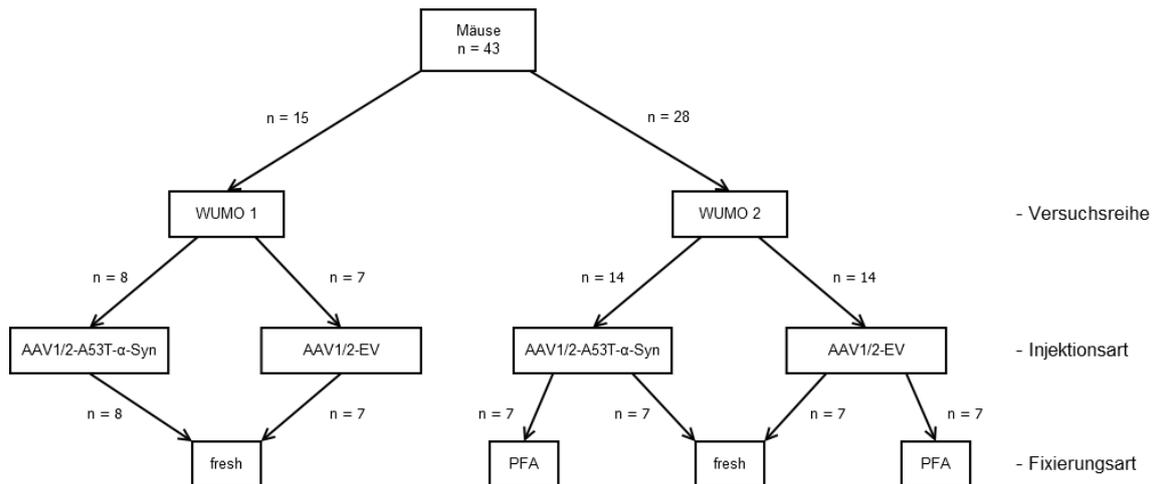


Abbildung 5: Übersicht über die Mausverteilung (n = Anzahl der Tiere) auf die Injektionsgruppen und weitere Gewebeverarbeitung (Fixierungsart: fresh, PFA = Paraformaldehyd).

randomisiert erfolgte (vgl. Abb. 5). Die Adeno-assoziierten viralen Vektoren vom Serotyp 1/2 (AAV1/2) wurden wie in Koprach et al. (2010) beschrieben, hergestellt.

Zur Gewährleistung einer vollständigen Diffusion der eingebrachten Lösung ins Gewebe, verblieb die Mikroinjektionsspritze nach Beendigung der Injektion noch für weitere 5 Minuten an ihrer Stelle. Nach vorsichtigem Entfernen der Spritze wurde die Inzisionswunde an der Kopfhaut mit Einzelknopfnähten (Vicryl 4-0) verschlossen. Jede Maus erhielt postoperativ 10 µl/g KG eines Analgetikums (Carprofen - Rimadyl®, vgl. Anhang A.4) intraperitoneal. Die Tiere wurden zurück in ihren Käfig gelegt und verblieben mit diesem bis zum Aufwachen aus der Narkose auf einer Wärmeplatte.

2.3. Verhaltensexperimente

Die Verhaltenstests wurden über 2 Wochen prä- und 9 Wochen postoperativ (vgl. Abb. 6) jeweils annähernd am gleichen Wochentag und zur gleichen Uhrzeit durchgeführt. Aus den zwei präoperativen Messwerten wurde der Mittelwert (MW) gebildet, um einen präoperativen Ausgangswert zu erhalten.

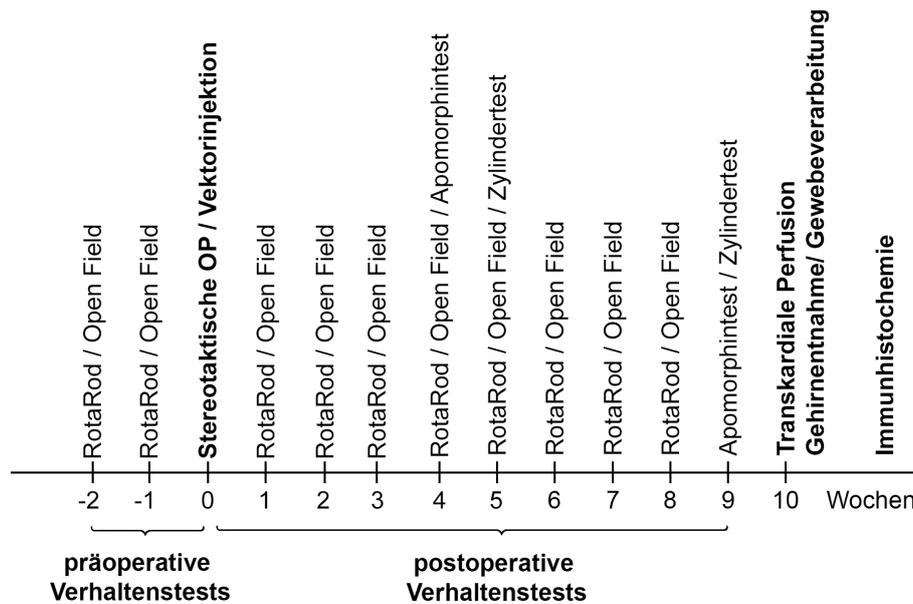


Abbildung 6: Übersicht über den Versuchsaufbau (fett dargestellt) und den zeitlichen Verlauf der Verhaltensexperimente.

2.3.1. RotaRod

Zur Untersuchung der motorischen Fähigkeiten, Koordination/ Balance und Ausdauer der Mäuse wurde die RotaRod-Testung durchgeführt. Für den Versuch wurde ein Computer mit der Software TSE RotaRod V4.0.1, der mit dem Gerät (TSE RotaRod 3375-4B) verbunden war, benötigt. Es handelte sich um eine zylinderförmige automatisch rotierende Walze (Durchmesser 3 cm, mit Rillen zur Verbesserung der Griffigkeit), die sich ca. 27 cm über dem Boden befand und deren Rotationsgeschwindigkeit sich pro Versuchsdurchgang über eine Dauer von 300 Sekunden (= 5 Minuten) von 5 auf 50 Umdrehungen pro Minute steigerte. Die Rotationsanlage war durch Trennwände in Kompartimente unterteilt, sodass jeweils vier Mäuse ohne Sichtkontakt parallel getestet werden konnten. Unterhalb der rotierenden Walze befanden sich in jedem Kompartiment Gitterstäbe mit Sensoren, die die Dauer bis zum Herabfallen der Maus vor Ablauf der eingestellten Zeit registrierten (vgl. Abb. 7). (Vorgenommene Einstellungen: Maximalzeit = 300 s, Start mit 5,00 bis 50,00 Umdrehungen pro Minute, Schockintensität = 0 Milliampere, Schocklänge = 1 s.)

Die RotaRod-Testung wurde über 2 Wochen prä- und 8 Wochen postoperativ jeweils einmal wöchentlich durchgeführt. Pro Versuchstag durchlief jede Maus fünf Durchgänge à maximal 5 Minuten. Von diesen fünf Durchgängen wurde der

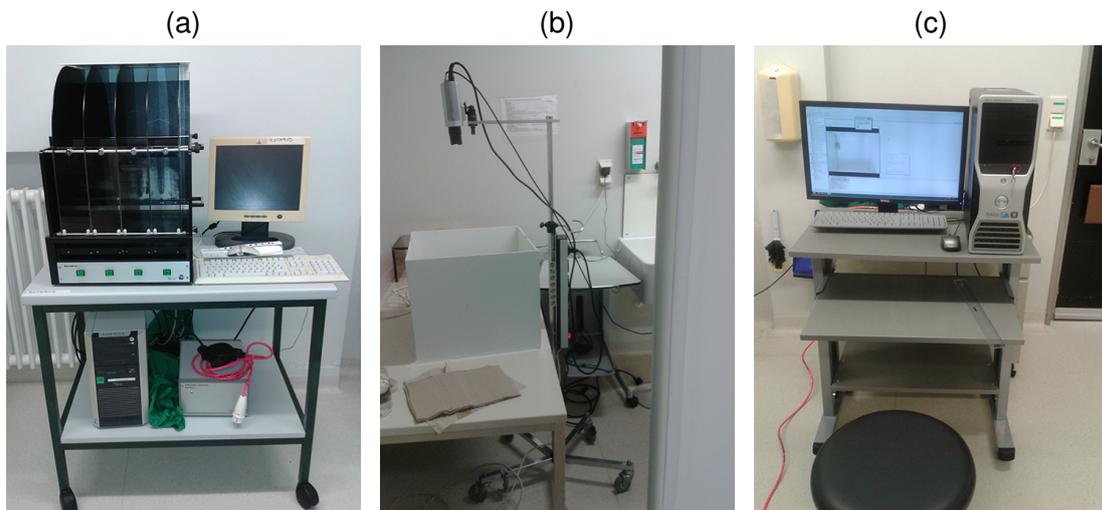


Abbildung 7: Versuchsaufbau RotaRod (a) und Open Field (b+c).

jeweils niedrigste und höchste Wert gestrichen und aus den restlichen drei Werten der MW berechnet. Auf diese Weise ergab sich für jede Maus pro Woche ein Wert, aus denen wiederum ein Gruppen-MW (AAV1/2-A53T- α -Syn vs. AAV1/2-EV) pro Woche gebildet wurde, der jeweils in den Ergebnissen graphisch dargestellt ist (vgl. Abb. 10 in Abschnitt 3.1.1).

2.3.2. Open Field

Mit dem Open Field-Test wurde das explorative Verhalten und die allgemeine Bewegungsaktivität der Mäuse untersucht. Als sog. offenes Feld diente eine leere Testarena in Form einer quadratischen Box (39,5 x 39,5 cm, Höhe 35 cm), die hinter einem Paravent auf einem Tisch platziert und über der eine Videokamera installiert wurde. Der Abstand zwischen der Box (Innenseite Boden) und der Kamera (Staboberkante Halterung) betrug 72 cm. Die Kamera wurde über ein Kabel mit einem Computer verbunden, dessen Softwareprogramm EthoVision XT 8.5 über eine definierte Zeit von 5 Minuten die zurückgelegte Gesamtdistanz (cm) und die Durchschnittsgeschwindigkeit (cm/s) der Tiere gemessen hat (vgl. Abb. 7). (Vorgenommene Einstellungen: Experiment Settings: Video Source = Live Tracking, Tracked Features = Center-point detection, Units = cm, s, deg; Arena Settings: Calibrate scale von Ecke zu Ecke ziehen und 39.5 cm eingeben - ok - Arena 1 so ziehen, dass überall ein Stück über den Rand steht, damit die Maus auch aufgenommen wird, wenn sie sich am Rand der Box aufrichtet; Trial Control Settings: 0 \rightarrow \geq 100 s \rightarrow \blacktriangleright \rightarrow 300.0 s \rightarrow \blacksquare \rightarrow \blacksquare ; Detection Settings:

Method = Dynamic Substraction, Detection = Subject is darker than background, Subject Size = Minimum 0/ Maximum 125.000, Video = Sample Rate 12.500/s, Aufnahmezeit = 300 s.) Zur Neutralisierung von Gerüchen wurde die Box nach jedem Tier mit 1%-iger Essigsäure in dH₂O (destilliertes Wasser; Herstellung der Lösung vgl. Anhang A.4) gereinigt. Nach Trocknung der Oberflächen wurde noch einmal mit dH₂O gereinigt, um damit auch die Überreste und Gerüche der Essigsäure zu entfernen. Erst nach erneuter Trocknung wurde das nächste Tier untersucht.

Die Open Field-Testung erfolgte ebenfalls 2 x prä- und 8 x postoperativ. Jede Maus wurde pro Versuchstag über 5 Minuten gefilmt. Aus den durch das Softwareprogramm ermittelten Werten für die zurückgelegte Gesamtdistanz und die Durchschnittsgeschwindigkeit pro Tier wurde für jede Woche jeweils ein Gruppen-MW (AAV1/2-A53T- α -Syn vs. AAV1/2-EV) gebildet, der im Diagramm abgebildet ist (vgl. Abb. 11 (a) und (b) in Abschnitt 3.1.2).

2.3.3. Apomorphintest

Apomorphin ist ein DA-Agonist (genauer: D1- und D2-Rezeptor-Agonist) mit einer im Vergleich zu L-Dopa kürzeren Zeit bis zum Wirkungseintritt und kürzeren Wirkungsdauer (Carbone et al. 2019). Die subkutane Apomorphin-Gabe ist eine klinisch etablierte Therapieoption für Parkinson-Patienten in fortgeschrittenen Krankheitsstadien mit motorischen Fluktuationen und dopaminergen Dyskinesien, die durch orale medikamentöse Kombinationstherapien nicht mehr gut kontrolliert werden können (vgl. auch Abschnitt 1.7) (Carbone et al. 2019; Katzenschlager et al. 2018).

Mit dem Apomorphintest wurde das Rotationsverhalten der Mäuse nach Apomorphingabe untersucht. Der Versuchsaufbau glich soweit dem in der Open Field-Testung. Hinzu kam ein transparenter Plexiglas-Zylinder (Durchmesser 24 cm, Höhe 35,5 cm), der in die Box gestellt wurde. Für die Herstellung der Injektionslösung benötigte man 5 mg Apomorphin auf 50 ml NaCl 0,9% und 10 mg Ascorbinsäure (vgl. auch Anhang A.4). Jedem Tier wurden 10 μ l/g KG von der Lösung (entspricht 1 mg/kg KG Apomorphin) subkutan in die Nackenregion injiziert. Nach einer Einwirkzeit von 8-10 Minuten wurde jede Maus über 5 Minuten gefilmt. Die Einstellungen entsprachen denen der Open Field-Testung. Zur Neutralisierung von Gerüchen wurde der Zylinder nach jedem Tier mit 1%-iger Essigsäure in dH₂O

gereinigt. Nach Trocknung der Oberflächen wurde noch einmal mit dH₂O gereinigt, um damit auch die Überreste und Gerüche der Essigsäure zu entfernen. Erst nach erneuter Trocknung wurde das nächste Tier untersucht.

Der Apomorphintest wurde jeweils in der 4. und 9. postoperativen Woche durchgeführt. Die Videos wurden durch einen bezüglich der Gruppenzugehörigkeit der Tiere verblindeten Untersucher ausgewertet. Über eine Dauer von 5 Minuten wurden für jede Maus sowohl reine Umdrehungen um die eigene Achse als auch Drehungen im Laufen nach rechts (= im Uhrzeigersinn = ipsiläsional bzw. in Richtung der läsierten Seite) gezählt. Die ermittelten Werte wurden addiert, um die Gesamtanzahl der Rechtsdrehungen zu erhalten. Aus diesen Werten wurde für beide Injektionsgruppen jeweils für die 4. und 9. postoperative Woche der MW gebildet und im Diagramm dargestellt (vgl. Abb. 12 in Abschnitt 3.1.3).

Exkurs: Erwartetes Rotationsverhalten

Bei Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn in die rechte SN würde man aufgrund der Lage der Basalganglien vor der Pyramidenbahnkreuzung eine Verschlechterung der kontralateralen (linken) Körperhälfte erwarten (Kammermeier 2012; Benninghoff et al. 2008; Nieuwenhuys et al. 1998). Diese Seite wäre demnach insgesamt weniger beweglich, sodass die Bewegungen der rechten Körperhälfte überwiegen und die Tiere somit nach links rotieren würden (ohne weitere medikamentöse Einflüsse). Apomorphin als DA-Agonist wirkt dem Ganzen jedoch entgegen, sodass man nach Gabe dieser Substanz bei den Tieren der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe Rotationen nach rechts erwarten würde (Ungerstedt und Arbuthnott 1970; Iancu et al. 2005). Dies ist darauf zurückzuführen, dass als Reaktion auf den Untergang von dopaminergen Neuronen in der rechten SN die DA-Rezeptoren auf dieser Seite des Gehirns zur Kompensation des Verlustes hochreguliert werden (Pellegrino et al. 2007; Iancu et al. 2005). Wenn diese Rezeptoren das zugeführte Apomorphin binden, werden die Basalganglien der rechten Gehirnhälfte im Verhältnis zur linken Seite überstimuliert, was zu einer verstärkten Aktivierung der kontralateralen Körperhälfte führt und sich somit in einer Rechtsrotation der Tiere zeigt.

2.3.4. Zylindertest

Die Präferenz und eventuelle Asymmetrien bei der spontanen Benutzung der Vorderpfoten wurden mithilfe dieses Tests bestimmt. Das Testsetting bestand aus einem transparenten Plexiglas-Zylinder (Durchmesser 12 cm, Höhe 30 cm), der vor zwei orthogonal ausgerichteten Spiegeln auf einem Tisch stand, um auch vom Beobachter abgewandte Bewegungen erkennen zu können. Vor dem Tisch wurde eine Videokamera zur Aufzeichnung der Bewegungen positioniert (vgl. Abb. 8). Jede Maus wurde über eine Dauer von 10 Minuten aufgenommen. Nach jeder Maus wurde der Zylinder und die Tischoberfläche mit 1%-iger Essigsäure in dH₂O zur Neutralisierung von Gerüchen gereinigt. Nach Trocknung der Oberflächen wurde noch einmal mit dH₂O gereinigt, um damit auch die Überreste und Gerüche der Essigsäure zu entfernen. Erst nach erneuter Trocknung wurde das nächste Tier untersucht.

Der Zylindertest wurde jeweils in der 5. und 9. postoperativen Woche durchgeführt. Die Videos wurden anschließend von einem bezüglich der Gruppenzugehörigkeit der Mäuse verblindeten Beobachter nach der Beschreibung von Schallert et al. (2000) ausgewertet. Jedes Aufrichten der Mäuse wurde im Hinblick auf die Anzahl der Berührungen der inneren Oberfläche des Zylinders mit der rechten (ipsilateral zur Injektionsseite), linken (kontralateralen) oder beiden Vorderpfoten gleichzeitig analysiert.

Die Ergebnisse wurden als Prozentsatz der rechten Vorderpfotennutzung durch Berechnung mit folgender Gleichung angegeben:

$$\frac{\text{rechte Pfote} + 0,5 \times \text{beide Pfoten gleichzeitig}}{\text{rechte Pfote} + \text{linke Pfote} + \text{beide Pfoten gleichzeitig}} \times 100$$

Der berechnete Prozentsatz gibt die Präferenz der Vorderpfoten wie folgt an: 50% = symmetrischer Gebrauch beider Vorderpfoten; < 50% = Präferenz der linken Vorderpfote; > 50% = Präferenz der rechten Vorderpfote (Ip et al. 2017b). Auf diese Weise erhielt man für jede Maus einen errechneten Prozentsatz. Von diesen Prozentsätzen wurde für beide Injektionsgruppen jeweils für die 5. und 9. postoperative Woche ein MW gebildet, den das Diagramm (vgl. Abb. 13 in Abschnitt 3.1.4) zeigt.



Abbildung 8: Versuchsaufbau Zylindertest.

2.4. Transkardiale Perfusion/ Gehirnentnahme/ Gewebeverarbeitung

In der 10. postoperativen Woche fand die Perfusion der Mäuse statt. Dazu wurden die Tiere zuvor mittels Kohlenstoffdioxid (Inhalation von CO_2 in einer mit CO_2 gefüllten Kammer) getötet. Nach eingetretenem Tod erfolgte die Eröffnung des Thorax. Dazu wurde mit einer Schere ein Schnitt in das Fell im Bereich des Abdomens gemacht, dieses entlang der Medianlinie bis zum Hals eröffnet, mithilfe einer Pinzette und Schere der Thorax freipräpariert und die Jugularvenen freigelegt. Danach erfolgten ein langer Querschnitt unterhalb des Xiphoids und die Durchtrennung des Zwerchfells. Um das Herz freizulegen, wurde der Brustkorb nach kranial aufgeklappt und mit einer Klemme hochgehalten. Das rechte Atrium und die Jugularvenen beidseits wurden eingeschnitten und das Gefäßsystem der Mäuse transkardial mit einer Braunüle[®] im linken Ventrikel mit einer PBS (phosphate buffered saline)-Lösung mit Heparin gespült, bis die Leber blutleer war (Herstellung der Lösung vgl. Anhang A.4).

Anschließend wurde die Kopfhaut abpräpariert und der Schädel freigelegt. Zur Freilegung des Gehirns wurde zunächst ein horizontaler Schnitt durch den Knochen im Bereich zwischen den Augen gemacht, anschließend die Schere an der Unterfläche der Sutura sagittalis angesetzt, diese von rostral nach dorsal durchtrennt, in die rechte und linke Hälfte des Schädels jeweils zwei horizontale Schnitte gesetzt und mit einer Pinzette die Anteile der Schädelkalotte abgeschält. Um das Gehirn aus der Schädelbasis lösen zu können, mussten noch das Rückenmark unterhalb der Medulla oblongata und die Hirnnerven vorsichtig durchtrennt werden.

Die Gehirne wurden mit einem Brain Matrix Slicer für Mäuse (13 Schlitze à 1 mm) in drei Bereiche aufgetrennt. Dazu erfolgten mit einem Skalpell Schnitte in koronarer Ebene im Bereich von Schlitz 5 - entspricht ca. der Region +0,14

mm vom Bregma (Abbildung 30 in (Paxinos und Franklin 2001)) und Schlitz 7 - entspricht ca. der Region -2,30 mm vom Bregma (Abbildung 50 in (Paxinos und Franklin 2001)).

Der vordere Teil einschließlich des ventralen Striatums wurde in flüssigem, trockenem und eisgekühltem Isopentan schockgefroren, in Aluminiumfolie gewickelt und in Eppendorf® Tubes verpackt. Diese wurden in einer mit Trockeneis gefüllten Styroporbox für weitere Untersuchungen, wie z.B. die HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)-Analyse, DAT-Autoradiographie und immunhistochemische Färbungen, nach Ontario, Kanada ins Toronto Western Research Institut zu Händen James B. Koprach geschickt (für weitere Informationen über die Untersuchungen vgl. (Ip et al. 2017b)).

In der ersten Versuchsreihe (WUMO 1) wurden Kryomolds unter Vermeidung von Blasenbildung mit Tissue-Tek® gefüllt. In diese wurde der mittlere Teil einschließlich des mittleren und hinteren Striatums und der hintere Teil der Maushirne einschließlich der SN jeweils mit der Schnittfläche nach unten horizontal eingebettet, die Behälter mit einer Pinzette über in Stickstoff gekühltem Methylbutan (= Isopentan) gehalten und dabei langsam und gleichmäßig eingefroren (fresh frozen). In der zweiten Versuchsreihe (WUMO 2) wurde die Hälfte des Gewebes (mittlere und hintere Teil der Maushirne) auf die gleiche Weise eingefroren. Die andere Hälfte wurde für 2 Tage mit einer 4%-igen Paraformaldehyd (PFA)-Lösung in PBS immersionsfixiert, für weitere 2 Tage mit einer 30%-igen Saccharoselösung in PBS (vgl. Anhang A.4) kryogeschützt und schließlich in flüssigem, trockenem, eisgekühltem Isopentan eingefroren (PFA-fixiert) (vgl. Abb. 5) (Ip et al. 2017b). Die Lagerung der Präparate erfolgte in Gefrierschränken bei -20°C.

Aus den PFA-fixierten Gehirnen wurden im Rahmen des Projektes 40 µm dicke Schnitte angefertigt, welche im Anschluss entweder mit einer TH- oder NeuN (Neuronal Nuclei)-Färbung gefärbt und schließlich unter Verwendung des optischen Fraktionierverfahrens zur stereologischen Abschätzung der Anzahl dopaminerger Neurone (TH-Färbung) und der Gesamtneuronenzahl (NeuN-Färbung) in der SN ausgewertet wurden (für weitere Ausführungen vgl. (Ip et al. 2017a; Ip et al. 2017b)).

Im Folgenden wird nur die - im Rahmen dieser Dissertation durchgeführte - weitere Verarbeitung der fresh frozen-Präparate beschrieben.

2.5. Immunhistochemie

2.5.1. Anfertigung der Gehirnschnitte

Von den Maushirnen wurden mit einem Kryostat 10 µm dicke Gefrierschnitte angefertigt. (Vorgenommene Einstellungen: Kammertemperatur -21 °C, Objekttemperatur -18°C, Dicke der Schnitte 10 µm.) Jeweils vier dieser Gefrierschnitte wurden pro Objektträger (OT) aufgenommen. Die OT wurden beschriftet und bis zur weiteren Verarbeitung in OT-Boxen in Gefrierschränken bei -20 °C gelagert.

Anhand des Maushirnatlas von Paxinos und Franklin (2001) wurde der aufzunehmende Bereich bestimmt. Das Striatum wurde komplett durchgeschnitten und auf OT aufgenommen. Durch die vorgenommene Auftrennung der Gehirne in drei Bereiche lagen in den Präparaten dieser Arbeit der Beginn des Striatums meist im mittleren Bereich (ca. Abbildung 30 - Bregma +0,14 mm) und das Ende ca. im Bereich von Abbildung 50 (Bregma -2,30 mm). Aufgrund anatomischer Unterschiede war bei einem Teil der Maushirne zudem noch ein Teilbereich des vorderen Striatums vorhanden. Dieser wurde ebenfalls mit aufgenommen. Die SN beginnt im Bereich von Abbildung 51 (Bregma -2,46 mm) und endet im Bereich von Abbildung 64 (Bregma -4,04 mm). Zum Sichtbarmachen der Eckpunkte wurde mit einer Spritze mit einem vorne aufgesetzten Filter ein Tropfen Azurmethylenblaulösung (Herstellung vgl. Anhang A.4) auf die Gefrierschnitte gegeben, der OT anschließend mit Aqua dest. (Aqua destillata = destilliertes Wasser = dH₂O) abgespült und unter einem Mikroskop betrachtet. Nach dem Abgleich mit den Abbildungen des Atlas wurde die SN von ca. Abbildung 50 bis 65 (Bregma -4,16 mm) auf OT aufgenommen.

2.5.2. Färbungen

Vor der Färbung mussten zunächst passende OT pro Maus rausgesucht werden: Zur Bestimmung der zu färbenden Gehirnregion wurden die angefertigten OT unter dem Mikroskop betrachtet und mit den Abbildungen des Maushirnatlas von Paxinos und Franklin (2001) verglichen (vgl. Abb. 9). Die Regionen des Striatums wurden TH gefärbt. Von der SN wurde eine TH-Färbung und eine TH/α-Syn-Immunfluoreszenzdoppelfärbung angefertigt.

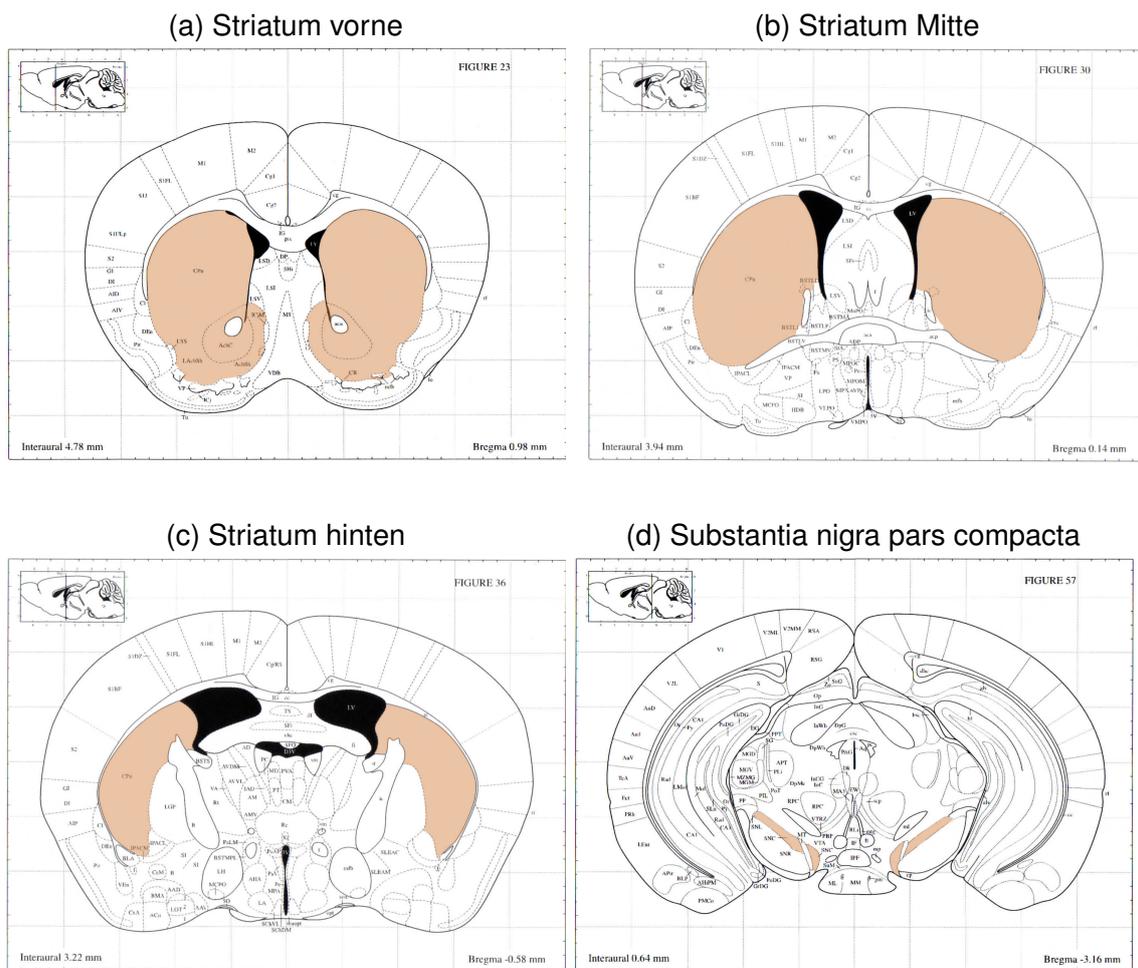


Abbildung 9: Abbildungen des Maushirnatlas, die zur Bestimmung der zu färbenden Gehirnregion (braun markiert) als Orientierung genutzt wurden. Entnommen aus (Paxinos und Franklin 2001). Verwendungserlaubnis von Elsevier erteilt am 24.09.2020.

Anmerkung: Aufgrund anatomischer Unterschiede war nicht bei jeder Maus jede Region vorhanden, auch wenn alle Gehirne standardisiert mit dem Brain Matrix Slicer wie oben beschrieben in drei Bereiche aufgeteilt wurden.

2.5.2.1. Tyrosinhydroxylasefärbung

Zunächst wurde eine feuchte Kammer angelegt. Dazu wurde eine Färbekassette mit Aqua dest.-befeuchteten Küchenrollenstreifen ausgelegt. Die zu färbenden OT sowie die Negativkontrolle wurden zum kurzen Auftauen und Trocknen darin ausgebreitet. Nach Umrandung der OT mit einem PAP-Pen wurden sie unter dem Abzug mit 4% PFA/PBS (pH 7,4) bei RT für 10 Minuten postfixiert. Von dieser

Lösung (Herstellung vgl. Anhang A.4) wurden jeweils einige Tropfen auf jeden OT pipettiert. Nach Ablauf der Zeit wurde die Lösung von den OT abgekippt und es wurde 3 x 5 Minuten in der Waschküvette mit 1 x PBS (Herstellung vgl. Anhang A.4) gewaschen. Für den nächsten Schritt wurde eine 5%-ige BSA (bovine serum albumin)/PBS-Lösung zum Blocken hergestellt. Dazu wurde 10% BSA/PBS (Stammlösung - Herstellung vgl. Anhang A.4) mit 1 x PBS im Verhältnis 1:1 in ein Eppendorf® Gefäß gegeben und gevortext. Von der verdünnten Gebrauchslösung (5% BSA/PBS) wurde mit einer Pipette auf jeden OT 200 µl gegeben und die Färbekassette abgedeckt. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei RT wurde die Blockierungslösung abgekippt und der Primär-AK (rabbit anti-mouse TH) auf die Schnitte gegeben. Dazu wurde der Primär-AK 1:1000 in 1% BSA/PBS verdünnt und von der Lösung jeweils 200 µl auf jeden OT, außer der Negativkontrolle, verteilt. Auf die Negativkontrolle wurden lediglich 200 µl 1% BSA/PBS (10% BSA/PBS mit 1 x PBS im Verhältnis 1:9 verdünnt) gegeben. Die abgedeckte Färbekassette ließ man über Nacht bei 4°C inkubieren.

Zur Visualisierung des Primär-AK erfolgten am nächsten Tag folgende Schritte: Nach dreimaligem Waschen à 5 Minuten mit 1 x PBS erfolgte die Applikation des sekundären AK (biotinylierter anti-rabbit IgG) in der Verdünnung 1:100 in 1% BSA/PBS (jeweils 200 µl pro OT). Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde bei RT wurde erneut gewaschen (3 x 5 Minuten mit 1 x PBS). Im Anschluss erfolgte die Inkubation mit einem Avidin/Biotin-Reagenz (Standard Ultra-Sensitive ABC Staining Kit), das 30 Minuten vor Gebrauch nach folgender Formel angesetzt wurde: 100 µl 1% BSA/PBS + 1,8 µl Lösung A + 1,8 µl Lösung B. Dazu wurde zunächst das Gefäß mit Avidin (Lösung A) gevortext, dann die erforderliche Menge von A in ein vorbereitetes Gefäß mit entsprechender Menge von 1% BSA/PBS pipettiert, das Ganze gevortext, danach das Gefäß mit Biotin (Lösung B) gevortext, die benötigte Menge von B in das Gefäß aus 1% BSA/PBS mit A pipettiert und das Ganze wiederum gevortext. Von der fertigen Lösung wurden auf jeden OT 200 µl gegeben. Nach exakt 30 Minuten Inkubation bei RT wurde erneut 3 x 5 Minuten mit 1 x PBS gewaschen. In der Zwischenzeit wurde eine DAB-Tablette (3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid Dihydrat) in 10 ml Aqua dest. durch 10-minütiges Rühren (ohne Temperatur) aufgelöst. Kurz vor Gebrauch wurde die Lösung mit 10 µl 30% H₂O₂ aktiviert. Mit einer 10-20 ml Spritze mit Filteraufsatz (blau - 0,2 µm) wurden jeweils 3-5 Tropfen pro OT auf die Schnitte gegeben. Der Färbvorgang (brauner Niederschlag) wurde unter einem Mikroskop beobachtet. Sobald die gewünschten Strukturen (Striatum bzw. SN) gut sichtbar waren und der Hintergrund noch nicht so stark gefärbt war (meist nach 3-5 Minuten), wurde

die Reaktion durch zweimaliges Waschen à 5 Minuten in Aqua dest. gestoppt. Die Negativkontrolle zeigte sich nicht gefärbt und war dementsprechend negativ, was auf eine erfolgreich verlaufene, spezifische Färbung hinwies. Zum Schluss wurden die OT mit Aquatex[®] und Deckgläsern unter Vermeidung von Luftblasenbildung eingedeckt, mit der durchgeführten Färbung beschriftet und in OT-Mappen einsortiert.

2.5.2.2. Immunfluoreszenzdoppelfärbung Tyrosinhydroxylase und α -Synuclein

Sofern nicht anders angegeben, glich der Ablauf der Färbung den bereits beschriebenen Schritten der TH-Färbung. Bei dieser Färbung erfolgte die Fixierung in Aceton für 10 Minuten bei -20 °C. Geblockt wurde mit 10% NGS (normal goat serum)/ 2% BSA/PBS für eine Stunde bei RT. Es kamen zwei verschiedene Primär-AK zum Einsatz: rabbit anti-mouse TH in der Verdünnung 1:1000 und mouse anti-human α -Syn in der Verdünnung 1:500 jeweils in 2% NGS/PBS. Insgesamt wurden 3 Eppendorf[®] Tubes vorbereitet: In Tube 1 wurden beide Primär-AK in der jeweiligen Verdünnung pipettiert, während Tube 2 nur rabbit anti-mouse TH 1:1000 in 2% NGS/PBS und Tube 3 nur mouse anti-human α -Syn 1:500 in 2% NGS/PBS enthielten. Auf alle OT - mit Ausnahme der Negativkontrollen (bei dieser Färbung zwei, um jede Färbung separat zu prüfen) - wurden jeweils 200 μ l der Lösung aus Tube 1 pipettiert. Auf eine Negativkontrolle (TH-Färbung) wurden 200 μ l aus Tube 2 gegeben und auf die andere Negativkontrolle (α -Syn-Färbung) 200 μ l aus Tube 3.

Die beiden am zweiten Tag der Färbung verwendeten fluoreszenzmarkierten, vor Licht zu schützenden Sekundär-AK (goat anti-rabbit Cy3 (rot) und goat anti-mouse Cy2 (grün)) wurden 1:300 in 2% NGS/PBS verdünnt und von der Lösung 200 μ l auf jeden OT verteilt. Die Inkubation erfolgte für zwei Stunden bei RT im Dunkeln (abgedeckte Färbekassette). Während des Waschvorgangs (3 x 5 Minuten mit 1 x PBS) wurde zum Schutz vor Lichteinfall eine Styroporbox über die Waschküvette gestülpt. Als nächster Schritt folgte die Inkubation mit DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol - Fluoreszenzfarbstoff (blau) zur Zellkernfärbung) 1:1 Million für 20 Minuten bei RT. Dazu wurde zunächst 1 μ l DAPI mit 1000 μ l 1 x PBS vermischt (DAPI 1:1000) und von dieser Lösung dann 1 μ l zu 1000 μ l 2% NGS/PBS gegeben (DAPI 1:1 Million). Von dieser Lösung wurden auf jeden OT 200 μ l pipettiert und die Färbekassette abgedeckt. Nach der Inkubationszeit wurde

erneut 3 x 5 Minuten mit 1 x PBS im Dunkeln gewaschen. Zum Schluss wurden die OT einzeln aus der Waschküvette unter der Styroporbox hervorgeholt, mit DABCO® (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan - Herstellung der Lösung vgl. Anhang A.4) und Deckgläsern eingedeckt und diese mit Vitro-Clud® umrandet. Die fertigen OT wurden in Mappen einsortiert und in einem Kühlschrank gelagert bzw. eingefroren, wenn die Dauer bis zur weiteren Verwendung länger als einen Tag betrug.

2.6. Auswertung

Die Auswertung der Verhaltensexperimente und histologischen Methoden erfolgte durch einen bezüglich der Gruppenzugehörigkeit der Mäuse verblindeten Untersucher. Für die Auswertung der Verhaltensexperimente vgl. die jeweiligen Ausführungen beim Versuchsaufbau.

2.6.1. Immunhistochemische Auswertung

2.6.1.1. Axiophot

Die TH-gefärbten OT des Striatums wurden mithilfe eines Axiophots (Axiophot 2) bei 2,5-facher, die der SN bei 10-facher Vergrößerung abfotografiert. Von den Präparaten der Immunfluoreszenzdoppelfärbung wurden Aufnahmen bei 20-, 40- und 100-facher Vergrößerung angefertigt. (Verwendete Einstellungen: kein künstliches Licht, kein Durchlicht, Filter mit normalem Licht, 100/100, Blende voll auf, Metavue 50/50%, Spot32.exe, Feineinstellungen: Gamma und Brightness beide auf 1,00, Quality auf Speed, Full Chip, Binning >none<, H/DICII.)

2.6.1.2. Substantia nigra - Zellzahl

Die TH-gefärbten OT der SN wurden unter einem Lichtmikroskop (Olympus-BH-2) bei 20-facher Vergrößerung ausgewertet. Dazu wurden die TH-positiven (TH+) Zellen in der SNpc rechts- und linksseitig bei jedem der vier Schnitte pro OT ausgezählt und in eine Tabelle übertragen. Zur Lokalisation der SNpc und ihrer Abgrenzung gegenüber anderen Strukturen wie der Area tegmentalis ventralis und der SN pars reticulata diente die Beschreibung und die Abbildungen im Paper von

German und Manaye (1993) sowie der Maushirnatlas von Paxinos und Franklin (2001).

Die Werte wurden nach folgender Formel ins Verhältnis gesetzt:

$$\frac{\text{Anzahl TH+ Zellen in der SNpc rechts}}{\text{Anzahl TH+ Zellen in der SNpc links}} \times 100$$

Aus den erhaltenen Werten in Prozent wurde pro Maus ein MW gebildet, aus denen wiederum ein MW pro Injektionsgruppe errechnet und im Diagramm dargestellt wurde (vgl. Abb. 16 in Abschnitt 3.2.1.1).

2.6.1.3. Striatum - optische Dichte

Um den Untergang von dopaminergen Fasern im Striatum zu untersuchen, wurde mithilfe der Software ImageJ die optische Dichte in den verschiedenen Regionen der am Axiophot abfotografierten Präparate gemessen. Als Referenz wurde eine Datei verwendet („Calibration OD ImageJ“). Dabei handelte es sich um eine Kalibrierung von Grauwerten, die durch einmaliges Ausmessen jeder einzelnen Farbe und Zuordnung einer Dichte mit entsprechendem Zahlenwert definiert war. Vorgehensweise:

1. Starten des Programmes ImageJ
2. File → Datei öffnen (abfotografierte Striatum-Schnitte)
3. Image → Type → 8 bit (Bild wird in Graustufen abgebildet)
4. Analyze → Calibrate (öffnet neues Fenster) → Open (Datei „Calibration OD ImageJ“), Function → Rodbard, Unit → Gray Value → ok
5. Symbol für „Freehand selections“ auswählen und die gewünschte Fläche manuell umranden
6. Analyze → Measure (Ergebnis wird als Zahlenwert in neuem Fenster angezeigt).

Auf diese Weise erhielt man durch Markieren des Striatums beider Seiten und des unspezifisch gefärbten Corpus callosum (ODCC - optische Dichte Corpus callosum) insgesamt drei Werte pro Gehirnschnitt. Die Daten wurden in eine

Excel-Tabelle überführt. Die relative optische Dichte des Striatums wurde anhand folgender Formel ermittelt:

$$\frac{\text{Wert rechtes Striatum} - \text{ODCC}}{\text{Wert linkes Striatum} - \text{ODCC}} \times 100$$

Auf diese Weise wurden die gemessenen Werte für rechts und links jeweils durch Subtraktion des unspezifisch gefärbten Corpus callosum um unspezifische Hintergrundfärbung korrigiert und die Daten der rechten (injizierten, ipsilateralen) Seite als Prozentsatz in Relation zur linken (nicht-injizierten, kontralateralen) Seite angegeben. Aus den Prozentsätzen wurde für jede Maus jeweils ein MW für den vorderen (wenn vorhanden), mittleren und hinteren Bereich des Striatums gebildet. Diese Werte wurden wiederum pro Maus gemittelt und schließlich wurde ein MW pro Injektionsgruppe bestimmt, der im Diagramm dargestellt ist (vgl. Abb. 18 in Abschnitt 3.2.1.2).

2.6.1.4. Ausschluss von Tieren/ histologischen Präparaten

Durch die Auswertung der TH/ α -Syn-Immunfluoreszenzdoppelfärbung wurde bei sieben Tieren der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe eine fehlende Kolo-kalisation von α -Syn und TH nachgewiesen. Dies wurde als fehlgeschlagene AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion in die SN und damit erfolglose Transfektion dopaminergener Neurone mit A53T- α -Syn gewertet. Diese Tiere wurden bei der Analyse nicht berücksichtigt.

Zudem wurden aufgrund von inhomogener Färbung, Artefakten und mechanischen Gewebeschäden wenige histologische Präparate von der Auswertung ausgeschlossen.

2.6.2. Statistische Auswertung

Zur statistischen Analyse wurde die Verteilung der einzelnen Werte mittels Q-Q-Plots untersucht (optische Schätzung, ob Normalverteilung vorliegt). Für normalverteilte Daten wurden parametrische Methoden (z.B. t-Test) verwendet, bei unterschiedlichen Abweichungen die Welch-Korrektur, für nicht-normalverteilte Daten wurden nicht-parametrische Methoden als statistische Tests eingesetzt (z.B. Mann-Whitney-Test).

Bei den Verhaltensexperimenten (RotaRod, Open Field, Apomorphin- und Zylinder- test) und den histologischen Untersuchungen (relative Anzahl dopaminerg- er Neurone in der SN und relative optische Dichte der TH+ Fasern im Striatum) wurde der parametrische zweiseitige t-Test verwendet.

Im Rahmen des Projektes mit den kanadischen Kooperationspartnern wurden bei der Analyse der DAT-Bindung der Welch's t-Test wegen unterschiedlicher Varian- zen und bei der HPLC-Untersuchung der nicht-parametrische Mann-Whitney-Test angewendet.

Die Ergebnisse wurden als Mittelwert und Standardfehler (SEM - standard error of the mean) angegeben. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$ wurden als signifikante p-Werte angesehen (Ip et al. 2017b).

3. Ergebnisse

3.1. Auswirkungen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion in die rechte Substantia nigra auf die Verhaltensexperimente

Die verschiedenen Verhaltenstests wurden durchgeführt, um zu untersuchen, ob die einseitige Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn in die rechte SN zu messbaren Verhaltensveränderungen bei Mäusen führt und um diese zu quantifizieren.

3.1.1. RotaRod

In der RotaRod-Testung konnten insgesamt keine signifikanten motorischen und koordinativen Beeinträchtigungen bei Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (AAV1/2-EV) gezeigt werden. Lediglich in der ersten postoperativen Woche wurde eine signifikant kürzere Verweildauer (schnelleres Herabfallen von der rotierenden Walze) der Mäuse der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe festgestellt (MW \pm SEM: AAV1/2-A53T- α -Syn 200 ± 15 s und AAV1/2-EV 236 ± 11 s, * $p = 0,0462$). Die Verwertbarkeit dieses Unterschiedes ist so kurz nach der Operation kritisch zu bewerten. In der ersten postoperativen Woche würde man noch keine Neurodegeneration in dem Maße erwarten, dass Verhaltensauffälligkeiten detektierbar wären und im weiteren postoperativen Verlauf waren keine Unterschiede mehr messbar, die darauf zurückzuführen wären (vgl. Abb. 10).

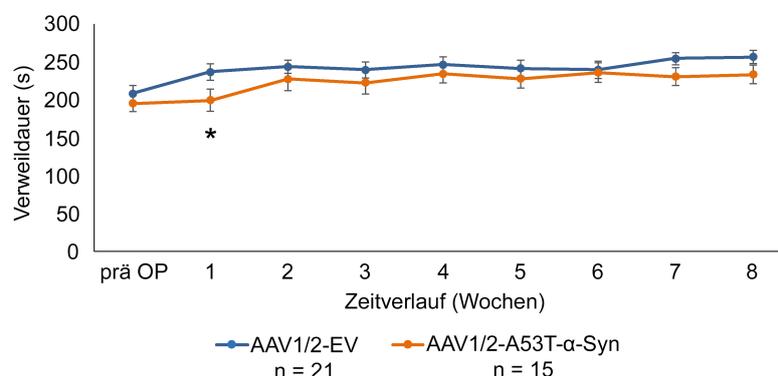


Abbildung 10: Verlauf der RotaRod-Testung. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Der Stern markiert den signifikanten Unterschied in der ersten postoperativen Woche zwischen den beiden Gruppen (* $p < 0,05$).

3.1.2. Open Field

Mit dem Open Field-Test konnten beim Vergleich der beiden Mausgruppen (AAV-1/2-A53T- α -Syn vs. AAV1/2-EV) keine signifikanten Veränderungen im Bewegungsverhalten der Mäuse aufgezeigt werden. Die beiden über eine definierte Zeit von 5 Minuten untersuchten Parameter - zurückgelegte Gesamtdistanz (cm) und Durchschnittsgeschwindigkeit (cm/s) - zeigten weder präoperativ noch im Verlauf über 8 Wochen postoperativ signifikante Auffälligkeiten im Sinne einer kürzeren zurückgelegten Gesamtstrecke und/ oder reduzierten Durchschnittsgeschwindigkeit bei der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe (vgl. Abb. 11 (a) und (b)).

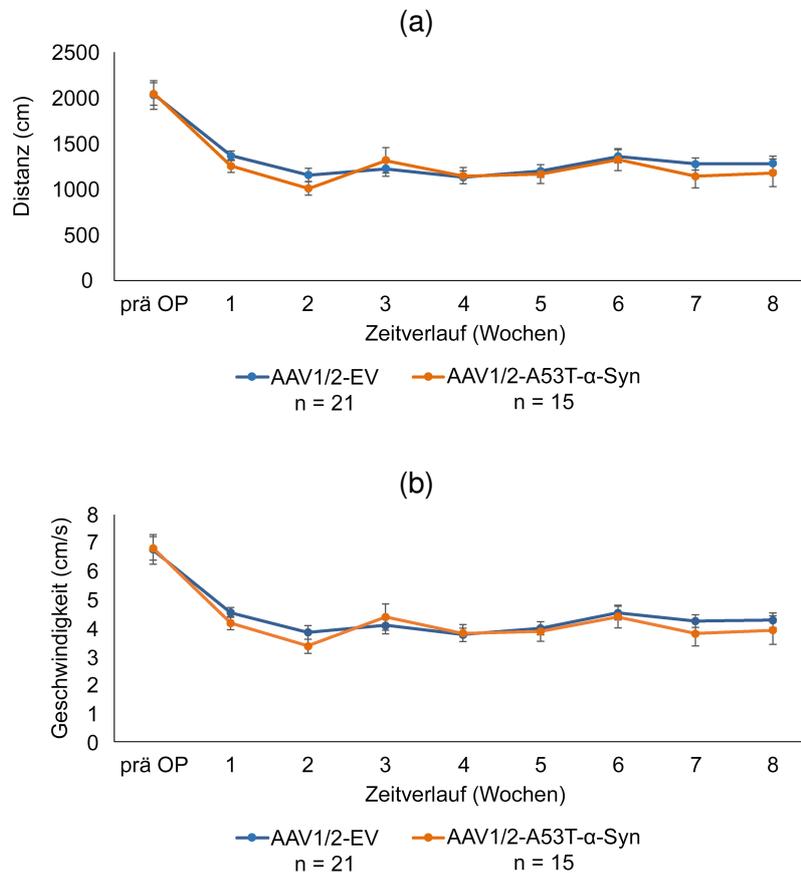


Abbildung 11: Open Field-Testung - (a) zurückgelegte Gesamtdistanz (cm) und (b) Durchschnittsgeschwindigkeit (cm/s) der beiden Versuchsgruppen im Verlauf des Experiments. Angegebene Daten in MW \pm SEM.

3.1.3. Apomorphintest

Im Apomorphintest zeigte sich über einen Zeitraum von 5 Minuten bei der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe weder in der 4. noch in der 9. postoperativen Woche ein signifikanter Unterschied in der Anzahl der Rechtsdrehungen nach Apomorphingabe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe. Lediglich in der 4. postoperativen Woche war ein geringer, nicht signifikanter Anstieg an Rechtsrotationen/ 5 min im Vergleich zur Kontrollgruppe zu verzeichnen, der allerdings in der 9. postoperativen Woche nicht mehr nachweisbar war (MW \pm SEM: 4. postoperative Woche - AAV1/2-A53T- α -Syn 6 ± 1 und AAV1/2-EV 5 ± 1 , $p = 0,4744$; 9. postoperative Woche - AAV1/2-A53T- α -Syn 7 ± 2 und AAV1/2-EV 8 ± 1 , $p = 0,6602$ (vgl. Abb. 12)).

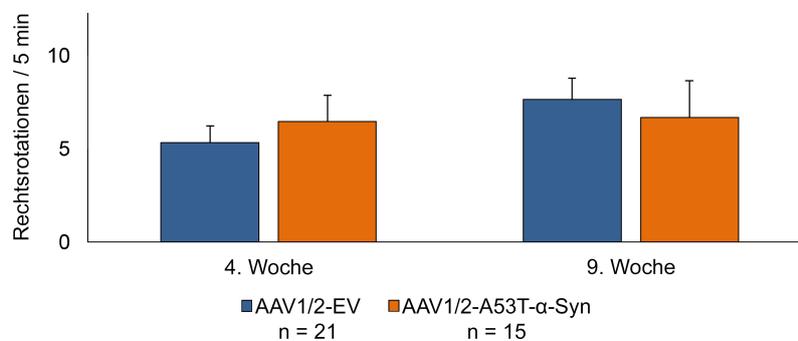


Abbildung 12: Apomorphintest - mittlere Anzahl der Rechtsdrehungen nach Apomorphingabe über einen Zeitraum von 5 Minuten bei beiden Versuchsgruppen in der 4. und 9. postoperativen Woche. Angegebene Daten in MW \pm SEM.

3.1.4. Zylindertest

Tiere der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe zeigten im Zylindertest im Vergleich zu Tieren der AAV1/2-EV-Kontrollgruppe eine signifikante Asymmetrie bei der spontanen Benutzung der Vorderpfoten mit Präferenz der rechten (ipsilateral zur Injektionsseite) Vorderpfote (vgl. Abb. 14). Diese Verhaltensauffälligkeit zeigte sich sowohl 5 als auch 9 Wochen nach Injektion.

In der 5. postoperativen Woche berührten Tiere der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe bevorzugt mit der rechten Vorderpfote die innere Oberfläche des Zylinders, während Kontrolltiere mit leerer Vektorinjektion dazu beide Vorderpfoten symmetrisch einsetzten (MW \pm SEM: AAV1/2-A53T- α -Syn $65 \pm 3\%$ und AAV1/2-EV $48 \pm 2\%$, *** $p = 0,0001$). In der 9. postoperativen Woche fanden sich ähnliche, wenngleich

etwas weniger stark ausgeprägte, aber immer noch signifikante Veränderungen (MW \pm SEM: AAV1/2-A53T- α -Syn $63 \pm 4\%$ und AAV1/2-EV $50 \pm 3\%$, * $p = 0,0256$ (vgl. Abb. 13)).

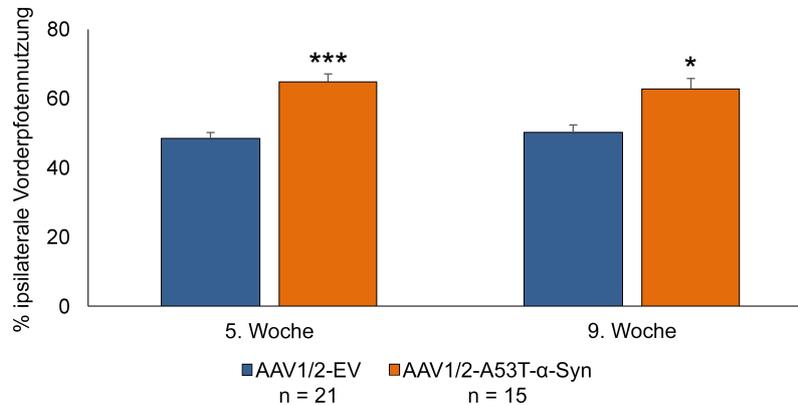


Abbildung 13: Zylindertest - Präferenz der Vorderpfotennutzung bei den Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Kontrollgruppe in der 5. und 9. postoperativen Woche. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Die Sterne markieren signifikante p-Werte zwischen den beiden Gruppen (** $p < 0,001$, * $p < 0,05$). Der Prozentsatz gibt die Präferenz der Vorderpfoten wie folgt an: 50% = symmetrischer Gebrauch beider Vorderpfoten; < 50% = Präferenz der linken Vorderpfote; > 50% = Präferenz der rechten Vorderpfote (vgl. auch Abschnitt 2.3.4) (Ip et al. 2017b).



Abbildung 14: Zylindertest - exemplarische Abbildung einer Maus der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe mit Präferenz der rechten Vorderpfote bei der Berührung der inneren Oberfläche des Zylinders.

3.2. Auswirkungen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion in die rechte Substantia nigra auf die immunhistochemischen Untersuchungen

3.2.1. Tyrosinhydroxylasefärbung

Mithilfe der TH-Färbung wurden die TH⁺ dopaminergen Zellen der SN und die TH⁺ dopaminergen Fasern des Striatums dargestellt. Um das Ausmaß der Degeneration des nigrostriatalen Systems 10 Wochen nach AAV1/2-Injektion in die rechte SN zu bestimmen, wurde einerseits die Anzahl der dopaminergen Neurone in der SN quantifiziert (Auszählen der Zellen) und andererseits die dopaminerge Innervation des Striatums analysiert (Untersuchung der relativen optischen Dichte).

3.2.1.1. Auswirkungen auf die Substantia nigra - Zellzahl

Die Untersuchung der relativen Anzahl TH⁺ dopaminergener Neurone in der SNpc zeigte 10 Wochen nach rechtsseitiger AAV1/2-Injektion Folgendes: Bei den Mäusen, denen AAV1/2-EV injiziert worden war, betrug die relative Anzahl TH⁺ dopaminergener Neurone in der ipsilateralen SN $96 \pm 4\%$ im Verhältnis zur kontralateralen Seite (vgl. blauer Balken in Abb. 16). Die Anzahl der dopaminergener Neurone auf der behandelten Seite entsprach demnach zu nahezu 100% der Anzahl an Neuronen auf der unbehandelten Seite. Wie erwartet konnte somit in der Kontrollgruppe kein Untergang dopaminergener Neurone beobachtet werden. Dies zeigte sich auch in den Aufnahmen in Form einer etwa gleichen Zellzahl im Bereich der SN rechts- und linksseitig (vgl. Abb. 15 (a) und (b)).

Im Gegensatz dazu führte die AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion zu einer verringerten Anzahl TH⁺ dopaminergener Neurone in der ipsilateralen SN von $75 \pm 3\%$ im Vergleich zur kontralateralen Seite (vgl. oranger Balken in Abb. 16). Diese Degeneration dopaminergener Neurone in der rechtsseitigen SN der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe spiegelt sich auch in den Bildern in Form einer Reduktion der Zellzahl auf dieser Seite wider (vgl. Abb. 15 (c) und (d)). Beim Vergleich der beiden Versuchstiergruppen stellte sich ein statistisch signifikanter Untergang TH⁺ dopaminergener Neurone in der ipsilateralen SN von $\sim 22\%$ in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe heraus (**p = 0,0042) (vgl. Abb. 16).

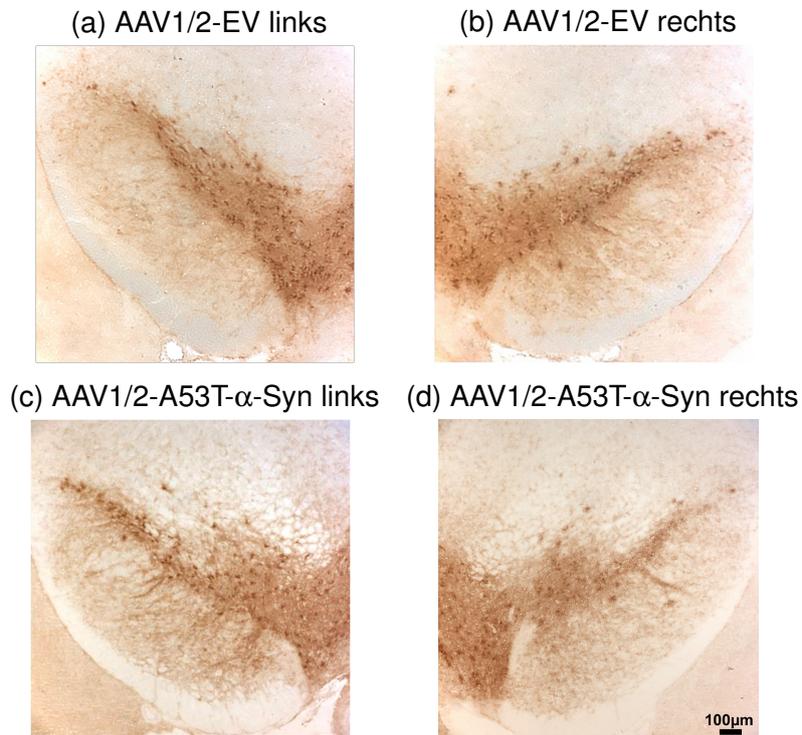


Abbildung 15: Exemplarische Aufnahmen der TH-Färbung im Bereich der SN beider Versuchsgruppen 10 Wochen nach Injektion.

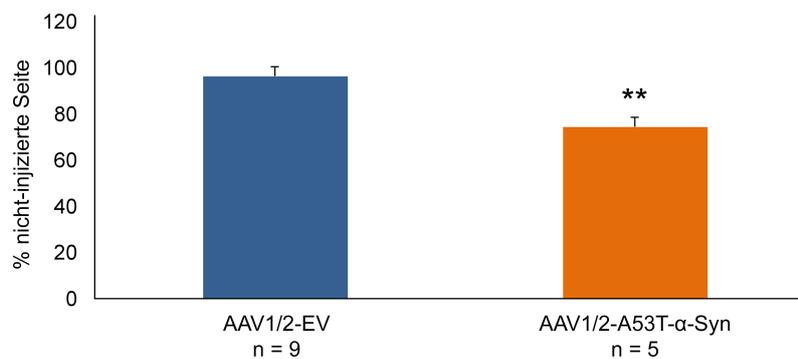


Abbildung 16: Relative Anzahl TH+ dopaminergener Neurone in der SN 10 Wochen nach AAV1/2-Injektion. Die Werte für die injizierte (rechte) Seite wurden jeweils ins Verhältnis zur nicht-injizierten (linken) Seite gesetzt. Die Balken stellen die relative Anzahl dopaminergener Neurone in Prozent dar. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Die Sterne markieren den signifikanten Untergang der dopaminergenen Neurone von ~22% auf der Seite ipsilateral zur Injektion in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe (** $p < 0,01$).

3.2.1.2. Auswirkungen auf das Striatum - optische Dichte

Beim Vergleich der Bilder der beiden Injektionsgruppen stellen sich in der AAV1/2-EV-Gruppe beide Seiten des Striatums in allen drei Regionen gleich farbintensiv dar (vgl. Abb. 17 (a), (c), (e)), während sich bei denen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe in allen drei Regionen des Striatums jeweils im Bereich der rechten Seite eine Aufhellung im Vergleich zur linken Seite zeigt (vgl. Abb. 17 (b), (d), (f)). Diese Aufhellung spiegelt den in der Untersuchung der optischen Dichte nachgewiesenen Faseruntergang bei Tieren der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe wider.

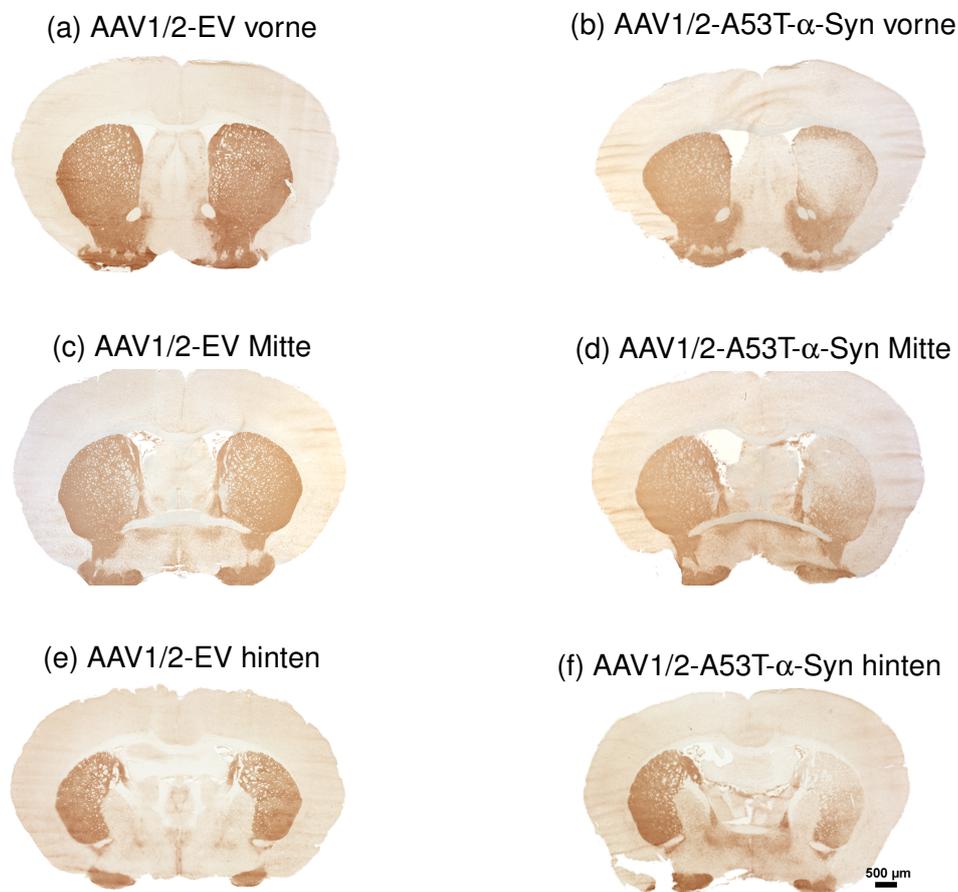


Abbildung 17: Gegenüberstellung der TH-gefärbten Regionen des Striatums bei den Versuchsgruppen 10 Wochen nach Injektion.

Die Untersuchung der relativen optischen Dichte der TH+ Fasern im Striatum 10 Wochen nach rechtsseitiger AAV1/2-Injektion zeigte Folgendes: Bei den Tieren der AAV1/2-EV-Gruppe lag die optische Dichte der TH+ Fasern im Striatum auf der Seite ipsilateral zur Injektion (rechts) bei $98 \pm 5\%$ im Vergleich zur kontralateralen (nicht-injizierten, linken) Seite, d.h. sie entsprach zu fast 100% dem Wert der

Gegenseite. Es konnte demnach bei der Kontrollgruppe wie erwartet kein Unterschied zwischen den beiden Seiten des Striatums und damit kein Faseruntergang festgestellt werden (vgl. blauer Balken in Abb. 18) (Ip et al. 2017b).

Im Gegensatz dazu führte die rechtsseitige AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion zu einer Abnahme der optischen Dichte der TH+ Fasern im ipsilateralen Striatum im Vergleich zur kontralateralen Seite (MW \pm SEM: 79 \pm 7%, vgl. oranger Balken in Abb. 18). Beim Vergleich der beiden Versuchstiergruppen konnte demnach insgesamt eine signifikante Reduktion der optischen Dichte der TH+ Fasern und damit ein Faseruntergang im ipsilateralen Striatum von ~20% bei der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe festgestellt werden (*p = 0,0366) (Ip et al. 2017b).

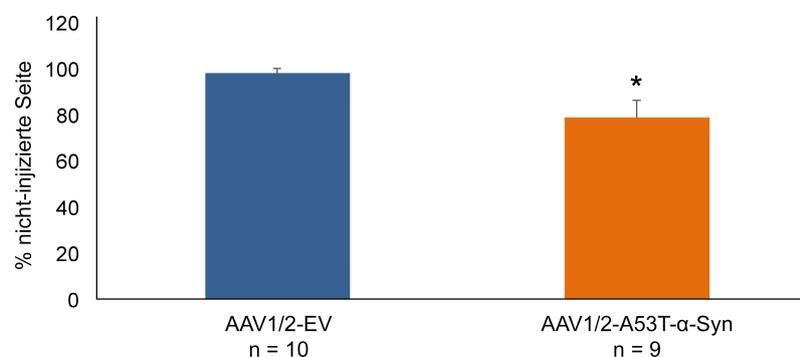


Abbildung 18: Relative optische Dichte der TH+ Fasern im Striatum 10 Wochen nach AAV1/2-Injektion. Die Werte für die injizierte (rechte) Seite wurden jeweils ins Verhältnis zur nicht-injizierten (linken) Seite gesetzt. Die Balken stellen die relative optische Dichte in Prozent dar. Angegebene Daten in MW \pm SEM. Der Stern markiert die signifikante Abnahme der optischen Dichte um ~20% auf der Seite ipsilateral zur Injektion in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe (*p < 0,05).

3.2.2. Immunfluoreszenzdoppelfärbung Tyrosinhydroxylase und α -Synuclein

Mit der TH/ α -Syn-Immunfluoreszenzdoppelfärbung wurden in der SNpc einerseits TH⁺ dopaminerge Neurone rot und andererseits humanes mutiertes A53T- α -Syn grün dargestellt.

Zeigte sich bei dieser Färbung bei den Tieren, denen AAV1/2-A53T- α -Syn injiziert worden war, eine durchgehende Kolokalisation von α -Syn und TH in der SN (genauer: des A53T- α -Syn-Proteins und TH⁺ dopaminergener Neurone), so galt dies als Hinweis für eine erfolgreiche Transfektion dopaminergener Neurone der SN mit humanem mutiertem A53T- α -Syn (d.h. dies zeigt eine Produktion des A53T- α -Syn-Transgens durch dopaminerge Neurone) (vgl. Abb. 19 (d)-(f)). Auf diese Weise wurden sieben Tiere der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe durch fehlenden Nachweis einer Kolokalisation und damit fehlgeschlagener AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion in die SN aus der Analyse ausgeschlossen (vgl. Abschnitt 2.6.1.4).

Bei Tieren dieser Gruppe zeigte diese Färbung - ebenso wie die TH-Färbung der SN (vgl. Abschnitt 3.2.1.1) - 10 Wochen nach Injektion auf der ipsilateralen Seite eine deutliche Reduktion der Anzahl TH⁺ dopaminergener Neurone in der SNpc, während gleichzeitig eine ausgeprägte Expression/ Akkumulation von α -Syn mit Nachweis von α -Syn-positiven (α -Syn⁺) Aggregaten in diesem Bereich (genauer: im Zytoplasma der überlebenden TH⁺ Neurone der SN) festgestellt werden konnte (vgl. Abb. 19 (g) - (i)) (Ip et al. 2017b).

Wie erwartet wurde bei den Tieren der Kontrollgruppe 10 Wochen nach Injektion von AAV1/2-EV keine Expression von humanem A53T- α -Syn in TH⁺ Neuronen nachgewiesen. In den Bildern kommen folglich lediglich die TH⁺ dopaminergen Neurone der SN rot zur Darstellung (vgl. Abb. 19 (a) - (c)).

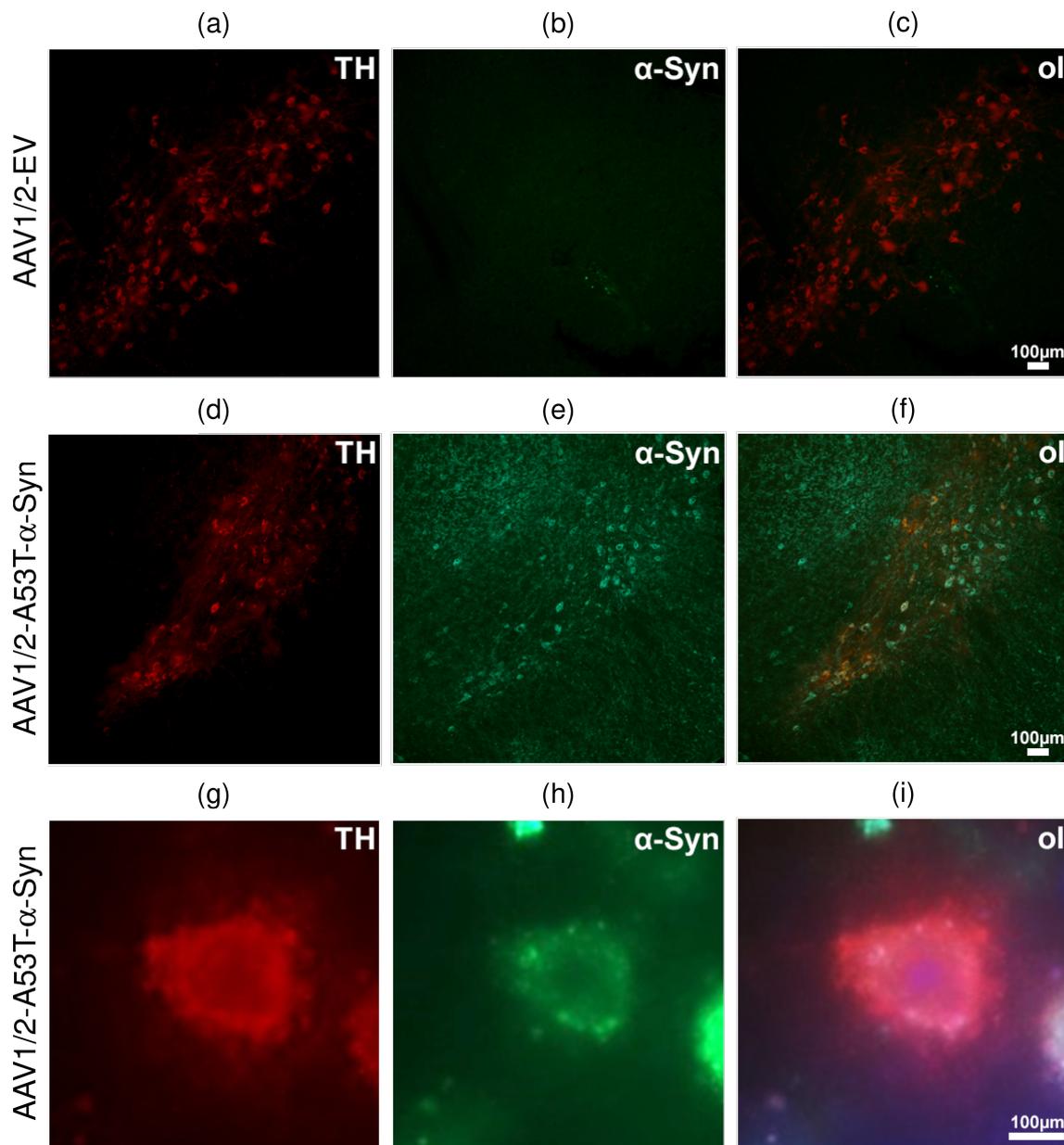


Abbildung 19: Exemplarische Aufnahmen der TH/ α -Syn-Immunfluoreszenz-doppelfärbung im Bereich der rechten, injizierten SN beider Versuchsgruppen AAV1/2-EV (a)-(c) und AAV1/2-A53T- α -Syn (d)-(i) 10 Wochen nach Injektion. TH+ dopaminerge Neurone kommen rot und humanes mutiertes A53T- α -Syn grün zur Darstellung. Im Overlay (ol) zeigt sich eine potenzielle Kolokalisation. Abbildungen (g)-(i) zeigen ein Neuron der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe in Vergrößerung. Die dargestellten Bilder wurden bereits veröffentlicht in (Ip et al. 2017b). Verwendungserlaubnis von Springer Nature erteilt am 07.04.2020.

3.3. Übersicht über Untersuchungsergebnisse der kanadischen Kooperationspartner

Diese Dissertation ist im Rahmen eines Projektes in Kooperation mit dem Toronto Western Research Institut in Ontario, Kanada entstanden und die bisher beschriebenen Ergebnisse der Doktorarbeit geben nur einen Teil der Resultate des im Rahmen des Projektes entstandenen Papers wider. Im folgenden Abschnitt wird daher eine orientierende Übersicht über die Ergebnisse der durch die Kooperationspartner durchgeführten Untersuchungen gegeben. Für weiterführende Informationen vgl. (Ip et al. 2017b):

In der stereologischen Abschätzung mithilfe des optischen Fraktionierverfahrens zeigte sich bei Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe eine signifikant niedrigere Anzahl TH+ dopaminergener Neurone in der ipsilateralen SN im Vergleich zur Kontrollgruppe (AAV1/2-EV). Dies bestätigte die vorgenannten Ergebnisse bei der relativen Anzahl dopaminergener Neurone in der SN (vgl. Abschnitt 3.2.1.1). Dazu passend wies die Quantifizierung der Gesamtneuronenzahl (NeuN-positive Neurone) in der SN ebenfalls eine signifikante Reduktion der Neurone in der ipsilateralen SN von Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe auf.

Die DAT-Autoradiographie des Striatums ergab 10 Wochen nach AAV1/2-Injektion in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikante Reduktion der striatalen DAT-Bindung auf der ipsilateralen Seite in Relation zur nicht-injizierten Seite. Dies spiegelt eine zu den Untersuchungsergebnissen der optischen Dichte des Striatums vergleichbare Reduktion der striatalen dopaminergen Fasern wider (vgl. Abschnitt 3.2.1.2).

Mit der HPLC-Untersuchung wurden die Spiegel des Neurotransmitters DA und seiner Stoffwechselmetaboliten HVA (Homovanillinsäure) und DOPAC (3,4-Dihydroxyphenylethylsäure) im Striatum gemessen. 10 Wochen nach Injektion konnte bei der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Gegensatz zur AAV1/2-EV-Gruppe sowohl eine signifikante Reduktion der DA- als auch der DOPAC-Spiegel im ipsilateralen Striatum in Relation zur kontralateralen Seite festgestellt werden. Gleichzeitig zeigte das in der Gruppe der AAV1/2-A53T- α -Syn-injizierten Tiere deutlich erhöhte Verhältnis von HVA zu DA einen in dieser Gruppe signifikant erhöhten DA-Umsatz im Vergleich zur Kontrollgruppe auf.

In den immunhistochemischen Untersuchungen wurde eine weit verbreitete α -Syn-Expression und -Aggregation sichtbar. 10 Wochen nach AAV1/2-A53T- α -Syn-Injektion konnten durch Immunfluoreszenzfärbungen sowohl humanes mutiertes A53T- α -Syn-Protein in der ipsilateralen SN als auch im ipsilateralen Striatum angefärbt werden, was auf einen Transport dieses Proteins entlang des nigrostriatalen Systems hinwies.

Durch einen in Kanada durchgeführten Vergleich von zuvor speziell immunhistochemisch angefärbten humanen und murinen Gehirnproben konnten Ähnlichkeiten in der Pathologie der Parkinson-Erkrankung zwischen beiden Spezies aufgezeigt werden: Durch Anwendung histologischer Goldstandard-Methoden für den Nachweis einer Lewy-Pathologie konnte bei Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe in der ipsilateralen SN die Entwicklung einer Lewy-ähnlichen Pathologie (Nachweis unlöslicher α -Syn+ Aggregate und α -Syn+ Lewy-ähnlicher Neuriten, die morphologisch LK und -Neuriten in der SN der menschlichen Parkinson-Gehirnproben ähnelten) aufgezeigt werden. Diese Veränderungen zeigten sich weder in der AAV1/2-EV-Gruppe noch in den menschlichen Kontrollproben ohne Parkinson-Krankheit in der Vorgeschichte.

4. Diskussion

4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit/ dieses Projektes war die Übertragung des auf AAV1/2-A53T- α -Syn basierenden Parkinson-Modells von der Ratten- und Affenspezies auf die Mausspezies zur Generierung und Charakterisierung eines neuen Mausmodells des MP, das innerhalb eines praktikablen experimentellen Zeitrahmens zu Verhaltensauffälligkeiten und histopathologischen Merkmalen führt, die dem menschlichen Krankheitsbild ähneln.

Es konnte gezeigt werden, dass die einseitige Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn in einer Dosis von 1,5 μ l mit einer Konzentration von $5,16 \times 10^{12}$ gp/ml in die rechte SN mit nachfolgender Überexpression von humanem mutiertem A53T- α -Syn bei den Mäusen dieser Gruppe innerhalb von 10 Wochen zu signifikanten persistierenden motorischen Verhaltensauffälligkeiten, nigrostriataler Degeneration sowie zur Entwicklung einer Lewy-ähnlichen Pathologie führte, was die klinischen und histopathologischen Merkmale der menschlichen Erkrankung widerspiegelt.

Die signifikanten Verhaltensauffälligkeiten zeigten sich im Zylindertest in der 5. und 9. Woche nach Injektion in Form einer Asymmetrie bei der Vorderpfotenbenutzung. Das Ausmaß der Degeneration des nigrostriatalen Systems wurde 10 Wochen nach Injektion durch Immunfluoreszenzfärbungen, Quantifizierung von Neuronen in der SN (dopaminerge Neurone durch TH-Färbung und Gesamtneuronenzahl durch NeuN-Färbung) sowie Untersuchung der dopaminergen Innervation des Striatums (Optische Dichte und DAT-Autoradiographie) bestimmt. Mithilfe der HPLC-Untersuchungen wurde der DA-Stoffwechsel analysiert und es wurden reduzierte striatale Neurotransmitterspiegel (DA und DOPAC) und ein erhöhter DA-Umsatz festgestellt. Durch einen Vergleich von murinen und humanen Gehirnppräparaten mit bekannter Parkinson-Erkrankung in der Vorgeschichte konnten in den Schnitten der Maushirne mehrere Strukturen beobachtet werden, die morphologisch LK und -Neuriten im menschlichen Parkinson-Gehirn ähnelten (Ip et al. 2017b).

4.2. Methoden und Ergebnisse

4.2.1. Verhaltensexperimente

Im Zylindertest konnten in der 5. und 9. Woche nach Injektion von 1,5 µl AAV1/2-A53T-α-Syn in einer Konzentration von $5,16 \times 10^{12}$ gp/ml in die rechte SN mit nachfolgender Überexpression von humanem mutiertem A53T-α-Syn bei den Mäusen dieser Gruppe signifikante motorische Verhaltensauffälligkeiten in Form einer Asymmetrie bei der Benutzung der Vorderpfoten mit Präferenz für die rechte Seite (ipsilateral zur Injektion) nachgewiesen werden. Dies gleicht den Beobachtungen des Rattenvorgängermodells, bei dem ebenfalls in einer zeit- und dosisabhängigen Weise eine signifikante Asymmetrie bei der Vorderpfotenbenutzung im Zylindertest in der 3. und 6. Woche nach Injektion von 2 µl AAV1/2-A53T-α-Syn in einer Konzentration von $1,7 \times 10^{12}$ gp/ml (1:3 Verdünnung) auftrat (Koprach et al. 2011). Zudem spiegelt es ein charakteristisches Merkmal des menschlichen MP wider: den einseitigen Beginn und die persistierende (Seiten-)Asymmetrie im Krankheitsverlauf („UK Parkinson’s Disease Society Brain Bank Clinical Diagnostic Criteria“ in u.a. (Gibb und Lees 1988; Deuschl et al. 2016)).

Weitere motorische Beeinträchtigungen der Mäuse könnten sich bei der Rota-Rod-Testung z.B. in Form einer kürzeren Verweildauer auf der rotierenden Walze (durch Gleichgewichtsverlust) oder im Open Field-Test im Sinne einer kürzeren zurückgelegten Gesamtdistanz oder reduzierten Durchschnittsgeschwindigkeit zeigen. Diese Auffälligkeiten würden weitere motorische Kardinalsymptome des MP - Bradykinese und posturale Instabilität - widerspiegeln.

In dieser Arbeit konnten in den übrigen Verhaltenstests (RotaRod, Open Field, Apomorphintest) jedoch keine signifikanten Verhaltensauffälligkeiten beobachtet werden. Dies kann auf unterschiedliche Faktoren zurückzuführen sein: Zum einen scheint die gewählte Dosis/ Konzentration des Vektors eine Rolle bei dem Auftreten/ der Ausprägung motorischer Defizite zu spielen. In einem Folgeexperiment mit einem höheren Vektorvolumen von 2 µl konnten nicht nur im Zylindertest, sondern auch in der RotaRod-Testung Verhaltensauffälligkeiten aufgezeigt werden (Ip, unveröffentlichte Beobachtungen). Im analogen Rattenmodell konnte schon mit einer halb so hohen Dosis eine deutliche Neurodegeneration mit motorischen Defiziten beobachtet werden (Musacchio et al. 2017). Mäuse scheinen im Vergleich zu anderen Spezies resistenter gegenüber Umwelteinflüssen (z.B. Toxine) zu sein. Demzufolge sind wahrscheinlich höhere Dosierungen nötig, um einen

vergleichbaren Krankheitseffekt durch Neurodegeneration hervorzurufen (Löw und Aebischer 2012; Dawson et al. 2010; St Martin et al. 2007; Lauwers et al. 2003).

Zeitraumen, Dauer und Häufigkeit der Durchführung der Verhaltensexperimente stellen weitere potenzielle Faktoren dar, die die Ausprägung der Ergebnisse beeinflussen können: Um in dem in dieser Doktorarbeit verwendeten Mausmodell motorische Auffälligkeiten in den Verhaltenstests hervorzurufen, sind evtl. neben der Dosisanpassung andere Versuchsbedingungen erforderlich (z.B. weniger häufige Durchführung und längere Analysezeiträume). In anderen Studien wurde die RotaRod-Testung beispielsweise nach einem initialen Training nur in einer postoperativen Woche einmalig durchgeführt. Ein potenziell bei wöchentlicher Durchführung entstehender Trainingseffekt durch Gewöhnung und möglicher Entwicklung von Kompensationsmechanismen durch die Mäuse wurde somit verhindert. Den Mäusen wurde zwischen jedem Durchgang eine 2-20-minütige Pause gegeben, um Stress und Müdigkeit zu reduzieren (Iancu et al. 2005; Monville et al. 2006; Oliveras-Salvá et al. 2013). Ähnliches gilt für den Open Field-Test. In der Studie von Oliveras-Salvá et al. (2013) wurden die Mäuse vor Durchführung zur Gewöhnung zunächst 30 Minuten im Dunkeln vor die Open Field-Testarena gestellt und ihr Verhalten anschließend über 10 Minuten gefilmt. Die Testung wurde einmalig 15 Wochen nach Injektion durchgeführt (Oliveras-Salvá et al. 2013).

Bereits Iancu et al. (2005) konstatierten, dass der Apomorphintest möglicherweise nur bei Mäusen mit nahezu vollständigem DA-Verlust valide Ergebnisse liefert, da die Hochregulation von DA-Rezeptoren erst auftritt, wenn ca. 90% der DA-Afferenzen untergegangen sind und Apomorphin im Gegensatz zu Amphetamin eine geringere Korrelation zu nigralem Neuronenverlust aufweist (Iancu et al. 2005). Dies stellt einen möglichen Erklärungsansatz dar, warum in dieser Arbeit im Apomorphintest kein signifikantes Rotationsverhalten beobachtet werden konnte, da das Ausmaß der Neurodegeneration nur ca. 30% betrug (Ip et al. 2017b). Der Amphetamintest wäre in diesem Fall evtl. die sensitivere und somit geeignetere Variante zur Testung des Rotationsverhaltens. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von Grealish et al. (2010), wo sich das Apomorphin-induzierte Rotationsverhalten als einer der aussagekräftigsten Tests zur Bestimmung der Größe der 6-OHDA-Läsion herausstellte (Grealish et al. 2010). Mit diesem Test konnte zwischen drei Subgruppen (schwere Läsion - 80-100% Denervation, mittlere Läsion - 60-79%, milde Läsion - < 60%) unterschieden werden. In dieser Studie wurde jedoch eine fünfmal niedrigere Apomorphindosis im Vergleich zu Iancu und Kollegen verwendet (0,1 vs. 0,5 mg/kg KG), da in bislang unveröffentlichten Ergeb-

nissen beobachtet werden konnte, dass wiederholte Injektionen von Apomorphin in höheren Dosen (0,25 mg/kg KG) bei geschädigten Mäusen abnormale, dyskinetische und unfreiwillige Bewegungen hervorriefen. Die reduzierte Dosis reichte immer noch aus, um ein starkes Rotationsverhalten hervorzurufen, eliminierte aber möglicherweise Störfaktoren, wie z.B. das Überdecken der Rotationsantwort durch Induktion von Dyskinesien, welche bei höheren Dosierungen auftraten (Grealish et al. 2010). Grealish und Kollegen empfehlen zusätzlich zur reduzierten Dosis ein „Priming“ mit zwei Injektionen 4 und 2 Tage vor der eigentlichen Durchführung des Apomorphintests (Grealish et al. 2010). In dieser Doktorarbeit wurde eine noch höhere Apomorphindosis gewählt (1 mg/kg KG), was nach den Ausführungen von Grealish et al. (2010) eine Erklärung für das ausbleibende Rotationsverhalten liefern könnte. Ein potenziell weiterer Faktor stellt die Untersuchungsdauer dar: In der vorliegenden Dissertation wurden die Mäuse nach Apomorphingabe lediglich über 5 Minuten gefilmt, während bei Iancu et al. (2005) oder Grealish et al. (2010) das Rotationsverhalten über 40 Minuten pro Maus aufgezeichnet und analysiert wurde (Iancu et al. 2005; Grealish et al. 2010; Ip et al. 2017b).

Zudem existiert eine Vielzahl weiterer motorischer Verhaltenstests, wie beispielsweise der CatWalk XT (Noldus) zur Analyse des Gangbildes und Messung von u.a. der Schrittlänge, die in Folgeexperimenten zum Einsatz kommen könnten (Zhou et al. 2015; Glajch et al. 2012).

4.2.2. Immunhistochemie

Die frühen Verhaltensauffälligkeiten 5 und 9 Wochen nach Injektion wurden histologisch von nigrostriataler Degeneration und Akkumulation von humanen α -Syn-Aggregaten in der SN begleitet. Mit den in dieser Arbeit und den im Rahmen der in Kooperation mit dem Toronto Western Research Institut in Ontario, Kanada durchgeführten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die einseitige Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn in die SN zu einer weit verbreiteten Überexpression von A53T- α -Syn in dopaminergen Neuronen der SN führte, die innerhalb von 10 Wochen zu Neurodegeneration, dopaminergem Faserverlust und Abnahme dopaminergem Neurotransmitter im Striatum führte (Ip et al. 2017b).

Um das Ausmaß der Degeneration des nigrostriatalen Systems 10 Wochen nach AAV1/2-Injektion in die rechte SN zu bestimmen, wurde in dieser Dissertation einerseits die dopaminerge Innervation des Striatums durch Untersuchung der

relativen optischen Dichte analysiert und andererseits die relative Anzahl der dopaminergen Neurone in der SN durch Auszählen der Zellen quantifiziert.

Bei Letzterem konnte beim Vergleich der beiden Versuchstiergruppen ein statistisch signifikanter Untergang TH⁺ dopaminergem Neurone in der ipsilateralen SN von ~22% in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe festgestellt werden. Diese Zählung zeigte die richtige Tendenz an, die durch die im Rahmen des Projektes für das Paper von anderen Untersuchern durchgeführte Goldstandard-Methode (stereologische Abschätzung mithilfe des optischen Fraktionierverfahrens) bestätigt wurde. Dabei konnte ebenfalls eine signifikante Degeneration dopaminergem Neurone in der SN von 33% bei den Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur EV-Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Ip et al. 2017b).

Diese Degeneration von Neuronen wurde von einem signifikanten nigrostriatalen dopaminergem Faserverlust begleitet. In der Untersuchung der relativen optischen Dichte konnte beim Vergleich der beiden Versuchstiergruppen bei der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe insgesamt eine signifikante Reduktion der optischen Dichte der TH⁺ Fasern im ipsilateralen Striatum von ~20% und damit ein Faseruntergang im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe festgestellt werden. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der DAT-Autoradiographie der kanadischen Kooperationspartner, in der ebenfalls eine vergleichbare Reduktion der striatalen dopaminergem Fasern von ~29% in der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen wurde (Ip et al. 2017b). Diese Ergebnisse reflektieren ein histopathologisches Merkmal der menschlichen Parkinson-Krankheit und unterstreichen die „face validity“ (= Fähigkeit eines Modells, die klinischen und pathologischen Merkmale der menschlichen Krankheit zu reproduzieren (Koprach et al. 2017)) des verwendeten Modells.

Beim Menschen geht die nigrostriatale Degeneration dem Auftreten motorischer Symptome mit einem geschätzten Verlust von ~30% an Neuronen in der SN und einem noch höheren Verlust an striatalen Fasern voraus. Diese neuropathologischen Veränderungen können sich schon einige Jahre vor dem Auftreten offensichtlicher motorischer Symptome zeigen (Cheng et al. 2010; Kordower et al. 2013; Ip et al. 2017b; Koprach et al. 2017). Im Gegensatz dazu können sich in Nagetiermodellen des MP motorische Merkmale ohne das Auftreten einer signifikanten offensichtlichen nigrostriatalen Degeneration zeigen, was eventuell auf eine relativ starke Synucleinopathiebelastung im ansonsten intakten nigrostriatalen dopaminergem

System zurückzuführen sein könnte (Koprach et al. 2011; Ip et al. 2017b). Es gibt verschiedene auf AAV-Überexpression basierende Parkinson-Mausmodelle (vgl. Abschnitt 1.9 für weitere Ausführungen). Eines der Hauptprobleme der meisten dieser bisher existierenden AAV-Mausmodelle - mit Überexpression von mutiertem oder nicht-mutiertem α -Syn - ist, dass sie bestenfalls eine begrenzte nigrostriatale Degeneration hervorrufen (Ip et al. 2017b): Bei zwei AAV-Modellen, die entweder mutiertes A53T- α -Syn (Serotyp nicht erwähnt) oder humanes wt- α -Syn (AAV2) überexprimierten, konnte beispielsweise selbst 7 und 12 Wochen nach der AAV-Injektion keine Degeneration von dopaminergen Neuronen in der SN nachgewiesen werden (Dong et al. 2002; Theodore et al. 2008). Auch in einer anderen Studie führte die Expression von humanem wt- α -Syn durch AAV (Serotyp nicht erwähnt) weder zu einem signifikanten dopaminergen Neuronenverlust in der SN nach 12 Wochen noch zu einem dopaminergen Faserverlust im Striatum nach 24 Wochen (St Martin et al. 2007). Yasuda et al. (2009) konnten im Gegensatz dazu zwar zeigen, dass AAV1-produziertes humanes wt- α -Syn 8 Wochen nach Injektion in die SN bei den Mäusen einen signifikanten Verlust an dopaminergen Neuronen in der SN hervorrief, aber auch in dieser Studie konnte zu keinem Zeitpunkt (weder 4, 8 noch 13 Wochen nach Injektion) ein Defizit auf der Ebene des Striatums (Reduktion der DA-Konzentration) nachgewiesen werden (Yasuda et al. 2009).

Diesen Beobachtungen stehen die Ergebnisse der Studie dieser Arbeit gegenüber, in der 10 Wochen nach Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn bei Mäusen dieser Gruppe im Vergleich zur AAV1/2-EV-Gruppe die oben beschriebene nigrostriatale Degeneration detektierbar war. Ergänzend zeigten die von den kanadischen Kooperationspartnern durchgeführten HPLC-Untersuchungen 10 Wochen nach Injektion bei diesen Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikante Reduktion der striatalen Neurotransmitterspiegel von DA in Höhe von 38% und seines Metaboliten DOPAC von 33% sowie einen signifikant erhöhten DA-Umsatz in Form eines erhöhten Verhältnisses von HVA zu DA von 60% (Ip et al. 2017b).

Neuere Modelle, die Hybrid-Serotyp-Adeno-assoziierte Viren auf der Basis von AAV2 verwenden, führten - im Vergleich zu bisher existierenden Modellen - in kürzeren Zeiträumen zu einer teils größeren und weniger variablen Degeneration (vgl. Abschnitt 1.9). Ähnlich wie das in dieser Arbeit beschriebene Modell riefen zwei auf AAV- α -Syn basierende Parkinson-Mausmodelle mit einer AAV2-Komponente in relativ kurzer Zeit nach der AAV-Verabreichung einen deutlichen Verlust von dopaminergen Neuronen in der SN hervor: In der ersten Studie führte die AAV2/7-vermittelte Überexpression von wt- und A53T- α -Syn in dosis-/ kon-

zentrationsabhängiger Weise zu einem fortschreitenden Verlust dopaminergener Neurone in der SN, der bereits 4 Wochen nach Injektion beobachtet werden konnte (~57%) und nach 8 Wochen ein Maximum von 82% erreichte. Dies ging mit einer Reduktion der TH-Immunreaktivität im Striatum einher (Oliveras-Salvá et al. 2013). Die AAV2/1-vermittelte Überexpression von α -Syn verursachte in der zweiten Studie bei Mäusen dieser Gruppe im Vergleich zur AAV2/1-GFP-Kontrollgruppe in zeitabhängiger Weise einen signifikanten fortschreitenden Verlust dopaminergener Neurone in der SN (34% Reduktion 8 Wochen und 50% 12 Wochen nach Injektion), der von einer Reduktion der striatalen dopaminergen TH+ Fasern und DA-Konzentration auf der betroffenen Seite begleitet war (Song et al. 2015). Im Unterschied zum AAV1/2-A53T- α -Syn-Modell entwickelten die Mäuse in beiden Modellen (AAV2/7 und AAV2/1) erst 12 Wochen nach Injektion - d.h. erst nachdem die Degeneration einen gewissen Schwellenwert überschritten hatte (Verlust dopaminergener Neurone > 50%) - signifikante motorische Verhaltensauffälligkeiten, allerdings in einem Ausmaß, das über dem liegt, was bei Parkinson-Patienten bei der ersten Beobachtung motorischer Symptome zu erwarten wäre (Oliveras-Salvá et al. 2013; Song et al. 2015). Dies erinnert eher an die traditionellen auf Toxinen basierenden Tiermodelle des MP (6-OHDA und MPTP), in denen die Erzeugung spontaner motorischer Verhaltensdefizite ein solches Ausmaß an Degeneration erforderte (vgl. „Exkurs: Auf Toxinen basierende Tiermodelle des MP“ in Abschnitt 1.4.2).

Mit im Rahmen des Projektes durchgeführten Immunfluoreszenzfärbungen konnte 10 Wochen nach Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn in Mittelhirnschnitten dieser Mäuse eine weit verbreitete Expression von humanem mutiertem A53T- α -Syn-Protein (grün) sowohl in der ipsilateralen SN als auch im ipsilateralen Striatum nachgewiesen werden, was auf einen Transport dieses Proteins entlang des nigrostriatalen Systems hinweist (Ip et al. 2017b). Mit der im Rahmen dieser Doktorarbeit durchgeführten TH/ α -Syn-Immunfluoreszenzdoppelfärbung konnte zum selben Zeitpunkt in der SN von mit AAV1/2-A53T- α -Syn behandelten Mäusen eine erfolgreiche Transfektion dopaminergener Neurone mit humanem mutiertem A53T- α -Syn und Produktion des A53T- α -Syn-Transgens durch dopaminerge Neurone dargestellt werden (Ip et al. 2017b). Darüber hinaus konnten in Bildvergrößerungen dieser doppelgefärbten dopaminergen Neurone in der SN Aggregate des humanen mutierten A53T- α -Syn-Proteins im Zytoplasma dieser Neurone festgestellt werden. Wie zu erwarten wurde 10 Wochen nach Injektion von AAV1/2-EV bei den Mäusen dieser Gruppe keine Expression von humanem A53T- α -Syn beobachtet (vgl. Abschnitt 3.2.2 und 3.3).

Diese Ergebnisse (Überexpression von A53T- α -Syn in dopaminergen Neuronen der SN, Transport dieses Proteins von der SN zum Striatum und damit Nachweis der Fähigkeit des Proteins entlang des nigrostriatalen Systems transportiert zu werden) stehen im Einklang mit den Ergebnissen des Rattenvorgängermodells des MP, das durch Injektion des gleichen AAV1/2-Vektors in die SN erzeugt wurde. Wie beim zugehörigen Rattenmodell konnte demnach gezeigt werden, dass auch bei Mäusen das AAV1/2-Konstrukt hinsichtlich der Transfektion dopaminergere Neurone der SN und seines Transports entlang des nigrostriatalen Systems sehr effektiv war (Koprach et al. 2010).

In den AAV- α -Syn-Modellen des MP gibt es eine hohe „construct validity“ (= Fähigkeit eines Modells, das zu messen, was es messen soll (Koprach et al. 2017)): Sie erzeugen Degeneration und Dysfunktion basierend auf den molekularen Kernmerkmalen der klinischen Erkrankung - Toxizität assoziiert mit Akkumulation von pathologischem α -Syn (Ip et al. 2017b). Die oben beschriebenen Aggregate von humanem mutiertem A53T- α -Syn-Protein im Zytoplasma dopaminergere Neurone der SN wurden durch die kanadischen Kooperationspartner näher analysiert: Es wurden histologische Goldstandard-Methoden (immunhistochemische Färbung mit spezifischen AK gegen in LK enthaltenes humanes α -Syn (LB509) nach Proteinase-K-Verdauung) zum definitiven Nachweis von pathologischem α -Syn oder LK/-Neuriten in der SN und anderen Strukturen (z.B. Amygdala, Locus coeruleus) angewandt (Beach et al. 2008; Neumann et al. 2004). Beim Menschen unterstützt ein positives Ergebnis in dieser Untersuchung die postmortale Diagnose von MP (Ip et al. 2017b). Beim Vergleich von mit dieser Methode gefärbten murinen und humanen Hirnschnitten zeigte sich in der vorliegenden Studie Folgendes: In der SN von Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe konnte auch nach Proteinase-K-Verdauung noch eine ausgeprägte Akkumulation von α -Syn in Strukturen, die sowohl Neuronen als auch Neuriten ähnelten, festgestellt werden. In den Gewebeschnitten des Patienten mit der nachgewiesenen Parkinson-Erkrankung konnten ebenfalls zahlreiche α -Syn⁺ Einschlüsse innerhalb melanisierter Neurone und das Vorhandensein von α -Syn⁺ Neuriten in der SN beobachtet werden. Darüber hinaus wurden α -Syn⁺ dystrophische Neuriten im Striatum von Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe nachgewiesen. Weder die altersentsprechende menschliche Kontrollprobe noch die murinen Kontrollproben der AAV1/2-EV-Gruppe zeigten nachweisbare Konzentrationen von α -Syn auf, was wahrscheinlich auf dem Abbau von physiologischem α -Syn durch Proteinase-K-Verdauung beruht (Ip et al. 2017b).

In dem auf AAV1/2-A53T- α -Syn basierenden Parkinson-Mausmodell dieser Arbeit konnte demnach gezeigt werden, dass sich in der SN Proteinase-K-resistente unlösliche α -Syn+ Strukturen entwickeln, die morphologische Ähnlichkeiten zur Lewy-Pathologie aufweisen, die beim Menschen beobachtet wird. Dies unterstreicht die histopathologische Ähnlichkeit der Aggregate in diesem Modell zu denen des menschlichen MP (Ip et al. 2017b). Auch wenn in anderen Parkinson-Mausmodellen ebenfalls intrazytoplasmatische α -Syn+ Aggregate nachgewiesen werden konnten, wurde deren histologische Unlöslichkeit und explizite morphologische Ähnlichkeit zur Lewy-Pathologie beim menschlichen MP nicht aufgezeigt (Oliveras-Salvá et al. 2013; Song et al. 2015).

In Studien konnte gezeigt werden, dass ein hoher Prozentsatz des in LK akkumulierten α -Syn am Serinrest an Position 129 (Ser-129) phosphoryliert ist. Diese Phosphorylierung gilt als typischer Marker für α -Synucleinopathien und fördert die Fibrillenbildung (Aggregation) (Fujiwara et al. 2002; Neumann et al. 2002; Anderson et al. 2006; Lue et al. 2012; Oliveras-Salvá et al. 2013). In einem transgenen Mausmodell für α -Synucleinopathie konnte zudem beobachtet werden, dass eine Fehlfaltung und Hyperphosphorylierung von α -Syn zu einer Dysfunktion der betroffenen Gehirnregionen mit fortschreitender Verschlechterung der Bewegungsabläufe führen kann (Neumann et al. 2002).

Die kanadischen Kooperationspartner untersuchten daher auch im AAV1/2-A53T- α -Syn-Mausmodell die Phosphorylierung von α -Syn am Serinrest an Position 129 durch immunhistochemische Färbungen (mit spezifischen AK gegen in LK enthaltenes phosphoryliertes α -Syn (81 A) nach Proteinase-K-Verdauung). In der SN von Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe fanden sich in der ipsilateralen Hemisphäre mehrere pSer129- α -Syn+ Zellen, die pSer129- α -Syn+ Zellen im Gehirn von Parkinson-Patienten ähnelten. Zudem konnten pSer129- α -Syn+ Lewy-ähnliche Neuriten sowohl in der SN von Mäusen der AAV1/2-A53T- α -Syn-Gruppe als auch in menschlichem Gewebe von Parkinson-Patienten beobachtet werden (Ip et al. 2017b). Dies hebt erneut die Authentizität pathologischer α -Syn-Aggregate und deren Ähnlichkeit zum Menschen in diesem Modell hervor.

Die Neuheit des AAV1/2-A53T- α -Syn-Parkinson-Mausmodells ist demzufolge das Auftreten von Strukturen, die morphologisch und histopathologisch LK und -Neuriten im menschlichen Gehirn von Parkinson-Erkrankten ähneln (Ip et al. 2017b) und zeigt damit die mögliche Übertragbarkeit des Modells auf den Menschen auf.

4.2.3. Limitationen/ Einschränkungen

Die Tatsache, dass die SN in 16,3% der Fälle verfehlt wurde, verdeutlicht, dass das Modell ein hohes Maß an Expertise erfordert, um AAV1/2 durch intrazerebrale Injektion in die SN der Mäuse verabreichen zu können (Ip et al. 2017b).

Jedes Projekt ist zeitlich und umfänglich limitiert, sodass auch in dieser Studie eine Fokussierung auf zentrale Kernmerkmale des MP zur Generierung und Charakterisierung des neuen Modells erforderlich waren und verschiedene weitere Aspekte keine Berücksichtigung finden konnten. Diese könnten jedoch Gegenstand von Folgeprojekten werden:

In den bisherigen auf viralen Vektoren basierenden α -Synucleinopathie-Modellen und auch im Modell dieser Dissertation ist die Degeneration auf Wege beschränkt, die vom Ort der Injektion (SN) ausgehen (d.h. typischerweise auf das nigrostriatale System, von dem angenommen wird, dass die meisten motorischen Symptome davon ausgehen). Dabei liegt eine unvollständige „face validity“ vor, da zwar motorische, aber keine nicht-motorischen Symptome des MP reproduziert werden. Dazu könnte die Applikation von viralen Vektoren in Bereiche außerhalb der SN/ des nigrostriatalen Systems erforderlich sein (Koprach et al. 2017).

Des Weiteren wurde die Reversibilität von Verhaltensdefiziten durch klinisch definierte Behandlungen (z.B. L-Dopa, Ropinirol) nicht untersucht und damit die prädiktive Validität des Modells noch nicht bestimmt (Ip et al. 2017b).

In Bezug auf das Untersuchungskollektiv ist anzumerken, dass in dieser Studie nur männliche Mäuse untersucht wurden. Der in der Einleitung erwähnte Einflussfaktor „Geschlecht“ auf die Häufigkeit der Erkrankung könnte in einer Folgestudie durch die Verwendung von männlichen und weiblichen C57BL/6-wt-Mäusen berücksichtigt werden, um eine potenzielle Beeinflussung der Ergebnisse durch einen Geschlechterunterschied sicher ausschließen zu können.

Eine weitere Einschränkung dieser Studie ist das Fehlen einer Kontrollgruppe, die ein Kontrollprotein exprimiert. Im AAV1/2-A53T- α -Syn-Rattenvorgängermodell des MP wurde gezeigt, dass ein hoher Titer von AAV1/2-GFP eine Neurodegeneration hervorrufen kann. Im Vergleich zu den mit AAV1/2-A53T- α -Syn behandelten Ratten war diese allerdings deutlich weniger ausgeprägt und es wurde zudem auch kein Verlust der striatalen TH-Immunreaktivität bei mit AAV1/2-GFP behandelten Ratten beobachtet, was darauf hindeutet, dass die Toxizität von AAV1/2-GFP nicht

für alle durch A53T- α -Syn verursachten Schäden verantwortlich war. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch im AAV1/2-A53T- α -Syn-Mausmodell der Untergang dopaminergener Neurone zumindest teilweise unabhängig vom pathologischen A53T- α -Syn ist (Koprach et al. 2010; Ip et al. 2017b). In einem Folgeprojekt sollte daher eine Kontrollgruppe implementiert werden, um einen eventuell durch generelle Proteinüberladung hervorgerufenen Schaden auszuschließen und zu zeigen, dass die hervorgerufenen Veränderungen ausschließlich auf α -Syn zurückzuführen sind.

Auch wenn im Rahmen dieses Projektes durch die kanadischen Kooperationspartner z.B. α -Syn (LB509)+ dystrophische Neuriten im Striatum von mit AAV1/2-A53T- α -Syn behandelten Mäusen nachgewiesen wurden, wurde z.B. der Nachweis von pathologischen, unlöslichen α -Syn-Ablagerungen in Präsynapsen - wie bei A53T- α -Syn transgenen Mäusen und der menschlichen LK-Erkrankung beobachtet (Tanji et al. 2010) - nicht thematisiert und könnte Gegenstand eines Folgeprojektes werden (Ip et al. 2017b).

4.3. Schlussfolgerung/ Bedeutung/ Ausblick

Entsprechend der eingangs aufgezeigten Zielsetzung dieser Arbeit ist es in Kooperation mit den kanadischen Kollegen erfolgreich gelungen das auf AAV1/2-A53T- α -Syn basierende Parkinson-Modell von der Ratten- und Affenspezies auf die Maus zu übertragen und ein neues Mausmodell, das auf einer durch AAV1/2 vermittelten Überexpression von humanem mutiertem A53T- α -Syn in der SN basiert, zu generieren und charakterisieren. Dieses neue AAV1/2-A53T- α -Syn-Parkinson-Mausmodell erfüllt mehrere Anforderungen, die an ein virales vektorvermitteltes Parkinson-Modell gestellt werden:

- anhaltende Produktion des Transgens in dopaminergen Neuronen
- Transport von AAV1/2-produziertem pathologischem α -Syn zum Striatum
- Degeneration des nigrostriatalen Systems
- histopathologische Ähnlichkeiten zum menschlichen MP (Lewy-ähnliche Pathologie)
- Verhaltensauffälligkeiten
- relativ kurzer Zeitrahmen zur Erzeugung von Verhaltensauffälligkeiten und postmortalen Endpunkten (innerhalb von 2 Monaten)

Es ist nach derzeitigem Kenntnisstand eines der wenigen Parkinson-Mausmodelle, das all diese Kriterien auf diese Weise erfüllt, und bietet nun die Möglichkeit weiter analysiert und auf transgene und knockout-Mäuse übertragen zu werden, um molekulare Mechanismen der Parkinson-Krankheit zu entschlüsseln und präklinische Tests von krankheitsmodifizierenden Therapien durchzuführen.

5. Zusammenfassung

Auch wenn die Ätiologie/ Pathophysiologie von MP bis heute nicht vollständig geklärt ist, scheint α -Syn als Hauptbestandteil der LK eine zentrale Rolle zu spielen.

Bei Ratten und Affen führte eine AAV1/2-vermittelte Überexpression von A53T- α -Syn zu einer Degeneration dopaminerger Neurone in der SN, einem striatalen dopaminergen Defizit sowie Verhaltensauffälligkeiten. In Anbetracht bestimmter Vorteile der Mauspezies (Möglichkeit der Genmanipulation), war es das Ziel dieser Doktorarbeit - die im Rahmen eines Projektes mit dem Toronto Western Research Institut in Ontario, Kanada entstanden ist - dieses auf AAV1/2-A53T- α -Syn basierende Parkinson-Modell auf Mäuse zu übertragen.

Dazu wurde AAV1/2-A53T- α -Syn oder leerer AAV1/2-Vektor in einer Dosis von 1,5 μ l mit einer Konzentration von $5,16 \times 10^{12}$ gp/ml stereotaktisch einseitig in die rechte SN von C57BL/6-wt-Mäusen injiziert. Über einen Zeitraum von 11 Wochen (2 Wochen prä- und 9 Wochen postoperativ) wurden verschiedene Verhaltensexperimente (RotaRod, Open Field, Apomorphin- und Zylindertest) durchgeführt und die beiden Versuchstiergruppen miteinander verglichen. Zu den post-mortem-Untersuchungen gehörten verschiedene immunhistochemische Färbungen, eine DAT-Autoradiographie und HPLC-Untersuchungen.

Es konnte gezeigt werden, dass die einseitige Injektion von AAV1/2-A53T- α -Syn in die SN bei Mäusen dieser Gruppe eine weit verbreitete Überexpression von A53T- α -Syn in dopaminergen Neuronen der SN induzierte, die innerhalb von 10 Wochen zu Degeneration des nigrostriatalen Systems (Untergang dopaminerger Neurone der SN, dopaminerges Faserverlust und Reduktion striataler Neurotransmitterspiegel sowie erhöhter DA-Umsatz im Striatum), Auftreten früher und persistierender motorischer Verhaltensauffälligkeiten (Asymmetrie bei der Benutzung der Vorderpfoten mit Präferenz für die rechte Seite im Zylindertest in der 5. und 9. postoperativen Woche) und Entwicklung einer Lewy-ähnlichen Pathologie (Akkumulation von humanen α -Syn⁺ Aggregaten in der SN und Vorhandensein von Strukturen, die morphologisch LK und -Neuriten im menschlichen Gehirn Parkinson-Erkrankter ähnelten) führte.

Durch die Generierung und Charakterisierung dieses neuen Parkinson-Mausmodells, das klinische und histopathologische Merkmale der menschlichen Er-

krankung widerspiegelt, besteht nun die Möglichkeit es weiterzuentwickeln und z.B. auf transgene und knockout-Mäuse zu übertragen, um u.a. molekulare Mechanismen der Parkinson-Krankheit zu entschlüsseln und präklinische Tests von krankheitsmodifizierenden Therapien durchzuführen.

Literaturverzeichnis

- Abeliovich, A., Y. Schmitz, I. Fariñas, D. Choi-Lundberg, W. H. Ho, P. E. Castillo, N. Shinsky, J. M. Verdugo, M. Armanini, A. Ryan, M. Hynes, H. Phillips, D. Sulzer und A. Rosenthal (2000). "Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system". In: *Neuron* 25.1, S. 239–252. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80886-7.
- AFFiRiS AG (2020). *The Lancet Neurology veröffentlicht positive Ergebnisse der Phase 1-Studie von AFFiRiS mit PD01A bei Parkinson-Patienten*. Zuletzt aufgerufen am 13.09.2020. URL: <https://www.dgap.de/dgap/News/corporate/the-lancet-neurology-veroeffentlicht-positive-ergebnisse-der-phase-studie-von-affiris-mit-pda-bei-parkinsonpatienten/?newsID=1353425>.
- Alam, Z. I., A. Jenner, S. E. Daniel, A. J. Lees, N. Cairns, C. D. Marsden, P. Jenner und B. Halliwell (1997). "Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: An apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra". In: *Journal of neurochemistry* 69.3, S. 1196–1203. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1997.69031196.x.
- Allen, Patricia J. und Andrew Feigin (2014). "Gene-based therapies in Parkinson's disease". In: *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 11.1, S. 60–67. ISSN: 1878-7479. DOI: 10.1007/s13311-013-0233-2.
- Allen Reish, Heather E. und David G. Standaert (2015). "Role of α -synuclein in inducing innate and adaptive immunity in Parkinson disease". In: *Journal of Parkinson's disease* 5.1, S. 1–19. DOI: 10.3233/JPD-140491.
- Anderson, John P., Donald E. Walker, Jason M. Goldstein, Rian de Laat, Kelly Banducci, Russell J. Caccavello, Robin Barbour, Jiping Huang, Kristin Kling, Michael Lee, Linnea Diep, Pamela S. Keim, Xiaofeng Shen, Tim Chataway, Michael G. Schlossmacher, Peter Seubert, Dale Schenk, Sukanto Sinha, Wei Ping Gai und Tamie J. Chilcote (2006). "Phosphorylation of Ser-129 is the dominant pathological modification of alpha-synuclein in familial and sporadic Lewy body disease". In: *The Journal of biological chemistry* 281.40, S. 29739–29752. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.M600933200.
- Andrew, R., D. G. Watson, S. A. Best, J. M. Midgley, H. Wenlong und R. K. Petty (1993). "The determination of hydroxydopamines and other trace amines in the urine of parkinsonian patients and normal controls". In: *Neurochemical research* 18.11, S. 1175–1177. ISSN: 0364-3190. DOI: 10.1007/BF00978370.
- Ascherio, Alberto und Caroline M. Tanner (2009). "Use of antihypertensives and the risk of Parkinson disease". In: *Neurology* 72.6, S. 578–579. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/01.wnl.0000344171.22760.24.
- Baba, Yasuhiko, Ataru Kuroiwa, Ryan J. Uitti, Zbigniew K. Wszolek und Tatsuo Yamada (2005). "Alterations of T-lymphocyte populations in Parkinson disease". In: *Parkinsonism & related disorders* 11.8, S. 493–498. ISSN: 1353-8020. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2005.07.005.
- Baldus, Julia, Alexej Ballhausen und Florian Beeres (2015). *Die Top-Themen zum Hammerexamen 2016/2017: Die wichtigsten Themen aus der beliebten*

AMBOSS-Bibliothek - Band 3, S. 69-74, Morbus Parkinson. Vierte Auflage. Köln: ©MIAMED GmbH.

- Banati, R. B., J. Gehrmann, P. Schubert und G. W. Kreutzberg (1993). "Cytotoxicity of microglia". In: *Glia* 7.1, S. 111–118. ISSN: 0894-1491. DOI: 10.1002/glia.440070117.
- Bartels, Anna L. und Klaus L. Leenders (2007). "Neuroinflammation in the pathophysiology of Parkinson's disease: Evidence from animal models to human in vivo studies with 11C-PK11195 PET". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 22.13, S. 1852–1856. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.21552.
- Bartels, Tim, Joanna G. Choi und Dennis J. Selkoe (2011). "α-Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation". In: *Nature* 477.7362, S. 107–110. ISSN: 0028-0836. DOI: 10.1038/nature10324.
- Bas, J., M. Calopa, M. Mestre, D. G. Molleví, B. Cutillas, S. Ambrosio und E. Buendia (2001). "Lymphocyte populations in Parkinson's disease and in rat models of parkinsonism". In: *Journal of neuroimmunology* 113.1, S. 146–152. ISSN: 0165-5728. DOI: 10.1016/s0165-5728(00)00422-7.
- Beach, Thomas G., Charles L. White, Ronald L. Hamilton, John E. Duda, Takeshi Iwatsubo, Dennis W. Dickson, James B. Leverenz, Federico Roncaroli, Manuel Buttini, Christa L. Hladik, Lucia I. Sue, Joseph V. Noorigian und Charles H. Adler (2008). "Evaluation of alpha-synuclein immunohistochemical methods used by invited experts". In: *Acta neuropathologica* 116.3, S. 277–288. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-008-0409-8.
- Beal, M. F. (2001). "Experimental models of Parkinson's disease". In: *Nature reviews. Neuroscience* 2.5, S. 325–334. ISSN: 1471-0048. DOI: 10.1038/35072550.
- Becker, Claudia, Susan S. Jick und Christoph R. Meier (2008). "Use of antihypertensives and the risk of Parkinson disease". In: *Neurology* 70.16 Pt 2, S. 1438–1444. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/01.wnl.0000303818.38960.44.
- Beitz, Janice M. (2014). "Parkinson's disease: A review". In: *Frontiers in bioscience (Scholar edition)* 6, S. 65–74. ISSN: 1945-0524. DOI: 10.2741/s415.
- Bekris, Lynn M., Ignacio F. Mata und Cyrus P. Zabetian (2010). "The genetics of Parkinson disease". In: *Journal of geriatric psychiatry and neurology* 23.4, S. 228–242. ISSN: 0891-9887. DOI: 10.1177/0891988710383572.
- Bendor, Jacob T., Todd P. Logan und Robert H. Edwards (2013). "The function of α-synuclein". In: *Neuron* 79.6, S. 1044–1066. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.09.004.
- Benner, Eric J., Rebecca Banerjee, Ashley D. Reynolds, Simon Sherman, Vladimir M. Pisarev, Vladislav Tshiperson, Craig Nemachek, Pawel Ciborowski, Serge Przedborski, R. Lee Mosley und Howard E. Gendelman (2008). "Nitrated alpha-synuclein immunity accelerates degeneration of nigral dopaminergic neurons". In: *PloS one* 3.1, e1376. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0001376.
- Benninghoff, Alfred, Detlev Drenckhahn, Jens Waschke und Esther Asan, Hrsg. (2008). *Taschenbuch Anatomie, 1. Auflage*. München: ©Elsevier GmbH, Urban & Fischer. ISBN: 978-3-437-41194-6.

- Bernheimer, H., W. Birkmayer, O. Hornykiewicz, K. Jellinger und F. Seitelberger (1973). "Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations". In: *Journal of the neurological sciences* 20.4, S. 415–455. DOI: 10.1016/0022-510x(73)90175-5.
- Berry, Alexander L. und Thomas Foltynie (2011). "Gene therapy: A viable therapeutic strategy for Parkinson's disease?" In: *Journal of neurology* 258.2, S. 179–188. ISSN: 1432-1459. DOI: 10.1007/s00415-010-5796-9.
- Betarbet, R., T. B. Sherer, G. MacKenzie, M. Garcia-Osuna, A. V. Panov und J. T. Greenamyre (2000). "Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease". In: *Nature neuroscience* 3.12, S. 1301–1306. ISSN: 1097-6256. DOI: 10.1038/81834.
- Betarbet, Ranjita, Todd B. Sherer und J. Timothy Greenamyre (2002). "Animal models of Parkinson's disease". In: *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 24.4, S. 308–318. ISSN: 0265-9247. DOI: 10.1002/bies.10067.
- Blandini, Fabio, Marie-Therese Armentero und Emilia Martignoni (2008). "The 6-hydroxydopamine model: News from the past". In: *Parkinsonism & related disorders* 14 Suppl 2, S124–9. ISSN: 1353-8020. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2008.04.015.
- Blesa, Javier, Sudarshan Phani, Vernice Jackson-Lewis und Serge Przedborski (2012). "Classic and new animal models of Parkinson's disease". In: *Journal of biomedicine & biotechnology* 2012, S. 845618. ISSN: 1110-7251. DOI: 10.1155/2012/845618.
- Block, Michelle L. und Jau-Shyong Hong (2005). "Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: Multiple triggers with a common mechanism". In: *Progress in neurobiology* 76.2, S. 77–98. ISSN: 1873-5118. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2005.06.004.
- Blum, D., S. Torch, N. Lambeng, M. Nissou, A. L. Benabid, R. Sadoul und J. M. Verna (2001). "Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: Contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease". In: *Progress in neurobiology* 65.2, S. 135–172. ISSN: 1873-5118. DOI: 10.1016/s0301-0082(01)00003-x.
- Böttner, Martina, Tobias Fricke, Melanie Müller, Martina Barrenschee, Günther Deuschl, Susanne A. Schneider, Jan-Hendrik Egberts, Thomas Becker, Annette Fritscher-Ravens, Mark Ellrichmann, Walter J. Schulz-Schaeffer und Thilo Wedel (2015). "Alpha-synuclein is associated with the synaptic vesicle apparatus in the human and rat enteric nervous system". In: *Brain research* 1614, S. 51–59. ISSN: 1872-6240. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.04.015.
- Bové, J. und C. Perier (2012). "Neurotoxin-based models of Parkinson's disease". In: *Neuroscience* 211, S. 51–76. ISSN: 1873-7544. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.10.057.
- Braak, H., E. Braak, D. Yilmazer, R. A. de Vos, E. N. Jansen, J. Bohl und K. Jellinger (1994). "Amygdala pathology in Parkinson's disease". In: *Acta neuropathologica* 88.6, S. 493–500. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/BF00296485.
- Braak, H., C. M. Müller, U. Rüb, H. Ackermann, H. Bratzke, R. A. I. de Vos und K. Del Tredici (2006). "Pathology associated with sporadic Parkinson's

- disease—where does it end?” In: *Journal of neural transmission. Supplementum* 70, S. 89–97. ISSN: 0303-6995. DOI: 10.1007/978-3-211-45295-0_15.
- Braak, H., U. Rüb, W. P. Gai und K. Del Tredici (2003a). “Idiopathic Parkinson’s disease: Possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen”. In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 110.5, S. 517–536. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-002-0808-2.
- Braak, H., U. Rüb, E. N. H. Jansen Steur, K. Del Tredici und R. A. I. de Vos (2005). “Cognitive status correlates with neuropathologic stage in Parkinson disease”. In: *Neurology* 64.8, S. 1404–1410. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/01.WNL.0000158422.41380.82.
- Braak, Heiko, Kelly Del Tredici, Hansjürgen Bratzke, John Hamm-Clement, Daniele Sandmann-Keil und Udo Rüb (2002). “Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson’s disease (preclinical and clinical stages)”. In: *Journal of neurology* 249 Suppl 3, S. III/1–5. ISSN: 1432-1459. DOI: 10.1007/s00415-002-1301-4.
- Braak, Heiko, Kelly Del Tredici, Udo Rüb, Rob A. I. de Vos, Ernst N. H. Jansen Steur und Eva Braak (2003b). “Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson’s disease”. In: *Neurobiology of aging* 24.2, S. 197–211. ISSN: 1558-1497. DOI: 10.1016/s0197-4580(02)00065-9.
- Braak, Heiko, Estifanos Ghebremedhin, Udo Rüb, Hansjürgen Bratzke und Kelly Del Tredici (2004). “Stages in the development of Parkinson’s disease-related pathology”. In: *Cell and tissue research* 318.1, S. 121–134. DOI: 10.1007/s00441-004-0956-9.
- Brochard, Vanessa, Béhazine Combadière, Annick Prigent, Yasmina Laouar, Aline Perrin, Virginie Beray-Berthat, Olivia Bonduelle, Daniel Alvarez-Fischer, Jacques Callebert, Jean-Marie Launay, Charles Duyckaerts, Richard A. Flavell, Etienne C. Hirsch und Stéphane Hunot (2009). “Infiltration of CD4+ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease”. In: *The Journal of clinical investigation* 119.1, S. 182–192. ISSN: 0021-9738. DOI: 10.1172/JCI36470.
- Brown, Terry P., Paul C. Rumsby, Alexander C. Capleton, Lesley Rushton und Leonard S. Levy (2006). “Pesticides and Parkinson’s disease—is there a link?” In: *Environmental health perspectives* 114.2, S. 156–164. ISSN: 1552-9924. DOI: 10.1289/ehp.8095.
- Brunk, Ulf T. und Alexei Terman (2002). “The mitochondrial-lysosomal axis theory of aging: Accumulation of damaged mitochondria as a result of imperfect autophagocytosis”. In: *European journal of biochemistry* 269.8, S. 1996–2002. ISSN: 0014-2956. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2002.02869.x.
- Burger, Corinna, Oleg S. Gorbatyuk, Margaret J. Velardo, Carmen S. Peden, Philip Williams, Sergei Zolotukhin, Paul J. Reier, Ronald J. Mandel und Nicholas Muzyczka (2004). “Recombinant AAV viral vectors pseudotyped with viral capsids from serotypes 1, 2, and 5 display differential efficiency and cell tropism after delivery to different regions of the central nervous system”. In: *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* 10.2, S. 302–317. ISSN: 1525-0024. DOI: 10.1016/j.ymthe.2004.05.024.

- Burré, Jacqueline, Manu Sharma, Theodoros Tsetsenis, Vladimir Buchman, Mark R. Etherton und Thomas C. Südhof (2010). "Alpha-synuclein promotes SNARE-complex assembly in vivo and in vitro". In: *Science (New York, N.Y.)* 329.5999, S. 1663–1667. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1195227.
- Campenhausen, Sonja von, Bernhard Bornschein, Regina Wick, Kai Bötzel, Cristina Sampaio, Werner Poewe, Wolfgang Oertel, Uwe Siebert, Karin Berger und Richard Dodel (2005). "Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe". In: *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 15.4, S. 473–490. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2005.04.007.
- Cao, Shuwen, Shaji Theodore und David G. Standaert (2010). "Fcγ receptors are required for NF-κB signaling, microglial activation and dopaminergic neurodegeneration in an AAV-synuclein mouse model of Parkinson's disease". In: *Molecular neurodegeneration* 5, S. 42. ISSN: 1750-1326. DOI: 10.1186/1750-1326-5-42.
- Carbone, F., A. Djamshidian, K. Seppi und W. Poewe (2019). "Apomorphine for Parkinson's Disease: Efficacy and Safety of Current and New Formulations". In: *CNS Drugs* 33.9, S. 905–918. DOI: 10.1007/s40263-019-00661-z.
- Cartelli, Daniele, Alessandro Aliverti, Alberto Barbiroli, Carlo Santambrogio, Enzo M. Ragg, Francesca V. M. Casagrande, Francesca Cantele, Silvia Beltramone, Jacopo Marangon, Carmelita de Gregorio, Vittorio Pandini, Marco Emanuele, Evelina Chierigatti, Stefano Pieraccini, Staffan Holmqvist, Luigi Bubacco, Laurent Roybon, Gianni Pezzoli, Rita Grandori, Isabelle Arnal und Graziella Cappelletti (2016). "α-Synuclein is a Novel Microtubule Dynamase". In: *Scientific reports* 6, S. 33289. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/srep33289.
- Cebrián, Carolina, Fabio A. Zucca, Pierluigi Mauri, Julius A. Steinbeck, Lorenz Studer, Clemens R. Scherzer, Ellen Kanter, Sadna Budhu, Jonathan Mandelbaum, Jean P. Vonsattel, Luigi Zecca, John D. Loike und David Sulzer (2014). "MHC-I expression renders catecholaminergic neurons susceptible to T-cell-mediated degeneration". In: *Nature communications* 5, S. 3633. ISSN: 2041-1723. DOI: 10.1038/ncomms4633.
- Chandra, Sreeranga, Francesco Fornai, Hyung-Bae Kwon, Umar Yazdani, Deniz Atasoy, Xinran Liu, Robert E. Hammer, Giuseppe Battaglia, Dwight C. German, Pablo E. Castillo und Thomas C. Südhof (2004). "Double-knockout mice for alpha- and beta-synucleins: Effect on synaptic functions". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101.41, S. 14966–14971. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.0406283101.
- Chartier-Harlin, Marie-Christine, Jennifer Kachergus, Christophe Roumier, Vincent Mouroux, Xavier Douay, Sarah Lincoln, Clotilde Levecque, Lydie Larvor, Joris Andrieux, Mary Hulihan, Nawal Waucquier, Luc Defebvre, Philippe Amouyel, Matthew Farrer und Alain Destée (2004). "Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease". In: *Lancet (London, England)* 364.9440, S. 1167–1169. ISSN: 0140-6736. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)17103-1.
- Chaturvedi, Rajnish K. und M. Flint Beal (2008). "Mitochondrial approaches for neuroprotection". In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1147, S. 395–412. ISSN: 0077-8923. DOI: 10.1196/annals.1427.027.

- Chaudhuri, K. Ray und Anthony H. V. Schapira (2009). "Non-motor symptoms of Parkinson's disease: Dopaminergic pathophysiology and treatment". In: *The Lancet. Neurology* 8.5, S. 464–474. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70068-7.
- Chen, Honglei, Eric Jacobs, Michael A. Schwarzschild, Marjorie L. McCullough, Eugenia E. Calle, Michael J. Thun und Alberto Ascherio (2005). "Nonsteroidal antiinflammatory drug use and the risk for Parkinson's disease". In: *Annals of neurology* 58.6, S. 963–967. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.20682.
- Chen, J. F., K. Xu, J. P. Petzer, R. Staal, Y. H. Xu, M. Beilstein, P. K. Sonsalla, K. Castagnoli, N. Castagnoli und M. A. Schwarzschild (2001). "Neuroprotection by caffeine and A(2A) adenosine receptor inactivation in a model of Parkinson's disease". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 21.10, RC143. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.21-10-j0001.2001.
- Cheng, Hsiao-Chun, Christina M. Ulane und Robert E. Burke (2010). "Clinical progression in Parkinson disease and the neurobiology of axons". In: *Annals of neurology* 67.6, S. 715–725. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.21995.
- Chesselet, Marie-Françoise und Franziska Richter (2011). "Modelling of Parkinson's disease in mice". In: *The Lancet. Neurology* 10.12, S. 1108–1118. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(11)70227-7.
- Choi, Bong-Kyu, Mal-Gi Choi, Jae-Yeol Kim, Yoosoo Yang, Ying Lai, Dae-Hyuk Kweon, Nam Ki Lee und Yeon-Kyun Shin (2013). "Large α -synuclein oligomers inhibit neuronal SNARE-mediated vesicle docking". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110.10, S. 4087–4092. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.1218424110.
- Choi, Sang H., Da Y. Lee, Eun S. Chung, Young B. Hong, Seung U. Kim und Byung K. Jin (2005). "Inhibition of thrombin-induced microglial activation and NADPH oxidase by minocycline protects dopaminergic neurons in the substantia nigra in vivo". In: *Journal of neurochemistry* 95.6, S. 1755–1765. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2005.03503.x.
- Chu, Yaping, Hemraj Dodiya, Patrick Aebischer, C. Warren Olanow und Jeffrey H. Kordower (2009). "Alterations in lysosomal and proteasomal markers in Parkinson's disease: Relationship to alpha-synuclein inclusions". In: *Neurobiology of disease* 35.3, S. 385–398. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.05.023.
- Chu, Yaping und Jeffrey H. Kordower (2007). "Age-associated increases of alpha-synuclein in monkeys and humans are associated with nigrostriatal dopamine depletion: Is this the target for Parkinson's disease?" In: *Neurobiology of disease* 25.1, S. 134–149. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2006.08.021.
- Chung, Chee Yeun, Vikram Khurana, Pavan K. Auluck, Daniel F. Tardiff, Joseph R. Mazzulli, Frank Soldner, Valeriya Baru, Yali Lou, Yelena Freyzon, Sukhee Cho, Alison E. Mungenast, Julien Muffat, Maisam Mitalipova, Michael D. Pluth, Nathan T. Jui, Birgitt Schüle, Stephen J. Lippard, Li-Huei Tsai, Dimitri Krainc, Stephen L. Buchwald, Rudolf Jaenisch und Susan Lindquist (2013). "Identification and rescue of α -synuclein toxicity in Parkinson patient-derived neurons". In: *Science (New York, N.Y.)* 342.6161, S. 983–987. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1245296.

- Chung, Chee Yeun, James B. Koprach, Hasan Siddiqi und Ole Isacson (2009). "Dynamic changes in presynaptic and axonal transport proteins combined with striatal neuroinflammation precede dopaminergic neuronal loss in a rat model of AAV alpha-synucleinopathy". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29.11, S. 3365–3373. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5427-08.2009.
- Cicchetti, Francesca, Nicolas Lapointe, Antoine Roberge-Tremblay, Martine Saint-Pierre, Lincoln Jimenez, Brooks W. Ficke und Robert E. Gross (2005). "Systemic exposure to paraquat and maneb models early Parkinson's disease in young adult rats". In: *Neurobiology of disease* 20.2, S. 360–371. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2005.03.018.
- Collier, Timothy J., Nicholas M. Kanaan und Jeffrey H. Kordower (2011). "Ageing as a primary risk factor for Parkinson's disease: Evidence from studies of non-human primates". In: *Nature reviews. Neuroscience* 12.6, S. 359–366. ISSN: 1471-0048. DOI: 10.1038/nrn3039.
- Collins-Praino, Lyndsey E., Nicholas E. Paul, Kristen L. Rychalsky, James R. Hinman, James J. Chrobak, Patrick B. Senatus und John D. Salamone (2011). "Pharmacological and physiological characterization of the tremulous jaw movement model of parkinsonian tremor: Potential insights into the pathophysiology of tremor". In: *Frontiers in systems neuroscience* 5, S. 49. ISSN: 1662-5137. DOI: 10.3389/fnsys.2011.00049.
- Conway, K. A., S. J. Lee, J. C. Rochet, T. T. Ding, R. E. Williamson und P. T. Lansbury (2000). "Acceleration of oligomerization, not fibrillization, is a shared property of both alpha-synuclein mutations linked to early-onset Parkinson's disease: Implications for pathogenesis and therapy". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97.2, S. 571–576. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.97.2.571.
- Conway, K. A., J. C. Rochet, R. M. Bieganski und P. T. Lansbury (2001). "Kinetic stabilization of the alpha-synuclein protofibril by a dopamine-alpha-synuclein adduct". In: *Science (New York, N.Y.)* 294.5545, S. 1346–1349. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1063522.
- Cooper, Antony A., Aaron D. Gitler, Anil Cashikar, Cole M. Haynes, Kathryn J. Hill, Bhupinder Bhullar, Kangning Liu, Kexiang Xu, Katherine E. Strathearn, Fang Liu, Songsong Cao, Kim A. Caldwell, Guy A. Caldwell, Gerald Marsischky, Richard D. Kolodner, Joshua Labaer, Jean-Christophe Rochet, Nancy M. Bonini und Susan Lindquist (2006). "Alpha-synuclein blocks ER-Golgi traffic and Rab1 rescues neuron loss in Parkinson's models". In: *Science (New York, N.Y.)* 313.5785, S. 324–328. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1129462.
- Cuervo, Ana Maria, Leonidas Stefanis, Ross Fredenburg, Peter T. Lansbury und David Sulzer (2004). "Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy". In: *Science (New York, N.Y.)* 305.5688, S. 1292–1295. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1101738.
- Curtius, H. C., M. Wolfensberger, B. Steinmann, U. Redweik und J. Siegfried (1974). "Mass fragmentography of dopamine and 6-hydroxydopamine. Application to the determination of dopamine in human brain biopsies from the caudate nucleus".

- In: *Journal of chromatography* 99.0, S. 529–540. DOI: 10.1016/s0021-9673(00)90882-3.
- Dalle-Donne, Isabella, Daniela Giustarini, Roberto Colombo, Ranieri Rossi und Aldo Milzani (2003). "Protein carbonylation in human diseases". In: *Trends in molecular medicine* 9.4, S. 169–176. ISSN: 1471-4914. DOI: 10.1016/s1471-4914(03)00031-5.
- Davey, G. P. und J. B. Clark (1996). "Threshold effects and control of oxidative phosphorylation in nonsynaptic rat brain mitochondria". In: *Journal of neurochemistry* 66.4, S. 1617–1624. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1996.66041617.x.
- Davidson, W. S., A. Jonas, D. F. Clayton und J. M. George (1998). "Stabilization of alpha-synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes". In: *The Journal of biological chemistry* 273.16, S. 9443–9449. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.273.16.9443.
- Davis, G. C., A. C. Williams, S. P. Markey, M. H. Ebert, E. D. Caine, C. M. Reichert und I. J. Kopin (1979). "Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues". In: *Psychiatry research* 1.3, S. 249–254. ISSN: 0165-1781. DOI: 10.1016/0165-1781(79)90006-4.
- Dawson, Ted M., Han Seok Ko und Valina L. Dawson (2010). "Genetic animal models of Parkinson's disease". In: *Neuron* 66.5, S. 646–661. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.04.034.
- Decressac, M., B. Mattsson, M. Lundblad, P. Weikop und A. Björklund (2012). "Progressive neurodegenerative and behavioural changes induced by AAV-mediated overexpression of α -synuclein in midbrain dopamine neurons". In: *Neurobiology of disease* 45.3, S. 939–953. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2011.12.013.
- Deuschl, Günther, Wolfgang Oertel und Heinz Reichmann (2016). *S3-Leitlinie: Idiopathisches Parkinson-Syndrom: Langversion - vollständig überarbeitet: 1. Januar 2016 - online auf www.dgn.org seit: 5. April 2016 - gültig bis: 31. Dezember 2020 - Kapitel: Extrapyramidalmotorische Störungen lt. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie*. Hrsg. von Deutsche Gesellschaft für Neurologie. Zuletzt aufgerufen am 13.09.2020. URL: https://www.dgn.org/images/red_leitlinien/LL_2016/PDFs_Download/030010_LL_langfassung_ips_2016.pdf.
- Devi, Latha, Vijayendran Raghavendran, Badanavalu M. Prabhu, Narayan G. Avadhani und Hindupur K. Anandatheerthavarada (2008). "Mitochondrial import and accumulation of alpha-synuclein impair complex I in human dopaminergic neuronal cultures and Parkinson disease brain". In: *The Journal of biological chemistry* 283.14, S. 9089–9100. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.M710012200.
- Dexter, D. T., C. J. Carter, F. R. Wells, F. Javoy-Agid, Y. Agid, A. Lees, P. Jenner und C. D. Marsden (1989a). "Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 52.2, S. 381–389. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1989.tb09133.x.
- Dexter, D. T., A. E. Holley, W. D. Flitter, T. F. Slater, F. R. Wells, S. E. Daniel, A. J. Lees, P. Jenner und C. D. Marsden (1994). "Increased levels of lipid hydroperoxides in the parkinsonian substantia nigra: An HPLC and ESR study".

- In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 9.1, S. 92–97. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.870090115.
- Dexter, D. T. und P. Jenner (2013). “Parkinson disease: From pathology to molecular disease mechanisms”. In: *Free radical biology & medicine* 62, S. 132–144. ISSN: 1873-4596. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.018.
- Dexter, D. T., F. R. Wells, A. J. Lees, F. Agid, Y. Agid, P. Jenner und C. D. Marsden (1989b). “Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson’s disease”. In: *Journal of neurochemistry* 52.6, S. 1830–1836. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1989.tb07264.x.
- Di Monte, Donato A. (2003). “The environment and Parkinson’s disease: Is the nigrostriatal system preferentially targeted by neurotoxins?” In: *The Lancet. Neurology* 2.9, S. 531–538. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/s1474-4422(03)00501-5.
- Di Monte, Donato A., Mitra Lavasani und Amy B. Manning-Bog (2002). “Environmental factors in Parkinson’s disease”. In: *Neurotoxicology* 23.4-5, S. 487–502. DOI: 10.1016/S0161-813X(02)00099-2.
- Dick, Finlay D. (2006). “Parkinson’s disease and pesticide exposures”. In: *British medical bulletin* 79-80, S. 219–231. ISSN: 0007-1420. DOI: 10.1093/bmb/ldl018.
- Dobbs, R. J., A. Charlett, A. G. Purkiss, S. M. Dobbs, C. Weller und D. W. Peterson (1999). “Association of circulating TNF-alpha and IL-6 with ageing and parkinsonism”. In: *Acta neurologica Scandinavica* 100.1, S. 34–41. ISSN: 0001-6314. DOI: 10.1111/j.1600-0404.1999.tb00721.x.
- Dong, Zhizhong, Boris Fergler, Joram Feldon und Hansruedi Büeler (2002). “Overexpression of Parkinson’s disease-associated alpha-synucleinA53T by recombinant adeno-associated virus in mice does not increase the vulnerability of dopaminergic neurons to MPTP”. In: *Journal of neurobiology* 53.1, S. 1–10. ISSN: 0022-3034. DOI: 10.1002/neu.10094.
- Dorsey, E. R., R. Constantinescu, J. P. Thompson, K. M. Biglan, R. G. Holloway, K. Kieburtz, F. J. Marshall, B. M. Ravina, G. Schifitto, A. Siderowf und C. M. Tanner (2007). “Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030”. In: *Neurology* 68.5, S. 384–386. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03.
- Dryanovski, Dilyan I., Jaime N. Guzman, Zhong Xie, Daniel J. Galteri, Laura A. Volpicelli-Daley, Virginia M-Y Lee, Richard J. Miller, Paul T. Schumacker und D. James Surmeier (2013). “Calcium entry and α -synuclein inclusions elevate dendritic mitochondrial oxidant stress in dopaminergic neurons”. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 33.24, S. 10154–10164. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5311-12.2013.
- Dumont, Magali und M. Flint Beal (2011). “Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease”. In: *Free radical biology & medicine* 51.5, S. 1014–1026. ISSN: 1873-4596. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.026.
- Duncan, Gordon W., Tien K. Khoo, Alison J. Yarnall, John T. O’Brien, Shirley Y. Coleman, David J. Brooks, Roger A. Barker und David J. Burn (2014). “Health-related quality of life in early Parkinson’s disease: The impact of nonmotor symptoms”. In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 29.2, S. 195–202. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.25664.

- Dunning, Christopher J. R., Juan F. Reyes, Jennifer A. Steiner und Patrik Brundin (2012). "Can Parkinson's disease pathology be propagated from one neuron to another?" In: *Progress in neurobiology* 97.2, S. 205–219. ISSN: 1873-5118. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2011.11.003.
- Elbaz, Alexis und Christine Tranchant (2007). "Epidemiologic studies of environmental exposures in Parkinson's disease". In: *Journal of the neurological sciences* 262.1-2, S. 37–44. DOI: 10.1016/j.jns.2007.06.024.
- Emmanouilidou, Evangelia, Leonidas Stefanis und Kostas Vekrellis (2010). "Cell-produced alpha-synuclein oligomers are targeted to, and impair, the 26S proteasome". In: *Neurobiology of aging* 31.6, S. 953–968. ISSN: 1558-1497. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2008.07.008.
- Eriksen, Jason L., Ted M. Dawson, Dennis W. Dickson und Leonard Petrucelli (2003). "Caught in the act: Alpha-synuclein is the culprit in Parkinson's disease". In: *Neuron* 40.3, S. 453–456. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/s0896-6273(03)00684-6.
- Eslamboli, Andisheh, Marina Romero-Ramos, Corinna Burger, Tomas Bjorklund, Nicholas Muzyczka, Ronald J. Mandel, Harry Baker, Rosalind M. Ridley und Deniz Kirik (2007). "Long-term consequences of human alpha-synuclein overexpression in the primate ventral midbrain". In: *Brain : a journal of neurology* 130.Pt 3, S. 799–815. ISSN: 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awl382.
- Fahn, S. und G. Cohen (1992). "The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: Evidence supporting it". In: *Annals of neurology* 32.6, S. 804–812. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.410320616.
- Fahn, S., R. Elton und members of the UPDRS committee. (1987). "Unified Parkinson's Disease Rating Scale." In: Bd. 2. Macmillan Healthcare Information, S. 153–163.
- Fahn, Stanley (2003). "Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome". In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 991, S. 1–14. ISSN: 0077-8923. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07458.x.
- Farrer, Matt, Jennifer Kachergus, Lysia Forno, Sarah Lincoln, Deng-Shun Wang, Mary Hulihan, Demetrius Maraganore, Katrina Gwinn-Hardy, Zbigniew Wszolek, Dennis Dickson und J. William Langston (2004). "Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications". In: *Annals of neurology* 55.2, S. 174–179. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.10846.
- Farrer, Matthew James (2006). "Genetics of Parkinson disease: Paradigm shifts and future prospects". In: *Nature reviews. Genetics* 7.4, S. 306–318. ISSN: 1471-0056. DOI: 10.1038/nrg1831.
- Fauvet, Bruno, Martial K. Mbefo, Mohamed-Bilal Fares, Carole Desobry, Sarah Michael, Mustafa T. Ardah, Elpida Tsika, Philippe Coune, Michel Prudent, Niels Lion, David Eliezer, Darren J. Moore, Bernard Schneider, Patrick Aebischer, Omar M. El-Agnaf, Eliezer Masliah und Hilal A. Lashuel (2012). "α-Synuclein in central nervous system and from erythrocytes, mammalian cells, and *Escherichia coli* exists predominantly as disordered monomer". In: *The Journal of biological chemistry* 287.19, S. 15345–15364. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.M111.318949.

- Ferreira, J. J., R. Katzenschlager, B. R. Bloem, U. Bonuccelli, D. Burn, G. Deuschl, E. Dietrichs, G. Fabbrini, A. Friedman, P. Kanovsky, V. Kostic, A. Nieuwboer, P. Odin, W. Poewe, O. Rascol, C. Sampaio, M. Schüpbach, E. Tolosa, C. Trenkwalder, A. Schapira, A. Berardelli und W. H. Oertel (2013). "Summary of the recommendations of the EFNS/MDS-ES review on therapeutic management of Parkinson's disease". In: *European journal of neurology* 20.1, S. 5–15. ISSN: 1468-1331. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2012.03866.x.
- Fiszer, U., E. Mix, S. Fredrikson, V. Kostulas und H. Link (1994a). "Parkinson's disease and immunological abnormalities: Increase of HLA-DR expression on monocytes in cerebrospinal fluid and of CD45RO+ T cells in peripheral blood". In: *Acta neurologica Scandinavica* 90.3, S. 160–166. ISSN: 0001-6314. DOI: 10.1111/j.1600-0404.1994.tb02699.x.
- Fiszer, U., E. Mix, S. Fredrikson, V. Kostulas, T. Olsson und H. Link (1994b). "gamma delta+ T cells are increased in patients with Parkinson's disease". In: *Journal of the neurological sciences* 121.1, S. 39–45. DOI: 10.1016/0022-510x(94)90154-6.
- Fornai, Francesco, Paola Lenzi, Marco Gesi, Michela Ferrucci, Gloria Lazzeri, Carla L. Busceti, Riccardo Ruffoli, Paola Soldani, Stefano Ruggieri, Maria G. Alessandri und Antonio Paparelli (2003). "Fine structure and biochemical mechanisms underlying nigrostriatal inclusions and cell death after proteasome inhibition". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 23.26, S. 8955–8966. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-26-08955.2003.
- Fox, Susan H. (2013). "Non-dopaminergic treatments for motor control in Parkinson's disease". In: *Drugs* 73.13, S. 1405–1415. ISSN: 1179-1950. DOI: 10.1007/s40265-013-0105-4.
- Frank, Christopher, Giovanna Pari und John P. Rossiter (2006). "Approach to diagnosis of Parkinson disease". In: *Canadian family physician Medecin de famille canadien* 52. PMID: 16893149, S. 862–868.
- Freire, Carmen und Sergio Koifman (2012). "Pesticide exposure and Parkinson's disease: Epidemiological evidence of association". In: *Neurotoxicology* 33.5, S. 947–971. DOI: 10.1016/j.neuro.2012.05.011.
- Fuchs, J., C. Nilsson, J. Kachergus, M. Munz, E-M Larsson, B. Schüle, J. W. Langston, F. A. Middleton, O. A. Ross, M. Hulihan, T. Gasser und M. J. Farrer (2007). "Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication". In: *Neurology* 68.12, S. 916–922. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/01.wnl.0000254458.17630.c5.
- Fujiwara, Hideo, Masato Hasegawa, Naoshi Dohmae, Akiko Kawashima, Eliezer Masliah, Matthew S. Goldberg, Jie Shen, Koji Takio und Takeshi Iwatsubo (2002). "alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions". In: *Nature cell biology* 4.2, S. 160–164. ISSN: 1465-7392. DOI: 10.1038/ncb748.
- Gagne, Joshua J. und Melinda C. Power (2010). "Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: A meta-analysis". In: *Neurology* 74.12, S. 995–1002. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181d5a4a3.
- Gao, Hui-Ming und Jau-Shyong Hong (2008). "Why neurodegenerative diseases are progressive: Uncontrolled inflammation drives disease progression". In:

- Trends in immunology* 29.8, S. 357–365. ISSN: 1471-4906. DOI: 10.1016/j.it.2008.05.002.
- Gao, Hui-Ming, Paul T. Kotzbauer, Kunihiro Uryu, Susan Leight, John Q. Trojanowski und Virginia M-Y Lee (2008). “Neuroinflammation and oxidation/nitration of alpha-synuclein linked to dopaminergic neurodegeneration”. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 28.30, S. 7687–7698. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0143-07.2008.
- Gazewood, John D., D. Roxanne Richards und Karl Clebak (2013). “Parkinson disease: An update”. In: *American family physician* 87.4. PMID: 23418798, S. 267–273. ISSN: 1532-0650.
- Gelb, D. J., E. Oliver und S. Gilman (1999). “Diagnostic criteria for Parkinson disease”. In: *Archives of neurology* 56.1, S. 33–39. ISSN: 0003-9942. DOI: 10.1001/archneur.56.1.33.
- Gerard, Melanie, Angélique Deleersnijder, Veronique Daniëls, Sarah Schreurs, Sebastian Munck, Veerle Reumers, Hans Pottel, Yves Engelborghs, Chris van den Haute, Jean-Marc Taymans, Zeger Debyser und Veerle Baekelandt (2010). “Inhibition of FK506 binding proteins reduces alpha-synuclein aggregation and Parkinson’s disease-like pathology”. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 30.7, S. 2454–2463. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5983-09.2010.
- Gerlach, Manfred, Kay L. Double, Dorit Ben-Shachar, Luigi Zecca, Moussa B. H. Youdim und Peter Riederer (2003). “Neuromelanin and its interaction with iron as a potential risk factor for dopaminergic neurodegeneration underlying Parkinson’s disease”. In: *Neurotoxicity research* 5.1-2, S. 35–44. ISSN: 1476-3524. DOI: 10.1007/BF03033371.
- German, D. C. und K. F. Manaye (1993). “Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9, and A10): Three-dimensional reconstruction in the rat”. In: *The Journal of comparative neurology* 331.3, S. 297–309. ISSN: 0021-9967. DOI: 10.1002/cne.903310302.
- Giasson, B. I., J. E. Duda, I. V. Murray, Q. Chen, J. M. Souza, H. I. Hurtig, H. Ischiropoulos, J. Q. Trojanowski und V. M. Lee (2000). “Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleinopathy lesions”. In: *Science (New York, N.Y.)* 290.5493, S. 985–989. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.290.5493.985.
- Giasson, Benoit I., Mark S. Forman, Makoto Higuchi, Lawrence I. Golbe, Charles L. Graves, Paul T. Kotzbauer, John Q. Trojanowski und Virginia M-Y Lee (2003). “Initiation and synergistic fibrillization of tau and alpha-synuclein”. In: *Science (New York, N.Y.)* 300.5619, S. 636–640. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1082324.
- Giasson, Benoit I. und Virginia M-Y Lee (2003). “Are ubiquitination pathways central to Parkinson’s disease?” In: *Cell* 114.1, S. 1–8. ISSN: 1097-4172. DOI: 10.1016/s0092-8674(03)00509-9.
- Gibb, W. R. und A. J. Lees (1988). “The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson’s disease”. In: *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 51.6, S. 745–752. ISSN: 0022-3050. DOI: 10.1136/jnnp.51.6.745.

- Gitler, Aaron D., Brooke J. Bevis, James Shorter, Katherine E. Strathearn, Shusei Hamamichi, Linhui Julie Su, Kim A. Caldwell, Guy A. Caldwell, Jean-Christophe Rochet, J. Michael McCaffery, Charles Barlowe und Susan Lindquist (2008). "The Parkinson's disease protein alpha-synuclein disrupts cellular Rab homeostasis". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105.1, S. 145–150. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.0710685105.
- Glajch, Kelly E., Sheila M. Fleming, D. James Surmeier und Pavel Osten (2012). "Sensorimotor assessment of the unilateral 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease". In: *Behavioural brain research* 230.2, S. 309–316. ISSN: 0166-4328. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.12.007.
- Goedert, Michel, Florence Clavaguera und Markus Tolnay (2010). "The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases". In: *Trends in neurosciences* 33.7, S. 317–325. DOI: 10.1016/j.tins.2010.04.003.
- Goedert, Michel, Maria Grazia Spillantini, Kelly Del Tredici und Heiko Braak (2013). "100 years of Lewy pathology". In: *Nature reviews. Neurology* 9.1, S. 13–24. ISSN: 1759-4766. DOI: 10.1038/nrneuro1.2012.242.
- Goetz, Christopher G., Barbara C. Tilley, Stephanie R. Shaftman, Glenn T. Stebbins, Stanley Fahn, Pablo Martinez-Martin, Werner Poewe, Cristina Sampaio, Matthew B. Stern, Richard Dodel, Bruno Dubois, Robert Holloway, Joseph Jankovic, Jaime Kulisevsky, Anthony E. Lang, Andrew Lees, Sue Leurgans, Peter A. LeWitt, David Nyenhuis, C. Warren Olanow, Olivier Rascol, Anette Schrag, Jeanne A. Teresi, Jacobus J. van Hilten und Nancy LaPelle (2008). "Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 23.15, S. 2129–2170. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.22340.
- Goldknopf, Ira L., Essam A. Sheta, Jennifer Bryson, Brian Folsom, Chris Wilson, Jeff Duty, Albert A. Yen und Stanley H. Appel (2006). "Complement C3c and related protein biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease". In: *Biochemical and biophysical research communications* 342.4, S. 1034–1039. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.02.051.
- Goldman, S. M. und C. Tanner (1998). "Etiology of Parkinson's Disease". In: *Parkinson's Disease and Movement Disorders*. Bd. 30. Jankovic, J. und Tolosa, E., S. 133–158.
- González-Hernández, Tomás, Ignacio Cruz-Muros, Domingo Afonso-Oramas, Josmar Salas-Hernandez und Javier Castro-Hernandez (2010). "Vulnerability of mesostriatal dopaminergic neurons in Parkinson's disease". In: *Frontiers in neuroanatomy* 4, S. 140. ISSN: 1662-5129. DOI: 10.3389/fnana.2010.00140.
- Gorell, J. M., B. A. Rybicki, C. C. Johnson und E. L. Peterson (1999). "Smoking and Parkinson's disease: A dose-response relationship". In: *Neurology* 52.1, S. 115–119. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/wnl.52.1.115.
- Gowers, W. R. (1887). "A Manual of Diseases of the Nervous System." In: *Journal of Mental Science* 32.140, S. 594–596. DOI: 10.1192/bjp.32.140.594.
- Global Parkinson's Disease Survey Steering Committee (2002). "Factors impacting on quality of life in Parkinson's disease: Results from an international survey".

- In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 17.1, S. 60–67. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.10010.
- Grealish, Shane, Bengt Mattsson, Peter Draxler und Anders Björklund (2010). “Characterisation of behavioural and neurodegenerative changes induced by intranigral 6-hydroxydopamine lesions in a mouse model of Parkinson’s disease”. In: *The European journal of neuroscience* 31.12, S. 2266–2278. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2010.07265.x.
- Greenamyre, J. T., G. MacKenzie, T. I. Peng und S. E. Stephans (1999). “Mitochondrial dysfunction in Parkinson’s disease”. In: *Biochemical Society symposium* 66, S. 85–97. ISSN: 0067-8694. DOI: 10.1042/bss0660085.
- Greenbaum, Eric A., Charles L. Graves, Amanda J. Mishizen-Eberz, Michael A. Lupoli, David R. Lynch, S. Walter Englander, Paul H. Axelsen und Benoit I. Giasson (2005). “The E46K mutation in alpha-synuclein increases amyloid fibril formation”. In: *The Journal of biological chemistry* 280.9, S. 7800–7807. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.M411638200.
- Greten-Harrison, Becket, Manuela Polydoro, Megumi Morimoto-Tomita, Ling Diao, Andrew M. Williams, Esther H. Nie, Sachin Makani, Ning Tian, Pablo E. Castillo, Vladimir L. Buchman und Sreeranga S. Chandra (2010). “ $\alpha\beta\gamma$ -Synuclein triple knockout mice reveal age-dependent neuronal dysfunction”. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107.45, S. 19573–19578. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.1005005107.
- Guardia-Laguarta, Cristina, Estela Area-Gomez, Cornelia Rüb, Yuhui Liu, Jordi Magrané, Dorothea Becker, Wolfgang Voos, Eric A. Schon und Serge Przedborski (2014). “ α -Synuclein is localized to mitochondria-associated ER membranes”. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 34.1, S. 249–259. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2507-13.2014.
- Guo, Jing L., Dustin J. Covell, Joshua P. Daniels, Michiyo Iba, Anna Stieber, Bin Zhang, Dawn M. Riddle, Linda K. Kwong, Yan Xu, John Q. Trojanowski und Virginia M. Y. Lee (2013). “Distinct α -synuclein strains differentially promote tau inclusions in neurons”. In: *Cell* 154.1, S. 103–117. ISSN: 1097-4172. DOI: 10.1016/j.cell.2013.05.057.
- Gustavsson, Anders, Mikael Svensson, Frank Jacobi, Christer Allgulander, Jordi Alonso, Ettore Beghi, Richard Dodel, Mattias Ekman, Carlo Faravelli, Laura Fratiglioni, Brenda Gannon, David Hilton Jones, Poul Jennum, Alben Jordanova, Linus Jönsson, Korinna Karampampa, Martin Knapp, Gisela Kobelt, Tobias Kurth, Roselind Lieb, Mattias Linde, Christina Ljungcrantz, Andreas Maercker, Beatrice Melin, Massimo Moscarelli, Amir Musayev, Fiona Norwood, Martin Preisig, Maura Pugliatti, Juergen Rehm, Luis Salvador-Carulla, Brigitte Schlehofer, Roland Simon, Hans-Christoph Steinhausen, Lars Jacob Stovner, Jean-Michel Vallat, Peter van den Bergh, Jim van Os, Pieter Vos, Weili Xu, Hans-Ulrich Wittchen, Bengt Jönsson und Jes Olesen (2011). “Cost of disorders of the brain in Europe 2010”. In: *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 21.10, S. 718–779. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2011.08.008.

- Guzman, Jaime N., Javier Sánchez-Padilla, C. Savio Chan und D. James Surmeier (2009). "Robust pacemaking in substantia nigra dopaminergic neurons". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29.35, S. 11011–11019. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2519-09.2009.
- Hacke, Werner (2015). *Neurologie*. 14., überarbeitete Auflage. Berlin, Heidelberg: ©Springer-Verlag. ISBN: 978-3-662-46891-3.
- Halliwell, Barry (2006). "Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now?" In: *Journal of neurochemistry* 97.6, S. 1634–1658. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x.
- Hamilton, M. (1960). "A rating scale for depression". In: *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 23, S. 56–62. ISSN: 0022-3050. DOI: 10.1136/jnnp.23.1.56.
- Hanrott, Katharine, Louise Gudmunsen, Michael J. O'Neill und Susan Wonnacott (2006). "6-hydroxydopamine-induced apoptosis is mediated via extracellular auto-oxidation and caspase 3-dependent activation of protein kinase Cdelta". In: *The Journal of biological chemistry* 281.9, S. 5373–5382. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.M511560200.
- Harms, Ashley S., Shuwen Cao, Amber L. Rowse, Aaron D. Thome, Xinru Li, Leandra R. Mangieri, Randy Q. Cron, John J. Shacka, Chander Raman und David G. Standaert (2013). "MHCII is required for α -synuclein-induced activation of microglia, CD4 T cell proliferation, and dopaminergic neurodegeneration". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 33.23, S. 9592–9600. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5610-12.2013.
- Hastings, T. G., D. A. Lewis und M. J. Zigmond (1996). "Reactive dopamine metabolites and neurotoxicity: Implications for Parkinson's disease". In: *Advances in experimental medicine and biology* 387, S. 97–106. ISSN: 0065-2598. DOI: 10.1007/978-1-4757-9480-9_13.
- Hawkes, C. H., K. Del Tredici und H. Braak (2007). "Parkinson's disease: A dual-hit hypothesis". In: *Neuropathology and applied neurobiology* 33.6, S. 599–614. ISSN: 0305-1846. DOI: 10.1111/j.1365-2990.2007.00874.x.
- Hawkes, Christopher H., Kelly Del Tredici und Heiko Braak (2009). "Parkinson's disease: The dual hit theory revisited". In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1170, S. 615–622. ISSN: 0077-8923. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04365.x.
- Hayashita-Kinoh, Hiromi, Masanori Yamada, Takanori Yokota, Yoshikuni Mizuno und Hideki Mochizuki (2006). "Down-regulation of alpha-synuclein expression can rescue dopaminergic cells from cell death in the substantia nigra of Parkinson's disease rat model". In: *Biochemical and biophysical research communications* 341.4, S. 1088–1095. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.01.057.
- Henchcliffe, Claire und M. Flint Beal (2008). "Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis". In: *Nature clinical practice. Neurology* 4.11, S. 600–609. ISSN: 1745-8358. DOI: 10.1038/ncpneuro0924.
- Hernán, Miguel A., Bahi Takkouche, Francisco Caamaño-Isorna und Juan J. Gestal-Otero (2002). "A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and

- the risk of Parkinson's disease". In: *Annals of neurology* 52.3, S. 276–284. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.10277.
- Herrera, A. J., M. Tomás-Camardiel, J. L. Venero, J. Cano und A. Machado (2005). "Inflammatory process as a determinant factor for the degeneration of substantia nigra dopaminergic neurons". In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 112.1, S. 111–119. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-004-0121-3.
- Hestvik, Anne Lise K. (2010). "The double-edged sword of autoimmunity: Lessons from multiple sclerosis". In: *Toxins* 2.4, S. 856–877. DOI: 10.3390/toxins2040856.
- Hinault, Marie-Pierre, America Farina Henriquez Cuendet, Rayees U. H. Mattoo, Mounir Mensi, Giovanni Dietler, Hilal A. Lashuel und Pierre Goloubinoff (2010). "Stable alpha-synuclein oligomers strongly inhibit chaperone activity of the Hsp70 system by weak interactions with J-domain co-chaperones". In: *The Journal of biological chemistry* 285.49, S. 38173–38182. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.M110.127753.
- Hirsch, Etienne C. und Stéphane Hunot (2009). "Neuroinflammation in Parkinson's disease: A target for neuroprotection?" In: *The Lancet. Neurology* 8.4, S. 382–397. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70062-6.
- Hoehn, M. M. und M. D. Yahr (1967). "Parkinsonism: Onset, progression and mortality". In: *Neurology* 17.5, S. 427–442. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/wnl.17.5.427.
- Holmqvist, Staffan, Oldrisk Chutna, Luc Bousset, Patrick Aldrin-Kirk, Wen Li, Tomas Björklund, Zhan-You Wang, Laurent Roybon, Ronald Melki und Jia-Yi Li (2014). "Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats". In: *Acta neuropathologica* 128.6, S. 805–820. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-014-1343-6.
- Hsu, L. J., Y. Sagara, A. Arroyo, E. Rockenstein, A. Sisk, M. Mallory, J. Wong, T. Takenouchi, M. Hashimoto und E. Masliah (2000). "alpha-synuclein promotes mitochondrial deficit and oxidative stress". In: *The American journal of pathology* 157.2, S. 401–410. ISSN: 0002-9440. DOI: 10.1016/s0002-9440(10)64553-1.
- Hubble, J. P., T. Cao, R. E. Hassanein, J. S. Neuberger und W. C. Koller (1993). "Risk factors for Parkinson's disease". In: *Neurology* 43.9, S. 1693–1697. ISSN: 0028-3878. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.43.9.1693>.
- Hughes, A. J., S. E. Daniel, L. Kilford und A. J. Lees (1992). "Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: A clinico-pathological study of 100 cases". In: *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 55.3, S. 181–184. ISSN: 0022-3050. DOI: 10.1136/jnnp.55.3.181.
- Hunot, S., N. Dugas, B. Faucheux, A. Hartmann, M. Tardieu, P. Debré, Y. Agid, B. Dugas und E. C. Hirsch (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". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 19.9, S. 3440–3447. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-09-03440.1999.
- Iancu, Ruxandra, Paul Mohapel, Patrik Brundin und Gesine Paul (2005). "Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease

- in mice". In: *Behavioural brain research* 162.1, S. 1–10. ISSN: 0166-4328. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.02.023.
- Ibáñez, P., A-M Bonnet, B. Débarges, E. Lohmann, F. Tison, P. Pollak, Y. Agid, A. Dürr und A. Brice (2004). "Causal relation between alpha-synuclein gene duplication and familial Parkinson's disease". In: *Lancet (London, England)* 364.9440, S. 1169–1171. ISSN: 0140-6736. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)17104-3.
- Ibáñez, Pablo, Suzanne Lesage, Sabine Janin, Ebba Lohmann, Frank Durif, Alain Destée, Anne-Marie Bonnet, Christine Brefel-Courbon, Simon Heath, Diana Zelenika, Yves Agid, Alexandra Dürr und Alexis Brice (2009). "Alpha-synuclein gene rearrangements in dominantly inherited parkinsonism: Frequency, phenotype, and mechanisms". In: *Archives of neurology* 66.1, S. 102–108. ISSN: 0003-9942. DOI: 10.1001/archneurol.2008.555.
- Ilić, T., M. Jovanović, A. Jovčić und M. Tomović (1998). "Oxidative stress and Parkinson's disease". In: *Vojnosanitetski pregled* 55.5, S. 463–468. ISSN: 0042-8450. DOI: 10.3389/fnana.2015.00091.
- Imamura, Kazuhiro, Nozomi Hishikawa, Makoto Sawada, Toshiharu Nagatsu, Mari Yoshida und Yoshio Hashizume (2003). "Distribution of major histocompatibility complex class II-positive microglia and cytokine profile of Parkinson's disease brains". In: *Acta neuropathologica* 106.6, S. 518–526. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-003-0766-2.
- Ip, Chi Wang, Sandra K. Beck und Jens Volkmann (2015). "Lymphocytes reduce nigrostriatal deficits in the 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease". In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 122.12, S. 1633–1643. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-015-1444-y.
- Ip, Chi Wang, David Cheong und Jens Volkmann (2017a). "Stereological Estimation of Dopaminergic Neuron Number in the Mouse Substantia Nigra Using the Optical Fractionator and Standard Microscopy Equipment". In: *Journal of visualized experiments : JoVE* 127. DOI: 10.3791/56103.
- Ip, Chi Wang, Laura-Christin Klaus, Akua A. Karikari, Naomi P. Visanji, Jonathan M. Brotchie, Anthony E. Lang, Jens Volkmann und James B. Koprach (2017b). "AAV1/2-induced overexpression of A53T- α -synuclein in the substantia nigra results in degeneration of the nigrostriatal system with Lewy-like pathology and motor impairment: A new mouse model for Parkinson's disease". In: *Acta Neuropathologica Communications* 5.1, S. 11. ISSN: 2051-5960. DOI: 10.1186/s40478-017-0416-x.
- Iwai, A., E. Masliah, M. Yoshimoto, N. Ge, L. Flanagan, H. A. de Silva, A. Kittel und T. Saitoh (1995). "The precursor protein of non-A beta component of Alzheimer's disease amyloid is a presynaptic protein of the central nervous system". In: *Neuron* 14.2, S. 467–475. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/0896-6273(95)90302-x.
- Jakes, R., M. G. Spillantini und M. Goedert (1994). "Identification of two distinct synucleins from human brain". In: *FEBS letters* 345.1, S. 27–32. ISSN: 0014-5793. DOI: 10.1016/0014-5793(94)00395-5.
- Janetzky, B., S. Hauck, M. B. Youdim, P. Riederer, K. Jellinger, F. Pantucek, R. Zöchling, K. W. Boissl und H. Reichmann (1994). "Unaltered aconitase activity,

- but decreased complex I activity in substantia nigra pars compacta of patients with Parkinson's disease". In: *Neuroscience letters* 169.1-2, S. 126–128. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/0304-3940(94)90372-7.
- Jellinger, K., L. Linert, E. Kienzl, E. Herlinger und M. B. Youdim (1995). "Chemical evidence for 6-hydroxydopamine to be an endogenous toxic factor in the pathogenesis of Parkinson's disease". In: *Journal of neural transmission. Supplementum* 46. PMID: 8821067, S. 297–314. ISSN: 0303-6995.
- Jellinger, Kurt A. (2009). "A critical evaluation of current staging of alpha-synuclein pathology in Lewy body disorders". In: *Biochimica et biophysica acta* 1792.7, S. 730–740. ISSN: 0006-3002. DOI: 10.1016/j.bbadis.2008.07.006.
- Jenner, Peter (2003). "Oxidative stress in Parkinson's disease". In: *Annals of neurology* 53 Suppl 3, S26–36, discussion S36–8. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.10483.
- Kahle, Philipp J. (2008). "alpha-Synucleinopathy models and human neuropathology: Similarities and differences". In: *Acta neuropathologica* 115.1, S. 87–95. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-007-0302-x.
- Kalaitzakis, M. E., M. B. Graeber, S. M. Gentleman und R. K. B. Pearce (2008). "The dorsal motor nucleus of the vagus is not an obligatory trigger site of Parkinson's disease: A critical analysis of alpha-synuclein staging". In: *Neuropathology and applied neurobiology* 34.3, S. 284–295. ISSN: 0305-1846. DOI: 10.1111/j.1365-2990.2007.00923.x.
- Kalbe, Elke, Pasquale Calabrese, Nils Kohn, Rüdiger Hilker, Oliver Riedel, Hans-Ulrich Wittchen, Richard Dodel, Jörg Otto, Georg Ebersbach und Josef Kessler (2008). "Screening for cognitive deficits in Parkinson's disease with the Parkinson neuropsychometric dementia assessment (PANDA) instrument". In: *Parkinsonism & related disorders* 14.2, S. 93–101. ISSN: 1353-8020. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2007.06.008.
- Kalia, Lorraine V. und Anthony E. Lang (2015). "Parkinson's disease". In: *Lancet (London, England)* 386.9996, S. 896–912. ISSN: 0140-6736. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61393-3.
- Kammermeier, Stefan (2012). *Last Minute Neurologie*. 1. Auflage. München: ©Elsevier GmbH, Urban & Fischer. ISBN: 978-3-437-43014-5.
- Katzenschlager, Regina, Werner Poewe, Olivier Rascol, Claudia Trenkwalder, Günther Deuschl, Kallol Ray Chaudhuri, Tove Henriksen, Teus van Laar, Kevin Spivey, Senthil Vel, Harry Staines und Andrew Lees (2018). "Apomorphine subcutaneous infusion in patients with Parkinson's disease with persistent motor fluctuations (TOLEDO): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial". In: *The Lancet Neurology* 17. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30239-4.
- Kaur, Deepinder, Ferda Yantiri, Subramanian Rajagopalan, Jyothi Kumar, Jun Qin Mo, Rapee Boonplueang, Veena Viswanath, Russell Jacobs, Lichuan Yang, M. Flint Beal, Dino DiMonte, Irene Volitaskis, Lisa Ellerby, Robert A. Cherny, Ashley I. Bush und Julie K. Andersen (2003). "Genetic or pharmacological iron chelation prevents MPTP-induced neurotoxicity in vivo: A novel therapy for Parkinson's disease". In: *Neuron* 37.6, S. 899–909. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/s0896-6273(03)00126-0.

- Keeney, Paula M., Jing Xie, Roderick A. Capaldi und James P. Bennett (2006). "Parkinson's disease brain mitochondrial complex I has oxidatively damaged subunits and is functionally impaired and misassembled". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 26.19, S. 5256–5264. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0984-06.2006.
- Kempster, Peter A., Sean S. O'Sullivan, Janice L. Holton, Tamas Revesz und Andrew J. Lees (2010). "Relationships between age and late progression of Parkinson's disease: A clinico-pathological study". In: *Brain : a journal of neurology* 133.Pt 6, S. 1755–1762. ISSN: 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awq059.
- Kim, Changyoun, Edward Rockenstein, Brian Spencer, Hyung-Koo Kim, Anthony Adame, Margarita Trejo, Klodjan Stafa, He-Jin Lee, Seung-Jae Lee und Eliezer Masliah (2015). "Antagonizing Neuronal Toll-like Receptor 2 Prevents Synucleinopathy by Activating Autophagy". In: *Cell reports* 13.4, S. 771–782. ISSN: 2211-1247. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.09.044.
- Kirik, D., C. Rosenblad und A. Björklund (1998). "Characterization of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat". In: *Experimental neurology* 152.2, S. 259–277. ISSN: 0014-4886. DOI: 10.1006/exnr.1998.6848.
- Kirik, Deniz, Lucy E. Annett, Corinna Burger, Nicholas Muzyczka, Ronald J. Mandel und Anders Björklund (2003). "Nigrostriatal alpha-synucleinopathy induced by viral vector-mediated overexpression of human alpha-synuclein: A new primate model of Parkinson's disease". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100.5, S. 2884–2889. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.0536383100.
- Kirik, Deniz, Carl Rosenblad, Corinna Burger, Cecilia Lundberg, Teit E. Johansen, Nicholas Muzyczka, Ronald J. Mandel und Anders Björklund (2002). "Parkinson-like neurodegeneration induced by targeted overexpression of alpha-synuclein in the nigrostriatal system". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22.7, S. 2780–2791. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-07-02780.2002.
- Kiyohara, Chikako und Shota Kusuvara (2011). "Cigarette smoking and Parkinson's disease: A meta-analysis". In: *Fukuoka igaku zasshi = Hukuoka acta medica* 102.8. PMID: 21966751, S. 254–265.
- Klein, Ronald L., Michael A. King, Mary E. Hamby und Edwin M. Meyer (2002). "Dopaminergic cell loss induced by human A30P alpha-synuclein gene transfer to the rat substantia nigra". In: *Human gene therapy* 13.5, S. 605–612. ISSN: 1043-0342. DOI: 10.1089/10430340252837206.
- Koprach, James B., Tom H. Johnston, Philippe Huot, M. Gabriela Reyes, Maria Espinosa und Jonathan M. Brotchie (2011). "Progressive neurodegeneration or endogenous compensation in an animal model of Parkinson's disease produced by decreasing doses of alpha-synuclein". In: *PloS one* 6.3, e17698. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0017698.
- Koprach, James B., Tom H. Johnston, Gabriela Reyes, Vanessa Omana und Jonathan M. Brotchie (2016). "Towards a Non-Human Primate Model of Alpha-Synucleinopathy for Development of Therapeutics for Parkinson's Disease:

- Optimization of AAV1/2 Delivery Parameters to Drive Sustained Expression of Alpha Synuclein and Dopaminergic Degeneration in Macaque”. In: *PloS one* 11.11, e0167235. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0167235.
- Koprich, James B., Tom H. Johnston, M. Gabriela Reyes, Xuan Sun und Jonathan M. Brotchie (2010). “Expression of human A53T alpha-synuclein in the rat substantia nigra using a novel AAV1/2 vector produces a rapidly evolving pathology with protein aggregation, dystrophic neurite architecture and nigrostriatal degeneration with potential to model the pathology of Parkinson’s disease”. In: *Molecular neurodegeneration* 5, S. 43. ISSN: 1750-1326. DOI: 10.1186/1750-1326-5-43.
- Koprich, James B., Lorraine V. Kalia und Jonathan M. Brotchie (2017). “Animal models of α -synucleinopathy for Parkinson disease drug development”. In: *Nature reviews. Neuroscience* 18.9, S. 515–529. ISSN: 1471-0048. DOI: 10.1038/nrn.2017.75.
- Kordower, Jeffrey H., C. Warren Olanow, Hemraj B. Dodiya, Yaping Chu, Thomas G. Beach, Charles H. Adler, Glenda M. Halliday und Raymond T. Bartus (2013). “Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson’s disease”. In: *Brain : a journal of neurology* 136.Pt 8, S. 2419–2431. ISSN: 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awt192.
- Kowall, N. W., P. Hantraye, E. Brouillet, M. F. Beal, A. C. McKee und R. J. Ferrante (2000). “MPTP induces alpha-synuclein aggregation in the substantia nigra of baboons”. In: *Neuroreport* 11.1, S. 211–213. ISSN: 0959-4965. DOI: 10.1097/00001756-200001170-00041.
- Krüger, R., W. Kuhn, T. Müller, D. Voitalla, M. Graeber, S. Kösel, H. Przuntek, J. T. Epplen, L. Schöls und O. Riess (1998). “Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson’s disease”. In: *Nature genetics* 18.2, S. 106–108. ISSN: 1546-1718. DOI: 10.1038/ng0298-106.
- Kupsch, Andreas, Werner Schmidt, Zemfira Gizatullina, Grazyna Debska-Vielhaber, Jürgen Voges, Frank Striggow, Patricia Panther, Herbert Schwegler, Hans-Jochen Heinze, Stefan Vielhaber und Frank Gellerich (2014). “6-Hydroxydopamine impairs mitochondrial function in the rat model of Parkinson’s disease: Respirometric, histological, and behavioral analyses”. In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 121.10, S. 1245–1257. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-014-1185-3.
- Lai, Ying, Sunae Kim, Jobin Varkey, Xiaochu Lou, Jae-Kyun Song, Jiajie Diao, Ralf Langen und Yeon-Kyun Shin (2014). “Nonaggregated α -synuclein influences SNARE-dependent vesicle docking via membrane binding”. In: *Biochemistry* 53.24, S. 3889–3896. ISSN: 1520-4995. DOI: 10.1021/bi5002536.
- Langston, J. W., P. Ballard, J. W. Tetrud und I. Irwin (1983). “Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis”. In: *Science (New York, N.Y.)* 219.4587, S. 979–980. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.6823561.
- Langston, J. W., I. Irwin, E. B. Langston und L. S. Forno (1984). “1-Methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺): Identification of a metabolite of MPTP, a toxin selective to the substantia nigra”. In: *Neuroscience letters* 48.1, S. 87–92. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/0304-3940(84)90293-3.

- Lau, Lonneke M. L. de und Monique M. B. Breteler (2006). "Epidemiology of Parkinson's disease". In: *The Lancet. Neurology* 5.6, S. 525–535. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9.
- Lauwers, Erwin, Dirk Bequé, Koen van Laere, Johan Nuyts, Guy Bormans, Luc Mortelmans, Cindy Casteels, Linda Vercaemmen, Olivier Bockstael, Bart Nuttin, Zeger Debyser und Veerle Baekelandt (2007). "Non-invasive imaging of neuropathology in a rat model of alpha-synuclein overexpression". In: *Neurobiology of aging* 28.2, S. 248–257. ISSN: 1558-1497. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2005.12.005.
- Lauwers, Erwin, Zeger Debyser, Jo van Dorpe, Bart de Strooper, Bart Nuttin und Veerle Baekelandt (2003). "Neuropathology and neurodegeneration in rodent brain induced by lentiviral vector-mediated overexpression of alpha-synuclein". In: *Brain pathology (Zurich, Switzerland)* 13.3, S. 364–372. ISSN: 1015-6305. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2003.tb00035.x.
- Lee, Virginia M-Y und John Q. Trojanowski (2006). "Mechanisms of Parkinson's disease linked to pathological alpha-synuclein: New targets for drug discovery". In: *Neuron* 52.1, S. 33–38. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2006.09.026.
- Lees, Andrew J. (2007). "Unresolved issues relating to the shaking palsy on the celebration of James Parkinson's 250th birthday". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 22 Suppl 17, S327–34. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.21684.
- Lew, Mark (2007). "Overview of Parkinson's disease". In: *Pharmacotherapy* 27.12 Pt 2, 155S–160S. ISSN: 0277-0008. DOI: 10.1592/phco.27.12part2.155S.
- Lewy, F. H. (1912). "Paralysis agitans: I. Pathologische Anatomie." In: *Handbuch der Neurologie, 3. Bd., Spezielle Neurologie II*. Hrsg. von M. Lewandowsky. 1. Auflage. Berlin: ©Springer-Verlag, S. 920–933.
- Li, Abby A., Pamela J. Mink, Laura J. McIntosh, M. Jane Teta und Brent Finley (2005). "Evaluation of epidemiologic and animal data associating pesticides with Parkinson's disease". In: *Journal of occupational and environmental medicine* 47.10, S. 1059–1087. ISSN: 1076-2752. DOI: 10.1097/01.jom.0000174294.58575.3e.
- Li, Jie, Min Zhu, Sudha Rajamani, Vladimir N. Uversky und Anthony L. Fink (2004). "Rifampicin inhibits alpha-synuclein fibrillation and disaggregates fibrils". In: *Chemistry & biology* 11.11, S. 1513–1521. ISSN: 1074-5521. DOI: 10.1016/j.chembiol.2004.08.025.
- Li, Jie-Qiong, Lan Tan und Jin-Tai Yu (2014). "The role of the LRRK2 gene in Parkinsonism". In: *Molecular neurodegeneration* 9, S. 47. ISSN: 1750-1326. DOI: 10.1186/1750-1326-9-47.
- Lim, Shen-Yang und Anthony E. Lang (2010). "The nonmotor symptoms of Parkinson's disease—an overview". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 25 Suppl 1, S123–30. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.22786.
- Lin, Xian, Loukia Parisiadou, Xing-Long Gu, Lizhen Wang, Hoon Shim, Lixin Sun, Chengsong Xie, Cai-Xia Long, Wan-Jou Yang, Jinhui Ding, Zsu Zsu Chen, Paul E. Gallant, Jung-Hwa Tao-Cheng, Gay Rudow, Juan C. Troncoso, Zhihua Liu,

- Zheng Li und Huaibin Cai (2009). "Leucine-rich repeat kinase 2 regulates the progression of neuropathology induced by Parkinson's-disease-related mutant alpha-synuclein". In: *Neuron* 64.6, S. 807–827. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.11.006.
- Lindestam Arlehamn, Cecilia S., Rekha Dhanwani, John Pham, Rebecca Kuan, April Frazier, Juliana Rezende Dutra, Elizabeth Phillips, Simon Mallal, Mario Roederer, Karen S. Marder, Amy W. Amara, David G. Standaert, Jennifer G. Goldman, Irene Litvan, Bjoern Peters, David Sulzer und Alessandro Sette (2020). "α-Synuclein-specific T cell reactivity is associated with preclinical and early Parkinson's disease". In: *Nature Communications* 11. DOI: 10.1038/s41467-020-15626-w.
- Lo Bianco, C., J-L Ridet, B. L. Schneider, N. Deglon und P. Aebischer (2002). "alpha -Synucleinopathy and selective dopaminergic neuron loss in a rat lentiviral-based model of Parkinson's disease". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99.16, S. 10813–10818. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.152339799.
- Logan, Todd, Jacob Bendor, Chantal Toupin, Kurt Thorn und Robert H. Edwards (2017). "α-Synuclein promotes dilation of the exocytotic fusion pore". In: *Nature neuroscience* 20.5, S. 681–689. ISSN: 1097-6256. DOI: 10.1038/nn.4529.
- Löhle, Matthias, Alexander Storch und Heinz Reichmann (2009). "Beyond tremor and rigidity: Non-motor features of Parkinson's disease". In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 116.11, S. 1483–1492. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-009-0274-1.
- Long-Smith, Cairíona M., Aideen M. Sullivan und Yvonne M. Nolan (2009). "The influence of microglia on the pathogenesis of Parkinson's disease". In: *Progress in neurobiology* 89.3, S. 277–287. ISSN: 1873-5118. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2009.08.001.
- Löw, Karin und Patrick Aebischer (2012). "Use of viral vectors to create animal models for Parkinson's disease". In: *Neurobiology of disease* 48.2, S. 189–201. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2011.12.038.
- Lue, Lih-Fen, Douglas G. Walker, Charles H. Adler, Holly Shill, Hung Tran, Haruhiko Akiyama, Lucia I. Sue, John Caviness, Marwan N. Sabbagh und Thomas G. Beach (2012). "Biochemical increase in phosphorylated alpha-synuclein precedes histopathology of Lewy-type synucleinopathies". In: *Brain pathology (Zurich, Switzerland)* 22.6, S. 745–756. ISSN: 1015-6305. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2012.00585.x.
- Lundblad, Martin, Mickael Decressac, Bengt Mattsson und Anders Björklund (2012). "Impaired neurotransmission caused by overexpression of α-synuclein in nigral dopamine neurons". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109.9, S. 3213–3219. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.1200575109.
- Luth, Eric S., Tim Bartels, Ulf Dettmer, Nora C. Kim und Dennis J. Selkoe (2015). "Purification of α-synuclein from human brain reveals an instability of endogenous multimers as the protein approaches purity". In: *Biochemistry* 54.2, S. 279–292. ISSN: 1520-4995. DOI: 10.1021/bi501188a.

- Maingay, Matthew, Marina Romero-Ramos, Manolo Carta und Deniz Kirik (2006). "Ventral tegmental area dopamine neurons are resistant to human mutant alpha-synuclein overexpression". In: *Neurobiology of disease* 23.3, S. 522–532. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2006.04.007.
- Markakis, Eleni A., Kenneth P. Vives, Jeremy Bober, Stefan Leichter, Csaba Leranth, Jeff Beecham, John D. Elsworth, Robert H. Roth, R. Jude Samulski und D. Eugene Redmond (2010). "Comparative transduction efficiency of AAV vector serotypes 1-6 in the substantia nigra and striatum of the primate brain". In: *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* 18.3, S. 588–593. ISSN: 1525-0024. DOI: 10.1038/mt.2009.286.
- Martin, Ian, Jungwoo Wren Kim, Valina L. Dawson und Ted M. Dawson (2014). "LRRK2 pathobiology in Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 131.5, S. 554–565. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/jnc.12949.
- Martinez-Martin, Pablo, Carmen Rodriguez-Blazquez, Monica M. Kurtis und K. Ray Chaudhuri (2011). "The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 26.3, S. 399–406. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.23462.
- Masliah, E., E. Rockenstein, I. Veinbergs, Y. Sagara, M. Mallory, M. Hashimoto und L. Mucke (2001). "beta-amyloid peptides enhance alpha-synuclein accumulation and neuronal deficits in a transgenic mouse model linking Alzheimer's disease and Parkinson's disease". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98.21, S. 12245–12250. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.211412398.
- Matsuda, Wakoto, Takahiro Furuta, Kouichi C. Nakamura, Hiroyuki Hioki, Fumino Fujiyama, Ryohachi Arai und Takeshi Kaneko (2009). "Single nigrostriatal dopaminergic neurons form widely spread and highly dense axonal arborizations in the neostriatum". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29.2, S. 444–453. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4029-08.2009.
- Mayo, Juan C., Rosa M. Sainz, Dun-Xian Tan, Isaac Antolín, Carmen Rodríguez und Russel J. Reiter (2005). "Melatonin and Parkinson's disease". In: *Endocrine* 27.2, S. 169–178. DOI: 10.1385/ENDO:27:2:169.
- McCormack, Alison L., Mona Thiruchelvam, Amy B. Manning-Bog, Christine Thiffault, J. William Langston, Deborah A. Cory-Slechta und Donato A. Di Monte (2002). "Environmental risk factors and Parkinson's disease: Selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat". In: *Neurobiology of disease* 10.2, S. 119–127. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1006/nbdi.2002.0507.
- McFarland, Nikolaus R., Zhanyun Fan, Kui Xu, Michael A. Schwarzschild, Mel B. Feany, Bradley T. Hyman und Pamela J. McLean (2009). "Alpha-synuclein S129 phosphorylation mutants do not alter nigrostriatal toxicity in a rat model of Parkinson disease". In: *Journal of neuropathology and experimental neurology* 68.5, S. 515–524. ISSN: 0022-3069. DOI: 10.1097/NEN.0b013e3181a24b53.

- McGeer, Edith G. und Patrick L. McGeer (2007). "The role of anti-inflammatory agents in Parkinson's disease". In: *CNS drugs* 21.10, S. 789–797. ISSN: 1172-7047. DOI: 10.2165/00023210-200721100-00001.
- McGeer, P. L., S. Itagaki, H. Akiyama und E. G. McGeer (1988a). "Rate of cell death in parkinsonism indicates active neuropathological process". In: *Annals of neurology* 24.4, S. 574–576. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.410240415.
- McGeer, P. L., S. Itagaki, B. E. Boyes und E. G. McGeer (1988b). "Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains". In: *Neurology* 38.8, S. 1285–1291. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/wnl.38.8.1285.
- McNaught, K. S. und P. Jenner (2001). "Proteasomal function is impaired in substantia nigra in Parkinson's disease". In: *Neuroscience letters* 297.3, S. 191–194. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/s0304-3940(00)01701-8.
- McNaught, Kevin St P., Roger Belizaire, Ole Isacson, Peter Jenner und C. Warren Olanow (2003). "Altered proteasomal function in sporadic Parkinson's disease". In: *Experimental neurology* 179.1, S. 38–46. ISSN: 0014-4886. DOI: 10.1006/exnr.2002.8050.
- McNaught, Kevin St P., Roger Belizaire, Peter Jenner, C. Warren Olanow und Ole Isacson (2002a). "Selective loss of 20S proteasome alpha-subunits in the substantia nigra pars compacta in Parkinson's disease". In: *Neuroscience letters* 326.3, S. 155–158. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/s0304-3940(02)00296-3.
- McNaught, Kevin St P., Lars M. Björklund, Roger Belizaire, Ole Isacson, Peter Jenner und C. Warren Olanow (2002b). "Proteasome inhibition causes nigral degeneration with inclusion bodies in rats". In: *Neuroreport* 13.11, S. 1437–1441. ISSN: 0959-4965. DOI: 10.1097/00001756-200208070-00018.
- McNaught, Kevin St P., Catherine Mytilineou, Ruth Jnobaptiste, Jocelyn Yabut, P. Shashidharan, Peter Jennert und C. Warren Olanow (2002c). "Impairment of the ubiquitin-proteasome system causes dopaminergic cell death and inclusion body formation in ventral mesencephalic cultures". In: *Journal of neurochemistry* 81.2, S. 301–306. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2002.00821.x.
- Meda, L., M. A. Cassatella, G. I. Szendrei, L. Otvos, P. Baron, M. Villalba, D. Ferrari und F. Rossi (1995). "Activation of microglial cells by beta-amyloid protein and interferon-gamma". In: *Nature* 374.6523, S. 647–650. ISSN: 0028-0836. DOI: 10.1038/374647a0.
- Miyasaki, J. M., W. Martin, O. Suchowersky, W. J. Weiner und A. E. Lang (2002). "Practice parameter: Initiation of treatment for Parkinson's disease: an evidence-based review: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology". In: *Neurology* 58.1, S. 11–17. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/wnl.58.1.11.
- Mochizuki, Hideki und Toru Yasuda (2012). "Iron accumulation in Parkinson's disease". In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 119.12, S. 1511–1514. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-012-0905-9.
- Mogi, M., M. Harada, T. Kondo, P. Riederer, H. Inagaki, M. Minami und T. Nagatsu (1994a). "Interleukin-1 beta, interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha are elevated in the brain from parkinsonian

- patients". In: *Neuroscience letters* 180.2, S. 147–150. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/0304-3940(94)90508-8.
- Mogi, M., M. Harada, T. Kondo, P. Riederer und T. Nagatsu (1996a). "Interleukin-2 but not basic fibroblast growth factor is elevated in parkinsonian brain. Short communication". In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 103.8-9, S. 1077–1081. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/BF01291792.
- Mogi, M., M. Harada, H. Narabayashi, H. Inagaki, M. Minami und T. Nagatsu (1996b). "Interleukin (IL)-1 beta, IL-2, IL-4, IL-6 and transforming growth factor-alpha levels are elevated in ventricular cerebrospinal fluid in juvenile parkinsonism and Parkinson's disease". In: *Neuroscience letters* 211.1, S. 13–16. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/0304-3940(96)12706-3.
- Mogi, M., M. Harada, P. Riederer, H. Narabayashi, K. Fujita und T. Nagatsu (1994b). "Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients". In: *Neuroscience letters* 165.1-2, S. 208–210. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/0304-3940(94)90746-3.
- Mogi, Makio, Tomoyoshi Kondo, Yoshikuni Mizuno und Toshiharu Nagatsu (2007). "p53 protein, interferon-gamma, and NF-kappaB levels are elevated in the parkinsonian brain". In: *Neuroscience letters* 414.1, S. 94–97. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.12.003.
- Monville, Christelle, Eduardo M. Torres und Stephen B. Dunnett (2006). "Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model". In: *Journal of neuroscience methods* 158.2, S. 219–223. ISSN: 0165-0270. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2006.06.001.
- Mosharov, Eugene V., Kristin E. Larsen, Ellen Kanter, Kester A. Phillips, Krystal Wilson, Yvonne Schmitz, David E. Krantz, Kazuto Kobayashi, Robert H. Edwards und David Sulzer (2009). "Interplay between cytosolic dopamine, calcium, and alpha-synuclein causes selective death of substantia nigra neurons". In: *Neuron* 62.2, S. 218–229. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.01.033.
- Muangpaisan, Weerasak, Aju Mathews, Hiroyuki Hori und David Seidel (2011). "A systematic review of the worldwide prevalence and incidence of Parkinson's disease". In: *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet* 94.6. PMID: 21696087, S. 749–755. ISSN: 0125-2208.
- Musacchio, Thomas, Maike Rebenstorff, Felix Fluri, Jonathan M. Brotchie, Jens Volkmann, James B. Koprach und Chi Wang Ip (2017). "Subthalamic nucleus deep brain stimulation is neuroprotective in the A53T α -synuclein Parkinson's disease rat model". In: *Annals of neurology* 81.6, S. 825–836. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.24947.
- Muzerengi, Sharon, Donatella Contrafatto und K. Ray Chaudhuri (2007). "Non-motor symptoms: Identification and management". In: *Parkinsonism & related disorders* 13 Suppl 3, S450–6. ISSN: 1353-8020. DOI: 10.1016/S1353-8020(08)70048-8.
- Nandi, Dipankar, Pankaj Tahiliani, Anujith Kumar und Dilip Chandu (2006). "The ubiquitin-proteasome system". In: *Journal of biosciences* 31.1, S. 137–155. ISSN: 0250-5991. DOI: 10.1007/BF02705243.

- Narhi, L., S. J. Wood, S. Steavenson, Y. Jiang, G. M. Wu, D. Anafi, S. A. Kaufman, F. Martin, K. Sitney, P. Denis, J. C. Louis, J. Wypych, A. L. Biere und M. Citron (1999). "Both familial Parkinson's disease mutations accelerate alpha-synuclein aggregation". In: *The Journal of biological chemistry* 274.14, S. 9843–9846. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.274.14.9843.
- Nemani, Venu M., Wei Lu, Victoria Berge, Ken Nakamura, Bibiana Onoa, Michael K. Lee, Farrukh A. Chaudhry, Roger A. Nicoll und Robert H. Edwards (2010). "Increased expression of alpha-synuclein reduces neurotransmitter release by inhibiting synaptic vesicle reclustering after endocytosis". In: *Neuron* 65.1, S. 66–79. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.12.023.
- Neumann, Manuela, Philipp J. Kahle, Benoit I. Giasson, Laurence Ozmen, Edilio Borroni, Will Spooren, Veronika Müller, Sabine Odoy, Hideo Fujiwara, Masato Hasegawa, Takeshi Iwatsubo, John Q. Trojanowski, Hans A. Kretzschmar und Christian Haass (2002). "Misfolded proteinase K-resistant hyperphosphorylated alpha-synuclein in aged transgenic mice with locomotor deterioration and in human alpha-synucleinopathies". In: *The Journal of clinical investigation* 110.10, S. 1429–1439. ISSN: 0021-9738. DOI: 10.1172/JCI15777.
- Neumann, Manuela, Veronika Müller, Hans A. Kretzschmar, Christian Haass und Philipp J. Kahle (2004). "Regional distribution of proteinase K-resistant alpha-synuclein correlates with Lewy body disease stage". In: *Journal of neuropathology and experimental neurology* 63.12, S. 1225–1235. ISSN: 0022-3069. DOI: 10.1093/jnen/63.12.1225.
- Nicklas, W. J., I. Vyas und R. E. Heikkila (1985). "Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-pyridine, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine". In: *Life sciences* 36.26, S. 2503–2508. ISSN: 0024-3205. DOI: 10.1016/0024-3205(85)90146-8.
- Nieuwenhuys, R., H. J. Donkelaar und C. Nicholson (1998). *The Central Nervous System of Vertebrates: Volume 1 / Volume 2 / Volume 3*. Berlin, Heidelberg: ©Springer-Verlag. ISBN: 978-3-642-18262-4.
- Nishioka, Kenya, Shin Hayashi, Matthew J. Farrer, Andrew B. Singleton, Hiroyo Yoshino, Hisamasa Imai, Toshiaki Kitami, Kenichi Sato, Ryu Kuroda, Hiroyuki Tomiyama, Koichi Mizoguchi, Miho Murata, Tatsushi Toda, Issei Imoto, Johji Inazawa, Yoshikuni Mizuno und Nobutaka Hattori (2006). "Clinical heterogeneity of alpha-synuclein gene duplication in Parkinson's disease". In: *Annals of neurology* 59.2, S. 298–309. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.20753.
- Nussbaum, Robert L. und Christopher E. Ellis (2003). "Alzheimer's disease and Parkinson's disease". In: *The New England journal of medicine* 348.14, S. 1356–1364. ISSN: 1533-4406. DOI: 10.1056/NEJM2003ra020003.
- Ochu, E. E., N. J. Rothwell und C. M. Waters (1998). "Caspases mediate 6-hydroxydopamine-induced apoptosis but not necrosis in PC12 cells". In: *Journal of neurochemistry* 70.6, S. 2637–2640. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1998.70062637.x.
- Olanow, C. Warren und Kevin St P. McNaught (2006). "Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's disease". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 21.11, S. 1806–1823. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.21013.

- Olanow, C. Warren, Daniel P. Perl, George N. DeMartino und Kevin St P. McNaught (2004). "Lewy-body formation is an aggresome-related process: A hypothesis". In: *The Lancet. Neurology* 3.8, S. 496–503. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(04)00827-0.
- Oliveras-Salvá, Marusela, Anke van der Perren, Nicolas Casadei, Stijn Stroobants, Silke Nuber, Rudi D'Hooge, Chris van den Haute und Veerle Baekelandt (2013). "rAAV2/7 vector-mediated overexpression of alpha-synuclein in mouse substantia nigra induces protein aggregation and progressive dose-dependent neurodegeneration". In: *Molecular neurodegeneration* 8, S. 44. ISSN: 1750-1326. DOI: 10.1186/1750-1326-8-44.
- Orr, Carolyn F., Dominic B. Rowe, Yoshikuni Mizuno, Hideo Mori und Glenda M. Halliday (2005). "A possible role for humoral immunity in the pathogenesis of Parkinson's disease". In: *Brain : a journal of neurology* 128.Pt 11, S. 2665–2674. ISSN: 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awh625.
- Ostrerova-Golts, N., L. Petrucelli, J. Hardy, J. M. Lee, M. Farer und B. Wolozin (2000). "The A53T alpha-synuclein mutation increases iron-dependent aggregation and toxicity". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 20.16, S. 6048–6054. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.20-16-06048.2000.
- Ozansoy, Mehmet und A. Nazli Başak (2013). "The central theme of Parkinson's disease: α -synuclein". In: *Molecular neurobiology* 47.2, S. 460–465. ISSN: 1559-1182. DOI: 10.1007/s12035-012-8369-3.
- Palacios, Natalia, Xiang Gao, Marjorie L. McCullough, Michael A. Schwarzschild, Roma Shah, Susan Gapstur und Alberto Ascherio (2012). "Caffeine and risk of Parkinson's disease in a large cohort of men and women". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 27.10, S. 1276–1282. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.25076.
- Pan-Montojo, Francisco, Oleg Anichtchik, Yanina Dening, Lilla Knels, Stefan Pursche, Roland Jung, Sandra Jackson, Gabriele Gille, Maria Grazia Spillantini, Heinz Reichmann und Richard H. W. Funk (2010). "Progression of Parkinson's disease pathology is reproduced by intragastric administration of rotenone in mice". In: *PloS one* 5.1, e8762. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0008762.
- Pan-Montojo, Francisco, Mathias Schwarz, Clemens Winkler, Mike Arnhold, Gregory A. O'Sullivan, Arun Pal, Jonas Said, Giovanni Marsico, Jean-Marc Verbavatz, Margarita Rodrigo-Angulo, Gabriele Gille, Richard H. W. Funk und Heinz Reichmann (2012). "Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein release from enteric neurons in mice". In: *Scientific reports* 2, S. 898. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/srep00898.
- Parkinson, James (1817). *An essay on the shaking palsy*. London: Sherwood Neely and Jones.
- (2002). "An essay on the shaking palsy. 1817". In: *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* 14.2, 223–36, discussion 222. ISSN: 0895-0172. DOI: 10.1176/jnp.14.2.223.

- Parkinson's Foundation (2020). *Understanding Parkinson's: Statistics*. Zuletzt aufgerufen am 13.09.2020. URL: <https://www.parkinson.org/Understanding-Parkinsons/Statistics>.
- Pasanen, Petra, Liisa Myllykangas, Maija Siitonen, Anna Raunio, Seppo Kaakkola, Jukka Lyytinen, Pentti J. Tienari, Minna Pöyhönen und Anders Paetau (2014). "Novel α -synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson's disease-type pathology". In: *Neurobiology of aging* 35.9, 2180.e1–5. ISSN: 1558-1497. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.024.
- Paxinos, George und Keith B. J. Franklin (2001). *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. 2. ed. San Diego: Academic Press. ISBN: 9780125476393.
- Peelaerts, Wouter und Veerle Baekelandt (2016). " α -Synuclein strains and the variable pathologies of synucleinopathies". In: *Journal of neurochemistry* 139 Suppl 1, S. 256–274. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/jnc.13595.
- Pellegrino, Daniela, Francesca Cicchetti, Xukui Wang, Aijun Zhu, Mexiang Yu, Martine Saint-Pierre und Anna-Liisa Brownell (2007). "Modulation of dopaminergic and glutamatergic brain function: PET studies on parkinsonian rats". In: *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 48.7, S. 1147–1153. ISSN: 0161-5505. DOI: 10.2967/jnumed.106.037796.
- Penney, J. B. und A. B. Young (1986). "Striatal inhomogeneities and basal ganglia function". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 1.1, S. 3–15. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.870010102.
- Perez, Ruth G., Jack C. Waymire, Eva Lin, Jen J. Liu, Fengli Guo und Michael J. Zigmond (2002). "A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22.8, S. 3090–3099. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-08-03090.2002.
- Perry, T. L. und V. W. Yong (1986). "Idiopathic Parkinson's disease, progressive supranuclear palsy and glutathione metabolism in the substantia nigra of patients". In: *Neuroscience letters* 67.3, S. 269–274. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/0304-3940(86)90320-4.
- Platt, Nicola J., Suzana Gispert, Georg Auburger und Stephanie J. Cragg (2012). "Striatal dopamine transmission is subtly modified in human A53T α -synuclein overexpressing mice". In: *PLoS one* 7.5, e36397. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0036397.
- Polymeropoulos, M. H., C. Lavedan, E. Leroy, S. E. Ide, A. Dehejia, A. Dutra, B. Pike, H. Root, J. Rubenstein, R. Boyer, E. S. Stenroos, S. Chandrasekharappa, A. Athanassiadou, T. Papapetropoulos, W. G. Johnson, A. M. Lazzarini, R. C. Duvoisin, G. Di Iorio, L. I. Golbe und R. L. Nussbaum (1997). "Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease". In: *Science (New York, N.Y.)* 276.5321, S. 2045–2047. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.276.5321.2045.
- Postuma, Ronald B., Dag Aarsland, Paolo Barone, David J. Burn, Christopher H. Hawkes, Wolfgang Oertel und Tjalf Ziemssen (2012). "Identifying prodromal Parkinson's disease: Pre-motor disorders in Parkinson's disease". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 27.5, S. 617–626. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.24996.

- Pringsheim, Tamara, Nathalie Jette, Alexandra Frolkis und Thomas D. L. Steeves (2014). "The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 29.13, S. 1583–1590. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.25945.
- Przedborski, Serge und Miquel Vila (2003). "The 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model: A tool to explore the pathogenesis of Parkinson's disease". In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 991. PMID: 12846987, S. 189–198. ISSN: 0077-8923.
- Qian, Li, Patrick M. Flood und Jau-Shyong Hong (2010). "Neuroinflammation is a key player in Parkinson's disease and a prime target for therapy". In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 117.8, S. 971–979. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-010-0428-1.
- Quik, Maryka, Luping Z. Huang, Neeraja Parameswaran, Tanuja Bordia, Carla Campos und Xiomara A. Perez (2009). "Multiple roles for nicotine in Parkinson's disease". In: *Biochemical pharmacology* 78.7, S. 677–685. ISSN: 1873-2968. DOI: 10.1016/j.bcp.2009.05.003.
- Rascol, Olivier, Pierre Payoux, Fabienne Ory, Joaquim J. Ferreira, Christine Brefel-Courbon und Jean-Louis Montastruc (2003). "Limitations of current Parkinson's disease therapy". In: *Annals of neurology* 53 Suppl 3, S3–12, discussion S12–5. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.10513.
- Recchia, Alessandra, Patrizia Debetto, Alessandro Negro, Diego Guidolin, Stephen D. Skaper und Pietro Giusti (2004). "Alpha-synuclein and Parkinson's disease". In: *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 18.6, S. 617–626. ISSN: 1530-6860. DOI: 10.1096/fj.03-0338rev.
- Rey, Nolwen L., Jennifer A. Steiner, Nazia Maroof, Kelvin C. Luk, Zachary Madaj, John Q. Trojanowski, Virginia M-Y Lee und Patrik Brundin (2016). "Widespread transneuronal propagation of α -synucleinopathy triggered in olfactory bulb mimics prodromal Parkinson's disease". In: *The Journal of experimental medicine* 213.9, S. 1759–1778. ISSN: 1540-9538. DOI: 10.1084/jem.20160368.
- Reynolds, Ashley D., Rebecca Banerjee, Jianou Liu, Howard E. Gendelman und R. Lee Mosley (2007). "Neuroprotective activities of CD4+CD25+ regulatory T cells in an animal model of Parkinson's disease". In: *Journal of leukocyte biology* 82.5, S. 1083–1094. ISSN: 0741-5400. DOI: 10.1189/jlb.0507296.
- Reynolds, Ashley D., Jason G. Glanzer, Irena Kadiu, Mary Ricardo-Dukelow, Ananthbandhu Chaudhuri, Pawel Ciborowski, Ronald Cerny, Benjamin Gelman, Mark P. Thomas, R. Lee Mosley und Howard E. Gendelman (2008a). "Nitrated alpha-synuclein-activated microglial profiling for Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 104.6, S. 1504–1525. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2007.05087.x.
- Reynolds, Ashley D., Irena Kadiu, Sanjay K. Garg, Jason G. Glanzer, Tara Nordgren, Pawel Ciborowski, Ruma Banerjee und Howard E. Gendelman (2008b). "Nitrated alpha-synuclein and microglial neuroregulatory activities". In: *Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology* 3.2, S. 59–74. ISSN: 1557-1904. DOI: 10.1007/s11481-008-9100-z.

- Reynolds, Ashley D., David K. Stone, R. Lee Mosley und Howard E. Gendelman (2009). "Proteomic studies of nitrated alpha-synuclein microglia regulation by CD4+CD25+ T cells". In: *Journal of proteome research* 8.7, S. 3497–3511. ISSN: 1535-3893. DOI: 10.1021/pr9001614.
- Rideout, H. J., K. E. Larsen, D. Sulzer und L. Stefanis (2001). "Proteasomal inhibition leads to formation of ubiquitin/alpha-synuclein-immunoreactive inclusions in PC12 cells". In: *Journal of neurochemistry* 78.4, S. 899–908. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2001.00474.x.
- Riederer, P., E. Sofic, W. D. Rausch, B. Schmidt, G. P. Reynolds, K. Jellinger und M. B. Youdim (1989). "Transition metals, ferritin, glutathione, and ascorbic acid in parkinsonian brains". In: *Journal of neurochemistry* 52.2, S. 515–520. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1989.tb09150.x.
- Rietdijk, Carmen D., Paula Perez-Pardo, Johan Garssen, Richard J. A. van Wezel und Aletta D. Kraneveld (2017). "Exploring Braak's Hypothesis of Parkinson's Disease". In: *Frontiers in neurology* 8, S. 37. ISSN: 1664-2295. DOI: 10.3389/fneur.2017.00037.
- Rosenkranz, Daniela, Sascha Weyer, Eva Tolosa, Alexandra Gaenslen, Daniela Berg, Thomas Leyhe, Thomas Gasser und Lars Stoltze (2007). "Higher frequency of regulatory T cells in the elderly and increased suppressive activity in neurodegeneration". In: *Journal of neuroimmunology* 188.1-2, S. 117–127. ISSN: 0165-5728. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2007.05.011.
- Ross, G. W. und H. Petrovitch (2001). "Current evidence for neuroprotective effects of nicotine and caffeine against Parkinson's disease". In: *Drugs & aging* 18.11, S. 797–806. DOI: 10.2165/00002512-200118110-00001.
- Saha, Shamol, Maria D. Guillily, Andrew Ferree, Joel Lanceta, Diane Chan, Joy Ghosh, Cindy H. Hsu, Lilach Segal, Kesav Raghavan, Kunihiro Matsumoto, Naoki Hisamoto, Tomoki Kuwahara, Takeshi Iwatsubo, Landon Moore, Lee Goldstein, Mark Cookson und Benjamin Wolozin (2009). "LRRK2 modulates vulnerability to mitochondrial dysfunction in *Caenorhabditis elegans*". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29.29, S. 9210–9218. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2281-09.2009.
- Saito, Yuko, Nyoka N. Ruberu, Motoji Sawabe, Tomio Arai, Hirohito Kazama, Takayuki Hosoi, Hiroshi Yamanouchi und Shigeo Murayama (2004). "Lewy body-related alpha-synucleinopathy in aging". In: *Journal of neuropathology and experimental neurology* 63.7, S. 742–749. ISSN: 0022-3069. DOI: 10.1093/jnen/63.7.742.
- Sanchez-Guajardo, Vanesa, Fabia Febbraro, Deniz Kirik und Marina Romero-Ramos (2010). "Microglia acquire distinct activation profiles depending on the degree of alpha-synuclein neuropathology in a rAAV based model of Parkinson's disease". In: *PloS one* 5.1, e8784. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0008784.
- Satake, Wataru, Yuko Nakabayashi, Ikuko Mizuta, Yushi Hirota, Chiyomi Ito, Michiaki Kubo, Takahisa Kawaguchi, Tatsuhiko Tsunoda, Masahiko Watanabe, Atsushi Takeda, Hiroyuki Tomiyama, Kenji Nakashima, Kazuko Hasegawa, Fumiya Obata, Takeo Yoshikawa, Hideshi Kawakami, Saburo Sakoda, Mitsutoshi

- Yamamoto, Nobutaka Hattori, Miho Murata, Yusuke Nakamura und Tatsushi Toda (2009). "Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease". In: *Nature genetics* 41.12, S. 1303–1307. ISSN: 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.485.
- Saunders, Jessica A. Hutter, Katherine A. Estes, Lisa M. Kosloski, Heather E. Allen, Kathryn M. Dempsey, Diego R. Torres-Russotto, Jane L. Meza, Pamela M. Santamaria, John M. Bertoni, Daniel L. Murman, Hesham H. Ali, David G. Standaert, R. Lee Mosley und Howard E. Gendelman (2012). "CD4+ regulatory and effector/memory T cell subsets profile motor dysfunction in Parkinson's disease". In: *Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology* 7.4, S. 927–938. ISSN: 1557-1904. DOI: 10.1007/s11481-012-9402-z.
- Schallert, T., S. M. Fleming, J. L. Leasure, J. L. Tillerson und S. T. Bland (2000). "CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury". In: *Neuropharmacology* 39.5, S. 777–787. ISSN: 0028-3908. DOI: 10.1016/s0028-3908(00)00005-8.
- Schapira, A. H., J. M. Cooper, D. Dexter, J. B. Clark, P. Jenner und C. D. Marsden (1990). "Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 54.3, S. 823–827. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1990.tb02325.x.
- Schapira, Anthony H. V. (2008). "Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease". In: *The Lancet. Neurology* 7.1, S. 97–109. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70327-7.
- (2011). "Mitochondrial pathology in Parkinson's disease". In: *The Mount Sinai journal of medicine, New York* 78.6, S. 872–881. ISSN: 1931-7581. DOI: 10.1002/msj.20303.
- Schapira, Anthony H. V. und Matthew Gegg (2011). "Mitochondrial contribution to Parkinson's disease pathogenesis". In: *Parkinson's disease 2011*, S. 159160. ISSN: 2042-0080. DOI: 10.4061/2011/159160.
- Schapira, Anthony H. V. und Peter Jenner (2011). "Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 26.6, S. 1049–1055. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.23732.
- Schober, Andreas (2004). "Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP". In: *Cell and tissue research* 318.1, S. 215–224. DOI: 10.1007/s00441-004-0938-y.
- Schon, Eric A. und Serge Przedborski (2011). "Mitochondria: The next (neuro)degeneration". In: *Neuron* 70.6, S. 1033–1053. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.06.003.
- Scott, David und Subhojit Roy (2012). "α-Synuclein inhibits intersynaptic vesicle mobility and maintains recycling-pool homeostasis". In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 32.30, S. 10129–10135. ISSN: 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0535-12.2012.
- Senoh, Siro, Cyrus R. Creveling, Sidney Udenfriend und Bernhard Witkop (1959). "Chemical, Enzymatic and Metabolic Studies on the Mechanism of Oxidation of

- Dopamine". In: *Journal of The American Chemical Society* 81, S. 6236–6240. DOI: 10.1021/ja01532a030.
- Shameli, Afshin, Wenbin Xiao, Yan Zheng, Susan Shyu, John Sumodi, Howard J. Meyerson, Clifford V. Harding und Robert W. Maitta (2016). "A critical role for alpha-synuclein in development and function of T lymphocytes". In: *Immunobiology* 221.2, S. 333–340. ISSN: 1878-3279. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.10.002.
- Sherer, Todd B., Ranjita Betarbet und J. Timothy Greenamyre (2002). "Environment, mitochondria, and Parkinson's disease". In: *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* 8.3, S. 192–197. ISSN: 1073-8584. DOI: 10.1177/1073858402008003004.
- Sherer, Todd B., Sohini Chowdhury, Katherine Peabody und Deborah W. Brooks (2012). "Overcoming obstacles in Parkinson's disease". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 27.13, S. 1606–1611. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.25260.
- Sherer, Todd B., Jason R. Richardson, Claudia M. Testa, Byoung Boo Seo, Alexander V. Panov, Takao Yagi, Akemi Matsuno-Yagi, Gary W. Miller und J. Timothy Greenamyre (2007). "Mechanism of toxicity of pesticides acting at complex I: Relevance to environmental etiologies of Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 100.6, S. 1469–1479. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.04333.x.
- Shin, E. C., S. E. Cho, D. K. Lee, M. W. Hur, S. R. Paik, J. H. Park und J. Kim (2000). "Expression patterns of alpha-synuclein in human hematopoietic cells and in Drosophila at different developmental stages". In: *Molecules and cells* 10.1, S. 65–70. ISSN: 1016-8478. DOI: 10.1007/s10059-000-0065-x.
- Shults, Clifford W. (2006). "Lewy bodies". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103.6, S. 1661–1668. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.0509567103.
- Simón-Sánchez, Javier, Claudia Schulte, Jose M. Bras, Manu Sharma, J. Raphael Gibbs, Daniela Berg, Coro Paisan-Ruiz, Peter Lichtner, Sonja W. Scholz, Dena G. Hernandez, Rejko Krüger, Monica Federoff, Christine Klein, Alison Goate, Joel Perlmutter, Michael Bonin, Michael A. Nalls, Thomas Illig, Christian Gieger, Henry Houlden, Michael Steffens, Michael S. Okun, Brad A. Racette, Mark R. Cookson, Kelly D. Foote, Hubert H. Fernandez, Bryan J. Traynor, Stefan Schreiber, Sampath Arepalli, Ryan Zonozi, Katrina Gwinn, Marcel van der Brug, Grisel Lopez, Stephen J. Chanock, Arthur Schatzkin, Yikyung Park, Albert Hollenbeck, Jianjun Gao, Xuemei Huang, Nick W. Wood, Delia Lorenz, Günther Deuschl, Honglei Chen, Olaf Riess, John A. Hardy, Andrew B. Singleton und Thomas Gasser (2009). "Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease". In: *Nature genetics* 41.12, S. 1308–1312. ISSN: 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.487.
- Singleton, A. B., M. Farrer, J. Johnson, A. Singleton, S. Hague, J. Kachergus, M. Hulihan, T. Peuralinna, A. Dutra, R. Nussbaum, S. Lincoln, A. Crawley, M. Hanson, D. Maraganore, C. Adler, M. R. Cookson, M. Muenter, M. Baptista, D. Miller, J. Blancato, J. Hardy und K. Gwinn-Hardy (2003). "alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease". In: *Science (New York, N.Y.)* 302.5646, S. 841. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1090278.

- Sitzer, M. und H. Steinmetz (2011). *Lehrbuch Neurologie*. 1. Auflage. München: ©Elsevier GmbH, Urban & Fischer. ISBN: 978-3-437-41442-8.
- Smith, Wanli W., Zhong Pei, Haibing Jiang, Valina L. Dawson, Ted M. Dawson und Christopher A. Ross (2006). "Kinase activity of mutant LRRK2 mediates neuronal toxicity". In: *Nature neuroscience* 9.10, S. 1231–1233. ISSN: 1097-6256. DOI: 10.1038/nm1776.
- Snyder, S. H. und R. J. D'Amato (1986). "MPTP: A neurotoxin relevant to the pathophysiology of Parkinson's disease. The 1985 George C. Cotzias lecture". In: *Neurology* 36.2, S. 250–258. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/wnl.36.2.250.
- Sofic, E., K. W. Lange, K. Jellinger und P. Riederer (1992). "Reduced and oxidized glutathione in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease". In: *Neuroscience letters* 142.2, S. 128–130. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/0304-3940(92)90355-b.
- Sofic, E., P. Riederer, H. Heinsen, H. Beckmann, G. P. Reynolds, G. Hebenstreit und M. B. Youdim (1988). "Increased iron (III) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain". In: *Journal of neural transmission* 74.3, S. 199–205. DOI: 10.1007/BF01244786.
- Sommer, A., F. Marxreiter, F. Krach, T. Fadler, J. Grosch, M. Maroni, D. Graef, E. Eberhardt, M. J. Riemenschneider, G. W. Yeo, Z. Kohl, W. Xiang, F. H. Gage, J. Winkler, I. Prots und B. Winner (2018). "Th17 Lymphocytes Induce Neuronal Cell Death in a Human iPSC-Based Model of Parkinson's Disease". In: *Cell Stem Cell* 23.1, S. 123–131. DOI: 10.1016/j.stem.2018.06.015.
- Song, Lian-Kun, Kai-Li Ma, Yu-He Yuan, Zheng Mu, Xiu-Yun Song, Fei Niu, Ning Han und Nai-Hong Chen (2015). "Targeted Overexpression of α -Synuclein by rAAV2/1 Vectors Induces Progressive Nigrostriatal Degeneration and Increases Vulnerability to MPTP in Mouse". In: *PLoS one* 10.6, e0131281. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0131281.
- Spillantini, M. G., R. A. Crowther, R. Jakes, M. Hasegawa und M. Goedert (1998). "alpha-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with lewy bodies". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95.11, S. 6469–6473. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.95.11.6469.
- Spillantini, M. G., M. L. Schmidt, V. M. Lee, J. Q. Trojanowski, R. Jakes und M. Goedert (1997). "Alpha-synuclein in Lewy bodies". In: *Nature* 388.6645, S. 839–840. ISSN: 0028-0836. DOI: 10.1038/42166.
- Spira, P. J., D. M. Sharpe, G. Halliday, J. Cavanagh und G. A. Nicholson (2001). "Clinical and pathological features of a Parkinsonian syndrome in a family with an Ala53Thr alpha-synuclein mutation". In: *Annals of neurology* 49.3, S. 313–319. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.67.
- St Martin, Jessie L., Jochen Klucken, Tiago F. Outeiro, Paul Nguyen, Christine Keller-McGandy, Ippolita Cantuti-Castelvetri, Tom N. Grammatopoulos, David G. Standaert, Bradley T. Hyman und Pamela J. McLean (2007). "Dopaminergic neuron loss and up-regulation of chaperone protein mRNA induced by targeted over-expression of alpha-synuclein in mouse substantia nigra". In: *Journal of neurochemistry* 100.6, S. 1449–1457. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.04310.x.

- Stefanoni, G., G. Sala, L. Tremolizzo, L. Brighina und C. Ferrarese (2011). "Alpha-synuclein, oxidative stress and autophagy failure: dangerous liaisons in dopaminergic neurodegeneration." In: *Etiology and Pathophysiology of Parkinson's Disease*. Rana, A.Q., S. 111–136. DOI: 10.5772/17030.
- Steiner, Jennifer A., Emmanuel Quansah und Patrik Brundin (2018). "The concept of alpha-synuclein as a prion-like protein: Ten years after". In: *Cell and tissue research*. DOI: 10.1007/s00441-018-2814-1.
- Stevens, Claire H., Dominic Rowe, Marie-Christine Morel-Kopp, Carolyn Orr, Tonia Russell, Madelaine Ranola, Christopher Ward und Glenda M. Halliday (2012). "Reduced T helper and B lymphocytes in Parkinson's disease". In: *Journal of neuroimmunology* 252.1-2, S. 95–99. ISSN: 0165-5728. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2012.07.015.
- Storch, A., P. Odin, I. Trender-Gerhard, G. Fuchs, G. Reifschneider, K. Ray Chaudhuri, W. H. Jost und G. Ebersbach (2010). "Non-motor Symptoms Questionnaire und Scale für das idiopathische Parkinson-Syndrom. Interkulturell adaptierte Versionen in deutscher Sprache". In: *Der Nervenarzt* 81.8, S. 980–985. ISSN: 1433-0407. DOI: 10.1007/s00115-010-3010-z.
- Stypuła, G., J. Kunert-Radek, H. Stepień, K. Zylńska und M. Pawlikowski (1996). "Evaluation of interleukins, ACTH, cortisol and prolactin concentrations in the blood of patients with parkinson's disease". In: *Neuroimmunomodulation* 3.2-3, S. 131–134. ISSN: 1021-7401. DOI: 10.1159/000097237.
- Sulzer, David, Roy N. Alcalay, Francesca Garretti, Lucien Cote, Ellen Kanter, Julian Agin-Liebes, Christopher Liong, Curtis McMurtrey, William H. Hildebrand, Xiaobo Mao, Valina L. Dawson, Ted M. Dawson, Carla Oseroff, John Pham, John Sidney, Myles B. Dillon, Chelsea Carpenter, Daniela Weiskopf, Elizabeth Phillips, Simon Mallal, Bjoern Peters, April Frazier, Cecilia S. Lindestam Arlehamn und Alessandro Sette (2017). "T cells from patients with Parkinson's disease recognize α -synuclein peptides". In: *Nature* 546.7660, S. 656–661. ISSN: 0028-0836. DOI: 10.1038/nature22815.
- Surmeier, D. James (2007). "Calcium, ageing, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease". In: *The Lancet. Neurology* 6.10, S. 933–938. ISSN: 1474-4422. DOI: 0.1016/S1474-4422(07)70246-6.
- Swerdlow, R. H., J. K. Parks, S. W. Miller, J. B. Tuttle, P. A. Trimmer, J. P. Sheehan, J. P. Bennett, R. E. Davis und W. D. Parker (1996). "Origin and functional consequences of the complex I defect in Parkinson's disease". In: *Annals of neurology* 40.4, S. 663–671. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.410400417.
- Tanji, Kunikazu, Fumiaki Mori, Junsei Mimura, Ken Itoh, Akiyoshi Kakita, Hitoshi Takahashi und Koichi Wakabayashi (2010). "Proteinase K-resistant alpha-synuclein is deposited in presynapses in human Lewy body disease and A53T alpha-synuclein transgenic mice". In: *Acta neuropathologica* 120.2, S. 145–154. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-010-0676-z.
- Tanner, Caroline M., Freya Kamel, G. Webster Ross, Jane A. Hoppin, Samuel M. Goldman, Monica Korell, Connie Marras, Grace S. Bhudhikanok, Meike Kasten, Anabel R. Chade, Kathleen Comyns, Marie Barber Richards, Cheryl Meng, Benjamin Priestley, Hubert H. Fernandez, Franca Cambi, David M. Umbach, Aaron Blair, Dale P. Sandler und J. William Langston (2011). "Rotenone, paraquat, and

- Parkinson's disease". In: *Environmental health perspectives* 119.6, S. 866–872. ISSN: 1552-9924. DOI: 10.1289/ehp.1002839.
- Tanner, Caroline M., G. Webster Ross, Sarah A. Jewell, Robert A. Hauser, Joseph Jankovic, Stewart A. Factor, Susan Bressman, Amanda Deligtisch, Connie Marras, Kelly E. Lyons, Grace S. Bhudhikanok, Diana F. Roucoux, Cheryl Meng, Robert D. Abbott und J. William Langston (2009). "Occupation and risk of parkinsonism: A multicenter case-control study". In: *Archives of neurology* 66.9, S. 1106–1113. ISSN: 0003-9942. DOI: 10.1001/archneurol.2009.195.
- Tansey, Malú G., Melissa K. McCoy und Tamy C. Frank-Cannon (2007). "Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: Potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention". In: *Experimental neurology* 208.1, S. 1–25. ISSN: 0014-4886. DOI: 10.1016/j.expneurol.2007.07.004.
- Taylor, Tonya N., Dawid Potgieter, Sabina Anwar, Steven L. Senior, Stephanie Janezic, Sarah Threlfell, Brent Ryan, Laura Parkkinen, Thierry Deltheil, Milena Cioroch, Achilleas Livieratos, Peter L. Oliver, Katie A. Jennings, Kay E. Davies, Olaf Ansorge, David M. Bannerman, Stephanie J. Cragg und Richard Wade-Martins (2014). "Region-specific deficits in dopamine, but not norepinephrine, signaling in a novel A30P α -synuclein BAC transgenic mouse". In: *Neurobiology of disease* 62, S. 193–207. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2013.10.005.
- Taymans, Jean-Marc, Luk H. Vandenberghe, Chris van den Haute, Irina Thiry, Christophe M. Deroose, Luc Mortelmans, James M. Wilson, Zeger Debyser und Veerle Baekelandt (2007). "Comparative analysis of adeno-associated viral vector serotypes 1, 2, 5, 7, and 8 in mouse brain". In: *Human gene therapy* 18.3, S. 195–206. ISSN: 1043-0342. DOI: 10.1089/hum.2006.178.
- Theodore, Shaji, Shuwen Cao, Pamela J. McLean und David G. Standaert (2008). "Targeted overexpression of human alpha-synuclein triggers microglial activation and an adaptive immune response in a mouse model of Parkinson disease". In: *Journal of neuropathology and experimental neurology* 67.12, S. 1149–1158. ISSN: 0022-3069. DOI: 10.1097/NEN.0b013e31818e5e99.
- Tipton, K. F. und T. P. Singer (1993). "Advances in our understanding of the mechanisms of the neurotoxicity of MPTP and related compounds". In: *Journal of neurochemistry* 61.4, S. 1191–1206. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1993.tb13610.x.
- Toba, Shiori, Mingyue Jin, Masami Yamada, Kanako Kumamoto, Sakiko Matsumoto, Takuo Yasunaga, Yuko Fukunaga, Atsuo Miyazawa, Sakiko Fujita, Kyoko Itoh, Shinji Fushiki, Hiroaki Kojima, Hideki Wanibuchi, Yoshiyuki Arai, Takeharu Nagai und Shinji Hirotsune (2017). "Alpha-synuclein facilitates to form short unconventional microtubules that have a unique function in the axonal transport". In: *Scientific reports* 7.1, S. 16386. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-017-15575-3.
- Tofaris, George K., Azam Razzaq, Bernardino Ghetti, Kathryn S. Lilley und Maria Grazia Spillantini (2003). "Ubiquitination of alpha-synuclein in Lewy bodies is a pathological event not associated with impairment of proteasome function". In: *The Journal of biological chemistry* 278.45, S. 44405–44411. ISSN: 0021-9258. DOI: 10.1074/jbc.M308041200.

- Tofaris, George K. und Maria Grazia Spillantini (2005). "Alpha-synuclein dysfunction in Lewy body diseases". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 20 Suppl 12, S37–44. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.20538.
- Tolleson, Christopher M. und John Y. Fang (2013). "Advances in the mechanisms of Parkinson's disease". In: *Discovery medicine* 15.80. PMID: 23375015, S. 61–66. ISSN: 1944-7930.
- Tompkins, M. M. und W. D. Hill (1997). "Contribution of somal Lewy bodies to neuronal death". In: *Brain research* 775.1-2, S. 24–29. ISSN: 1872-6240. DOI: 10.1016/s0006-8993(97)00874-3.
- Toodayan, Nadeem (2018). "James Parkinson's Essay on the shaking palsy, 1817-2017". In: *The Medical journal of Australia* 208.9, S. 384–386. DOI: 10.5694/mja17.01085.
- Trepel, Martin (2015). *Neuroanatomie: Struktur und Funktion*. 6. Auflage. München: ©Elsevier GmbH, Urban & Fischer. ISBN: 978-3-437-41287-5.
- Tretiakoff, Constantin (1919). *Contribution à l'étude de l'anatomie pathologique du locus niger de Sæmmering avec quelques déductions relatives à la pathogénie des troubles du tonus musculaire et de la maladie de Parkinson: @Paris, Univ., Diss., 1918/1919*. Paris: Jouve.
- Ulusoy, Ayse, Tomas Björklund, Kerstin Buck und Deniz Kirik (2012). "Dysregulated dopamine storage increases the vulnerability to α -synuclein in nigral neurons". In: *Neurobiology of disease* 47.3, S. 367–377. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.05.012.
- Ungerstedt, U. und G. W. Arbuthnott (1970). "Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system". In: *Brain research* 24.3, S. 485–493. ISSN: 1872-6240. DOI: 10.1016/0006-8993(70)90187-3.
- Uversky, V. N., J. Li und A. L. Fink (2001). "Pesticides directly accelerate the rate of alpha-synuclein fibril formation: A possible factor in Parkinson's disease". In: *FEBS letters* 500.3, S. 105–108. ISSN: 0014-5793. DOI: 10.1016/s0014-5793(01)02597-2.
- Uversky, Vladimir N., Jie Li, Kiowa Bower und Anthony L. Fink (2002). "Synergistic effects of pesticides and metals on the fibrillation of alpha-synuclein: Implications for Parkinson's disease". In: *Neurotoxicology* 23.4-5, S. 527–536. DOI: 10.1016/s0161-813x(02)00067-0.
- van den Eeden, Stephen K., Caroline M. Tanner, Allan L. Bernstein, Robin D. Fross, Amethyst Leimpeter, Daniel A. Bloch und Lorene M. Nelson (2003). "Incidence of Parkinson's disease: Variation by age, gender, and race/ethnicity". In: *American journal of epidemiology* 157.11, S. 1015–1022. ISSN: 0002-9262. DOI: 10.1093/aje/kwg068.
- van der Perren, A., J. Toelen, M. Carlon, C. van den Haute, F. Coun, B. Heeman, V. Reumers, L. H. Vandenberghe, J. M. Wilson, Z. Debyser und V. Baekelandt (2011). "Efficient and stable transduction of dopaminergic neurons in rat substantia nigra by rAAV 2/1, 2/2, 2/5, 2/6.2, 2/7, 2/8 and 2/9". In: *Gene therapy* 18.5, S. 517–527. ISSN: 1476-5462. DOI: 10.1038/gt.2010.179.

- van der Perren, Anke, Jaan Toelen, Cindy Casteels, Francesca Macchi, Anne-Sophie van Rompuy, Sophie Sarre, Nicolas Casadei, Silke Nuber, Uwe Himmelfreich, Maria Isabel Osorio Garcia, Yvette Michotte, Rudi D'Hooge, Guy Bormans, Koen van Laere, Rik Gijsbers, Chris van den Haute, Zeger Debysen und Veerle Baekelandt (2015). "Longitudinal follow-up and characterization of a robust rat model for Parkinson's disease based on overexpression of alpha-synuclein with adeno-associated viral vectors". In: *Neurobiology of aging* 36.3, S. 1543–1558. ISSN: 1558-1497. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.11.015.
- Varçin, Mustafa, Eduard Bentea, Yvette Michotte und Sophie Sarre (2012). "Oxidative stress in genetic mouse models of Parkinson's disease". In: *Oxidative medicine and cellular longevity* 2012, S. 624925. ISSN: 1942-0994. DOI: 10.1155/2012/624925.
- Vinish, Monika, Akshay Anand und Sudesh Prabhakar (2011). "Altered oxidative stress levels in Indian Parkinson's disease patients with PARK2 mutations". In: *Acta biochimica Polonica* 58.2, S. 165–169. DOI: 10.18388/abp.2011_2260.
- Visanji, Naomi P., Patricia L. Brooks, Lili-Naz Hazrati und Anthony E. Lang (2013). "The prion hypothesis in Parkinson's disease: Braak to the future". In: *Acta Neuropathologica Communications* 1, S. 2. ISSN: 2051-5960. DOI: 10.1186/2051-5960-1-2.
- Volc, Dieter, Werner Poewe, Alexandra Kutzelnigg, Petra Lühns, Caroline Thun-Hohenstein, Achim Schneeberger, Gergana Galabova, Nour Majbour, Nishant Vaikath, Omar El-Agnaf, Dorian Winter, Eva Mihailovska, Andreas Mairhofer, Carsten Schwenke, Günther Staffler und Rossella Medori (2020). "Safety and immunogenicity of the α -synuclein active immunotherapeutic PD01A in patients with Parkinson's disease: A randomised, single-blinded, phase 1 trial". In: *The Lancet. Neurology* 19.7, S. 591–600. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30136-8.
- Volpicelli-Daley, Laura A. (2017). "Effects of α -synuclein on axonal transport". In: *Neurobiology of disease* 105, S. 321–327. ISSN: 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.12.008.
- Walkinshaw, G. und C. M. Waters (1994). "Neurotoxin-induced cell death in neuronal PC12 cells is mediated by induction of apoptosis". In: *Neuroscience* 63.4, S. 975–987. ISSN: 1873-7544. DOI: 10.1016/0306-4522(94)90566-5.
- Wang, Shijun, Chun-Hsien Chu, Tessandra Stewart, Carmen Gingham, Yifei Wang, Hui Nie, Mingri Guo, Belinda Wilson, Jau-Shyong Hong und Jing Zhang (2015). " α -Synuclein, a chemoattractant, directs microglial migration via H₂O₂-dependent Lyn phosphorylation". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112.15, E1926–35. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.1417883112.
- Watson, Melanie B., Franziska Richter, Soo Kyung Lee, Lauryn Gabby, Jennifer Wu, Eliezer Masliah, Rita B. Effros und Marie-Françoise Chesselet (2012). "Regionally-specific microglial activation in young mice over-expressing human wildtype alpha-synuclein". In: *Experimental neurology* 237.2, S. 318–334. ISSN: 0014-4886. DOI: 10.1016/j.expneurol.2012.06.025.
- Weinreb, P. H., W. Zhen, A. W. Poon, K. A. Conway und P. T. Lansbury (1996). "NACP, a protein implicated in Alzheimer's disease and learning, is natively

- unfolded". In: *Biochemistry* 35.43, S. 13709–13715. ISSN: 1520-4995. DOI: 10.1021/bi961799n.
- Whitton, P. S. (2007). "Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease". In: *British journal of pharmacology* 150.8, S. 963–976. ISSN: 0007-1188. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707167.
- Wirdefeldt, Karin, Hans-Olov Adami, Philip Cole, Dimitrios Trichopoulos und Jack Mandel (2011). "Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: A review of the evidence". In: *European journal of epidemiology* 26 Suppl 1, S1–58. ISSN: 1573-7284. DOI: 10.1007/s10654-011-9581-6.
- Withers, G. S., J. M. George, G. A. Banker und D. F. Clayton (1997). "Delayed localization of synelfin (synuclein, NACP) to presynaptic terminals in cultured rat hippocampal neurons". In: *Brain research. Developmental brain research* 99.1, S. 87–94. ISSN: 0165-3806. DOI: 10.1016/s0165-3806(96)00210-6.
- Wong, Yvette C. und Dimitri Krainc (2017). "α-synuclein toxicity in neurodegeneration: Mechanism and therapeutic strategies". In: *Nature medicine* 23.2, S. 1–13. DOI: 10.1038/nm.4269.
- Woodgate, A., G. MacGibbon, M. Walton und M. Dragunow (1999). "The toxicity of 6-hydroxydopamine on PC12 and P19 cells". In: *Brain research. Molecular brain research* 69.1, S. 84–92. DOI: 10.1016/s0169-328x(99)00103-5.
- Wyss-Coray, Tony und Lennart Mucke (2002). "Inflammation in neurodegenerative disease—a double-edged sword". In: *Neuron* 35.3, S. 419–432. ISSN: 0896-6273. DOI: 10.1016/S0896-6273(02)00794-8.
- Xie, Weilin und Kenny K. K. Chung (2012). "Alpha-synuclein impairs normal dynamics of mitochondria in cell and animal models of Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 122.2, S. 404–414. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2012.07769.x.
- Xilouri, Maria, Oeystein Roed Brekk und Leonidas Stefanis (2016). "Autophagy and Alpha-Synuclein: Relevance to Parkinson's Disease and Related Synucleopathies". In: *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 31.2, S. 178–192. ISSN: 1531-8257. DOI: 10.1002/mds.26477.
- Xuan, Qi, Sheng-Li Xu, De-Hong Lu, Shun Yu, Ming Zhou, Kenji Uéda, Ye-Qing Cui, Bo-Yang Zhang und Piu Chan (2011). "Increased expression of α-synuclein in aged human brain associated with neuromelanin accumulation". In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 118.11, S. 1575–1583. ISSN: 1435-1463. DOI: 10.1007/s00702-011-0636-3.
- Yacoubian, Talene A. und David G. Standaert (2009). "Targets for neuroprotection in Parkinson's disease". In: *Biochimica et biophysica acta* 1792.7, S. 676–687. ISSN: 0006-3002. DOI: 10.1016/j.bbadis.2008.09.009.
- Yamada, Masanori, Takeshi Iwatsubo, Yoshikuni Mizuno und Hideki Mochizuki (2004). "Overexpression of alpha-synuclein in rat substantia nigra results in loss of dopaminergic neurons, phosphorylation of alpha-synuclein and activation of caspase-9: Resemblance to pathogenetic changes in Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 91.2, S. 451–461. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02728.x.

- Yamada, T., P. L. McGeer und E. G. McGeer (1992). "Lewy bodies in Parkinson's disease are recognized by antibodies to complement proteins". In: *Acta neuropathologica* 84.1, S. 100–104. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/BF00427222.
- Yan, Michael H., Xinglong Wang und Xiongwei Zhu (2013). "Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease". In: *Free radical biology & medicine* 62, S. 90–101. ISSN: 1873-4596. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.014.
- Yanamandra, Kiran, Marina A. Gruden, Vida Casaite, Rolandas Meskys, Lars Forsgren und Ludmilla A. Morozova-Roche (2011). "α-synuclein reactive antibodies as diagnostic biomarkers in blood sera of Parkinson's disease patients". In: *PLoS one* 6.4, e18513. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0018513.
- Yasuda, Toru, Yasuto Nakata und Hideki Mochizuki (2013). "α-Synuclein and neuronal cell death". In: *Molecular neurobiology* 47.2, S. 466–483. ISSN: 1559-1182. DOI: 10.1007/s12035-012-8327-0.
- Yasuda, Toru, Tomoko Nihira, Yong-Ri Ren, Xu-Qing Cao, Keiichiro Wada, Rieko Setsuie, Tomohiro Kabuta, Keiji Wada, Nobutaka Hattori, Yoshikuni Mizuno und Hideki Mochizuki (2009). "Effects of UCH-L1 on alpha-synuclein over-expression mouse model of Parkinson's disease". In: *Journal of neurochemistry* 108.4, S. 932–944. ISSN: 0022-3042. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2008.05827.x.
- Yoshimoto, M., A. Iwai, D. Kang, D. A. Otero, Y. Xia und T. Saitoh (1995). "NACP, the precursor protein of the non-amyloid beta/A4 protein (A beta) component of Alzheimer disease amyloid, binds A beta and stimulates A beta aggregation". In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92.20, S. 9141–9145. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.92.20.9141.
- Zarranz, Juan J., Javier Alegre, Juan C. Gómez-Esteban, Elena Lezcano, Raquel Ros, Israel Ampuero, Lídice Vidal, Janet Hoenicka, Olga Rodríguez, Begoña Atarés, Verónica Llorens, Estrella Gomez Tortosa, Teodoro del Ser, David G. Muñoz und Justo G. de Yébenes (2004). "The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia". In: *Annals of neurology* 55.2, S. 164–173. ISSN: 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.10795.
- Zecca, Luigi, Henrik Wilms, Sebastian Geick, Jan-Hendrik Claasen, Lars-Ove Brandenburg, Christian Holzknecht, Michele L. Panizza, Fabio A. Zucca, Günther Deuschl, Jobst Sievers und Ralph Lucius (2008). "Human neuromelanin induces neuroinflammation and neurodegeneration in the rat substantia nigra: Implications for Parkinson's disease". In: *Acta neuropathologica* 116.1, S. 47–55. ISSN: 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-008-0361-7.
- Zhang, J., G. Perry, M. A. Smith, D. Robertson, S. J. Olson, D. G. Graham und T. J. Montine (1999). "Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons". In: *The American journal of pathology* 154.5, S. 1423–1429. ISSN: 0002-9440. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65396-5.
- Zhang, Wei, Kester Phillips, Albert R. Wielgus, Jie Liu, Alberto Albertini, Fabio A. Zucca, Rudolph Faust, Steven Y. Qian, David S. Miller, Colin F. Chignell, Belinda Wilson, Vernice Jackson-Lewis, Serge Przedborski, Danielle Joset, John Loike, Jau-Shyong Hong, David Sulzer und Luigi Zecca (2011). "Neuromelanin activa-

- tes microglia and induces degeneration of dopaminergic neurons: Implications for progression of Parkinson's disease". In: *Neurotoxicity research* 19.1, S. 63–72. ISSN: 1476-3524. DOI: 10.1007/s12640-009-9140-z.
- Zhang, Wei, Tongguang Wang, Zhong Pei, David S. Miller, Xuefei Wu, Michelle L. Block, Belinda Wilson, Wanqin Zhang, Yong Zhou, Jau-Shyong Hong und Jing Zhang (2005). "Aggregated alpha-synuclein activates microglia: A process leading to disease progression in Parkinson's disease". In: *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 19.6, S. 533–542. ISSN: 1530-6860. DOI: 10.1096/fj.04-2751com.
- Zhou, Chun, Yong Huang und Serge Przedborski (2008). "Oxidative stress in Parkinson's disease: A mechanism of pathogenic and therapeutic significance". In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1147, S. 93–104. ISSN: 0077-8923. DOI: 10.1196/annals.1427.023.
- Zhou, Ming, Wangming Zhang, Jingyu Chang, Jun Wang, Weixin Zheng, Yong Yang, Peng Wen, Min Li und Hu Xiao (2015). "Gait analysis in three different 6-hydroxydopamine rat models of Parkinson's disease". In: *Neuroscience letters* 584, S. 184–189. ISSN: 0304-3940. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.10.032.
- Zigmond, Michael J., Judy L. Cameron, Rehana K. Leak, Karoly Mirnics, Vivienne A. Russell, Richard J. Smeyne und Amanda D. Smith (2009). "Triggering endogenous neuroprotective processes through exercise in models of dopamine deficiency". In: *Parkinsonism & related disorders* 15 Suppl 3, S42–5. ISSN: 1353-8020. DOI: 10.1016/S1353-8020(09)70778-3.

A. Anhang

Im Folgenden sind technische Arbeitsmaterialien, verwendete Chemikalien, Antikörper und hergestellte Lösungen alphabetisch aufgelistet. Standardlabormaterial wurde ohne weitere Angaben aufgeführt.

A.1. Arbeitsmaterialien (Geräte/ Software/ Gebrauchsmaterial)

Aluminiumfolie	
Box (39,5 x 39,5 cm, Höhe 35 cm) - für Open Field und Apomorphintest	Werkstatt der Neurologie, Würzburg, Deutschland
Brain Matrix Slicer Maus	Zivic Instruments, Pittsburgh, Pennsylvania, USA
Braunülen® (= periphere Venenkatheter)	
Chirurgiestift, steril	
Deckgläser (24 x 55 bzw. 60 mm)	R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland
Eppendorf® Tubes/ Gefäße/ Röhrchen	
Färbekassetten mit Deckel	
Filteraufsätze (blau - 0,2 µm) - für Spritzen	
Glasflaschen, -gefäße, -schalen, -zylinder	
Hochgeschwindigkeitsbohrer (für stereotaktische Chirurgie bei Mäusen)	Stoelting Europe, Dublin, Irland bzw. Stoelting Co., Wood Dale, Illinois, USA
Injektionsnadeln (= Kanülen)	
Kammer (für CO ₂)	
Kanülen (= Hohl-/ Injektionsnadeln)	
Kryomolds/ Peel-A-Way® Einweg-Einbettformen	Polysciences, Inc., Warrington, Pennsylvania, USA
Kryostat CM3050 S (mit Zubehör: Klinge, Glaseinsatz (70 mm), Pilz etc.)	Leica Biosystems GmbH, Wetzlar, Deutschland
Küchenrolle	
(Wasch-)Küvetten	
Mikroinjektionsspritze (Hamilton® 75N 5 µl)	Hamilton, Bonaduz, Schweiz
Mikroinjektor (genauer: Stereotaktisches Mikroinjektor -Robotersystem, Maus)	Stoelting Europe, Dublin, Irland bzw. Stoelting Co., Wood Dale, Illinois, USA
Mikroskope: Axiophot (Axiophot 2) Lichtmikroskop (Olympus-BH-2) weitere (Durchlicht-)Mikroskope Operationsmikroskop	Zeiss, Oberkochen, Deutschland Olympus, Hamburg, Deutschland z.B. Kern & Sohn GmbH, Balingen, Deutschland Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Objektträger (Super Frost® Plus OT)	R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland
Objektträgerboxen/ -mappen	A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Deutschland
OP-Besteck (Klemmen, Nadelhalter, Pinzetten, Scheren, Skalpelle, etc.)	
PAP-Pen (genauer: Liquid Blocker Super PAP-Pen - Liquid-Repellent Slide Marker Pen)	Science Services GmbH, München, Deutschland
Parafilm	
Paravent	

Peleusball	
pH-Elektrode/ pH-Meter-Sonde	
Pinsel	
Pinzetten	
Pipetten (Glas-, Standardlabor-, Einmal-/ einfache)	z.B. Gilson, Limburg-Offheim, Deutschland oder Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
Pipettenspitzen/ -aufsätze	
Rasierer	
Rührfisch/ -stäbchen, magnetisch	
Rührgerät/ -platte, elektrisch/ heizbarer Magnetrührer	z.B. A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Deutschland
Schalen	
Software: EthoVision XT 8.5 Excel ImageJ StereoDrive TSE RotaRod V4.0.1	Noldus, Wageningen, Niederlande Microsoft, Redmond, Washington, USA National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA Neurostar, Tübingen, Deutschland TSE Systems GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Spiegel	
(Einmal-)Spritzen, verschiedene Größen	
(Metall-)Stab - für Eindecken der OT	
stereotaktisches System bzw. stereotaktischer Rahmen mit Mausaufsatz/ -adapter	Stoelting Europe, Dublin, Irland bzw. Stoelting Co., Wood Dale, Illinois, USA
Styroporboxen	
TSE RotaRod 3375-4B (Gerät)	TSE Systems GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Vicryl 4-0 (Nahtmaterial)	Ethicon, Bridgewater, New Jersey und Cincinnati, Ohio, USA
Videokameras mit Halterung/ Stativ: Panasonic WV-CP500 SD5 - für Open Field und Apomorphintest Sony HDR-CX570E - für Zylindertest	Panasonic Industry Europe GmbH, Ottobrunn, Deutschland Sony Corporation, Tokio, Japan
Vortex-Gerät/ -Mischer/ -Schüttler	z.B. A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Deutschland
Waage	z.B. Kern & Sohn GmbH, Balingen, Deutschland
Wärmematte/ Maus-Heizkissen mit rektaler Thermosonde	Stoelting Europe, Dublin, Irland bzw. Stoelting Co., Wood Dale, Illinois, USA
Wärme-/ Heizplatte	z.B. A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Deutschland
Wattestäbchen	
Zellstoff	
Zentrifuge	z.B. A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Deutschland
Zylinder: Mess-, Glas- transparenter Plexiglas-Zylinder (Durchmesser 24 cm, Höhe 35,5 cm für Apomorphintest), (Durchmesser 12 cm, Höhe 30 cm für Zylindertest)	Werkstatt der Neurologie, Würzburg, Deutschland

A.2. Verwendete Chemikalien

Aceton	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
Apomorphin (genauer: R-(-)-Apomorphin Hydrochlorid Hemihydrat)	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
Aqua dest. (= dH ₂ O)	B. Braun, Melsungen, Deutschland
Aquatex [®]	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Ascorbinsäure (= Vitamin C)	
Avidin/Biotin-Reagenz (Standard Ultra-Sensitive ABC Staining Kit - Artikelnummer: 32050)	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
Azur(blau) II/B	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Bepanthen [®] Augen- und Nasensalbe (Wirkstoff: Dexpanthenol)	Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland
BSA (Artikelnummer: A4503) (Stammslg.: 10% BSA/PBS - Herstellung siehe Anhang A.4; Gebrauchslsg.: 5% BSA/PBS, 1% BSA/PBS)	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
Carprofen (Handelsname: u.a. Rimadyl [®])	Pfizer Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland
CO ₂	
Cutasept [®]	Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland
DAB-Tabletten (Artikelnummer: 4170)	Kem-En-Tec Diagnostics/ Nordic A/S, Taastrup, Dänemark
1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan - DABCO [®] - Herstellung siehe Anhang A.4	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
DAPI (Artikelnummer: D8417)	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
dH ₂ O (= Aqua dest.)	B. Braun, Melsungen, Deutschland
Essigsäure	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
Formol/ Formaldehyd(lösung) 4%	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Glycerin (= Glycerol)	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
H ₂ O ₂ 30%	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
HCl (1 M/ 0,1 M)	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Heparin (genauer: Heparin-Natrium 25 000 I.E./ 5 ml Injektionslösung i.v./ s.c.)	ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Injektionslösungen/ Vektoren: AAV1/2-A53T- α -Syn AAV1/2-EV	Herstellung vgl. (Koprach et al. 2010)
Isopentan (= (2-)Methylbutan)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
KCl	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Ketamin (Handelsname: u.a. Ketavet [®])	Pfizer Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland
KH ₂ PO ₄	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Methylenblau	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
NaCl	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
NaCl-Lsg. 0,9% (Kochsalzlösung)	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Na ₂ HPO ₄ -2H ₂ O	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
NaOH (5 M/ 1 M/ 0,1 M)	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
NGS (Artikelnummer: X0907) (Gebrauchslsg.: 10% NGS/ 2% BSA/PBS, 2% NGS/PBS)	Dako Denmark A/S, Glostrup, Dänemark
PBS - Herstellung siehe Anhang A.4 (Stammslg.: 10 x PBS, Gebrauchslsg.: 1 x PBS)	

PFA	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
D(+)-Saccharose	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Stickstoff	
Tissue-Tek® O.C.T.™Compound	Sakura Finetek Europe B.V., Alphen aan den Rijn, Niederlande
Trockeneis (= festes CO ₂)	
Vitro-Clud®	R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland
Xylazin (Handelsname: u.a. Rompun®)	Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland

A.3. Antikörper

Spezifität	Spezies-Reaktivität	Wirtspezies	Firma	Artikelnummer	Lagerung	Verdünnung
Primär-AK						
rabbit anti-mouse TH	mouse/rat	rabbit	abcam, Cambridge, UK	Ab112	-20°C	1:1000 in 1% BSA/PBS bzw. 2% NGS/PBS
mouse anti-human α -Syn	human/mouse	mouse	Invitrogen (Thermo Fisher Scientific), Waltham, Massachusetts, USA	328100	-20°C	1:500 in 2% NGS/PBS
Sekundär-AK						
biotinylierter anti-rabbit IgG (H+L)	rabbit	goat	Vector Laboratories, Inc., Burlingame, Kalifornien, USA	BA-1000	4°C	1:100 in 1% BSA/PBS
goat anti-rabbit IgG (H+L) - Cy3 (rot)	rabbit	goat	Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, Pennsylvania, USA	111-165-144	-20°C, lichtgeschützt	1:300 in 2% NGS/PBS
goat anti-mouse IgG (H+L) - Cy2 (grün)	mouse	goat	Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, Pennsylvania, USA	115-225-146	-20°C, lichtgeschützt	1:300 in 2% NGS/PBS

A.4. Hergestellte Lösungen

Anästhetikum - Ketamin-Xylazin-Gemisch:

10% Ketavet® - 100 g/l Ketamin (100 mg/ml)

2% Rompun® - 20 g/l Xylazin

0,9% NaCl - 9 g/l NaCl

Lösung: 0,6 ml Ketamin, 0,15 ml Xylazin, 4,25 ml NaCl

Dosierung: 100 mg Ketamin + 5 mg Xylazin pro kg KG

Analgetikum:

Carprofen (Handelsname: u.a. Rimadyl®) 1:100 in NaCl 0,9%

Apomorphin-Injektionslösung:

- 5 mg Apomorphin
 - 50 ml NaCl 0,9%
 - 10 mg Ascorbinsäure (Vitamin C als Antioxidans)
-

Azurmethylenblaulösung:

- für 100 ml:
 - 1 g Azur(blau) II/B
 - 1 g Methylenblau
 - 40 g Saccharose
 - 1-9 Tropfen 4% Formol zugeben
 - mit Aqua dest. auf 100 ml auffüllen
 - pH-Wert auf 9 einstellen
-

10% BSA/PBS:

- 10 g BSA in 100 ml 1 x PBS lösen
-

DABCO®:

- 25% 1 x PBS
 - 75% Glycerin/ -ol
 - 25 mg/ml 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
 - bei 4 °C lichtgeschützt lagern
-

1%-ige Essigsäure in dH₂O:

- für 500 ml: 495 ml dH₂O + 5 ml Essigsäure
-

10 x PBS (= 10-fach konzentriertes PBS):

- für 1 Liter:
 - 80 g NaCl
 - 14,2 g Na₂HPO₄-2H₂O
 - 2 g KCl
 - 2 g KH₂PO₄
 - mit Aqua dest. auf 1 Liter auffüllen
 - pH-Wert auf 6,8 einstellen
-

1 x PBS (= 1-fach konzentriertes PBS):

- für 1 Liter: 100 ml 10 x PBS mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen
 - beim Verdünnen auf 1 x PBS verändert sich der pH-Wert auf 7,4
-

Perfusionslösung - PBS mit Heparin:

- 150 ml 1 x PBS + ~0,5 ml Heparin (Antikoagulans zur Hemmung einer vorzeitigen Blutgerinnung)
-

4%-ige PFA-Lösung in PBS (= 4% PFA/PBS):

- für 100 ml: 4 g PFA in 100 ml 1 x PBS lösen
 - auf ca. 60-70 °C erwärmen
 - 1 Tropfen NaOH (5 M) zugeben
 - rühren bis Lösung klar ist
 - auf Eis in einer Styroporbox stellen und auf Raumtemperatur abkühlen lassen
 - pH-Einstellung auf 7,4 (durch Zugeben von HCl (0,1 M / 1 M) oder NaOH (0,1 M / 1 M))
-

30%-ige Saccharoselösung in PBS:

- für 100 ml: 30 g Saccharose ad 100 ml 1 x PBS

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand an der Neurologischen Klinik und Poliklinik der Universität Würzburg im Zeitraum von 2014 bis 2020.

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei all denjenigen bedanken, die auf ganz unterschiedliche Art und Weise zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben:

Dem Klinikdirektor der Neurologie, Herrn Prof. Dr. med. Jens Volkmann, danke ich für die Möglichkeit, eine Promotionsarbeit an seiner Klinik anfertigen zu dürfen.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Chi Wang Ip, für die Überlassung des Dissertationsthemas und Bereitstellung des Projektes, seine ausgezeichnete, langjährige, engagierte Betreuung, die stets zeitnah erfolgten Rückmeldungen und hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung, Auswertung und Fertigstellung der gesamten Arbeit.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Manfred Lutz danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Des Weiteren möchte ich mich bei unseren kanadischen Kooperationspartnern, v.a. bei Herrn James B. Koprach, PhD, für die gute wissenschaftliche Zusammenarbeit im Rahmen des Projektes bedanken.

Ein herzliches Dankeschön geht an alle Mitarbeiter der Arbeitsgruppen von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Rudolf Martini und Herrn Prof. Dr. med. Chi Wang Ip sowie weitere wissenschaftliche Mitarbeiter der Neurologischen Klinik: Allgemein möchte ich mich für die freundliche Aufnahme ins Team und Nutzungsmöglichkeiten des Labors bedanken. Herrn Dr. med. Felix Fluri - für seine Hilfe bei der Organisation des Zylindertests. Frau Silke Loserth - für ihre professionelle Einweisung in histologische Laborarbeiten, geduldige Unterstützung bei der Durchführung der Färbungen und Beantwortung meiner Fragen. Herrn Heinrich Blazycyca - für seine hilfsbereite und aufmunternde Art, mit der er stets für eine gute Arbeitsatmosphäre und Motivation im Labor sorgte. Herrn Dr. rer. nat. Dennis Klein, Michaela Hörner und meinen Mitdoktoranden - für gemeinsam verbrachte Stunden im Labor und anregende Gespräche.

Auch möchte ich dem Team der Tierhaltung danken: Helga Brünner - für die gute Organisation, Jaqueline Schreiber, Anja Weidner und Jennifer Bauer - für die Schaffung einer herzlichen Arbeitsatmosphäre während der Durchführung der Verhaltensexperimente.

Bedanken möchte ich mich auch bei Freunden und Familie, die nicht namentlich erwähnt werden, mich aber dennoch während des Entstehungsprozesses der Dissertation begleitet, an mich gedacht und auf vielfältige Weise unterstützt haben.

Ganz besonders Jan und meinen Eltern möchte ich für ihre verlässliche und unermüdliche Unterstützung und die für sie selbstverständliche Opferung ihrer Zeit in allen Phasen des Studiums, der Doktorarbeit und darüber hinaus bedanken. Ihr habt mir mit viel Geduld und Ermutigung zur Seite gestanden, bei allen großen und kleinen Hürden mitgefiebert (v.a. du, Mama ☺) und mir stets den Rücken freigehalten - ohne euch wäre das so nicht möglich gewesen - vielen, vielen Dank dafür!

Schließen möchte ich mit einem Zitat von Max Planck (1858-1947):

„Die Naturwissenschaften braucht der Mensch zum Erkennen, den Glauben zum Handeln. Religion und Naturwissenschaft schließen sich nicht aus, wie heutzutage manche glauben und fürchten, sondern sie ergänzen und bedingen einander. Für den gläubigen Menschen steht Gott am Anfang, für den Wissenschaftler am Ende aller Überlegungen.“

und damit gilt mein Dank abschließend Gott - du bist da, du gehst mit, jeden Weg.

Veröffentlichungen

Originalartikel in internationaler peer-reviewed Fachzeitschrift:

Chi Wang Ip, **Laura-Christin Klaus**, Akua A. Karikari, Naomi P. Visanji, Jonathan M. Brotchie, Anthony E. Lang, Jens Volkmann und James B. Koprach (2017). "AAV1/2-induced overexpression of A53T- α -synuclein in the substantia nigra results in degeneration of the nigrostriatal system with Lewy-like pathology and motor impairment: A new mouse model for Parkinson's disease". In: *Acta Neuropathologica Communications* 5.1, S. 11. ISSN: 2051-5960. DOI: 10.1186/s40478-017-0416-x.

Poster:

Chi Wang Ip, **Laura-Christin Klaus**, Virginia Maltese, Jens Volkmann, Jonathan M. Brotchie, James B. Koprach (2015). 9. Deutscher Parkinson-Kongress, 16.-18.04.2015, Berlin, Deutschland. „Degeneration des nigrostriatalen Systems durch AAV1/2 vermittelte Überexpression von mutiertem A53T alpha-Synuclein in der Substantia nigra: Ein neues Mausmodell des M. Parkinson“.

Chi Wang Ip, **Laura-Christin Klaus**, Virginia Maltese, Jens Volkmann, Jonathan M. Brotchie, James B. Koprach (2015). 19th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, 14.-18.06.2015, San Diego, Kalifornien, USA. "AAV1/2 overexpression of A53T α -synuclein in the substantia nigra results in behavioural deficits and degeneration of the nigrostriatal system: a new mouse model of Parkinson's disease".