

Aus der Klinik für Neurologie der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. D. Kömpf

**Einfluss ausgewählter genetischer und exogener Faktoren auf
die Entwicklung des Morbus Parkinson**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

-Aus der medizinischen Fakultät-

vorgelegt von

Kirsten Urbach

aus Hamburg

Lübeck 2007

1. Berichterstatterin: Frau Prof. Dr. med. Christine Klein

2. Berichterstatterin: Frau Prof. Dr. med. Gabriele Gillessen-Kaesbach

Tag der mündlichen Prüfung: 29.04.2008

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 29.04.2008

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Abkürzungsverzeichnis | VII |
| 1. Einleitung | 1 |
| 1.1. Parkinson-Krankheit..... | 1 |
| 1.2. Epidemiologie..... | 2 |
| 1.2.1. Deskriptive Epidemiologie | 2 |
| 1.2.2. Analytische Epidemiologie | 2 |
| 1.3. Genetik des Morbus Parkinson..... | 4 |
| 1.3.1. Fall-Kontroll- und Familienuntersuchungen | 5 |
| 1.3.2. Zwillingsstudien | 5 |
| 1.3.3. Studien von „ <i>Multicase</i> -Familien“ und großen Stammbäumen | 6 |
| 1.3.4. Allelassoziationsstudien | 6 |
| 1.4. Zielsetzung | 11 |
| 2. Patienten, Material und Methoden | 13 |
| 2.1. Stichprobe..... | 13 |
| 2.2. Material..... | 14 |
| 2.2.1. Chemikalien..... | 14 |
| 2.2.2. Stammlösungen | 15 |
| 2.2.3. Reaktionskits | 16 |
| 2.2.4. Geräte und Gebrauchswaren..... | 16 |
| 2.3. Methoden..... | 17 |
| 2.3.1 Verfahren zur DNA-Extraktion | 17 |
| 2.3.2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR) | 18 |
| 2.3.2.1. Gradienten-PCR | 18 |
| 2.3.2.2. PCR mit fluoreszenzmarkierten <i>Primern</i> | 19 |
| 2.3.2.3. Duplex-PCR | 19 |
| 2.3.3. Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse (SSCP)..... | 20 |
| 2.3.4. Restriktionsverdau | 20 |
| 2.3.5. DNA-Sequenz-Analyse | 20 |
| 2.3.6. Gelelektrophorese..... | 21 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3.6.1. Agarosegel-Elektrophorese | 21 |
| 2.3.6.2. Denaturierende Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE)..... | 21 |
| 2.3.7. Silberfärbung | 22 |
| 2.3.8. Schmelzkurvenanalyse auf dem <i>Light Cycler</i> | 22 |
| 2.3.8.1. Analyse mit dem <i>SYBR-Green</i> -Farbstoff | 23 |
| 2.3.8.2. Analyse mit Hybridisierungssonden..... | 24 |
| 2. 4. Statistik | 25 |
| 3. Ergebnisse | 26 |
| 3.1. Beschreibung der Stichprobe..... | 26 |
| 3.1.1. Patienten | 26 |
| 3.1.2. Kontrollen..... | 27 |
| 3.2. Analyse der Polymorphismen..... | 27 |
| 3.2.1. <i>α-Synuklein</i> | 28 |
| 3.2.2. <i>Apolipoprotein E</i> | 30 |
| 3.2.3. <i>Parkin</i> | 33 |
| 3.2.4. <i>Glutathion-S-Transferase</i> | 37 |
| 3.2.4.1. <i>GST</i> und Pestizidexposition..... | 40 |
| 3.2.5. <i>N-Acetyltransferase 2</i> | 41 |
| 3.2.5.1. <i>NAT2</i> und Pestizidexposition..... | 44 |
| 3.3. Rauchen und MP | 45 |
| 3.4. Pestizidexposition und MP | 46 |
| 4. Diskussion | 48 |
| 4.1. Stichprobe..... | 48 |
| 4.2. Methoden | 49 |
| 4.3. Polymorphismen und MP | 51 |
| 4.3.1. <i>α-Synuklein</i> | 51 |
| 4.3.2. <i>Apolipoprotein E</i> | 54 |
| 4.3.3. <i>Parkin</i> | 58 |
| 4.3.4. <i>Glutathion-S-Transferase</i> | 62 |
| 4.3.4. <i>N-Acetyltransferase 2</i> | 66 |
| 4.4. Exogene Faktoren und MP | 68 |
| 4.4.1. Nikotin..... | 68 |

| | |
|--------------------------------------------|------------|
| 4.4.2. Pestizide..... | 70 |
| 4.6. Fazit | 72 |
| 4.7. Ausblick..... | 73 |
| 5. Zusammenfassung | 74 |
| 6. Literaturverzeichnis | 76 |
| 7. Anhang..... | 101 |
| 7.1. Tabellen | 101 |
| 7.2. Genehmigung der Ethikkommission | 117 |
| Danksagung..... | 118 |
| Lebenslauf | 119 |
| Publikationsverzeichnis | 121 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|-----------------------------------------|
| A | Adenin |
| A | Ampere |
| Ala (A) | Alanin |
| ApoE | Apolipoprotein E |
| Arg (R) | Arginin |
| Asn (N) | Asparagin |
| ATP13A2 | ATPase Typ 13A2 |
| bp | Basenpaare |
| bzw. | beziehungsweise |
| C | Cytosin |
| ° C | Grad Celsius |
| ca. | circa |
| Cys (C) | Cystein |
| ddNTP | 2',3'-Didesoxynukleosid-5'-triphosphat |
| d. h. | das heißt |
| dH ₂ O | destilliertes Wasser |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| dNTP | 2'-Desoxynukleosid-5'-triphosphat |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| EOPD | <i>early onset Parkinson's disease</i> |
| <i>et al.</i> | und andere |
| etc. | <i>et cetera</i> |
| FMME | <i>Folstein mini mental examination</i> |
| FRET | Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer |
| g | Gramm |
| G | Guanin |
| Glu (E) | Glutaminsäure |
| Gly (G) | Glycin |
| GST | Glutathion-S-Transferase |
| h | Stunde |

| | |
|---------|---------------------------------------------|
| HR | <i>Hazard Ratio</i> |
| Ile (I) | Isoleucin |
| JEM | <i>job exposure matrix</i> |
| kb | Kilobasenpaare |
| l | Liter |
| LC | <i>Light Cycler</i> |
| Leu (L) | Leucin |
| LOPD | <i>late onset Parkinson's disease</i> |
| LRKK2 | Leucine-rich repeat kinase-2 |
| Lys (K) | Lysin |
| μ | Mikro |
| m | Milli |
| M | Molar |
| MA | Morbus Alzheimer |
| MAO | Monoaminoxidase |
| Met (M) | Methionin |
| MP | Morbus Parkinson |
| MPP+ | 1-Methyl-4-Phenylpyridin |
| MPTP | 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin |
| min | Minuten |
| n | Anzahl |
| NACP | <i>non-amyloid components of plaques</i> |
| NAT | N-Acetyltransferase |
| nm | Nanometer |
| p | Zufallswahrscheinlichkeit |
| PAA | Polyacrylamid |
| PAGE | Polyacrylamid-Gelelektrophorese |
| PCR | Polymerasenkettenreaktion |
| PET | Positronen-Emissions-Tomographie |
| PINK1 | <i>PTEN-induced putative kinase 1</i> |
| Pro (P) | Prolin |
| rpm | <i>rounds per minute</i> |
| s | Sekunden |
| SDS | Sodium-Dodecyl-Sulfat |

| | |
|----------------|------------------------------------------------|
| Ser (S) | Serin |
| SNP | <i>single nucleotide polymorphism</i> |
| SSCP | <i>single-strand-conformation-polymorphism</i> |
| s. u. | siehe unter |
| T | Thymin |
| TBE | Tris-Borat-EDTA |
| TEMED | N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamid |
| Thr (T) | Threonin |
| T _M | Schmelztemperatur |
| Trp (W) | Tryptophan |
| U | Uracil |
| UCH-L1 | Ubiquitin-Carboxyterminale Hydrolase L1 |
| u. a. | unter anderem |
| V | Volt |
| Val (V) | Valin |
| W | Watt |
| z. B. | zum Beispiel |
| z. T. | zum Teil |

1. Einleitung

1.1. Parkinson-Krankheit

Die Parkinson-Krankheit (Morbus Parkinson) ist nach dem Londoner Arzt James Parkinson benannt, der das Krankheitsbild im Jahre 1817 erstmals beschrieb [131]. Morbus Parkinson (MP) ist nach dem Morbus Alzheimer (MA) die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung, die neuropathologisch auf einer fortschreitenden Degeneration melaninhaltiger, dopaminergischer Zellen vor allem in der *Pars compacta* der *Substantia nigra* beruht. Ein weiteres Kennzeichen sind Lewy-Körper, *Ubiquitin*-positive, eosinophile, zytoplasmatische Einschlusskörper, deren Anwesenheit charakteristisch, aber nicht spezifisch ist [95]. Bis heute gibt es keinen eindeutigen biologischen Marker, so dass die neurologische Untersuchung der Goldstandard zur Diagnose des MP ist [95]. Zu den Hauptkriterien zählen eine Bradykinesie/Akinesie in Kombination mit einem Rigor, Ruhetremor oder Haltungsinstabilität. Je nach vorherrschender Symptomatik können eine tremor-dominante und eine akinetische Form unterschieden werden.

Der MP wird, beruhend auf dem Erkrankungsalter in drei verschiedene Gruppen eingeteilt: in die juvenile Form, beginnend vor dem 20. Lebensjahr, die früh beginnende Form (*early onset Parkinson's disease* (EOPD)) mit einem Erkrankungsalter zwischen dem 21. und dem 50. Lebensjahr und die spät beginnende Form (*late onset Parkinson's disease* (LOPD)) mit einem Erkrankungsbeginn nach dem 50. Lebensjahr. Die Definition des EOPD ist in der Literatur uneinheitlich, da das Erkrankungsalter studienabhängig zwischen 40 Jahren [43, 46], 45 Jahren [127] und 50 Jahren [2, 81] differiert. Patienten mit einem frühen Erkrankungsbeginn haben wahrscheinlich einen langsameren Krankheitsverlauf und weniger kognitive Defizite als Patienten mit spätem Erkrankungsbeginn, dafür aber eine höhere Inzidenz von Dystonien und Levodopa-induzierten Dyskinesien [43].

Trotz intensiver Forschung ist die Ursache des MP weitgehend ungeklärt. Am Ende des 19. Jahrhunderts wurde von einer genetischen Ätiologie ausgegangen, da beobachtet wurde, dass etwa 15 % der Patienten einen Verwandten mit der gleichen Erkrankung hatten [52]. Die genetischen Erwägungen traten in den Hintergrund, als im Rahmen der epidemischen *Enzephalitis lethargica* (1918-1920) viele betroffene Personen einen postenzephalitischen

Parkinsonismus entwickelten [140] und wurden erst 20 bis 30 Jahre später mit der Entdeckung einer hohen familiären Inzidenz des MP wieder aufgegriffen [120]. Seit 1983 wird erneut ausgiebig über eine exogene Ursache nachgedacht, nachdem mehrere kalifornische Drogenabhängige durch die Injektion von mit MPTP (1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6 Tetrahydropyridin) verunreinigtem Heroin ein akinetisch-rigid betontes Parkinson-Syndrom entwickelt hatten [96].

1.2. Epidemiologie

1.2.1. Deskriptive Epidemiologie

Sowohl die Inzidenz-, als auch die Prävalenzrate des MP steigen mit zunehmendem Lebensalter an. Vor dem 40. Lebensjahr ist der MP selten, die Prävalenzrate nimmt jedoch nach dem 50. Lebensjahr fast exponentiell zu. In der 8. Lebensdekade beträgt die geschätzte Prävalenzrate in der europäischen und nordamerikanischen Bevölkerung 1:1000 – 3:1000. Männer sind insgesamt etwas häufiger betroffen, als Frauen [177].

1.2.2. Analytische Epidemiologie

Lebensalter

Das Alter ist der einzige bisher eindeutig akzeptierte Risikofaktor [97], da sich mit zunehmendem Alter das Dopamin im *Striatum* zu verringern scheint. Eine Beschleunigung dieses Prozesses könnte eine Rolle in der Ätiologie des MP spielen und führt zu den in der Abbildung 1 aufgeführten Hypothesen.

Nikotin

Ein bisher sehr konsistenter epidemiologischer Befund ist die negative Assoziation des Zigarettenrauchens zu MP. Diese Beobachtung konnte bisher durch verschiedene Studien mit unterschiedlichem Studiendesign [24, 32, 54, 65, 80, 114, 155, 167, 181] und auch durch eine Meta-Analyse der publizierten Studien aus dem Jahr 2002 nachgewiesen werden [67]. Noch ist keine befriedigende Erklärung für den scheinbar schützenden Effekt des Zigarettenrauchens gefunden worden.

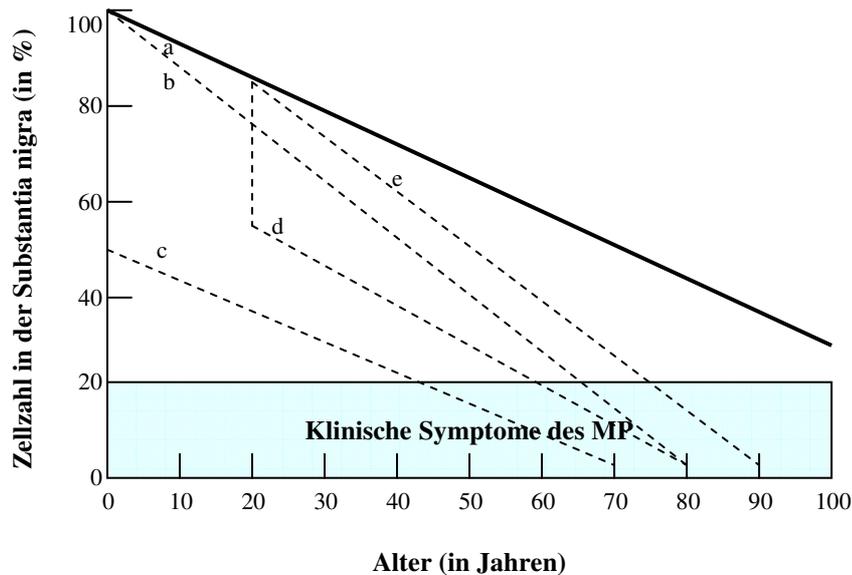


Abbildung 1: Modellhafte Hypothesen zum Zellverlust beim MP. Klinische Symptome eines MP scheinen erst bei einem Zellverlust in der *Substantia nigra* von 70 – 80 % aufzutreten. a) Normaler altersbedingter Zellverlust. b) Schnellerer Zellverlust vom Tage der Geburt an, z. B. durch ein bestimmtes genetisches Merkmal. c) Reduzierte Zellzahl bei der Geburt, aber normaler altersbedingter Zellverlust, z. B. durch pränatale Infektionen oder Plazentaabnormalitäten. d) Zerstörung einer begrenzten Anzahl von Zellen, z. B. durch ein akutes exogenes Ereignis, wie ein Schädel-Hirn-Trauma, mit nachfolgendem normalen altersbedingten Zellverlust. e) Eine chronische exogene Exposition, z. B. durch Pestizide, könnte zu einer leicht beschleunigten Zelltod-Rate führen (modifiziert nach [13]).

Umweltgifte

Seit der zufälligen Entdeckung des MPTP-induzierten Parkinsonismus vor 24 Jahren wird vermutet, dass Umweltgifte zur Ätiologie des MP beitragen könnten. MPTP überwindet nach systemischer Injektion die Blut-Hirn-Schranke und wird in den Astrozyten vom Enzym Monoaminoxidase (MAO) Typ B in das aktive Toxin 1-Methyl-4-Phenylpyridin (MPP+) umgewandelt. MPP+ wird selektiv von den dopaminergen Zellen der *Substantia nigra* aufgenommen und akkumuliert besonders in den Mitochondrien. Dort inhibiert es spezifisch den Komplex I und führt zu einer vermehrten Freisetzung von freien Radikalen und zu einer oxidativen Zellschädigung. Der hierdurch ausgelöste Parkinsonismus zeichnet sich durch eine sehr kurze Latenzphase von nur 7 bis 14 Tagen, durch einen selektiv auf die *Substantia nigra* beschränkten Zellverlust und durch das Fehlen von Lewy-Körpern aus [191]. Die auffallende Ähnlichkeit zwischen diesem Parkinsonismus und MP legt die Vermutung nahe, dass Toxine aus der Umwelt, die dem MPTP in der Struktur oder der biologischen Aktivität ähneln, eine Ursache für MP sein könnten. Strukturell dem MPTP

verwandte Substanzen unserer Umwelt sind z. B. Pestizide vom Typ des Paraquat. Pestizide werden unterschieden in Insektizide (z. B. Carbamate, Organophosphate, Organochlorverbindungen, Pyrethroide, Rotenon), Herbizide (z. B. Bipyridylium-Komponenten, wie Paraquat, Diquat, außerdem chlorierte Phenoxy-carbonsäuren und Benzonitrile) sowie Fungizide (z. B. Benzimidazolcarbamate und Triazol-derivate) [99]. Pestizide, die in jeweils einer Fall-Kontroll-Studie mit einem erhöhten MP-Risiko assoziiert waren, sind z. B. das Dithiocarbamat, das die Toxizität des MPTP zu steigern vermag [182] und das Dieldrin, ein Organochlorid, das in einer Studie in sechs von 20 Gehirnen von MP-Patienten gefunden worden ist, jedoch doch in keinem von 14 Kontrollgehirnen [158].

Weitere exogene Faktoren

Weitere Faktoren, wie Schädel-Hirn-Traumen, Infektionen, Ernährungsgewohnheiten, Brunnenwasserkonsum, Stoffe, wie Mangan, Kohlenmonoxid, Kohlendisulfid und Zyanid, Einnahme bestimmter Medikamente (Neuroleptika) etc. werden immer wieder mit der Ätiologie des MP in Verbindung gebracht, sollen aber im Rahmen dieser Arbeit nicht näher erläutert werden [141].

Allgemeingültige analytisch-epidemiologische Erkenntnisse zu ätiologisch relevanten exogenen Faktoren bei MP sind trotz intensiver Forschungsanstrengungen bislang bruchstückhaft geblieben. Parallel wurde deswegen stets auch nach genetischen Ursachen gesucht.

1.3. Genetik des Morbus Parkinson

Ein genetischer Beitrag zur Entstehung des MP ist unumstritten. Die Ergebnisse verschiedener Forschungsansätze, z. B. von Fall-Kontroll- und Familienuntersuchungen, Zwillingsstudien, Analysen großer Stammbäume mit mehreren an MP erkrankten Familienmitgliedern und Allel-Assoziationsstudien untermauern diese Hypothese.

1.3.1. Fall-Kontroll- und Familienuntersuchungen

Fall-Kontroll-Studien und Untersuchungen bei Verwandten von MP-Patienten zeigten, dass abgesehen vom Alter, eine positive Familienanamnese den größten Risikofaktor für die Erkrankung darstellt [160]. Die ersten entsprechenden Ergebnisse wurden im Jahre 1949 von Mjones publiziert, der 40 % seiner Fälle als familiär einstufte [120]. Spätere Studien bestätigten ein erhöhtes kumulatives Risiko für ein Parkinson-Syndrom bei Geschwistern und Kindern von MP-Patienten [12, 32, 51, 93, 110, 157, 160, 179, 202].

1.3.2. Zwillingsstudien

Die Ergebnisse der frühen Zwillingsstudien sprachen gegen einen genetischen Beitrag zur Ätiologie des MP, da die ermittelten Konkordanzraten zwischen monozygoten und dizygoten Zwillingen annähernd gleich waren [112, 187, 189]. Weiterführende Studien, die klinisch diskordante Zwillingspaare zusätzlich mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) untersuchten, um dadurch auch präklinische Veränderungen des nigrostriatalen dopaminergen Systems feststellen zu können, wiesen allerdings eine signifikante Konkordanz nach [23, 138]. Eine Studie aus dem Jahre 1999 untersuchte die bislang größte Gruppe unselektierter Zwillinge aus der „*National Academy of Science/National Resource Council World War II Veteran Twins*“ Kohorte. Nachdem auch in dieser Studie ähnliche Gesamtkonkordanzraten bestanden, wurden die MP-Patienten nach ihrem Erkrankungsalter in zwei Gruppen aufgeteilt. Die Konkordanzraten mono- und dizygoter Zwillingen mit einem Erkrankungsbeginn nach dem 50. Lebensjahr waren im Wesentlichen identisch. In der Gruppe der Patienten mit dem Erkrankungsbeginn vor dem 50. Lebensjahr waren die Konkordanzraten monozygoter Zwillinge erhöht. Dieses Ergebnis führte zu der Annahme, dass genetische Faktoren keine bedeutende Rolle in der Ätiologie des LOPD spielen, jedoch bei einem Erkrankungsbeginn vor dem 50. Lebensjahr bedeutsam zu sein scheinen [178].

1.3.3. Studien von „*Multicase*-Familien“ und großen Stammbäumen

Bei der Untersuchung von kleineren (*Multicase*) und größeren Stammbäumen von an MP erkrankten Patienten sind seit 1997 insgesamt sieben krankheitsassoziierte Gene (α -Synuklein, *Parkin*, *UCH-L1*, *PINK1*, *DJ-1*, *LRRK2*, *ATP13A2*) und sechs Genorte entdeckt worden [20, 38, 44, 45, 69, 84, 98, 100, 128, 139, 144, 169, 184]. In der Reihenfolge ihrer Entdeckung wurden sie *PARK1* bis *PARK13* bezeichnet. Mutationen innerhalb dieser Gene führen zum Auftreten von monogenen Parkinson-Syndromen, die zumindest in drei Genen so häufig sind, dass sie klinisch relevant sind. Mutationen im *Parkin* und im *PINK1* wurden weltweit bei einem beachtlichen Anteil der Patienten mit EOPD entdeckt, Mutationen im *LRRK2* bei Patienten mit spätem Erkrankungsbeginn.

Monogene Parkinson-Syndrome haben in erheblichem Maße zu einem besseren Verständnis der Ätiopathogenese des MP beigetragen, obwohl sie die Entstehung der Erkrankung für die Mehrzahl der MP-Patienten nicht erklären können.

1.3.4. Allelassoziationsstudien

Neben der Untersuchung familiär erblicher MP-Formen kann die Erforschung der molekularen Pathologie auch über die Analyse so genannter Kandidatengene erfolgen. Als Kandidatengene werden Gene bezeichnet, die bereits bekannt sind und wegen ihrer Funktion mit dem Pathomechanismus einer Erkrankung in Verbindung gebracht wurden. Diese Gene werden auf Mutationen und Polymorphismen der codierenden Region untersucht. Polymorphismen sind Variationen in der Wildtypsequenz, die mit einer Häufigkeit von mehr als 1 % in der Population vorkommen. Man unterscheidet Polymorphismen mit funktioneller Relevanz von Sequenzvarianten ohne funktionelle Relevanz [9]. Beispiele für funktionell relevante Polymorphismen sind z. B. die Polymorphismen in der *N-Acetyltransferase 2* (*NAT2*), die zu einer Verminderung der enzymatischen Funktion führen [26], sowie der Polymorphismus in der Promotor-Region des α -Synukleins, der *in vitro* regulatorischen Einfluss auf die Expression des α -Synukleins hat [29].

In Allelassoziationsuntersuchungen werden Patienten und gesunde Kontrollen bezüglich der Auftrittshäufigkeit einzelner Allele verglichen. Hierfür ist es wichtig, dass sich die

Patienten und die Kontrollen möglichst nur in dem zu untersuchenden Merkmal unterscheiden. Sie werden daher hinsichtlich des Alters, Geschlechts und ethnischen Hintergrunds angepasst.

In den vergangenen Jahren wurde eine große Anzahl von Assoziationsstudien an verschiedenen MP-Kandidatengen durchgeführt, z. B. an Genen deren Proteine an der Detoxifikation von Metaboliten beteiligt sind, wie die *NAT2*, die *Glutathion-S-Transferase (GST)* und Gene aus der *Cytochrom P450*-Familie, an Genen, deren Proteine in den Dopamin-Metabolismus involviert sind, wie die *MAO A* und *B*, die Dopaminrezeptoren und der Dopamintransporter, an Genen des familiären MP, wie *α-Synuklein* und *Parkin*, an Genen von Lipoproteinen, wie dem *Apolipoprotein E (ApoE)* und an mitochondrialen Genen [172].

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Polymorphismen in der Promotorregion des *α-Synuklein*, im *ApoE*, *Parkin*, *GST* und *NAT2* untersucht, die im Folgenden näher erläutert werden.

α-Synuklein

Eine Hauptkomponente der Lewy-Körper ist das *α-Synuklein*, dessen codierendes Gen auf dem Chromosom 4q21.3-q22 lokalisiert ist. Drei Mutationen und zwei Triplikationen in diesem Gen sind bei der autosomal-dominanten Form des MP gefunden worden [40, 90, 139, 164, 201]. In der Promotorregion des *α-Synuklein*, 10 kb aufwärts entfernt vom Startcodon des *α-Synuklein* befindet sich der *NACP (non-amyloid component of plaques)-Rep1*, ein Dinukleotid-Repeat-Polymorphismus, bestehend aus den Dinukleotiden (TC)(TT)(TC)(TA)(CA) in unterschiedlicher Anzahl. Bisher sind fünf verschiedene Allele mit einer Größendifferenz von zwei Nukleotiden identifiziert worden [197]. Sie haben eine Größe von 257 bp (Allel -1), 259 bp (Allel 0), 261 bp (Allel 1), 263 bp (Allel 2) und 265 bp (Allel 3). Neben dem *NACP-Rep1*-Polymorphismus sind zehn *SNPs (Single nucleotide polymorphisms)* im *α-Synuklein* identifiziert worden, von denen acht im Promotor und zwei im Intron 4 liegen [39].

Apolipoprotein E:

ApoE ist ein polymorphes Protein mit drei Isoformen $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$, das in hoher Konzentration im Gehirn vorkommt [106]. Es ist ein Serumprotein, das am Transport, an der Ablagerung und dem Metabolismus von Cholesterin beteiligt ist. Das Gen für das ApoE ist auf dem Chromosom 19 lokalisiert. Die Polymorphismen im Codon 112 und 158 führen über Punktmutationen zu Aminosäureaustauschen. Es resultieren daraus die Isoformen: *ApoE- $\epsilon 2$* (Cystein/Cystein), *ApoE- $\epsilon 3$* (Cystein/Arginin) und *ApoE- $\epsilon 4$* Arginin/Arginin [7].

Parkin

Parkin wurde im Jahre 1998 von einer japanischen Arbeitsgruppe erstmalig identifiziert [84]. Es befindet sich auf dem Chromosom 6q25.2-q27 und beinhaltet 12 Exons. *Parkin* spielt eine Rolle beim Proteinabbau über den Ubiquitin-Proteasom-Abbauweg und wirkt als E3-Ubiquitin-Ligase [30], die aktivierte Ubiquitin-Reste auf verschiedene zum Abbau bestimmte Zielproteine überträgt [163]. Mutationen im *Parkin* sind bei einer Vielzahl von Patienten mit EOPD entdeckt worden [60, 61, 62, 63, 81, 86]. Darüber hinaus sind auch Polymorphismen im *Parkin* beschrieben worden. Der Polymorphismus *S/N167* befindet sich im Exon 4 und führt durch eine Transition von G zu A zu einem Austausch von Serin durch Asparagin. Im Exon 10 befindet sich der Polymorphismus *R/W366*, der durch einen Austausch der Base C durch T die Aminosäure Arginin durch Tryptophan ersetzt und der Polymorphismus *V/L380*, der durch den Austausch der Base G durch C die Aminosäure Valin durch Leucin ersetzt [188].

Glutathion-S-Transferase

GST sind dimere Enzyme, die basierend auf ihren biochemischen, immunologischen und strukturellen Eigenschaften in sieben Klassen bzw. Familien untergruppiert sind. Fünf von ihnen, Alpha, Kappa, Mu, Pi und Theta sind im Cytosol lokalisiert, Omega und Zeta sind membrangebunden in Mikrosomen [17, 137]. GST katalysieren die Konjugation des Glutathion an elektrophile Xenobiotika, um diese zu inaktivieren und deren Ausscheidung zu erleichtern. Zusätzlich haben sie auch eine intrazelluläre Transportfunktion. Da GST eine bedeutende Rolle in der Detoxifikation von potentiell genotoxischen Verbindungen spielen, sind sie ein wichtiger protektiver Faktor in der chemischen Karzinogenese. Außerdem metabolisieren sie verschiedene Pestizide und Umweltgifte [196].

Polymorphismen im *GSTM1*, im *GSTT1*, *GSTP1* und *GSTZ1* wurden im Rahmen der vorliegenden Studie im Zusammenhang mit MP untersucht.

GSTM1 befindet sich auf dem Chromosom 1p13.3 [148], *GSTT1* auf dem Chromosom 22q11.2 [168] und die Polymorphismen beider Gene resultieren aus Gendeletionen [137, 156].

GSTP1 liegt auf dem Chromosom 11q13. Durch Basenaustausche an den Nukleotidpositionen 313 und 341 entstehen insgesamt drei verschiedene Haplotypen, die *GSTP1*-Allele *A, *B und *C. Der Basenaustausch an Nukleotidposition 313 führt zu einem Aminosäureaustausch von Isoleucin zu Valin, an Position 341 von Alanin zu Valin (Tabelle 1) [4].

Tabelle 1: Entstehung der *GSTP1*-Allele durch Basenaustausche an den Nukleotidpositionen 313 und 341 des *GSTP1*-Gens

| <i>GSTP1</i> -Allele | Nukleotidposition 313 (A → G) | Nukleotidposition 341 (C → T) |
|----------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <i>GSTP1</i> *A | A (Ile) | C (Ala) |
| <i>GSTP1</i> *B | G (Val) | C (Ala) |
| <i>GSTP1</i> *C | G (Val) | T (Val) |

Im *GSTZ1*, das auf dem Chromosom 14q24.3 liegt, befinden sich drei polymorphe Loci. An Nukleotidposition 94 führt eine Transition von A zu G zu einem Austausch von Lysin durch Glutaminsäure (*Lys32Glu*), an Nukleotidposition 124 führt eine Transition von G zu A zu einem Austausch von Arginin durch Glycin (*Arg42Gly*) und an Nukleotidposition 245 führt eine Transition von C zu T zu einem Austausch von Methionin zu Threonin (*Met82Thr*) [18, 180].

N-Acetyltransferase 2

NAT besitzt zwei Isoenzyme, NAT1 und NAT2, deren codierende Gene mit einem Abstand von mehr als 25 kb auf dem Chromosom 8p21.3-23.1 lokalisiert sind [68]. NAT

katalysieren die Übertragung einer Acetylgruppe auf ein breites Spektrum von Aminen, darunter sowohl Arylamine, als auch heterozyklische aromatische Amine. Polymorphismen im *NAT* führen zu interindividuellen Unterschieden in der Biotransformation verschiedener Medikamente, Präkarzinogene oder anderer Xenobiotika mit einer primären Amin- oder Hydrazin-Struktur [36, 64]. Schnell- und Langsam-Acetylierer unterscheiden sich im Auftreten von Nebenwirkungen nach Einnahme von Medikamenten, die acetyliert werden und in ihrer Suszeptibilität gegenüber Krebserkrankungen [147].

Polymorphismen an sieben verschiedenen Nukleotidpositionen im *NAT2* führen durch charakteristische Verbindungen zu acht verschiedenen Allelen (Tabelle 2). Zur besseren Veranschaulichung sind in der Tabelle 2 die Polymorphismen unterstrichen. Fünf der Nukleotidtransitionen führen zu einem Aminosäureaustausch: Arginin zu Glutaminsäure an Position 191, Isoleucin zu Threonin an Position 341, Arginin zu Glutamin an Position 590, Lysin zu Arginin an Position 803 und Glycin zu Glutaminsäure an Position 857. Die Transitionen an Position 282 und 481 haben keinen Einfluss auf die Aminosäuresequenz [26].

Tabelle 2: Charakteristische Verbindungen von Punktmutationen an sieben verschiedenen Nukleotidpositionen definieren die *NAT2*-Allele [186]

| Allel | Nukleotidposition | | | | | | |
|-------------|-------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 191 | 282 | 341 | 481 | 590 | 803 | 857 |
| *4 | G | C | T | C | G | A | G |
| *5A | G | C | <u>C</u> | <u>T</u> | G | A | G |
| *5B | G | C | <u>C</u> | <u>T</u> | G | <u>G</u> | G |
| *5C | G | C | <u>C</u> | C | G | <u>G</u> | G |
| *6A | G | <u>T</u> | T | C | <u>A</u> | A | G |
| *7B | G | <u>T</u> | T | C | G | A | <u>A</u> |
| *13 | G | <u>T</u> | T | C | G | A | G |
| *14B | <u>A</u> | <u>T</u> | T | C | G | A | G |

Der gegenwärtige Stand der Forschung geht davon aus, dass der sporadische MP nicht einer Ursache allein zugeordnet werden kann, sondern dass vielmehr die nigrale Degeneration mit oder ohne Ausbildung von Lewy-Körpern eine gemeinsame Endstrecke multifaktorieller Krankheitsprozesse darstellt (Abbildung 2).

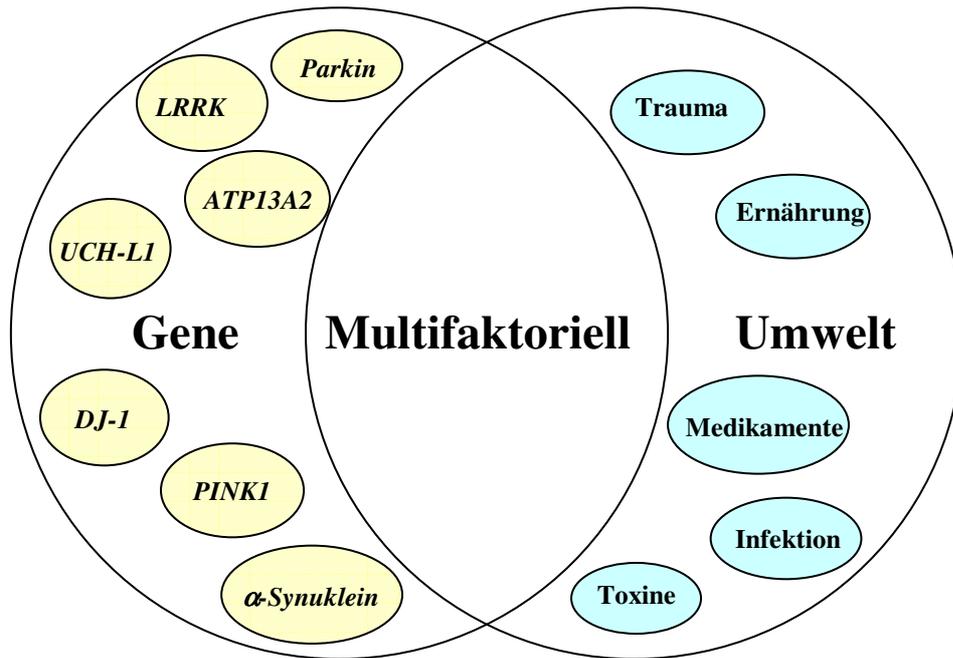


Abbildung 2: Modell zur Ätiologie des MP.

1.4. Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit war, die Hypothese einer multifaktoriellen Genese des MP zu überprüfen.

Im ersten Teil der Arbeit sollten die Häufigkeiten von bekannten genetischen Polymorphismen ausgewählter MP-Kandidatengene (*α -Synuklein*, *ApoE*, *Parkin*, *GST* und *NAT2*) bei MP-Patienten und Kontrollen verglichen werden.

Hierfür mussten zuverlässige und praktikable Methoden gefunden und z. T. neu etabliert werden, um die Bestimmung an Blutproben einer großen Stichprobe reproduzierbar durchzuführen.

Alle untersuchten EOPD-Patienten und Kontrollen mussten vor Einschluss in die Studie einen Fragebogen mit Fragen u. a. zur Wohnsituation, zu Ernährungsgewohnheiten, zum Beruf und zur Exposition mit Toxinen und Nikotin beantworten. Im Rahmen einer anderen Studie wurden die Daten ausgewertet und eine *Job-Exposure-Matrix* erstellt. Hierauf konnte zurückgegriffen werden, um im zweiten Teil der Arbeit die Pestizidexposition und das Rauchen im Zusammenhang mit MP zu analysieren.

Zuletzt sollte die Korrelation ausgewählter genetischer und nicht-genetischer Faktoren, wie der Zusammenhang zwischen MP, einer Pestizidexposition und *GST* bzw. *NAT2* und zwischen dem Erkrankungsalter und *ApoE* untersucht werden.

2. Patienten, Material und Methoden

2.1. Stichprobe

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 200 an MP erkrankte kaukasische Patienten untersucht, von denen 113 vor dem 50. Lebensjahr und 87 nach dem 50. Lebensjahr erkrankt waren. Über Mitgliedsdaten der deutschen Parkinsonvereinigung wurden geeignete Patienten ausfindig gemacht. Weitere Patienten wurden über Karteien niedergelassener Neurologen und Hausärzte in Norddeutschland rekrutiert. Die Kontrollgruppe bestand aus 125 nicht an MP erkrankten kaukasischen Probanden aus dem Raum Lübeck. Dieses Vorgehen wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck (s. u. 7.2.) sowie dem Datenschutzbeauftragten des Landes Schleswig-Holstein genehmigt. Nach Abgabe ihres schriftlichen Einverständnisses wurde von den Patienten beider Untersuchungsgruppen und den Probanden der Kontrollgruppe eine venöse Blutprobe zur DNA-Extraktion entnommen. Die neurologische Untersuchung der Patienten wurde durch einen einzigen Arzt (Herrn Dr. med. Helfried Jacobs aus der Neurologischen Klinik der Universität zu Lübeck) durchgeführt. Die Diagnose Morbus Parkinson wurde nach den Kriterien der „*UK Parkinson's disease Society Brain Bank*“ gestellt. Patienten galten als sicher erkrankt, wenn sie unter mindestens zwei der drei Kardinalsymptomen (Ruhetremor, Rigor und Akinese) litten, sowie ein eindeutiges Ansprechen auf Levodopa zeigten. Wenn nur eines der klassischen Kardinalsymptome bestand, wurden die Patienten als wahrscheinlich erkrankt angesehen. Mit Hilfe der Hoehn-Yahr-Skala [71] erfolgte die Einteilung des Krankheitsstadiums.

Weiterhin hatten die Probanden der EOPD- und der Kontrollgruppe Fragen zur Schulbildung, zum Beruf, zur Wohnsituation, zur Ernährung und zur Exposition mit Toxinen und Nikotin zu beantworten. Um die Berufstätigkeit hinsichtlich der Exposition mit potentiell neurotoxischen Stoffen bewerten zu können, wurde über die Analyse der subjektiven Angaben hinaus, im Rahmen einer weiteren Studie, eine *Job-Exposure-Matrix* (JEM) von Herrn Dr. med. Helfried Jacobs erstellt.

Job-Exposure-Matrix

Hierbei wurde in einer detaillierten Berufsanamnese für jede über ein Jahr ausgeübte Tätigkeit der Beruf, die Branche, der Ort der Arbeit, die genaue Tätigkeit sowie die

hauptsächlichen Arbeitsstoffe erfragt. Jedem nach dem statistischen Bundesschlüssel kodierten Beruf wurde unter Unkenntnis des Fall-Kontroll-Status eine Expositionseinschätzung bezüglich etwa 80 relevanter Stoffe durch Experten zugeordnet. Traten Berufsnennungen im Zusammenhang mit Branchenbezeichnungen auf, die eine Modifikation der Expositionseinschätzung erforderlich machten, so erhielt das entsprechende Berufs-/ Branchenpaar eine eigene Expositionsklassifizierung. Dabei wurde eine dreistufige Kategorisierung der Expositionswahrscheinlichkeit (0: sehr niedrig, 1: unter 50 %, 2: über 50 %) mit einer zweistufigen Klassifizierung der Expositionsstärke (a: gering, b: hoch) kombiniert. Auf der Grundlage der JEM wurde bei den Probanden für jede Arbeitstätigkeit eine Einschätzung der Expositionswahrscheinlichkeit und –stärke hinsichtlich jedes Stoffes vorgenommen.

2.2. Material

2.2.1. Chemikalien

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Acrylamid 30 % | Roth |
| Agarose | Seakem® LE agarose FMC BioProducts |
| Ammoniumpersulfat | Merck |
| Borsäure | Merck |
| Bromphenolblau | Merck |
| dNTP-Set | Amersham Pharmacia Biotech |
| ddNTP-Set | Amersham Pharmacia Biotech |
| Dimethylsulfoxid | Sigma |
| EDTA = Triplex III | Merck |
| Essigsäure 100 % | Merck |
| Ethanol | Merck |
| Ethidiumbromid | Merck |
| Ficoll Typ 400 | Amersham Pharmacia Biotech |
| Formaldehyd 37 % | Sigma |
| Formamid | Fluka |
| Glycerin | Merck |
| Harnstoff | USB |

| | |
|-------------------------------------|---------------------|
| 100 bp Leiter | Gibco BRL |
| Kaliumhydrogencarbonat | Merck |
| Magnesiumchlorid | Merck |
| Natriumchlorid | Merck |
| NEB-Puffer | New England BioLabs |
| Phenol | Gibco |
| <i>Primer</i> | Biometra |
| <i>Primer</i> (für den LightCycler) | TIB MOLBIOL |
| Proteinase K | Merck |
| Restriktionsendonucleasen | New England BioLabs |
| Salpetersäure | Merck |
| Salzsäure rauchend 37 % | Merck |
| Silbernitrat | Merck |
| Sodium-Dodecyl-Sulfat (SDS) | Gibco |
| <i>Taq</i> -DNA-Polymerase + Puffer | Quantum Appligene |
| TEMED (Tetramethylethyldiamin) | Sigma |
| Tris (hydroxymethylaminomethan) | Merck |
| Xylen Cyanol FF | Sigma |

2.2.2. Stammlösungen

| | |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6x Ficoll-Ladepuffer: | 15 % Ficoll in Wasser; 0,25 % Bromphenolblau; 0,25 % Xylen Cyanol FF |
| Formamid-Ladepuffer: | 80 % Formamid; 10 mM EDTA (pH 8); 1 mg/ml Bromphenolblau; 1 mg/ml Xylen Cyanol FF |
| Leidener-Lösung: | 155 ml 1 M NH ₄ Cl; 10 ml 1 M KHCO ₃ ; 200 µl 0,5 M EDTA (pH 8) auf 1 l dH ₂ O (steril filtriert) |
| Lyse-Puffer: | 5 ml Tris/HCl (pH 8); 40 ml 5 M NaCl; 200 µl 0,5 M EDTA (pH 8); auf 500 ml dH ₂ O (steril filtriert) |

| | |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Polyacrylamid (PAA)-Lösung: (denaturierend) | 400 g Harnstoff; 200 ml 30 %iges Acrylamid; 200 ml 5x TBE auf 1 l dH ₂ O |
| Polyacrylamid (PAA)-Lösung: (nicht denaturierend) | 200 ml 30 %iges Acrylamid; 80 ml Glycerin; 200 ml 5x TBE, 520 ml dH ₂ O; 1 ml TEMED |
| 5x TBE-Puffer: | 0,45 M Tris; 0,45 M Borsäure; 0,01 M EDTA (pH 8) |
| TE-Puffer: | 10 mM Tris/HCl (pH 8,0); 1 mM EDTA (pH 8); (autoklaviert) |

2.2.3. Reaktionskits

| | |
|---------------------------------------------------|--------|
| <i>SequiTherm EXCEL™ II DNA Sequencing KIT-LC</i> | Biozym |
| <i>LightCycler-DNA Master SYBR Green I</i> | Roche |

2.2.4. Geräte und Gebrauchswaren

Glasplatten:

| | |
|-------------------|---------------------------|
| Standard: | Gibco BRL™S2, Gel Company |
| 39,4 cm x 33,3 cm | |
| 41,9 cm x 33,3 cm | |

Echtzeit-PCR-Gerät: *Light Cycler* Roche Diagnostics

Elektrophoresekammern:

| | |
|-------------------------------------|----------------------------|
| Blue Marine 100: | Hofer |
| Gelkammer, 35 cm Elektrodenabstand: | Angew. Gentechn. Systeme |
| PAGE-Kammer Model S2: | BRL Life Technologies Inc. |

Sequenziergerät: *LI-COR IR 2-DNA-Sequenzierer* MWG Biotech

Spannungsgeber:

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| Electrophoresis Constant Power Supply | |
| GPS 200/400: | Pharmacia |
| Electrophoresis Power Supply PS3003: | GIBCO BRL |

| | |
|----------------------------------------------|-----------------------------|
| Electrophoresis Power Supply PS9009: | GIBCO BRL |
| Thermocycler: | |
| PTC-100 Peltier Effect Cycler | MJResearch |
| PTC-200 Peltier Thermal Cycler | MJResearch |
| Gene Amp System 9600 | Perkin Elmer |
| Zentrifugen: | |
| Biofuge A: | Heraeus |
| Mini Centrifuge: | National Labnet Co. |
| Diverses: | |
| <i>Light Cycler</i> Kapillaren | Roche Diagnostics Mannheim |
| Multiplate 96 + 12-Strip caps: | Biozym |
| Pipetten 10 µl/ 200 µl/ 1000 µl: | Eppendorf |
| Pipetten 2 µl/ 10 µl/ 20 µl/ 100 µl/ 200 µl: | Labsystems |
| Pipettenspitzen: | Sarstedt |
| Polaroidkamera SX 700 | Sigma; Polaroidtyp 667-Film |
| Reaktionsgefäße 0,5 ml/ 1,5 ml: | Sarstedt |
| Videodokumentationssystem: | Biometra |
| Waage: | Sartorius L420P |

2.3. Methoden

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente wurden in der Zeit von 1999 bis 2002 mit den zu dieser Zeit aktuellen Methoden durchgeführt. Die Diskussion der Ergebnisse fand unter Berücksichtigung der bis Oktober 2007 publizierten Literatur statt.

2.3.1. Verfahren zur DNA-Extraktion

Zur DNA-Extraktion wurde die Aussalzmethode aus Vollblut (nach [118]) verwendet. 10 ml Vollblut (EDTA/Heparin/Citrat) wurden zu 35 ml Leidenerlösung in ein Greinerröhrchen gegeben und für 30 min auf Eis geschüttelt. Die Leukozyten wurden bei 4° C und 6000 rpm für 20 min abzentrifugiert und der Überstand abgossen. Das Leukozyten-*Pellet* wurde in 10 ml Leidener-Lösung resuspendiert und der beschriebene

Reinigungsvorgang wurde solange wiederholt, bis das Pellet frei von groben Verunreinigungen war. Anschließend wurde das Pellet in 3 ml Lysepuffer resuspendiert und nach Zugabe von 200 µl Proteinase K (10 mg/ml) und 100 µl SDS (20 %) über Nacht bei 55° C verdaut. Der Verdau wurde mit 1 ml 6 M NaCl-Lösung gemischt und bei 20° C und 6000 rpm für 25 min zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Röhrchen gegossen und das Protein-Pellet verworfen. Durch Zugabe von 9 ml Ethanol (96 %) ließ sich die DNA durch leichtes Schwenken ausflocken. Die DNA-Flocke wurde in ein mit 1 ml Ethanol (70 %) gefülltes Eppendorf-Reaktionsgefäß (1,5 ml) überführt und bei 4° C und 12000 rpm für 13 min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgegossen, die DNA bei 37° C getrocknet und abschließend in 200 - 500 µl 1 x TE-Puffer gelöst.

2.3.2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion (nach [150]) dient der Amplifizierung eines definierten DNA-Abschnittes *in vitro*. Durch mehrfache Wiederholung eines Reaktionszyklus vervielfältigt sich das DNA-Segment exponentiell und man erhält ein spezifisches PCR-Produkt. Der Reaktionszyklus besteht aus der Denaturierung des DNA-Doppelstranges, mit anschließender Hybridisierung zweier spezifischer DNA-Oligonukleotide (*Primer*) an jeweils einen der Einzelstränge (*Annealing-Phase*) und einer *Primer-Verlängerungsreaktion* durch die Gegenwart einer DNA-Polymerase und aller vier Desoxyribonukleosid-Triphosphate (dNTPs) (*Extensions-Phase*).

Die PCR-Bedingungen und Reaktionsansätze richteten sich nach den eingesetzten *Primern* und sind in der Tabelle I des Anhangs aufgeführt.

2.3.2.1. Gradienten-PCR

Die Gradienten-PCR ist ein wichtiges Verfahren zur Optimierung der *Primer*-spezifischen PCR-Bedingungen, da in einem Durchlauf verschiedene *Annealing*-temperaturen parallel getestet werden können.

Die PCR wurde in einem *Gradientencycler* durchgeführt, der einen definierten Temperaturabfall, üblicherweise in Schritten von 2° C, innerhalb eines Thermoblocks ermöglichte. Getestet wurde der Temperaturbereich, der um die errechnete

*Annealing*temperatur (Formel: $[(G + C) \times 4 + (A + T) \times 2 - 4 = \textit{Annealingtemperatur}]$) herum lag. Auf einem Agarosegel wurde anhand der Bandenstärke die geeignete *Annealing*temperatur ausgewählt.

2.3.2.2. PCR mit fluoreszenzmarkierten *Primern*

Das verwendete automatische Sequenziergerät (*LI-COR*) besitzt zwei Laser-Detektionssysteme, um die Fluoreszenzsignale der beiden Farbstoffe IRD-700 und IRD-800 getrennt voneinander messen zu können. Hierfür müssen die spezifischen *Primer* um einen mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierten M13-*Primer* verlängert werden.

Zur Genotypisierung am *LI-COR* wurde nur der Vorwärts*primer* mit einem Fluorophor, dem IRD-800 Farbstoff, markiert, zur Sequenzierung wurde zusätzlich auch der Rückwärts*primer* mit dem IRD-700 Farbstoff markiert, um in einem Reaktionsansatz sowohl die Vorwärtssequenz, als auch den komplementären Gegenstrang sequenzieren zu können. Die PCR verlief wie unter 2.3.2. beschrieben, mit dem Ergebnis, dass die Vorwärtssequenz vom IRD-700 Farbstoff und die Rückwärtssequenz vom IRD-800 Farbstoff markiert wurde.

2.3.2.3. Duplex-PCR

Bei der Duplex-PCR verwendet man zwei verschiedene *Primer*paare in einem Reaktionsansatz, um zwei DNA-Abschnitte gleichzeitig zu amplifizieren.

Die Reaktion wurde mit 2 µl DNA in einem Reaktionsvolumen von 10 µl durchgeführt, das 0,4 µl von jedem *Primer*, 2 µl dNTPs, 1 µl 10x-Puffer und 0,05 µl *Taq*-Polymerase enthielt. Die Amplifikation dauerte 35 Zyklen mit 1 min bei 95° C, 1 min bei 64° C und 1 min bei 72° C. Den PCR-Zyklen wurde eine Denaturierungsphase von 5 min bei 95° C vorangestellt und eine Extensionsphase von 10 min bei 72° C angeschlossen. Die verwendeten *Primer* sind in der Tabelle II des Anhangs aufgeführt.

2.3.3. Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse (SSCP)

Die SSCP-Analyse ist ein unspezifisches Screening-Verfahren, bei dem einzelsträngige DNA durch ein nicht denaturierendes Polyacrylamidgel wandert. Die DNA bildet unter nicht denaturierenden Bedingungen eine Konformation aus, die durch die Primärstruktur bestimmt wird und die Wanderungseigenschaften im Gel bestimmt. Ändert sich die Primärstruktur, z. B. durch eine Punktmutation, ändert sich auch die Konformation und damit das Wanderungsverhalten der einzelsträngigen DNA.

2.3.4. Restriktionsverdau

Restriktionsverdau werden mit bakteriellen Enzymen, den Restriktionsendonukleasen durchgeführt, die doppelsträngige DNA innerhalb spezifischer Erkennungssequenzen spalten. Solche Erkennungssequenzen bestehen aus wenigstens vier Basen und zeichnen sich durch eine palindromische Struktur aus.

In der Tabelle III des Anhangs sind die verwendeten Restriktionsenzyme mit den jeweiligen Reaktionsbedingungen aufgeführt.

2.3.5. DNA-Sequenz-Analyse

Die Sequenzierung nach der Didesoxy-Kettenabbruchmethode [152] wird in vier Reaktionsansätzen durchgeführt. Diese enthalten neben den vier dNTPs, ein jeweils unterschiedliches Didesoxyribonukleosid-Triphosphat (ddNTP). Wird das ddNTP in den wachsenden DNA-Strang eingebaut, führt dieses zum Abbruch der Synthese, da die für die Kettenverlängerung benötigte 3'-Hydroxyl-Gruppe im ddNTP fehlt. Auf diese Weise erhält man in den vier Ansätzen ein Gemisch aus unterschiedlich langen DNA-Fragmenten, die jeweils mit dem entsprechenden ddNTP enden.

Die Analyse begann mit einer PCR mit fluoreszenzmarkierten *Primern* (s. u. 2.3.2.2.). Diese wurde in einem Volumen von 25 µl durchgeführt, das 5 µl dNTPs, 2,5 µl 10x-Puffer, je 1 µl *Primer*, 0,125 µl *Taq*-Polymerase und 5 µl verdünnte DNA enthielt. Die PCR-Bedingungen richteten sich nach den eingesetzten *Primern* (Tabelle I des Anhangs). Im Anschluss wurden die PCR-Produkte mittels einer Agarosegelelektrophorese (s. u.

2.3.6.1.) aufgetrennt und ihre DNA-Konzentration über die Bandenstärke abgeschätzt. Je nach abgeschätzter Konzentration wurden die PCR-Produkte in einer Menge von 1 - 5 µl mit 1,5 µl M13-700-*Primer* und 1,5 µl M13-800-*Primer* vermischt und mit dH₂O auf 17 µl aufgefüllt. In vier Reaktionsgefäße (A, T, G und C) wurden je 3,9 µl des Gemisches vorgelegt und jeweils 2 µl der vier verschiedenen Terminationsmixe des *SequiTherm EXCEL™ II DNA Sequencing KIT-LC* von Biozym hinzugefügt. Nach erneuter PCR unter folgenden Bedingungen: 94° C: 2 min// 94° C: 30 s / 58° C: 30 s / 72° C: 30 s (30 Zyklen)// 72° C: 10 min, wurden die DNA-Fragmente aller vier Reaktionsansätze auf einem PAGE-Gel im automatischen Sequenziergerät *LI-COR* (wie unter 2.3.6.2. beschrieben) elektrophoretisch getrennt, anschließend mit der *BaseImagIR-Software* ausgewertet und auf dem Monitor sichtbar gemacht.

2.3.6. Gelelektrophorese

2.3.6.1. Agarosegel-Elektrophorese

Die Agarosegelelektrophorese ist ein elektrophoretisches Trennverfahren, das DNA-Moleküle aufgrund ihrer Wanderungsgeschwindigkeit in einem elektrischen Feld auftrennt. Diese ist abhängig von der angelegten Spannung, den Eigenschaften des Trägers und der Größe, Konformation und Ladung des Moleküls.

Es wurden jeweils 5 µl PCR-Produkt in Ficoll-Ladepuffer in die Geltaschen des horizontalen Agarosegels pipettiert und bei 80 V für 45 min in einem TBE-Puffersystem aufgetrennt. Die Agarosekonzentration richtete sich nach dem gewünschten Trennbereich und lag zwischen 1 % und 3 %. Durch die Zugabe von 25 µg Ethidiumbromid/100 ml Gellösung, konnte die DNA mit Hilfe ultravioletter Bestrahlung sichtbar gemacht werden und mit einer Polaroid-Kamera fotografiert werden. Im November 2000 wurde die Polaroid-Kamera durch ein Video-Dokumentationssystem der Firma Biometra ersetzt.

2.3.6.2. Denaturierende Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE)

Polyacrylamidgele eignen sich zur Auftrennung kleinerer DNA-Fragmente, da sie im Vergleich zu Agarosegelen eine sehr große Trennschärfe besitzen. Aus diesem Grund

werden sie zur Auftrennung kleiner Restriktionsfragmente, zur SSCP-Analyse und zur Elektrophorese nach Genotypisierung und Sequenzierung verwendet.

Zur Herstellung der PAGE-Gele wurde 10 %iges Ammoniumpersulfat zur PAA-Lösung (s. u. 2.2.2.) gegeben und dieses Gemisch zwischen zwei Glasplatten gegossen. Nach einer Polymerisationsphase von mindestens 1 h konnte das Gel mit PCR-Produkten, bzw. Restriktionsfragmenten beladen werden, die zuvor für 2 min hitzedenaturiert worden waren. Die Lademenge differierte zwischen den verschiedenen Methoden. Zur vereinfachten Darstellung sind die Konzentrationsverhältnisse der Gelgemische, die Glasplattengröße, die Elektrophoresebedingungen und die Geräte je nach verwendeter Methode tabellarisch dargestellt (Tabelle IV des Anhangs).

2.3.7. Silberfärbung

Die Silberfärbung ist eine hochempfindliche Färbetechnik für die Anfärbung von Nukleinsäuren in Polyacrylamid-Gelen. Sie beruht auf der Komplexbildung von Silberionen an Makromolekülen bei pH-Werten über 10,5.

Die Gele wurden in 10 %igem Ethanol für 10 min und anschließend in 1 %iger Salpetersäure für 1 min inkubiert. Nach dreimaligem Spülen mit dH₂O wurde das Gel für 20 min mit Silbernitrat (2,02 g AgNO₃/l) gefärbt und danach nochmals mit dH₂O gespült. Die Entwicklung fand unter Sicht statt (29,6 g Natriumcarbonat + 540 µl 37 %ige Formaldehydlösung/l) und wurde nach ca. 3 - 7 min mit 10 %iger Essigsäure gestoppt. Abschließend wurde das Gel für 5 min in dH₂O gebadet, auf Trockenpapier geblottet und auf einem heizbaren Geltrockner im Vakuum bei 60° C getrocknet.

2.3.8. Schmelzkurvenanalyse auf dem *Light Cycler*

Mit dem *Light Cycler* (LC) ist es möglich, in einer relativ kurzen Zeit von 45 bis 60 Minuten eine quantitative oder qualitative PCR durchzuführen. In diesem PCR-Gerät wird anstatt eines Thermoblocks Luft zur Schaffung der im PCR-Zyklus geforderten Temperaturen verwendet, die mit Hilfe eines Gebläses gleichmäßig um die feinen Glaskapillaren, in denen sich die Proben befinden, verteilt wird. Durch das günstige Verhältnis von Kapillarvolumen zu Kapillaroberfläche und durch das Verwenden von Luft

ist eine schnelle und gleichmäßige Temperaturübertragung auf die Probe gewährleistet. Auch kann durch die Kombination dieser beiden Komponenten ein PCR-Zyklus in weniger als 30 s absolviert werden. Die Erfassung der PCR-Produktzunahme in der Kapillare erfolgt durch Messung eines Fluoreszenzsignals. Hierfür verfügt der LC über ein optisches System bestehend aus drei Messkanälen für die Wellenlängen im Bereich von 530 nm (Kanal 1), 640 nm (Kanal 2) und 710 nm (Kanal 3), welches die Fluoreszenzen aller 32 in einem Karussell angeordneten Kapillaren misst. Die Fluoreszenzdaten werden sofort auf dem Computerbildschirm erfasst und können somit in Echtzeit verfolgt werden.

2.3.8.1. Analyse mit dem *SYBR-Green*-Farbstoff

Der Fluoreszenzfarbstoff *SYBR Green I* ist ein Farbstoff, der sich ausschließlich an doppelsträngige DNA bindet und nur im gebundenen Zustand in dem Maße fluoresziert, dass sein emittiertes Licht vom 530-nm-Kanal (Kanal 1) des LC detektiert werden kann. Die Intensität des Signals ist proportional abhängig von der Menge an gebildeter doppelsträngiger DNA. Diese Eigenschaft macht man sich bei der Schmelzkurvenanalyse zunutze, da es beim Erreichen des Schmelzpunktes (T_m) der DNA zu einem starken Fluoreszenzabfall kommt. Der Schmelzpunkt ist definiert als die Temperatur, bei der die Hälfte der komplementären Sequenzen hybridisiert vorliegt.

Als Reaktionsgefäße wurden dünne Glaskapillaren der Firma Roche verwendet, in denen sowohl die Amplifikation, als auch die Analyse durchgeführt werden konnte. In jede Kapillare wurden je 0,5 μ l des *Primers Parkin Exon 4o* (3 μ M) (s. u. Tabelle I des Anhangs), 0,2 μ l $MgCl_2$ (20 mM), 4,8 μ l dH_2O und 1 μ l des *LightCycler-DNA-Master-Mixes* des *SYBR Green*-KITs pipettiert. Die Reaktion begann mit der Amplifikation, die unter folgenden Bedingungen durchgeführt wurde: 95° C: 30 s // 95° C: 0 s / 55° C: 5 s / 72° C: 15 s (40 Zyklen)//. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch kurz denaturiert und dann eine Schmelzkurve erstellt, deren Anfangstemperatur 65° C betrug und deren Endtemperatur von 95 ° C mit einer Geschwindigkeit von 0,1° C/s erreicht wurde.

2.3.8.2. Analyse mit Hybridisierungssonden

Die Analyse mit spezifischen Hybridisierungssonden basiert auf einem Fluoreszenzsignal, das entsteht, wenn zwischen zwei benachbarten Fluoreszenzträgern ein Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) stattfindet.

Es wurden zwei verschiedene Hybridisierungssonden, eine Donor-Sonde (Anker) und eine Akzeptor-Sonde (Sensor) benötigt, die mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert waren. Der Anker war an seinem 3'-Ende mit Fluorescein, der kürzere Sensor am 5'-Ende mit dem *Light Cycler-Red*-Fluoreszenzfarbstoff verlängert. Die Sonden banden spezifisch im Abstand von höchstens zwei Basenpaaren an die komplementäre DNA-Zielsequenz im Bereich des Polymorphismus und gelangten so in eine räumliche Nähe. Der Sensor überdeckte dabei die variable Sequenz und da der Anker deutlich bindungsstärker war, wurde auch nur der Sensor in der Schmelzpunktanalyse erfasst. Die Fluorophore wurden mit einer Blau-Licht emittierenden Diode (470 nm) beleuchtet, wodurch das Fluorescein spezifisch angeregt wurde. Aktiviertes Fluorescein emittierte energiereiches grünes Licht, das durch die geringe Distanz den Farbstoff *Light Cycler-Red* 640 zur Emission von rotem Licht anregte, das im Kanal 2 gemessen werden konnte.

Die Schmelzkurvenanalyse mit Hybridisierungssonden wurde in einem Gesamtvolumen von 10 µl durchgeführt, welches 1 µl des Sensors (2 µM), 1 µl des Ankers (2 µM), 0,4 µl MgCl₂ (20 mM) und 5 µl PCR-Produkt (s. u. 2.3.2.) enthielt. Die Sequenzen der verwendeten Sonden sind in der Tabelle V des Anhangs aufgelistet. Nach einer kurzen Denaturierungsphase von 20 s bei 95° C wurde das Gemisch auf die Starttemperatur von 40° C abgekühlt und dann eine Schmelzkurve erstellt, bei der die Temperatur mit einer Geschwindigkeit von 0,2° C/s bis zur Endtemperatur von 95° C anstieg. Sobald der Schmelzpunkt der Sonden erreicht war, kam es durch das Abbrechen des Energietransfers zwischen beiden Sonden zu einem starken Abfall des Fluoreszenzsignals, das während der gesamten Messung zeitgleich auf dem Monitor verfolgt werden konnte. Eine Änderung der Sequenz unter der Sensorsonde, z. B. bei einem Polymorphismus führte zu einer Erniedrigung des Schmelzpunktes. Beim Vorliegen eines heterozygoten Genotyps erhielt man zwei Schmelzpunkte.

2. 4. Statistik

Die statistischen Berechnungen erfolgten nach einer Beratung durch Frau Dr. König aus dem Institut für medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck und wurden mit der Statistiksoftware *SPSS (Statistical Package for Social Sciences)* für *Windows* (SPSS Inc., Chicago) durchgeführt.

Die Daten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung oder in Prozent angegeben. Die statistische Relation zwischen den Häufigkeiten der Kandidatengene und MP wurde durch den Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test) berechnet. Eine Cox-Regressionsanalyse für proportionale *Hazards* wurde durchgeführt, um den Einfluss der Umwelttoxine und des Nikotins auf die Entwicklung eines MP zu bestimmen.

Die Kaplan-Meier-Methode erlaubte es, die Wahrscheinlichkeit des Auftretens der Krankheit aus den beobachteten Lebensaltern zu schätzen. Zur Veranschaulichung diente die graphische Darstellung der krankheitsfreien Überlebensrate (*disease free survival*) in Abhängigkeit von dem Erkrankungsalter. Zum Vergleich zweier Überlebenszeitkurven diente ein *log-rank*-Test.

Da es sich bei der vorliegenden Arbeit um eine deskriptive, hypothesengenerierende Studie handelt, wurde trotz Mehrhypothesenproblems nicht für multiples Testen korrigiert. Unterschiede zwischen zwei Messgruppen wurden daher als statistisch interessant bezeichnet, wenn der p-Wert kleiner als 0,05 war.

Die Berechnungen nach dem Cox-Regressionsmodell und der Kaplan-Meier-Methode wurden mit Unterstützung von Frau Prof. Patricia L. Kramer von der *Oregon Health & Science University in Portland, OR, USA* durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Beschreibung der Stichprobe

3.1.1. Patienten

Es wurden 200 an MP erkrankte Patienten untersucht, die aufgrund ihres Erkrankungsalters in zwei Kollektive aufgeteilt wurden: Patienten, die vor dem 50. Lebensjahr erkrankten (EOPD-Patienten) und Patienten mit einem Erkrankungsalter nach dem 50. Lebensjahr (LOPD-Patienten).

Die Allel- und Genotypenhäufigkeiten des *Parkin*, des α -Synuklein und des *ApoE* wurden sowohl für die EOPD-, als auch für die LOPD-Patienten bestimmt. Es zeigte sich jedoch an unseren eigenen Untersuchungsergebnissen [85] und den Ergebnissen der aktuelleren Literatur, insbesondere Tanner *et al.* 1999 [178], dass genetische Faktoren vor allem in der Entstehung des MP mit einem frühen Erkrankungsbeginn eine wichtige Rolle zu spielen scheinen. Aus diesem Grund wurden die Allelassoziationsstudien der weiteren Polymorphismen daraufhin nicht mehr an den LOPD-, sondern nur noch an den EOPD-Patienten und den Kontrollen durchgeführt.

Im Folgenden werden die Patienten hinsichtlich ihrer klinischen und expositionsanamnestischen Daten beschrieben. Da eine Beschränkung der Untersuchung auf die EOPD-Patienten stattfand, wurde auf eine ausführliche Charakterisierung der LOPD-Patienten verzichtet.

Patienten mit EOPD

In diesem Kollektiv wurden 113 kaukasische Patienten deutscher Herkunft zusammengefasst, von denen 49 weiblich (43,4 %) und 64 männlich (56,6 %) waren. Das durchschnittliche Alter betrug 45 +/- 4,0 Jahre und das durchschnittliche Erkrankungsalter 36,8 +/- 6,7 Jahre (Bereich 15 – 47 Jahre) (Tabelle VI.1 des Anhangs). Zum Untersuchungszeitpunkt rauchten 26 der Patienten (23 %), 40 (35,4 %) haben früher geraucht und 43 (38,1 %) haben nie geraucht. Herbizide (Unkrautvernichtungsmittel) wurden von 85 (75,2 %) Patienten niemals, von 10 (8,9 %) sehr selten, von fünf (4,4 %) bei Bedarf und von drei (2,7 %) Patienten regelmäßig eingesetzt. Insektizide

(Schädlingsbekämpfungsmittel) nutzten 78 (69 %) Patienten nie, 14 (12,4 %) sehr selten, neun (8 %) bei Bedarf und zwei (1,7 %) Patienten regelmäßig (Tabelle VI.3 des Anhangs).

Patienten mit LOPD

Dieses Kollektiv setzte sich aus 87 kaukasischen Patienten zusammen, von denen 46 weiblich (52,9 %) und 41 männlich (47,1 %) waren. Das durchschnittliche Alter betrug 71 +/- 7,9 Jahre und das durchschnittliche Erkrankungsalter 64 +/- 8,3 Jahre (Tabelle VIII des Anhangs).

3.1.2. Kontrollen

Die Kontrollgruppe stammte aus derselben geographischen Region wie die Patienten. Es waren 125 kaukasische Probanden mit einem Durchschnittsalter von 44 +/- 4,6 Jahren, von denen 55 weiblich (44 %) und 70 männlich (56 %) waren (Tabelle VII.1 des Anhangs). Zum Untersuchungszeitpunkt rauchten 53 der Probanden (42,4 %), 37 (29,6 %) haben früher geraucht und 34 (27,2 %) haben nie geraucht. Herbizide wurden von 96 (76,8 %) Probanden niemals, von acht (6,4 %) sehr selten, von sieben (5,6 %) bei Bedarf und von zwei (1,6 %) Probanden regelmäßig eingesetzt. Insektizide nutzten 93 (74,4 %) Probanden nie, 10 (8 %) sehr selten, sieben (5,6 %) bei Bedarf und zwei (1,6 %) Probanden regelmäßig (Tabelle VII.3 des Anhangs).

3.2. Analyse der Polymorphismen

Zur Durchführung der Analysen der verschiedenen Polymorphismen mussten Methoden etabliert werden, die durch einen niedrigen zeitlichen und apparativen Aufwand zuverlässige Ergebnisse produzierten. Da die Methodenetablierung ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeit war, werden die hiermit im Zusammenhang stehenden Ergebnisse im Folgenden den Ergebnissen der Assoziationsstudien vorangestellt.

3.2.1. α -Synuklein

Die Bestimmung der Allele des *NACP-Rep1* im α -Synuklein erfolgte auf einem automatischen Sequenziergerät der Firma *LI-COR*. Zu diesem Zweck musste der Vorwärts-Primer um eine M13-Sequenz verlängert werden und zum PCR-Gemisch zusätzlich ein fluoreszenzmarkierter M13-Primer gegeben werden. Nach der Amplifizierung wurde die DNA auf einem denaturierenden Polyacrylamidgel im automatischen Sequenziergerät elektrophoretisch aufgetrennt, wodurch vier verschieden große Banden mit einer Größe von 265 bp, 263 bp, 261 bp und 259 bp entstanden. Parallel wurden die Produkte einer Marker-Analyse der Kontrollen 1331.01 und 1331.02 mit den *Repeat*-Markern D3S1304 und D5S1505 aufgetrennt, um einen Größenstandard zu erstellen. Die beiden Kontrollen stammten vom *Centre d'etudes de polymorphisme humains*, die deren DNA-Sequenz analysiert und veröffentlicht hatten, so dass sich die Möglichkeit bot, die Banden der bekannten Kontrollen den entsprechenden Allelgrößen zuzuordnen. In der Stichprobe der vorliegenden Arbeit wurden vier verschiedene *NACP-Rep1*-Allele, das *NACP-Rep1*-Allel 0 (259 bp), das *NACP-Rep1*-Allel 1 (261 bp), das *NACP-Rep1*-Allel 2 (263 bp) und das *NACP-Rep1*-Allel 3 (265 bp) detektiert (Abbildung 3).

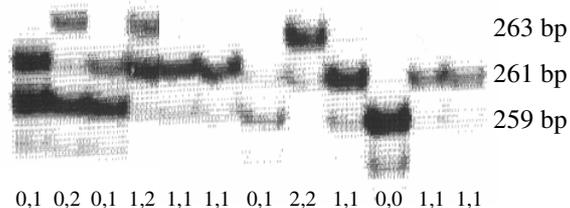


Abbildung 3: Ausschnitt eines 6 %igen denaturierenden Polyacrylamidgels. Dargestellt ist die elektrophoretische Auftrennung von PCR-Produkten verschieden großer *NACP-Rep1*-Allele. Das *NACP-Rep1*-Allel 0 hat eine Größe von 259 bp, das *NACP-Rep1*-Allel 1 von 261 bp und das *NACP-Rep1*-Allel 2 von 263 bp.

Die Allelhäufigkeiten des *NACP-Rep1* sind in Tabelle 3, die Genotypenhäufigkeiten in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 3: Verteilung der Allelfrequenzen des *NACP-Rep1*

| NACP-Rep1 Allele | EOPD-Patienten | LOPD-Patienten | Kontrollen |
|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| 0 | 46 (20,7 %) | 40 (23 %) | 70 (28 %) |
| 1 | 163 (73,4 %) | 119 (68,4 %) | 168 (67,2 %) |
| 2 | 13 (5,9 %) | 14 (8 %) | 12 (4,8 %) |
| 3 | 0 | 1 (0,6 %) | 0 |

Tabelle 4: Verteilung der Genotypfrequenzen des *NACP-Rep1*

| NACP-Rep1 Genotypen | EOPD-Patienten | LOPD-Patienten | Kontrollen |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| 0/0 | 7 (6,3 %) | 7 (8 %) | 8 (6,4 %) |
| 0/1 | 29 (26,1 %) | 21 (24,1 %) | 51 (40,8 %) |
| 0/2 | 3 (2,7 %) | 5 (5,7 %) | 3 (2,4 %) |
| 1/1 | 62 (55,9 %) | 45 (51,7 %) | 54 (43,2 %) |
| 1/2 | 10 (9 %) | 7 (8 %) | 9 (7,2 %) |
| 2/2 | 0 | 1 (1,1 %) | 0 |
| 1/3 | 0 | 1 (1,1 %) | 0 |

Es wurde kein Unterschied zwischen MP-Patienten und Kontrollen bezüglich der Allelhäufigkeiten ($\chi^2 = 4,52$, $p = 0,2$) bzw. der Genotypenhäufigkeiten ($\chi^2 = 9,83$, $p = 0,13$) gefunden. Auch nachdem die Patientengruppe auf die EOPD-Patienten beschränkt wurde, zeigte sich kein Unterschied in der Verteilung der Allele ($\chi^2 = 3,94$, $p = 0,14$) oder der Genotypen ($\chi^2 = 5,91$, $p = 0,21$).

Da an derselben Stichprobe im Rahmen einer weiteren Studie [146] die Häufigkeit des Polymorphismus *IVS4+78insG* im α -Synuklein untersucht wurde, war es möglich, auf die vorliegenden Daten zurückzugreifen, um eine Haplotypanalyse durchzuführen und zu überprüfen, ob zwischen dem *NACP-Rep1*-Polymorphismus und dem *IVS4+78insG*-Polymorphismus ein Zusammenhang besteht. Tabelle 5 zeigt die Genotypen beider *loci* und die Anzahl der Individuen mit jeder möglichen Genotyp-Kombination.

Tabelle 5: *Rep1/IVS4+78insG*-Genotyp-Kombinationen der EOPD-Patienten

| <i>IVS4+78insG</i> Genotypen | <i>Rep1</i> -Genotypen | | | | | |
|---------------------------------|------------------------|----|----|----|----|----|
| | 00 | 01 | 02 | 11 | 12 | 22 |
| 11 | 9 | 26 | 2 | 34 | 9 | 0 |
| 12 | 3 | 44 | 1 | 45 | 7 | 0 |
| 22 | 3 | 10 | 2 | 34 | 3 | 0 |

Ein χ^2 -Test wurde durchgeführt, um zu ermitteln, ob eine Assoziation zwischen einem Haplotyp und EOPD existiert. Für die Berechnung wurden dabei die *compound-heterozygoten* Individuen (kursive Einträge in der Tabelle 5) nicht berücksichtigt, da für diese Fälle keine eindeutige Haplotypbestimmung möglich war. Das Ergebnis des χ^2 -Test ergab 13,38 mit $p > 0,25$. In der Stichprobe wurde demnach keine Assoziation zwischen einem Haplotyp und MP gesehen.

3.2.2. Apolipoprotein E

Die Bestimmung der *ApoE*-Allele erfolgte durch eine Auftrennung der Fragmente auf einem PAGE-Gel nach einem Restriktionsverdau. Bevor die PCR an der gesamten Stichprobe angewendet wurde, erfolgte eine Optimierung der PCR-Bedingungen mit Hilfe einer Gradienten-PCR im Temperaturbereich von 58° - 72° C mit und ohne Zugabe von DMSO. Geeignete Bedingungen für die veröffentlichten *ApoE-Primer* zeigten sich in einem PCR-Gemisch mit 10 % DMSO bei einer *Annealing*temperatur von 60° C (Abbildung 4).



Abbildung 4: Ausschnitt eines 1 %igen Agarosegels. Dargestellt ist das Ergebnis einer Gradienten-PCR mit dem *ApoE-Primer*. Die geeignete *Annealing*temperatur liegt zwischen 60° und 62° C (Spuren 6 und 7). In der linken Spur ist eine 100 bp Leiter (L) als Größenstandard und in der rechten Spur eine H₂O-Kontrolle aufgetragen.

Die PCR-Produkte wurden durch das Enzym *Hha* I verdaut und im Anschluss daran auf einem 6 %igen denaturierenden PAGE-Gel aufgetrennt und durch Silberfärbung sichtbar gemacht.

Innerhalb des *ApoE*-Gens befinden sich zwei Polymorphismen im Codon 112 und 158, so dass man für jeden möglichen Genotyp eine unterschiedliche Anzahl DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge erhielt. Für die Zuordnung dieser Bandenmuster wurden ausgewählte Proben sequenziert. In Abbildung 5 sind die verschiedenen DNA-Fragmente und die daraus resultierenden Genotypen des *ApoE* dargestellt.

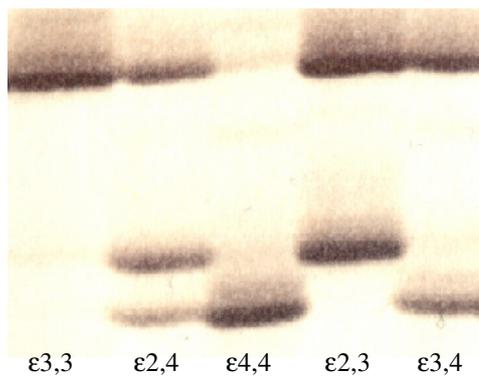


Abbildung 5: Ausschnitt eines 6%igen denaturierenden PAGE-Gels nach Silberfärbung. Dargestellt sind Restiktionsfragmente von Patienten mit verschiedenen *ApoE*-Genotypen.

Die Ergebnisse der Analyse der Polymorphismen sind in den Tabellen 6 und 7 zusammengefasst.

Tabelle 6: Verteilung der Allelfrequenzen des *ApoE*

| <i>ApoE</i> -Allele | EOPD-Patienten | LOPD-Patienten | Kontrollen |
|---------------------|----------------|----------------|--------------|
| ε2 | 16 (7,1 %) | 9 (5,2 %) | 36 (14,5 %) |
| ε3 | 171 (75,6 %) | 145 (83,3 %) | 179 (72,2 %) |
| ε4 | 39 (17,3 %) | 20 (11,5 %) | 33 (13,3 %) |

Tabelle 7: Verteilung der Genotypfrequenzen des ApoE

| <i>ApoE</i> -Genotypen | EOPD-Patienten | LOPD-Patienten | Kontrollen |
|-------------------------------------------|----------------|----------------|-------------|
| $\epsilon 2/\epsilon 2$ | 1 (0,9 %) | 0 | 0 |
| $\epsilon 2/\epsilon 3$ | 10 (8,8 %) | 9 (10,3 %) | 33 (26,6 %) |
| $\epsilon 2/\epsilon 4$ | 4 (3,5 %) | 0 (0 %) | 3 (2,4 %) |
| $\epsilon 3/\epsilon 3$ | 66 (58,4 %) | 59 (67,8 %) | 58 (46,8 %) |
| $\epsilon 3/\epsilon 4$ | 29 (25,7 %) | 18 (20,7 %) | 30 (24,2 %) |
| $\epsilon 4/\epsilon 4$ | 3 (2,7 %) | 1 (1,2 %) | 0 |

Sowohl in der Verteilung der *ApoE*-Allele ($\chi^2 = 12,3$, $p = 0,002$), als auch der *ApoE*-Genotypen ($\chi^2 = 20,5$, $p = 0,001$) zeigten sich statistisch interessante Unterschiede zwischen MP-Patienten und Kontrollen. Diese bestanden auch nach Beschränkung der Patientengruppe auf EOPD-Patienten (*ApoE*-Allele ($\chi^2 = 7,4$, $p = 0,03$), *ApoE*-Genotypen ($\chi^2 = 16,5$, $p = 0,006$)). Es zeigte sich eine negative Assoziation zwischen dem *ApoE* $-\epsilon 2$ -Allel und MP bzw. EOPD und eine positive Assoziation zwischen dem *ApoE* $-\epsilon 4,4$ -Genotyp und MP bzw. EOPD.

Es folgte eine Analyse, bei der die EOPD-Patienten in drei Gruppen (*APOE2*, *APOE3* und *APOE4*) geteilt wurden, um zu überprüfen, ob *ApoE*-Allele das Erkrankungsalter bei MP modifizieren. In der Gruppe *APOE2* wurden EOPD-Patienten mit dem Genotyp *ApoE* $-\epsilon 2,2$ und *ApoE* $-\epsilon 2,3$, in der Gruppe *APOE3* Patienten mit dem Genotyp *ApoE* $-\epsilon 3,3$ und in der Gruppe *APOE4* Patienten mit den Genotypen *ApoE* $-\epsilon 3,4$ und *ApoE* $-\epsilon 4,4$ zusammengefasst. Individuen mit dem Genotyp *ApoE* $-\epsilon 2,4$ wurden von dieser Untersuchung ausgeschlossen. Das Durchschnittsalter der EOPD-Patienten in den verschiedenen Gruppen zeigt die Tabelle 8.

Durch die Kaplan-Meier-Überlebens-Analyse wurden Unterschiede in der Verteilung des Erkrankungsalters zwischen den Gruppen dargestellt. Das Vorhandensein von mindestens einem *ApoE* $-\epsilon 2$ -Allel (*APOE2*-Gruppe) führte zu einem späteren Erkrankungsbeginn im Vergleich zur *APOE3*-Gruppe ($p = 0,0006$) oder der *APOE4*-Gruppe ($p = 0,003$). Zwischen der *APOE3*- und *APOE4*-Gruppe fand sich kein deutlicher Unterschied ($p = 0,42$) (Abbildung 6).

Tabelle 8: Darstellung des Durchschnittserkrankungsalters und der Standardabweichungen in den verschiedenen APOE-Gruppen

| <i>ApoE</i> | Erkrankungsalter (Mittelwert) | Standardabweichung |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| <i>ApoE2</i> ($\epsilon 2/\epsilon 2$ oder $\epsilon 2/\epsilon 3$) | 40,4 Jahre | 5,7 |
| <i>ApoE3</i> ($\epsilon 3/\epsilon 3$) | 35,6 Jahre | 6,4 |
| <i>ApoE4</i> ($\epsilon 3/\epsilon 4$) oder $\epsilon 4/\epsilon 4$) | 38,8 Jahre | 6,2 |
| Summe | 37 Jahre | 6,5 |

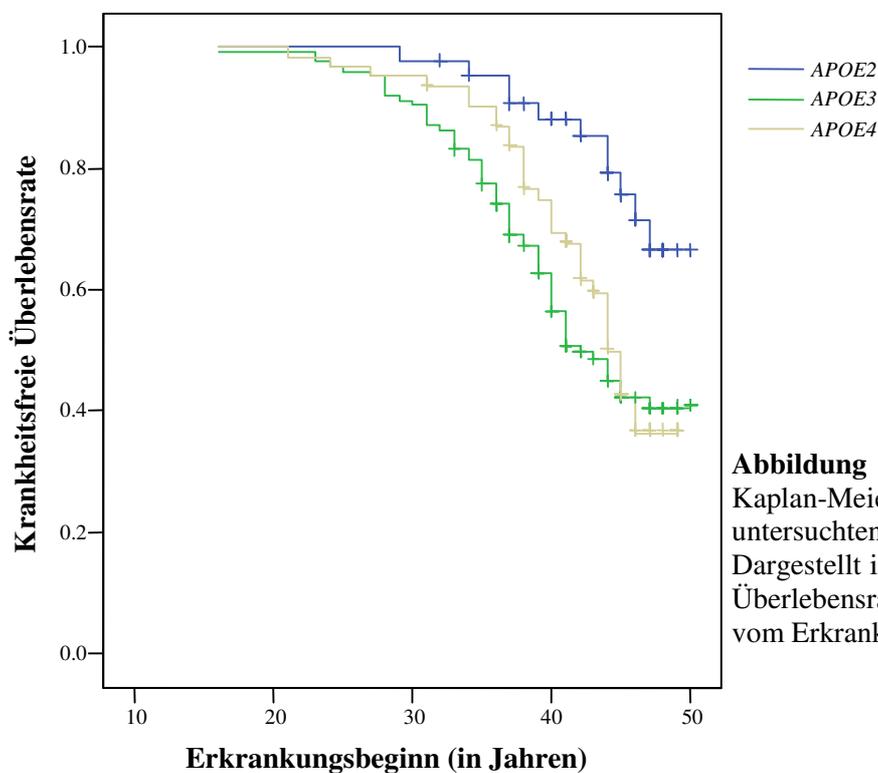


Abbildung 6: Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse für alle untersuchten EOPD-Patienten. Dargestellt ist die krankheitsfreie Überlebensrate in Abhängigkeit vom Erkrankungsalter.

3.2.3 *Parkin*

Die Analyse der Polymorphismen im Exon 4 und Exon 10 des *Parkins* erfolgte durch Restriktionsverdau, wobei *S/N167* mit dem Enzym *AlwN I*, *R/W366* mit dem Enzym *Nci I* und *V/L380* mit dem Enzym *Bsp1286 I* detektiert wurde [188]. Nach elektrophoretischer

Auftrennung auf einem 3 %igen Agarosegel entstanden Restriktionsfragmente, die in der Abbildung 7 dargestellt sind.



Abbildung 7a



Abbildung 7b

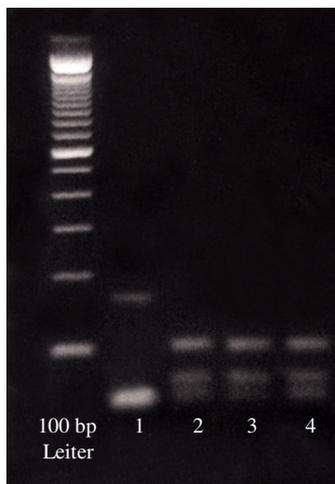


Abbildung 7c

Abbildung 7: Ausschnitte von 3 %igen Agarosegelen. In die linke Spur ist jeweils eine 100 bp-Leiter zur Größenbestimmung aufgetragen worden.

Abbildung 7 a: Darstellung von Restriktionsfragmenten von Patienten mit unterschiedlichen *V/L380*-Genotypen: homozygoter *380V/V*-Genotyp in den Spuren 1 – 3, homozygoter *380L/L*-Genotyp in der Spur 4 und heterozygoter *380V/L*-Genotyp in der Spur 5. In der rechten Spur ist eine H_2O -Kontrolle aufgetragen.

Abbildung 7 b: Darstellung von Restriktionsfragmenten von Patienten mit unterschiedlichen *S/N167*-Genotypen: homozygoter *167S/S*-Genotyp in den Spuren 1 – 6 und 8 und heterozygoter *167S/N*-Genotyp in der Spur 5.

Abbildung 7 c: Darstellung von Restriktionsfragmenten von Patienten mit dem homozygoten *366R/R*-Genotyp in den Spuren 2 – 4. In der Spur 1 wird das unverdaute PCR-Produkt dargestellt.

Aufgrund drei aufeinanderfolgender Arbeitsschritte, der Amplifizierung, dem Verdau und der abschließenden Agarosegelelektrophorese, stellte sich diese Methode als sehr arbeits- und zeitintensiv dar. Zur Detektion des Polymorphismus *S/N167* im Exon 4 wurde daher ein schnelleres und weniger aufwändiges Verfahren mittels des Fluoreszenzfarbstoffes *SYBR Green I* auf dem LC etabliert (s. u. 2.3.8.1), das sich den Schmelzpunktunterschied zwischen dem Wildtyp und dem Polymorphismus zunutze machte. Die Temperaturdifferenz resultierte aus der Transition von G zu A und der sich hieraus ergebenden verringerten Anzahl von Wasserstoffbrückenbindungen im PCR-Produkt.

Die Etablierung dieser Methode fand an 100 LOPD-Patienten, 100 EOPD-Patienten und 100 Kontrollen statt, die zuvor schon durch das herkömmliche Verfahren mittels

Restriktionsverdau mit dem Enzym *AlwN* I charakterisiert worden waren. Der Schmelzpunkt des PCR-Produktes des Exon 4 lag bei Probanden, die homozygot für den Wildtyp waren, bei einer Temperatur von $88,17^{\circ}\text{C} \pm 0,06^{\circ}\text{C}$ und bei Probanden mit dem heterozygoten Wildtyp/Polymorphismus bei $87,77 \pm 0,03^{\circ}\text{C}$. Probanden, die homozygot für den Polymorphismus waren, kamen in der Stichprobe nicht vor. Die zuvor gewonnenen Ergebnisse konnten durch das neue Verfahren ausnahmslos reproduziert werden. Die Arbeitszeit wurde hierbei beachtlich reduziert. Benötigte man mit der herkömmlichen Methode etwa 10 h – 11 h für die Detektion von 96 Proben, so waren es mit dem neuen Verfahren nur noch 2 h für 96 Proben. Alle Ergebnisse wurden nochmals durch eine SSCP-Analyse des Exon 4 überprüft (Abbildung 8) und einige zufällig gewählte Stichproben auch sequenziert (Abbildung 9).



Abbildung 8: Ausschnitt eines 6% igen nicht-denaturierenden PAGE-Gels. Dargestellt ist das Ergebnis einer SSCP-Analyse des *S/N167*. Der Ausschnitt zeigt DNA-Fragmente von sechs verschiedenen Probanden. Die Spuren 3 und 6 fallen durch ein verändertes Bandenmuster auf. In diesen Fragmenten führte eine Transition von G zu A zu einer Konformationsänderung und dadurch zu einem veränderten Migrationsverhalten im Gel.

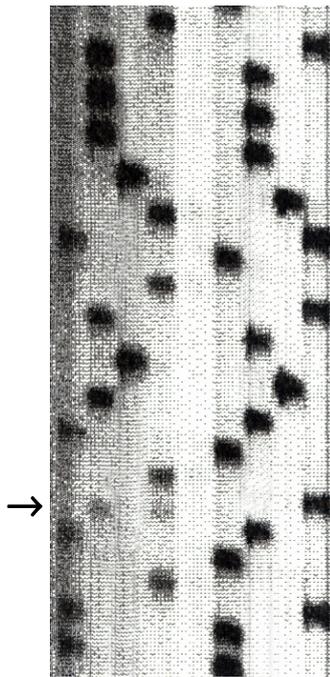


Abbildung 9: Ausschnitt eines 6% igen denaturierenden PAGE-Sequenzgels. Dargestellt ist ein kurzer Abschnitt der Rückwärtssequenz des Exon 4 des *Parkins*. Links ist die DNA eines Probanden mit dem heterozygoten *167S/N*-Genotyp und rechts mit dem homozygoten *167S/S*-Genotyp abgebildet. An Position 601 des komplementären DNA-Stranges führt die Transition von G zu A (komplementär C zu T) zum Polymorphismus *S/N 167* (Pfeil).

Die Ergebnisse der Allel- und Genotypbestimmung der drei Polymorphismen im *Parkin* sind in den Tabelle 9 und 10 zusammengefasst.

Tab. 9: Verteilung der Allele der Polymorphismen im *Parkin*

| | EOPD-Patienten | | LOPD-Patienten | | Kontrollen | |
|---------------|----------------|--------------|----------------|--------------|------------|--------------|
| <i>S/N167</i> | G | 225 (99,6 %) | G | 170 (97,7 %) | G | 245 (98 %) |
| | A | 1 (0,4 %) | A | 4 (2,3 %) | A | 5 (2 %) |
| <i>R/W366</i> | C | 226 (100 %) | C | 174 (100 %) | C | 250 (100 %) |
| | T | 0 | T | 0 | T | 0 |
| <i>V/L380</i> | G | 197 (87,2 %) | G | 166 (95,4 %) | G | 233 (93,2 %) |
| | C | 29 (12,8 %) | C | 8 (4,6 %) | C | 17 (6,8 %) |

Der Polymorphismus *R/W366* wurde weder in der Patientengruppe, noch in der Kontrollgruppe nachgewiesen. Die Genotypverteilung des *S/N167* ($\chi^2 = 0,58$, $p = 0,45$) und des *V/L380* ($\chi^2 = 2,52$, $p = 0,28$) unterschied sich nicht zwischen Patienten und Kontrollen. Nachdem die Patientengruppe auf die EOPD-Patienten beschränkt wurde, zeigte sich ein statistisch interessanter Unterschied in der Genotypverteilung des *V/L380*

($\chi^2 = 6,14$, $p = 0,046$) und es fiel eine Assoziation zwischen dem heterozygoten Genotyp *380V/L* und EOPD auf. Die Verteilung der Genotypen des *S/N167* unterschied sich nach Beschränkung auf die EOPD-Patienten nicht ($\chi^2 = 2,34$, $p = 0,13$).

Tab. 10: Verteilung der Genotypen der Polymorphismen im *Parkin*

| | EOPD-Patienten | | LOPD-Patienten | | Kontrollen | |
|----------------------|----------------|--------------|----------------|-------------|---------------|-------------|
| <i>S/N167</i> | <i>167S/S</i> | 112 (99,1 %) | <i>167S/S</i> | 83 (95,4 %) | <i>167S/S</i> | 120 (96 %) |
| | <i>167S/N</i> | 1 (0,9 %) | <i>167S/N</i> | 4 (4,6 %) | <i>167S/N</i> | 5 (4 %) |
| | <i>167N/N</i> | 0 | <i>167N/N</i> | 0 | <i>167N/N</i> | 0 |
| <i>R/W366</i> | <i>366R/R</i> | 113 (100 %) | <i>366R/R</i> | 87 (100 %) | <i>366R/R</i> | 125 (100 %) |
| | <i>366R/W</i> | 0 | <i>366R/W</i> | 0 | <i>366R/W</i> | 0 |
| | <i>366W/W</i> | 0 | <i>366W/W</i> | 0 | <i>366W/W</i> | 0 |
| <i>V/L380</i> | <i>380V/V</i> | 86 (76,1 %) | <i>380V/V</i> | 79 (90,8 %) | <i>380V/V</i> | 110 (88 %) |
| | <i>380V/L</i> | 25 (22,1 %) | <i>380V/L</i> | 8 (9,2%) | <i>380V/L</i> | 13 (10,4 %) |
| | <i>380L/L</i> | 2 (1,8 %) | <i>380L/L</i> | 0 (0 %) | <i>380L/L</i> | 2 (1,6 %) |

3.2.4. *Glutathion-S-Transferase*

GSTM und *GSTT*

Die Genotypisierung der *GST*-Klassen M und T wurde durch eine Duplex-PCR mit anschließender Elektrophorese auf einem 2 %igen Agarosegel durchgeführt. Die jeweiligen *Primer* konnten unverändert aus der Literatur [117] übernommen werden. Da sich die Polymorphismen in Deletionen äußerten, wurde nach einer Möglichkeit gesucht, bei einem Fehlen der Bande auf dem Agarosegel zwischen einem Null-Genotyp und einer fehlerhaften PCR-Reaktion zu unterscheiden. Aus diesem Grund wurde eine Duplex-PCR durchgeführt, um durch den zweiten *Primer*, dessen Amplifikat immer vorhanden sein musste, einen internen Standard (Kontrolle) über das Gelingen der Amplifizierungsreaktion zu haben. Die *GSTM*-Reaktion wurde durch das Gen *Parkin* Exon 4, die *GSTT*-Reaktion durch das Gen *Parkin* Exon 7 überprüft (Abbildung 10).

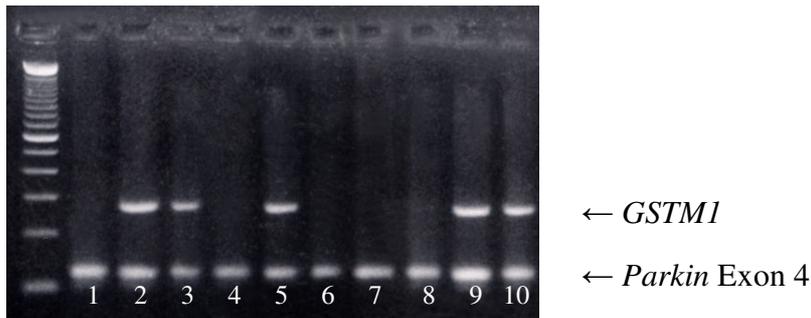


Abbildung 10a

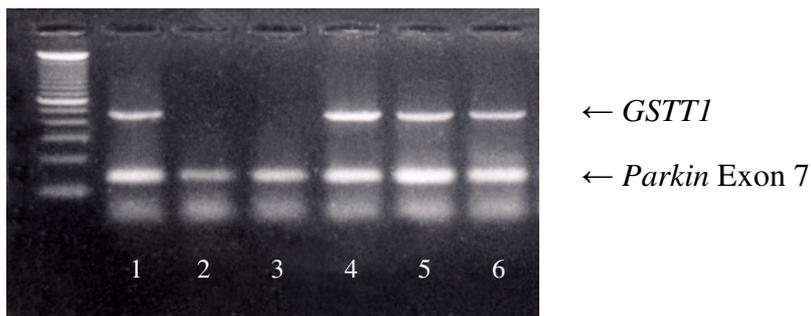


Abbildung 10 b

Abbildung 10: Ausschnitte von zwei 2% igen Agarosegelen. In die linke Spur beider Gele wurde als Größenstandard eine 100 bp-Leiter aufgetragen.

Abbildung 10 a: Dargestellt ist das Ergebnis einer Duplex-PCR der Gene *GSTM1* und *Parkin* Exon 4 zur Analyse der Polymorphismen im *GSTM1*. In den Spuren 1, 4, 6, 7 und 8 sind die PCR-Produkte von Probanden mit dem *GSTM1-0*-Genotyp abgebildet. In den Spuren 2, 3, 5, 9 und 10 sind die PCR-Produkte von Probanden mit dem *GSTM1-1*-Genotyp abgebildet.

Abbildung 10 b: Dargestellt ist das Ergebnis einer Duplex-PCR der Gene *GSTT1* und *Parkin* Exon 7 zur Analyse der Polymorphismen im *GSTT1*. In den Spuren 2 und 3 sind die PCR-Produkte von Probanden mit dem *GSTT1-0*-Genotyp abgebildet, in den Spuren 1, 4, 5 und 6 sind die PCR-Produkte von Probanden mit dem *GSTT1-1*-Genotyp abgebildet.

GSTZ1

Die Untersuchung der Polymorphismen *Lys32Glu* und *Arg42Gly* im *GSTZ1* fand durch Restriktionsverdau mit anschließender Elektrophorese auf einem 6 %igen PAGE-Gel statt (Abbildung 11). Die Reagenzien und Bedingungen wurden mit Ausnahme des Enzyms *Alw26 I*, das durch das Isoschizomer *BsmA I* ersetzt wurde, aus der Literatur [117] übernommen. Zur Etablierung dieser Methode wurden Sequenzierungen einzelner Proben durchgeführt, um die Banden auf dem PAGE-Gel (Abbildung 11) den Genotypen korrekt zuzuordnen zu können.



Abbildung 11: Ausschnitt eines 6 %igen denaturierenden PAGE-Gels nach Silberfärbung. Dargestellt sind Restriktionsfragmente von Probanden mit verschiedenen *GSTZ1 Lys32Glu*-Genotypen: Der Genotyp *GSTZ1 Lys32Glu* GG in den Spuren 1, 2 und 5, der Genotyp *GSTZ1 Lys32Glu* AG in der Spur 3 und der Genotyp *GSTZ1 Lys32Glu* AA in der Spur 4.

GSTP

Die Analyse der Polymorphismen im *GSTP1* fand auf dem LC mit Hybridisierungssonden statt. Die Primer und Sonden für den Polymorphismus *GSTP1+313* konnten aus der Literatur [87] unverändert übernommen werden, für *GSTP1+341* wurden neue Primer und Sonden in Zusammenarbeit mit der Firma *Tib Molbiol* konzipiert.

Zwischen den Genotypfrequenzen der EOPD-Patienten und der Kontrollen fand sich für keinen der *GST*-Polymorphismen ein Unterschied. Die Ergebnisse der statistischen Berechnungen sind in der Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11: Verteilung der GST-Genotypen innerhalb der Stichprobe

| <i>GST</i> | EOPD-Patienten | Kontrollen |
|--------------------------|---------------------------|--------------|
| <i>GSTT1-1-Genotyp</i> | 79 (69,9 %) | 88 (70,4 %) |
| <i>GSTT1-0-Genotyp</i> | 34 (30,1 %) | 37 (29,6 %) |
| | $\chi^2 = 0,01, p = 0,93$ | |
| <i>GSTM1-1-Genotyp</i> | 58 (51,8 %) | 56 (44,8 %) |
| <i>GSTM1-0-Genotyp</i> | 54 (48,2 %) | 69 (55,2 %) |
| | $\chi^2 = 1,16, p = 0,28$ | |
| <i>GSTZ1 Lys32Glu</i> AA | 11 (9,7 %) | 17 (13,6 %) |
| <i>GSTZ1 Lys32Glu</i> AG | 57 (50,4 %) | 57 (45,6 %) |
| <i>GSTZ1 Lys32Glu</i> GG | 45 (39,8 %) | 51 (40,8 %) |
| | $\chi^2 = 1,06, p = 0,59$ | |
| <i>GSTZ1 Arg42Gly</i> AA | 2 (1,8 %) | 2 (1,6 %) |
| <i>GSTZ1 Arg42Gly</i> AG | 12 (10,6 %) | 16 (12,8 %) |
| <i>GSTZ1 Arg42Gly</i> GG | 99 (87,6 %) | 107 (85,6 %) |
| | $\chi^2 = 0,29, p = 0,87$ | |
| <i>GSTP1</i> AA | 58 (51,3 %) | 59 (47,2 %) |
| <i>GSTP1</i> AB | 30 (26,6 %) | 39 (31,2 %) |
| <i>GSTP1</i> AC | 11 (9,7 %) | 17 (13,6 %) |
| <i>GSTP1</i> BB | 10 (8,9 %) | 7 (5,6 %) |
| <i>GSTP1</i> BC | 4 (3,5 %) | 2 (1,6 %) |
| <i>GSTP1</i> CC | 0 (0 %) | 1 (0,8 %) |
| | $\chi^2 = 4,07, p = 0,54$ | |

3.2.4.1. GST und Pestizidexposition

Die Assoziation zwischen den *GST*-Genotypen und einer Pestizidexposition wurde durch die Bestimmung der *Hazard Ratio* (HR) mittels einer Cox Regressionsanalyse untersucht. Hierbei wurden alle Probanden eingeschlossen, die in ihrer Vergangenheit regelmäßig oder zumindest bei Bedarf Herbiziden oder Insektiziden ausgesetzt waren oder die in der JEM bei den Stoffklassen Herbizide (JEM 55) oder Fungizide (JEM 56) einen Wert > 0 aufwiesen. Die *GST*-Genotypen wurden getrennt voneinander betrachtet. Tabelle 12 zeigt die Genotypverteilung innerhalb der Stichprobe der exponierten Probanden und die errechneten HR bzw. p-Werte. Ein Unterschied in der Verteilung der *GST*-Genotypen zwischen pestizidexponierten EOPD-Patienten und Kontrollen ergab sich dabei nicht.

Tabelle 12: Verteilung der GST-Genotypen innerhalb der mit Pestiziden exponierten Stichprobe

| <i>GST</i> | Pestizidexponierte EOPD-Patienten | Pestizidexponierte Kontrollen |
|--------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------|
| <i>GSTT1-1-Genotyp</i> | 27 (77,1 %) | 19 (65,5 %) |
| <i>GSTT1-0-Genotyp</i> | 8 (22,9 %) | 10 (34,5 %) |
| | HR 1,426, p = 0,16 | |
| <i>GSTMI-1-Genotyp</i> | 18 (51,4 %) | 13 (44,8 %) |
| <i>GSTMI-0-Genotyp</i> | 17 (48,6 %) | 16 (55,2 %) |
| | HR 1,281, p = 0,4 | |
| <i>GSTZ1 Lys32Glu</i> AA | 4 (11,4 %) | 4 (13,8 %) |
| <i>GSTZ1 Lys32Glu</i> AG | 18 (51,4 %) | 8 (27,6 %) |
| <i>GSTZ1 Lys32Glu</i> GG | 13 (37,2 %) | 17 (58,6 %) |
| | HR 0,999, p = 0,96 | |
| <i>GSTZ1 Arg42Gly</i> AA | 1 (2,9 %) | 0 (0 %) |
| <i>GSTZ1 Arg42Gly</i> AG | 4 (11,4 %) | 4 (13,8 %) |
| <i>GSTZ1 Arg42Gly</i> GG | 30 (85,7 %) | 25 (86,2 %) |
| | HR 1,004, p = 0,75 | |
| <i>GSTP1</i> AA | 19 (54,3 %) | 14 (48,3 %) |
| <i>GSTP1</i> AB | 7 (20 %) | 7 (24,1 %) |
| <i>GSTP1</i> AC | 4 (11,4 %) | 6 (20,7 %) |
| <i>GSTP1</i> BB | 4 (11,4 %) | 1 (3,5 %) |
| <i>GSTP1</i> BC | 1 (2,9 %) | 1 (3,5 %) |
| <i>GSTP1</i> CC | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| | HR 1,005, p = 0,78 | |

3.2.5. *N-Acetyltransferase 2*

Die sieben Polymorphismen im 1211 bp großen, intronlosen *NAT2*-Gen wurden mit der Schmelzkurvenanalyse unter Verwendung von Hybridisierungssonden auf dem LC (s. u. 2.3.8.2.) detektiert. Für drei der sieben Polymorphismen (Position 481, 590 und 857) war diese Methode bereits publiziert [16], für die übrigen Polymorphismen wurde sie hieran anlehnend etabliert und hinsichtlich der Wirtschaftlichkeit und Schnelligkeit optimiert. So wurden die Amplifizierung und die Mutationsanalyse nicht in einem Reaktionsgefäß auf dem Echt-Zeit-PCR-Gerät, sondern nacheinander durchgeführt. Zuerst fand die PCR auf einem *Thermocycler* in einem Gesamtvolumen von 40 µl statt. Das *NAT2*-Gen wurde hierbei nicht im Ganzen amplifiziert, sondern in einen vorderen Abschnitt (bp 1 - bp 547)

und einen hinteren Abschnitt (bp 442 - bp 914) geteilt. Für den vorderen Abschnitt wurden der Vorwärts-Primer *NAT2 P-69 F* und der Rückwärts-Primer *NAT2 P-547 R* verwendet, für den hinteren Abschnitt das Primer-Paar *NAT2*. 5 µl des PCR-Produktes wurden danach zusammen mit einem Sondenpaar in eine Glaskapillare des LC überführt, um dort in einem Gesamtvolumen von 10 µl eine Schmelzkurve zu erstellen (Abbildung 12).

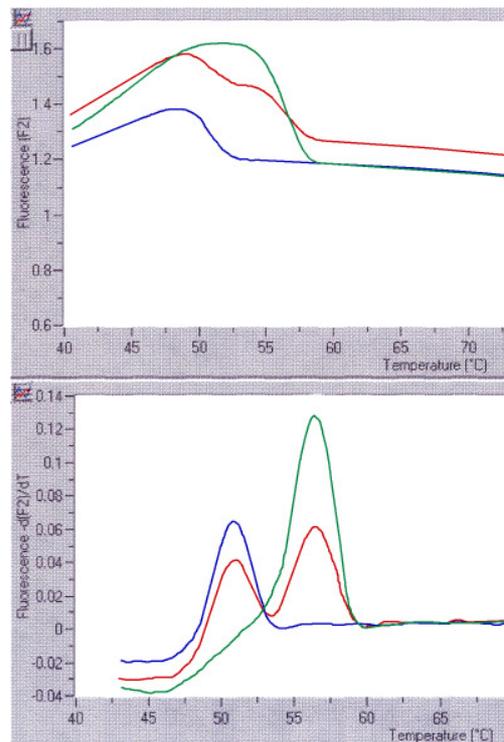


Abbildung 12: Schmelzkurven am Beispiel der Hybridisierungssonde *NAT2 803*. Im Koordinatensystem (oben), in dem die Temperatur gegen die Fluoreszenz aufgetragen ist, kommt es beim Erreichen des Schmelzpunktes zu einem Fluoreszenzabfall. Dieser kann im Koordinatensystem (unten) durch eine mathematische Umwandlung (Auftragung der ersten negativen Ableitung der Fluoreszenz gegen die Temperatur) als präziser Schmelzpunkt dargestellt werden. Der homozygote Wildtyp (*A803*) wird durch den grünen Graph dargestellt, der heterozygote Genotyp (*A803G*) durch den roten Graph und der homozygote Polymorphismus (*803G*) durch den blauen Graph. Der Schmelzpunkt des PCR-Produktes des Wildtyps liegt bei ca. 56,5° C, der Schmelzpunkt PCR-Produktes des Polymorphismus bei ca. 51° C, beim heterozygoten Genotyp finden sich beide Schmelzpunkte.

Auf diese Weise genügt ein PCR-Ansatz des vorderen *NAT2*-Abschnitts zur Bestimmung der Polymorphismen *G191A*, *C282T*, *T341C* und ein PCR-Ansatz des hinteren *NAT2*-Abschnitts für die Polymorphismen *C481T*, *G590A*, *A803G* und *G857A*. Die Sonden für *C481T*, *G590A* und *G857A* und das Primer-Paar *NAT2* konnten unverändert aus der

Literatur [16] übernommen werden, der Vorwärts-Primer *NAT2 P-69 F*, der Rückwärts-Primer *NAT2 P-547 R* und die weiteren Sonden wurden in Zusammenarbeit mit der Firma *Tib Molbiol* synthetisiert. Durch die Identifizierung von sieben Polymorphismen im *NAT2*-Gen: *G191A*, *C282T*, *T341C*, *C481T*, *G590A*, *A803G*, *G857A* wurde die Verteilung der *NAT2*-Allele: *4, *5A, *5B, *5C, *6A, *7B, *13 und *14B im Probandenkollektiv bestimmt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Verteilung der *NAT2*-Allele innerhalb der Stichprobe

| <i>NAT2</i> -Allele | EOPD-Patienten | Kontrollen |
|---------------------|----------------|-------------|
| *4 | 48 (21,2 %) | 61 (24,4 %) |
| *5A | 9 (4 %) | 11 (4,4 %) |
| *5B | 88 (38,9 %) | 100 (40%) |
| *5C | 6 (2,7 %) | 7 (2,8 %) |
| *6A | 62 (27,4 %) | 62 (24,8 %) |
| *7B | 6 (2,7 %) | 3 (1,2 %) |
| *13 | 7 (3,1 %) | 6 (2,4 %) |
| *14B | 0 | 0 |

Die Verteilung der Allele unterschied sich nicht zwischen den EOPD-Patienten und Kontrollen ($\chi^2 = 3,48$, $p = 0,84$). Auf dieser Grundlage konnten die *NAT2*-Genotypen für die Patienten und Kontrollen bestimmt werden. Ein statistisch interessanter Unterschied in der Verteilung der Genotypen zwischen EOPD-Patienten und Kontrollen zeigte sich dabei nicht. Geht man davon aus, dass alle Individuen, die mindestens ein *NAT2**4-Allel (Wildtyp) besitzen, schnelle Acetylierer sind, waren unter den Patienten 38,9 % und unter den Kontrollen 41,6 % genotypisch schnelle Acetylierer vertreten. Die häufigsten Schnell-Acetylier-Genotypen in beiden Kollektiven waren *NAT2**4/*5B und *NAT2**4/*6A. Es wurden 16 verschiedene Langsam-Acetylierer-Genotypen gefunden, die insgesamt bei 61,1 % der Patienten und bei 58,4 % der Kontrollen vorkamen. Die häufigsten Langsam-Acetylier-Genotypen in beiden Kollektiven waren *NAT2**5B/*5B und *NAT2**5B/*6A. Die Verteilung der Langsam- und Schnell-Acetylierer-Genotypen ist in den Tabellen 14 und 15 dargestellt und sie unterschied sich nicht zwischen den EOPD-Patienten und den Kontrollen ($\chi^2 = 20,73$, $p = 0,54$).

Tabelle 14: Verteilung der Langsam-Acetylier-Genotypen

| <i>NAT2</i> -Genotypen | EOPD-Patienten | Kontrollen |
|------------------------|--------------------|--------------------|
| <i>*5A/*5A</i> | 2 (1,8 %) | 0 |
| <i>*5A/*5B</i> | 1 (0,9 %) | 5 (4 %) |
| <i>*5A/*5C</i> | 1 (0,9 %) | 0 |
| <i>*5A/*6A</i> | 2 (1,8 %) | 2 (1,6 %) |
| <i>*5A/*7B</i> | 0 | 1 (0,8 %) |
| <i>*5A/*13</i> | 1 (0,9 %) | 1 (0,8 %) |
| <i>*5B/*5B</i> | 20 (17,7 %) | 19 (15,2 %) |
| <i>*5B/*5C</i> | 2 (1,8 %) | 4 (3,2 %) |
| <i>*5B/*6A</i> | 18 (15,9 %) | 26 (20,8 %) |
| <i>*5B/*7B</i> | 3 (2,7 %) | 1 (0,8 %) |
| <i>*5B/*13</i> | 3 (2,7 %) | 1 (0,8 %) |
| <i>*5C/*5C</i> | 0 | 0 |
| <i>*5C/*6A</i> | 2 (1,8 %) | 2 (1,6 %) |
| <i>*5C/*7B</i> | 0 | 0 |
| <i>*5C/*13</i> | 1 (0,9 %) | 0 |
| <i>*6A/*6A</i> | 9 (8 %) | 8 (6,4 %) |
| <i>*6A/*7B</i> | 2 (1,8 %) | 1 (0,8 %) |
| <i>*6A/*13</i> | 2 (1,8 %) | 2 (1,6 %) |
| Summe | 69 (61,1 %) | 73 (58,4 %) |

Tabelle 15: Verteilung der Schnell-Acetylier-Genotypen

| <i>NAT2</i> -Genotypen | EOPD-Patienten | Kontrollen |
|------------------------|--------------------|--------------------|
| <i>*4/*4</i> | 4 (3,5 %) | 9 (7,2 %) |
| <i>*4/*5A</i> | 0 | 2 (1,6 %) |
| <i>*4/*5B</i> | 21 (18,6 %) | 25 (20 %) |
| <i>*4/*5C</i> | 0 | 1 (0,8 %) |
| <i>*4/*6A</i> | 18 (15,9 %) | 13 (10,4 %) |
| <i>*4/*7B</i> | 1 (0,9 %) | 0 |
| <i>*4/*13</i> | 0 | 2 (1,6 %) |
| Summe | 44 (38,9 %) | 52 (41,6 %) |

3.2.5.1. *NAT2* und Pestizidexposition

Der Zusammenhang zwischen den *NAT2*-Genotypen und einer Pestizidexposition wurde durch eine Cox-Regressionsanalyse untersucht. *NAT2**4-positive oder *NAT2**4-negative

Probanden, d. h. Schnell- und Langsam-Acetylierer und eine Pestizidexposition waren die Einflussgrößen. Individuen mit einem oder mehr *NAT2*4*-Allelen wurden dabei als *NAT2*4*-positiv gewertet. Eingeschlossen wurden Individuen, die in ihrer Vergangenheit regelmäßig oder zumindest bei Bedarf Herbiziden oder Insektiziden ausgesetzt waren oder die in der JEM bei den Stoffklassen Herbizide (JEM 55) oder Fungizide (JEM 56) einen Wert > 0 aufwiesen. Die Genotypverteilung innerhalb der Gruppe der exponierten Probanden wird in der Tabelle 16 dargestellt. Die Unterschiede waren nicht statistisch interessant; HR 0,955 ($p = 0,62$).

Tabelle 16: *NAT2*-Genotypenverteilung in der mit Pestiziden exponierten Stichprobe

| | Pestizidexponierte EOPD-Patienten | Pestizidexponierte Kontrollen |
|------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------|
| <i>NAT2*4</i> -positiv | 8 (27,6 %) | 11 (45,8 %) |
| <i>NAT2*4</i> -negativ | 21 (72,4 %) | 13 (54,2 %) |

3.3. Rauchen und MP

Die Probanden wurden nach ihrem Rauchverhalten gefragt. In die Gruppe der Raucher wurden sowohl die Personen eingeschlossen, die zum Untersuchungszeitpunkt rauchten, als auch die Personen, die in der Vergangenheit geraucht hatten, aber zum Untersuchungszeitpunkt bereits nicht mehr rauchten. Zur Gruppe der Nichtraucher gehörten nur Probanden, die nie geraucht haben. Die Verteilung der Raucher und Nichtraucher in der Gruppe der EOPD-Patienten und der Kontrollen ist in der Tabelle 17 dargestellt.

Unter den EOPD-Patienten fanden sich weniger Raucher, als unter den Kontrollen. Dieser Unterschied war statistisch interessant; HR 0,668, $p = 0,04$.

Tabelle 17: Verteilung der Raucher und Nichtraucher innerhalb der Stichprobe

| Rauchen | EOPD-Patienten | Kontrollen |
|----------------|-----------------------|-------------------|
| Nie | 43 (39,4 %) | 34 (27,4 %) |
| Früher | 40 (36,7 %) | 37 (29,8 %) |
| Derzeit | 26 (23,9 %) | 53 (42,7 %) |

3.4. Pestizidexposition und MP

Der Zusammenhang zwischen einer Pestizidexposition und MP wurde ebenfalls durch eine logistische Regressionsanalyse untersucht. Als pestizidexponiert galten Individuen, die in ihrer Vergangenheit regelmäßig oder zumindest bei Bedarf Herbiziden oder Insektiziden ausgesetzt waren oder die in den Stoffklassen Herbizide (JEM 55) oder Fungizide (JEM 56) in der JEM einen Wert > 0 aufwiesen. In der Tabelle 18 ist das Vorkommen einer Pestizidexposition innerhalb der Stichprobe dargestellt.

Tabelle 18: Vorkommen einer Pestizidexposition innerhalb der Stichprobe

| | EOPD-Patienten | Kontrollen |
|---------------------------------|-----------------------|-------------------|
| Pestizidexposition | 31 (27,4 %) | 22 (17,6 %) |
| Keine Pestizidexposition | 10 (9,7 %) | 8 (7 %) |
| Unbekannt | 5 (4,9 %) | 7 (6,2 %) |

Es wurde eine Analyse der gesamten Stichprobe durchgeführt, die kein erhöhtes MP-Risiko nach einer Pestizidexposition erbrachte ($p = 0,07$, Konfidenzintervall: 0,302 – 1,05). Auch eine Korrelation zwischen einer Pestizidexposition und dem Alter, dem Geschlecht und der Familienanamnese bei EOPD-Patienten ergab kein statistisch interessantes Ergebnis ($p = 0,11$, Konfidenzintervall: 0,32-1,13).

Eine Übersicht über die ausgewählten klinischen Daten und Expositionsdaten der EOPD-Patienten und Kontrollen sowie die ermittelten genetischen Daten bieten die Tabellen VI und VII des Anhangs. In der Tabelle VIII des Anhangs finden sich die klinischen und genetischen Daten der LOPD-Patienten.

4. Diskussion

4.1. Stichprobe

Als Studiendesign wurde eine Fall-Kontroll-Studie gewählt, da diese ermöglicht, den Einfluss von Polymorphismen bzw. Expositionen auf die Entstehung auch von relativ seltenen Erkrankungen, wie MP, zu untersuchen. Um statistisch relevante Ergebnisse zu erhalten, ist es unerlässlich, eine genügende Anzahl von Fällen und dementsprechend auch von Kontrollen in die Studie mit einzubeziehen. Unsere Stichprobe bestand daher aus 113 EOPD-Patienten, 87 LOPD-Patienten und 125 Kontrollen. Im Laufe der Zeit konzentrierte sich die Studie jedoch aufgrund der unter 3.1.1. genannten Gründe nur noch auf die Patienten mit frühem Erkrankungsalter.

Eine umfassende Charakterisierung der Stichprobe fand durch die Beantwortung eines Fragebogens mit Fragen zum Schulabschluss, zum Beruf, zum Arbeitsplatz und dem Gebrauch verschiedener Arbeitsstoffe, zur Ernährung, zur Trinkwasserversorgung, zum Wohnort, zum Medikamentengebrauch, zum Rauchverhalten etc. statt, den jeder Studienteilnehmer der EOPD- und Kontrollgruppe zu beantworten hatte. Weiterhin wurde jeder Teilnehmer klinisch untersucht und die derzeitigen geistigen Fähigkeiten mittels eines Intelligenztests und des *Folstein Mini Mental Examination Scores* (FMME-Scores) [42] ermittelt. Durch die Abwesenheit eines diagnostischen Tests oder biologischen Markers für MP ist die klinische Untersuchung entscheidend. Alle Untersuchungen wurden deshalb von demselben Spezialisten für Bewegungsstörungen durchgeführt, so dass Unterschiede in der klinischen Diagnose des MP, zu denen es bei mehreren Untersuchern kommen könnte, vermieden wurden. Bisher fanden sich in der Literatur vorwiegend Studien, die entweder umweltbedingte oder genetische Faktoren erforschten. Da bei den Probanden der vorliegenden Studie im Rahmen einer weiteren Studie eine ausführliche Expositionsanamnese erhoben wurde, auf deren Ergebnisse zurückgegriffen werden konnte, war es möglich, auch das Zusammenwirken beider Faktoren zu untersuchen.

4.2. Methoden

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit bestand aus der Etablierung und Entwicklung neuer Methoden. Um an der großen Stichprobe insgesamt 18 Polymorphismen in einer angemessenen Zeit analysieren zu können, mussten Methoden gefunden werden, die zuverlässig, schnell, mit wenig Arbeitsaufwand, kostengünstig und mit einer möglichst geringen Kontaminationsgefahr Ergebnisse erbrachten. Es wurde dafür die Arbeit mit dem LC neu eingeführt. Dieses ist ein schneller *Thermocycler* und gleichzeitig ein Fluorometer, das durch die Arbeit mit unterschiedlichen Reagenzien vielfältig eingesetzt werden kann. Die Vorteile des Gerätes, im Vergleich zur konventionellen PCR, sind eine viel schnellere Amplifizierungszeit, eine auf ein Reaktionsgefäß (Glaskapillare) beschränkte Analyse und die Darstellung der Ergebnisse in Echtzeit auf dem Monitor. Insgesamt führte dieses zu einer Einsparung diverser Arbeitsschritte, wie z. B. mehrfaches Pipettieren, Herstellen und Beladen von Gelen und das Darstellen der Ergebnisse durch Färbung und/oder Fotografie und damit neben einer deutlichen Zeitersparnis zu einer Minderung der potentiellen Kontaminationsgefahr.

Die Schmelzpunktanalyse mit dem *SYBR-Green*-Farbstoff (s. u. 2.3.8.1.) am LC wurde für die Untersuchung des Polymorphismus im Exon 4 des *Parkin* (*S/N167*) neu eingeführt und etabliert. Zuvor war der *S/N167* an der gesamten Stichprobe bereits durch eine konventionelle PCR mit anschließendem Restriktionsverdau und Agarosegelelektrophorese detektiert worden. Die Schmelzkurvenanalyse auf dem LC fand ohne weitere Arbeitsschritte direkt im Anschluss an die Amplifikation (40 Zyklen) im selben Reaktionsgefäß statt. Man erhielt zwei verschiedene Schmelzpunkte, einen für den Wildtyp, den anderen für den Polymorphismus, die von der Länge und dem GC-Gehalt der DNA abhängig waren. Diese Methode hatte jedoch auch ihre Beschränkungen und konnte nur dann eingesetzt werden, wenn aus dem Basenaustausch im Amplifikationsprodukt auch ein Unterschied in der Anzahl der Wasserstoffbrückenbindung resultierte. Eine Transversion von T zu A, von G zu C oder jeweils umgekehrt führte zu keiner Änderung der Anzahl der Wasserstoffbrückenbindungen und somit auch zu keiner Änderung des Denaturierungsverhaltens. Für die Analyse des *S/N167* war die Methode sehr geeignet und alle zuvor gewonnenen Ergebnisse konnten auf diese innovative Weise, mit weniger Arbeitsschritten und einer Zeitersparnis für 96 Proben von ca. acht bis neun Stunden

reproduziert werden. Zur weiteren Validation der neuen Methode wurden alle Ergebnisse durch eine SSCP-Analyse überprüft und einige Stichproben auch sequenziert.

Einen weiteren Einsatz fand der LC in der Analyse der sieben Polymorphismen im *NAT2*. Zuvor waren verschiedene publizierte Methoden in Betracht gezogen worden, u. a. die Untersuchung mittels einer allelspezifischen PCR, bzw. Restriktionsverdau, z. T. im Anschluss an eine *nested* PCR [26]. Die Erfahrung mit Restriktionsverdau bei der Detektion der Polymorphismen im *Parkin* lehrte jedoch, dass diese Technik sehr arbeits- und zeitintensiv war und nicht immer zufriedenstellende Ergebnisse erbrachte. Ein Fehler oder eine Verunreinigung in einem der ersten Arbeitsschritte konnte erst nach der elektrophoretischen Auftrennung aufgedeckt werden, so dass in so einem Falle unnötig viele Schritte wiederholt werden müssten. Eine weitere Möglichkeit wäre gewesen, das gesamte Gen auf dem automatischen Sequenziergerät zu sequenzieren, um somit alle sieben Polymorphismen nach einer Sequenzreaktion auswerten zu können. Aufgrund der Größe des Gens ließ allerdings die Sequenzierung im Ganzen keine zufriedenstellenden, gut auswertbaren Ergebnisse zu.

Die Schmelzkurvenanalyse unter Verwendung von Hybridisierungssonden auf dem LC erschien aufgrund der oben genannten Vorteile am geeignetsten zu sein. Für drei Polymorphismen an den Positionen 481, 590 und 857 war diese Methode bereits publiziert [15]. Da hierbei ein *Primer*paar genutzt wurde, das den hinteren Abschnitt des *NAT2* von bp 442 - bp 914 amplifizierte, musste für den vorderen Abschnitt ein weiteres *Primer*paar synthetisiert werden, um die Polymorphismen an den Positionen 191, 282 und 341 analysieren zu können. Die neuen *Primer* und die vier neuen Sondenpaare wurden in Zusammenarbeit mit der Firma *Tib Molbiol* konzipiert. Es wäre eine weitere Zeitersparnis und Arbeitserleichterung gewesen, *NAT2* im Ganzen zu amplifizieren, da kleinere PCR-Produkte jedoch zu einer höheren Genauigkeit der Schmelzpunktanalyse führten, wurde darauf verzichtet. Eine weitere Optimierung fand durch das Voranstellen einer konventionellen PCR (s. u. 2.3.2.) statt, d. h., initial wurden zwei PCRs jeweils in einem 40 µl PCR-Ansatz durchgeführt, um den vorderen und hinteren Abschnitt des *NAT2* zu amplifizieren, so dass im Anschluss die Schmelzkurvenanalysen für alle sieben Polymorphismen durchgeführt werden konnten. Hierdurch war die Amplifikationszeit zwar einmalig länger, es mussten aber für jeden Patienten insgesamt nur zwei, statt sieben PCRs durchgeführt werden.

Mit der Duplex-PCR konnte eine zuverlässige und einfache Methode zur Bestimmung der kompletten (homozygoten) Deletion des *GSTM1*- und des *GSTT1* etabliert werden. Um den Erfolg der Amplifikation in jeder Probe nachzuprüfen, war es erforderlich, einen internen Standard zu verwenden, in diesem Falle ein nicht von der Deletion betroffenes Amplikon. Seine Größe wurde jeweils willkürlich gewählt, Voraussetzung war jedoch, dass die zugehörigen Elektrophoresebanden gut voneinander abgrenzbar waren. Als interner Standard bei dieser Arbeit wurde für die Analyse des *GSTM1* das *Parkin* Exon 4 und für das *GSTT1* das *Parkin* Exon 7 gewählt. Die wesentliche Schwierigkeit der Methode lag darin, geeignete PCR-Bedingungen zu finden, bei denen jeweils beide DNA-Abschnitte gleich gut amplifiziert wurden und unspezifische PCR-Produkte vermieden werden konnten. Zur Lösung dieses Problems kam es vor allem auf die Erprobung unterschiedlicher *Primerkonzentrationen* und *Annealingtemperaturen* an.

Die Methoden für die Analyse der Polymorphismen im *ApoE* und α -*Synuklein* konnten weitestgehend aus der Literatur übernommen werden und wurden, wie unter 3.2. beschrieben, optimiert.

4.3. Polymorphismen und MP

4.3.1. α -*Synuklein*

Mutationen im α -*Synuklein* führen zum Auftreten von autosomal-dominant vererbten monogenen Parkinson-Syndromen. Bislang sind drei Mutationen *Ala53Thr* [139], *Ala30Pro* [90] und *Glu46Lys* [201] und zwei Triplikationen im α -*Synuklein* [40, 164] entdeckt worden. Diese waren jedoch Einzelbefunde.

In der Promotorregion des α -*Synuklein* liegt ein Dinukleotid-Repeat-Polymorphismus (*NACP-Rep1*), der seit seiner Entdeckung im Jahre 1996 [197] Gegenstand intensivster Forschung ist. Ein Vergleich der Allelverteilung in den publizierten Assoziationsstudien mit den Daten der vorliegenden Arbeit zeigte, dass sich die Verteilung der Allelhäufigkeiten zwischen kaukasischen und asiatischen Probanden deutlich unterschied und dass die Allelhäufigkeiten der vorliegenden Arbeit insgesamt in etwa die publizierten Daten von Studien an kaukasischen Patienten widerspiegeln (Tabellen 19 und 20).

Tabelle 19: Vergleich der Allel-Häufigkeiten der *NACP-Rep1*-Allel zwischen ausgewählten Studien bei Kaukasiern

| <i>NACP-Rep1</i> -Allele | -2 | -1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|----------------------|----------------------|--------------------|------------------|
| Diese Arbeit (n = 323) | 0 | 0 | 156 (24,1 %) | 450 (69,7 %) | 39 (6 %) | 1 (0,2 %) |
| [39] (n = 495) | 0 | 4 (0,4 %) | 236 (23,8 %) | 666 (67,3 %) | 82 (8,3 %) | 2 (0,2 %) |
| [55] (n = 364) | 1 (0,1 %) | 6 (0,8 %) | 193 (26,5 %) | 446 (61,3 %) | 78 (10,7 %) | 4 (0,6 %) |
| [83] (n = 635) | 0 | 0 | 325 (25,6 %) | 855 (67,3 %) | 90 (7,1 %) | 0 |
| [91] (n = 356) | 0 | 0 | 154 (21,6 %) | 503 (70,7 %) | 55 (7,7 %) | 0 |
| [116] (n = 739) | 0 | 0 | 359 (24,3 %) | 1008 (68,2 %) | 110 (7,4 %) | 1 (0,1 %) |
| [132] (n = 302) | 0 | 0 | 179 (29,7 %) | 374 (61,9 %) | 51 (8,4 %) | 0 |
| [173] (n = 200) | 0 | 0 | 98 (24,5 %) | 279 (69,8 %) | 23 (5,75 %) | 0 |
| Insgesamt (n = 3414) | 1 (0,02 %) | 10 (0,2 %) | 1700 (24,9 %) | 4581 (67,1 %) | 528 (7,7 %) | 8 (0,1 %) |

Tabelle 20: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *NACP-Rep1*-Allel zwischen ausgewählten Studien bei Asiaten

| <i>NACP-Rep1</i> -Allele | -2 | -1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
|--------------------------------|------------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
| [78] (n = 450) | 2 (0,2 %) | 2 (0,2 %) | 358 (39,8 %) | 259 (28,8 %) | 268 (29,8 %) | 11 (1,2 %) |
| [119] (n = 320) | 7 (1,1 %) | 0 | 297 (46,4 %) | 194 (30,3 %) | 131 (20,5 %) | 11 (1,7 %) |
| [174] (n = 412) | 0 | 0 | 323 (39,2 %) | 241 (29,2 %) | 260 (31,6 %) | 0 |
| Insgesamt (n = 1182) | 9 (0,4 %) | 2 (0,1 %) | 978 (41,3 %) | 694 (29,4 %) | 659 (27,9 %) | 22 (0,9 %) |

Trotz dieser deutlichen interethnischen Unterschiede weisen die Ergebnisse zweier Metaanalysen von Assoziationsstudien an kaukasischen Probanden [116] und asiatischen Probanden [119] in die gleiche Richtung. Beide Metaanalysen zeigten eine signifikante Assoziation zwischen dem 259 bp Allel (*NACP-Rep1*-Allel 0) und einem reduzierten Risiko für MP. Auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine erniedrigte Frequenz des

NACP-Rep1-Allels 0 unter den Patienten, ohne jedoch statistisch interessant zu sein. Dieser Trend konnte durch die bislang größte Studie im letzten Jahr bestätigt werden, die an insgesamt 2692 MP-Patienten und 2652 Kontrollen die Variabilität im α -Synuklein-Promotor in Verbindung mit dem MP-Risiko untersuchte [108]. Hierfür wurden die Daten von insgesamt elf Arbeitsgruppen weltweit gemeinsam ausgewertet mit dem Ergebnis, das Träger des Genotyps mit mindestens einem 259 bp Allel (*NACP-Rep1*-Allel 0) ein erniedrigtes MP-Risiko besaßen. Ein weiteres Ergebnis dieser Studie war, dass der Genotyp mit mindestens einem 263 bp Allel (*NACP-Rep1*-Allel 2) zu einem erhöhten MP-Risiko führte.

Haplotypanalyse:

Neben dem *NACP-Rep1* wurden zehn weitere *SNPs* im α -Synuklein identifiziert und hinsichtlich einer Assoziation zu MP untersucht. Dabei zeigte der Polymorphismus *IVS4+78insG* kombiniert mit dem *NACP-Rep1*-Polymorphismus signifikante Unterschiede in der Häufigkeit zwischen MP-Patienten und Kontrollen in zwei unabhängigen Haplotyp-Analysen [39, 175]. Die Assoziation konnte sowohl in der asiatischen, als auch in der kaukasischen Bevölkerung nachgewiesen werden.

Da die Häufigkeiten des *IVS4+78insG* Polymorphismus an den Probanden der vorliegenden Arbeit im Rahmen einer Bachelor-Arbeit [146] bestimmt worden waren, bot es sich an, ebenfalls eine Haplotyp-Analyse durchzuführen. Die Verteilung der *Rep1/IVS4+78insG*-Genotyp-Kombinationen in der vorliegenden Stichprobe zeigte allerdings keine Unterschiede.

Trotz fehlender Assoziation in der Haplotypanalyse weisen die Daten in Zusammenschau mit den bisher publizierten Ergebnissen einen eindeutigen Trend auf und führen zu der Hypothese, dass eine steigende bp-Anzahl im *NACP-Rep1* zu einem steigenden MP-Risiko führt.

Bisherige Untersuchungen zur funktionellen Relevanz des Polymorphismus wurden *in vitro* durchgeführt und zeigten, dass die Varianten des *NACP-Rep1* einen regulatorischen Einfluss auf die Expression des α -Synuklein-Gens haben [29]. Die Genexpression ist bei Promotoren, die das *NACP-Rep1*-Allel 1 tragen, im Vergleich zu Trägern des *NACP-Rep1*-Allels 0 dreifach erhöht. Eine Überexpression des α -Synuklein durch Veränderungen im Promotorbereich (*NACP-Rep1*-Allel 1) scheint daher ebenso wie ein mutiertes α -

Synuklein, welches nicht mehr über den Ubiquitin-Proteasom-Abbauweg degradiert werden kann, über Akkumulation und Selbstaggregation zu Lewy-Körperchen-Formation und Neurodegeneration zu führen. *In vivo* könnte das bedeuten, dass Träger des *NACP-Rep1*-Allels 0 weniger α -*Synuklein* exprimieren und dadurch ein geringeres MP-Erkrankungsrisiko haben.

4.3.2. Apolipoprotein E

ApoE ist ein polymorphes Gen, das in der Population in drei Isoformen ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$) vorkommt, von denen das *ApoE* – $\epsilon 3$ Allel sowohl in der kaukasischen, als auch in der asiatischen Population das häufigste ist. Deutliche interethnische Unterschiede in der Allelhäufigkeit zeigten sich in der Zusammenschau der bisher veröffentlichten Studien inklusive der vorliegenden nicht. Der Vergleich der Ergebnisse wurde dadurch erschwert, dass in vielen Studien versäumt wurde, die Probanden hinsichtlich ihres ethnischen Ursprungs zu charakterisieren [59, 109, 113] und dass bisher nur die Daten einer asiatischen Studie zur Verfügung standen (Tabellen 21 und 22).

Tabelle 21: Vergleich der Allel-Häufigkeiten der *ApoE*-Allel zwischen ausgewählten Studien bei Kaukasiern

| <i>ApoE</i> | $\epsilon 2$ | $\epsilon 3$ | $\epsilon 4$ |
|----------------------------------|--------------------|----------------------|---------------------|
| Diese Arbeit (n = 324) | 61 (9,4 %) | 495 (76,4 %) | 92 (14,2 %) |
| [35] (n = 284) | 43 (7,6 %) | 418 (73,6 %) | 107 (18,8 %) |
| [41] (n = 490) | 76 (7,8 %) | 780 (79,6 %) | 124 (12,6 %) |
| [89] (n = 191) | 34 (8,9 %) | 293 (76,7 %) | 55 (14,4 %) |
| [91] (n = 370) | 60 (8,1 %) | 564 (76,2 %) | 116 (15,7%) |
| [130] (n = 209) | 29 (6,9 %) | 338 (80,9 %) | 51 (12,2 %) |
| [200] (n = 521) | 83 (8 %) | 813 (78 %) | 146 (14 %) |
| Insgesamt (n = 2389) | 386 (8,1 %) | 3701 (77,5 %) | 691 (14,4 %) |

Tabelle 22: Verteilung der *ApoE*-Allele in einer Allelassoziationsstudie bei Asiaten

| <i>ApoE</i> | $\epsilon 2$ | $\epsilon 3$ | $\epsilon 4$ |
|--------------------|--------------|--------------|--------------|
| [176] (n = 228) | 34 (7,5 %) | 372 (81,6 %) | 50 (10,9 %) |

Bereits seit einigen Jahren wird die Rolle des *ApoE*- $\epsilon 4$ -Allels in Verbindung mit dem MA diskutiert. Mehrere Studien belegten eine Assoziation zwischen dem *ApoE*- $\epsilon 4$ -Allel und MA und der sporadischen senilen Demenz vom Alzheimer-Typ [37, 94, 170]. Da MP und MA beides altersabhängige neurodegenerative Erkrankungen mit vielen gemeinsamen Merkmalen sind und epidemiologische Studien zeigten, dass direkte Verwandte von Alzheimer-Patienten ein höheres Risiko besitzen, an MP zu erkranken [72] und ebenso umgekehrt Verwandte von MP-Patienten an MA [111], könnte es eine gemeinsame ätiologische, insbesondere genetische Verbindung zwischen beiden Erkrankungen geben. Demzufolge könnten Varianten des *ApoE* auch mögliche Risikofaktoren in der Entwicklung eines MP sein.

***ApoE* und MP**

In verschiedenen Studien wurde, wie beim MA, ein Zusammenhang zwischen dem *ApoE*- $\epsilon 4$ -Allel und einem erhöhten MP-Risiko nachgewiesen [91, 101, 104, 130]. In der vorliegenden Arbeit wurde keine eindeutig positive Assoziation zwischen einem *ApoE*-Allel und MP entdeckt, es fiel im untersuchten Kollektiv jedoch eine Assoziation zwischen dem homozygoten Genotyp *ApoE*- $\epsilon 4,4$ und MP auf. Hierbei war interessant, dass der homozygote Genotyp *ApoE*- $\epsilon 4,4$ nur in der Patientengruppe (bei drei EOPD-Patienten und einem LOPD-Patienten) und nicht in der Kontrollgruppe nachgewiesen wurde. Die Vermutung, dass Probanden mit dem homozygoten Genotyp *ApoE*- $\epsilon 4,4$ ein höheres Risiko haben an einem MP zu erkranken, wurde durch das Ergebnis einer weiteren Studie an einer deutschen Stichprobe bekräftigt, die eine signifikante Assoziation zwischen dem homozygoten Genotyp *ApoE*- $\epsilon 4,4$ und EOPD beobachtet hatten [91], wobei kritisch anzumerken ist, dass *ApoE*- $\epsilon 4,4$ in beiden Studien jeweils nur viermal detektiert wurde. Weiterhin zeigte sich in der untersuchten Stichprobe eine statistisch interessante Häufung des *ApoE*- $\epsilon 2$ -Allels in der Kontrollgruppe und damit eine negative Assoziation zwischen dem *ApoE*- $\epsilon 2$ -Allel und MP.

Insgesamt weisen die Ergebnisse der oben aufgeführten Studien alle in eine Richtung und führen zu der Annahme, dass das *ApoE*- ϵ 4-Allel und insbesondere der homozygote Genotyp *ApoE*- ϵ 4,4 zu einem erhöhten MP-Risiko führt und dass das Vorkommen des *ApoE*- ϵ 2-Allels protektiv in der Entwicklung eines MP sein könnte. Im Gegensatz hierzu steht das Ergebnis einer Metaanalyse von 22 unabhängigen Studien aus dem Jahr 2004, die keine Assoziation zwischen dem *ApoE*- ϵ 4-Allel und MP fand, stattdessen aber eine schwache Assoziation zwischen dem *ApoE*- ϵ 2-Allel und MP [75]. Eine signifikante Assoziation zwischen dem *ApoE*- ϵ 2-Allel und MP wurde bislang nur in zwei Studien [41, 59] nachgewiesen, in einer weiteren Studie eine Assoziation zwischen MP und dem *ApoE*- ϵ 2/ ϵ 4-Genotyp [176]. Zwei dieser Studien waren klein mit einer Anzahl von $n = 46$ sporadischen MP-Patienten [41], bzw. $n = 68$ Patienten [176], wodurch zwangsläufig auch die Wahrscheinlichkeit einer von der Grundgesamtheit abweichenden Verteilung größer wurde. Der überwiegende Anteil der Studien entdeckte in ihren Stichproben keine Assoziationen zwischen einem Allel bzw. Genotyp des *ApoE* und MP [7, 14, 22, 35, 83, 126, 129, 166, 193].

Trotz einer Vielzahl von Studien bleibt die Bedeutung des *ApoE* als Risikofaktor des MP weitgehend unklar. Nach Zusammenschau der Studien besteht aber zumindest ein Hinweis auf ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bei Trägern des homozygoten Genotyps *ApoE*- ϵ 4,4 deutscher Herkunft.

***ApoE* und MP mit Demenz**

Viele MP-Patienten entwickeln im Verlauf ihrer Erkrankung eine Demenz. Mögliche Hinweise, dass das *ApoE* hierfür verantwortlich sein könnte, geben die Ergebnisse von fünf Assoziationsstudien, die über eine signifikante Häufung des *ApoE*- ϵ 4-Allels in ihrer Patientengruppe mit begleitender Demenz berichteten [5, 59, 129, 130, 133]. In einer der untersuchten Gruppen war das *ApoE*- ϵ 4-Allel in der Patientengruppe mit Demenz sogar doppelt so häufig, wie in der Kontrollgruppe [133]. Allgemeingültige Schlüsse dürfen hieraus jedoch nicht gezogen werden, da es ebenfalls Studien gab, die keinen Zusammenhang zwischen dem *ApoE*- ϵ 4-Allels und MP mit begleitender Demenz entdeckten [76, 89, 109]. Zudem waren die Stichproben der Patienten mit einer begleitenden Demenz in allen Publikationen sehr klein, die Anzahl der Patienten variierte

zwischen $n = 14$ [5] und $n = 52$ [89] und die Diagnose der Demenz wurde durch unterschiedliche Testverfahren gestellt.

Da in der Stichprobe der vorliegenden Arbeit nur ein Patient die Kriterien einer Demenz *FMME-Score* < 24 erfüllte [42], konnte über den Zusammenhang zwischen *ApoE* und MP mit Demenz keine Aussage getroffen werden.

***ApoE* und das Erkrankungsalter**

Das Erkrankungsalter beim MA wird durch das *ApoE* beeinflusst. Mehrere Studien konnten belegen, dass Patienten, die das *ApoE-ε4*-Allel trugen, früher an MA erkrankten als Patienten ohne dieses Allel. Träger des *ApoE-ε2*-Allels dagegen hatten einen späteren Erkrankungsbeginn [136, 154].

Auch das Erkrankungsalter der MP-Patienten erscheint aufgrund des Ergebnisses der vorliegenden Studie und vorhergehender Studien in ähnlicher Weise beeinflusst zu werden. So konnte sowohl bei *ApoE-ε2*-Allelträgern dieser Studie, als auch einer weiteren Studie [193] ein verzögerter Erkrankungsbeginn beobachtet werden. In der bislang größten Studie an 549 kaukasischen MP-Patienten und bereits 5 Jahre zuvor in einer kleineren Studie mit 105 kaukasischen MP-Patienten zeigten Zareparsi *et al.* [199, 200], dass Träger des *ApoE-ε4*-Allels im Durchschnitt 3,5 Jahre, bzw. 4 Jahre früher erkrankten als Nicht-Träger. Unterteilungen nach familiärer Vorbelastung oder nach dem Geschlecht ergaben dabei keine signifikanten Unterschiede. In weiteren Studien wurde das *ApoE-ε4*-Allel mit einem früheren Erkrankungsbeginn assoziiert [101] bzw. eine signifikante Häufung des *ApoE-ε4*-Allels in der EOPD-Gruppe entdeckt [91]. Leider wurde in der letztgenannten Studie nicht das Erkrankungsalter als eine Funktion eines *ApoE*-Alles untersucht, dennoch sprach auch dieses Ergebnis für eine Verbindung zwischen dem *ApoE-ε4*-Allel und einem frühen Erkrankungsbeginn.

Obwohl bislang in keiner der Studien gleichzeitig eine Assoziation zwischen dem $\epsilon 2$ -Allel und einem späten Erkrankungsbeginn sowie dem $\epsilon 4$ -Allel und einem frühen Erkrankungsbeginn gesehen wurden, weist die Studienlage deutlich auf eine Beeinflussung des Erkrankungsalters durch *ApoE* hin.

4.3.3. *Parkin*

Das *Parkin* wurde im Jahre 1998 auf dem Chromosom 6q25.2-27 lokalisiert [84] und seitdem wurden verschiedene Mutationen bei familiären MP-Patienten in diesem Gen beschrieben, die von Einbasenpaar-Deletionen oder –Substitutionen bis hin zu Deletionen und auch Duplikationen ganzer Exons reichen [1, 60, 61, 62, 63, 81, 86, 105]. Der Phänotyp dieser Patienten zeichnet sich durch ein frühes Erkrankungsalter (< 40. Lebensjahr), eine tageszeitliche Fluktuation der Symptomatik mit Besserung nach Schlaf (*sleep benefit*), Dystonien, die vor allem die Füße betreffen und Levodopa-induzierte Dyskinesien aus.

Die Rolle des *Parkin* beim sporadischen MP ist bis heute unklar. Polymorphismen im Exon 4 (*S/N167*) sowie im Exon 10 (*R/W366* und *V/L380*) des *Parkin* wurden 1999 entdeckt [188] und seitdem wurden mehrere Fall-Kontroll-Studien durchgeführt, die eine Verbindung zwischen diesen Polymorphismen und MP untersuchten, mit widersprüchlichen Ergebnissen. In der vorliegenden Arbeit wurden die drei Polymorphismen im *Parkin* getrennt voneinander untersucht.

S/N167

Der Polymorphismus im Exon 4 des *Parkin* wurde in seiner heterozygoten Form (*167S/N*) in einer Studie an einer asiatischen Stichprobe [153] als Risikofaktor für den sporadischen MP beschrieben. Diese Assoziation wurde bisher in keiner weiteren Studie, auch nicht in der vorliegenden reproduziert. Ebenso wurde keine Assoziation zu den homozygoten Genotypen *167S/S* und *167N/N* entdeckt [35, 73, 85, 125, 127, 188]. Beim Vergleich der Allelhäufigkeiten der bisher veröffentlichten Studien inklusive der vorliegenden (Tabellen 23 und 24) zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Verteilung zwischen europäischen und asiatischen Probanden. Unter den Kaukasiern war das A-Allel mit einer Frequenz von 2,1 % insgesamt viel seltener als unter den Asiaten, bei denen das A-Allel bei 39,9 % der Probanden gefunden wurde.

Tabelle 23: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *S/N167* zwischen ausgewählten Studien bei Kaukasiern

| <i>S/N167</i> | G-Allel | A-Allel |
|----------------------------------|----------------------|--------------------|
| Diese Arbeit (n = 325) | 640 (98,5 %) | 10 (1,5 %) |
| [35] (n = 284) | 563 (99,1 %) | 5 (0,9 %) |
| [102] (n = 397) | 777 (97,9 %) | 17 (2,1 %) |
| [125] (n = 1580) | 3081 (97,5 %) | 79 (2,5 %) |
| [127]* (n = 218) | 428 (98,2 %) | 8 (1,8 %) |
| Insgesamt (n = 2804) | 5489 (97,9 %) | 119 (2,1 %) |

* Das Studienkollektiv bestand aus Süd-Italienern; es konnte nicht verifiziert werden, ob diese Studienpopulation nur aus Kaukasiern bestand

Tabelle 24: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *S/N167* zwischen ausgewählten Studien bei Asiaten

| <i>S/N167</i> | G-Allel | A-Allel |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|
| [73] (n = 190) | 236 (62,1 %) | 144 (37,9 %) |
| [153] (n = 180) | 232 (64,4 %) | 128 (35,6 %) |
| [188] (n = 320) | 361 (56,4 %) | 279 (43,6 %) |
| Insgesamt (n = 690) | 829 (60,1 %) | 551 (39,9 %) |

R/W366:

Dem *R/W366*-Polymorphismus wurde in einer Studie [188] eine mögliche protektive Funktion in der Entwicklung des MP zugeschrieben, da die Frequenzen des T-Allels (Polymorphismus) mit 1,2 % in der Patientengruppe signifikant niedriger waren, als mit 4,4 % in der Kontrollgruppe. In dieser Studie wurden ausschließlich Probanden asiatischen Ursprungs untersucht. In den nachfolgenden Studien und auch in der vorliegenden Arbeit konnte dieses Ergebnis nicht bestätigt werden und es fand sich keine weitere Assoziation zwischen dem *R/W366*-Polymorphismus und MP [35, 73, 85, 102, 127]. Beim Vergleich

der Allelhäufigkeiten der bisher publizierten Studien fiel auf, dass der *R/W366*-Polymorphismus in der kaukasischen Bevölkerung keine Rolle zu spielen scheint. Das T-Allel, dem in der oben aufgeführten Studie eine protektive Funktion in der Krankheitsentwicklung zugesprochen wurde, wurde in den Studien an kaukasischen Probanden gar nicht entdeckt und nach Einbeziehung der Daten einer Studie an Süd-Italienern, die ihre Probanden nicht nach ethnischer Herkunft klassifizierte, mit einer Häufigkeit von 0,1 % (Tabellen 25 und 26). Unter den Probanden der asiatischen Studien war das T-Allel ebenfalls selten mit einer Häufigkeit von 2 %.

Tabelle 25: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *R/W366* zwischen ausgewählten Studien bei Kaukasiern

| <i>R/W366</i> | C-Allel | T-Allel |
|----------------------------------|----------------------|------------------|
| diese Arbeit (n = 325) | 650 (100 %) | 0 |
| [35] (n = 284) | 568 (100 %) | 0 |
| [127]* (n = 218) | 434 (99,5 %) | 2 (0,5 %) |
| Insgesamt (n = 827) | 1652 (99,9 %) | 2 (0,1 %) |

* Das Studienkollektiv bestand aus Süd-Italienern; es konnte nicht verifiziert werden, ob diese Studienpopulation nur aus Kaukasiern bestand

Tabelle 26: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *R/W366* zwischen ausgewählten Studien bei Asiaten

| <i>R/W366</i> | C-Allel | T-Allel |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| [73] (n = 190) | 378 (99,5 %) | 2 (0,5 %) |
| [188] (n = 320) | 622 (97,2 %) | 18 (2,8 %) |
| Insgesamt (n = 510) | 1000 (98 %) | 20 (2 %) |

V/L380:

Eine Assoziation zwischen dem Polymorphismus *V/L380* und MP konnte bisher in keiner der publizierten Studien nachgewiesen werden [35, 73, 102, 125, 127, 188]. Auch beim Vergleich der Genotypen-Häufigkeiten in der vorliegenden Studie ergab sich zwischen den Patienten und den Kontrollen kein deutlicher Unterschied. Nachdem die Gruppe der Probanden auf Patienten mit einem Erkrankungsalter vor dem 50. Lebensjahr beschränkt wurde, war eine statistisch interessante Häufung des heterozygoten Genotyps in der EOPD-Gruppe auffällig [85]. In der Gegenüberstellung der Ergebnisse der verschiedenen Studien zeigten sich wiederum evidente interethnische Abweichungen im Vorkommen der Allele des *V/L388*. Die Frequenz des C-Allels war in der kaukasischen Population mit 14,1 % im Vergleich zu einer Frequenz von 3,9 % in der asiatischen Population deutlich erhöht (Tabellen 27 und 28).

Tabelle 27: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *V/L380* zwischen ausgewählten Studien bei Kaukasiern

| <i>V/L380</i> | G-Allel | C-Allel |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|
| Diese Arbeit (n = 325) | 596 (91,7 %) | 54 (8,3 %) |
| [35] (n = 284) | 476 (83,8 %) | 92 (16,2 %) |
| [102] (n = 411) | 697 (84,8 %) | 125 (15,2 %) |
| [125] (n = 1580) | 2689 (85,1 %) | 471 (14,9 %) |
| [127]* (n = 218) | 383 (87,8 %) | 53 (12,2 %) |
| Insgesamt (n = 2818) | 4841 (85,9 %) | 795 (14,1 %) |

* Das Studienkollektiv bestand aus Süd-Italienern; es konnte nicht verifiziert werden, ob diese Studienpopulation nur aus Kaukasiern bestand

Tabelle 28: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *V/L380* zwischen ausgewählten Studien bei Asiaten

| <i>V/L380</i> | G-Allel | C-Allel |
|-------------------------------|---------------------|-------------------|
| [73] (n = 190) | 357 (94 %) | 23 (6 %) |
| [188] (n = 320) | 623 (97,3 %) | 17 (2,7 %) |
| Insgesamt (n = 510) | 980 (96,1 %) | 40 (3,9 %) |

Es steht außer Frage, dass Mutationen im *Parkin* zum rezessiven juvenilen Parkinsonismus führen, die Bedeutung der Polymorphismen im *Parkin* bleibt jedoch weiterhin unklar. Jeder der drei Polymorphismen wurde bislang in einer Studie mit MP assoziiert, ohne dass diese Ergebnisse durch eine andere Arbeitsgruppe reproduziert werden konnten. Die Ergebnisse sind daher mit Vorsicht zu interpretieren und es sollten weitere Studien durchgeführt werden, um die Ergebnisse zu erhärten. Aufgrund der sehr deutlichen interethnische Variabilität im Vorkommen der Polymorphismen muss beim Studiendesign darauf geachtet werden, dass ausschließlich Patienten eines gemeinsamen ethnischen Ursprungs verglichen werden. Außerdem sollten die Patienten ein Erkrankungsalter vor dem 50. Lebensjahr haben, da die Ergebnisse der Analyse des *V/L380* gemeinsam mit den Ergebnissen der Literatur (insbesondere [178]) für eine Relevanz genetischer Faktoren vor allem in der Entwicklung des EOPD sprechen.

4.3.4. *Glutathion-S-Transferase*

Die *GST* umfasst eine genetische Superfamilie von zytosolischen Phase-2-Detoxifikationsenzymen, die in den Metabolismus von Pestiziden, Dopamin und Glutathion involviert sind und eine wichtige Rolle in der zellulären Abwehr gegen oxidative Belastungen spielen. Aus diesem Grund wird *GST* seit längerem als Kandidatengen für MP untersucht.

Die Polymorphismen im *GSTM1* und *GSTT1* resultieren aus einer Gendeletion und führen zum *GSTM1-0*- bzw. *GSTT1-0*-Genotypen. Die in dieser Studie angewandte Duplex-PCR-

Methode machte es nicht möglich, heterozygote Träger des *GSTM1-1-* bzw. *GSTT1-1-* Allels von diesbezüglich homozygoten Trägern zu unterscheiden. Da jedoch nur der komplette Verlust mit einer Veränderung des Stoffwechsels einhergeht [156], genügte es für die weitere Auswertung zwischen den homozygoten Trägern der Deletion der Gene (*GSTM1-0-* bzw. *GSTT1-0-*Genotyp) und Trägern von mindestens einem der entsprechenden Allele (*GSTM1-1-* bzw. *GSTT1-1-*Genotyp) zu unterscheiden.

Da die Polymorphismen im *GSTM1* und *GSTT1* seit langem bekannt sind, gibt es eine Vielzahl von Studien, die eine Assoziation zwischen diesen Genotypen und MP untersuchten [3, 8, 33, 57, 82, 117, 143, 171, 183, 190]. Eine Zusammenschau der Frequenzen der bisher publizierten Daten inklusive der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ergab für den *GSTM1-1-*Genotyp eine Frequenz von 48,6 % und für den *GSTM1-0-*Genotyp von 51,4 % in der kaukasischen Bevölkerung (Tabelle 29) sowie von 45,9 % (*GSTM1-1-*Genotyp) und 54,1 % (*GSTM1-0-*Genotyp) in der asiatischen Bevölkerung (Tabelle 30). Da bisher nur Daten einer asiatischen Studie verfügbar waren, sind die Ergebnisse möglicherweise nicht repräsentativ, sie legen aber nahe, dass keine großen Unterschiede in den Häufigkeiten des Polymorphismus zwischen der asiatischen und der kaukasischen Bevölkerungsgruppe vorliegen und dass der Polymorphismus im *GSTM1* sehr häufig ist und bei über der Hälfte der Bevölkerung vorkommt.

Die Frequenzen des *GSTM1-0-*Genotyps unterschieden sich nicht deutlich zwischen der EOPD-Patientengruppe und der Kontrollgruppe der vorliegenden Studie. Die bisherige Datenlage spricht ebenfalls eher gegen einen Zusammenhang von *GSTM1* und MP, da bislang nur eine Studie publiziert wurde, die eine positive Assoziation zwischen dem *GSTM1-0-*Genotypen und MP eruierte [171].

Der Polymorphismus im *GSTT1* kommt insgesamt viel seltener vor. Eine Gegenüberstellung der verfügbaren Studien erbrachte eine Frequenz des *GSTT1-1-*Genotyps von 78,4 % und des *GSTT1-0-*Genotyps von 21,6 % in der kaukasischen Bevölkerung (Tabelle 31). Aussagen über eine interethnische Variabilität können aufgrund fehlender Studien an anderen Bevölkerungsgruppen nicht getroffen werden. Auffällig in der vorliegenden Studie war eine, verglichen mit den anderen Studien, erhöhte Frequenz des *GSTT1-0-*Genotyps sowohl in der Patientengruppe (30,1 %), als auch in der Kontrollgruppe (29,6 %). Möglicherweise ist dieses ein Zufall oder aber die Anzahl der in die Metaanalyse eingeschlossenen Probanden war zu klein, um eine für die Gesamtpopulation zutreffende Aussage zu tätigen.

Tabelle 29: Vergleich der Genotyp-Häufigkeiten des *GSTMI* zwischen ausgewählten Studien bei Kaukasiern

| <i>GSTMI</i> | <i>GSTMI-1</i> -Genotyp | <i>GSTMI-0</i> -Genotyp |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Diese Arbeit (n = 237) | 114 (48,1 %) | 123 (51,9 %) |
| [3] (n = 318) | 147 (46,2 %) | 171 (53,8 %) |
| [8] (n = 300) | 127 (42,3 %) | 173 (57,7 %) |
| [48]* (n = 36) | 17 (47,2 %) | 19 (52,8 %) |
| [82] (n = 541) | 284 (52,5 %) | 257 (47,5 %) |
| [117] (n = 190) | 93 (49 %) | 97 (51 %) |
| [183] (n = 140) | 60 (42,9 %) | 80 (57,1 %) |
| [190] (n = 455) | 235 (51,7 %) | 220 (48,3 %) |
| Insgesamt (n = 2217) | 1077 (48,6 %) | 1140 (51,4 %) |

* Das Studienkollektiv bestand aus Süd-Italienern und Griechen; es konnte nicht verifiziert werden, ob diese Studienpopulation nur aus Kaukasiern bestand

Tabelle 30: Verteilung der Genotyp-Häufigkeiten des *GSTMI* in einer Allelassoziationsstudie bei Asiaten

| <i>GSTMI</i> | <i>GSTMI-1</i> -Genotyp | <i>GSTMI-0</i> -Genotyp |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|
| [57] (n = 181) | 83 (45,9 %) | 98 (54,1 %) |

Eine Assoziation zwischen dem *GSTMI-0*-Genotyp und MP ist bisher in zwei Studien [33, 171] beschrieben worden. Dieser Zusammenhang ließ sich aber in der überwiegenden Mehrheit der publizierten Studien [3, 8, 82, 117, 143, 190] und auch in der vorliegenden nicht reproduzieren.

Tabelle 31: Vergleich der Allel-Häufigkeiten des *GSTT1* zwischen ausgewählten Studien bei Kaukasiern

| <i>GSTT1</i> | <i>GSTT1-1</i> -Genotyp | <i>GSTT1-0</i> -Genotyp |
|-----------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Diese Arbeit (n = 238) | 167 (70,2 %) | 71 (29,8 %) |
| [3] (n = 318) | 275 (86,5 %) | 43 (13,5 %) |
| [8] (n = 300) | 244 (81,3 %) | 56 (18,7 %) |
| [48]* (n = 36) | 29 (80,6 %) | 7 (19,4 %) |
| [82] (n = 541) | 437 (80,8 %) | 104 (19,2 %) |
| [117] (n = 190) | 150 (79 %) | 40 (21 %) |
| [190] (n = 455) | 327 (71,9 %) | 128 (28,1 %) |
| Insgesamt (n = 2078) | 1629 (78,4 %) | 449 (21,6 %) |

* Das Studienkollektiv bestand aus Süd-Italienern und Griechen; es konnte nicht verifiziert werden, ob diese Studienpopulation nur aus Kaukasiern bestand

Die Entdeckungen der Polymorphismen im *GSTP1* und *GSTZ1* liegen noch nicht sehr lange zurück, so dass die Anzahl der Assoziationsstudien, die eine Verbindung zwischen diesen Polymorphismen und MP untersuchten, begrenzt ist. Eine Metaanalyse zur Berechnung der Allelhäufigkeiten dieser Polymorphismen in der Population wurde nicht erstellt, da diese nicht repräsentativ erschien. In der vorliegenden Arbeit zeigten sich weder in der Allelverteilung des *GSTP1*, noch des *GSTZ1* auffällige Unterschiede zwischen EOPD-Patienten und Kontrollen. Diese Ergebnisse untermauern die Ergebnisse der bisherigen Studien, die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen *GSTP1* [82, 117, 190] oder *GSTZ1* [117, 180] und MP entdecken konnten.

GST sind Enzyme des Xenobiotikastoffwechsels. Polymorphismen in den kodierenden Genen führen zu einer interindividuellen Variabilität in der Metabolisierung von Fremdstoffen. In einigen Studien fand daher eine Beschränkung des Kollektivs auf mit Pestiziden exponierte Probanden statt. Man erhoffte sich hierdurch mögliche Hinweise auf eine Interaktion zwischen genetischen und exogenen Faktoren in der Entstehung des MP. Auch in der vorliegenden Arbeit wurde diese Subanalyse durchgeführt, ohne jedoch für einen der *GST*-Polymorphismen einen Zusammenhang zu pestizidexponierten EOPD-

Patienten zu entdecken. Im Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse zweier Arbeitsgruppen, von denen eine [117] eine signifikante Häufung der *GSTP1*-Polymorphismen in ihrer mit Pestiziden exponierten Patientengruppe sah und hieraus folgerte, dass der Wildtyp *GSTP1**A ein protektiver Faktor in der Entwicklung des MP bei mit Pestiziden exponierten Personen sein könnte. Der zweiten Arbeitsgruppe [180] fiel in ihrer pestizidexponierten Probandengruppe eine schwache Assoziation ($p = 0,05$) zum *GSTZ1*-Polymorphismus an Nukleotidposition 245 auf. Dieser Polymorphismus wurde erst später als die Varianten an den Nukleotidposition 94 und 124 entdeckt und wurde bisher nur in dieser Studie in Verbindung mit MP untersucht. Beide Subanalysen zeichneten sich durch geringe Probandenzahlen aus (39 bzw. 87 Patienten und 26 bzw. 53 Kontrollen).

Derzeit sprechen die Ergebnisse eher gegen eine Beeinflussung der MP-Krankheitsentwicklung durch Polymorphismen im *GST*. Um eine statistisch signifikante Aussage über eine mögliche Korrelation zwischen einer Pestizidexposition, *NAT2* und MP treffen zu können, sollten weitere Studien an einer sehr viel größeren Stichprobe durchgeführt werden.

4.3.4. *N*-Acetyltransferase 2

Die Polymorphismen im *NAT2* sind bereits seit mehr als 45 Jahren bekannt. Sie wurden durch die Beobachtung interindividueller Unterschiede im Metabolismus von Isoniazid bei Tuberkulosepatienten entdeckt [36]. *NAT2* ist ein fremdstoffmetabolisierendes Enzym, dessen Aktivität genetisch determiniert ist. Schnell-Acetylierer besitzen mindestens ein Wildtyp-Allel (*4), wobei die Kapazität der Acetylierung bei homozygoten Trägern des Allels *4 signifikant höher ist, als bei heterozygoten Genotypen. Die Allele *NAT2**5A, *NAT2**5B, *NAT2**5C, *NAT2**6A, *NAT2**7B und *NAT2**13 codieren den Langsam-Acetylierer-Phänotyp, wobei Kombinationen unter den Allelen *NAT2**5A, *NAT2**5B und *NAT2**5C eine höhere Acetylierungsrate besitzen, als Kombinationen der Allele *NAT2**6A, *NAT2**7B und *NAT2**13. Da *NAT2**14B sehr selten ist, kann keine definitive Aussage über seine Acetylierungskapazität gemacht werden [26].

Der Acetylierer-Status der Probanden in den publizierten Allelassoziationsstudien wurde studienabhängig durch verschiedene Methoden ermittelt. In drei Studien wurde eine relativ einfache Screeningmethode verwendet, die neben dem Wildtyp-Allel nur drei mutierte

Allele detektieren konnte [8, 58, 107]. Verschiedene Allele, z. B. das *NAT2*5A* und das *NAT2*5B*, wurden dadurch zu einem Allel, dem M1, zusammengefasst. Dass dieses zu einer Unterbewertung des *NAT2* Langsam-Acetylierer Genotyps führt, zeigte das Ergebnis einer Studie [10], die den Acetylierer-Status ihrer Probanden drei Jahre zuvor durch die einfache Methode bestimmte und dann durch die präzisere Methode reproduzieren wollte. Hierbei fiel auf, dass in derselben Probandengruppe mit der einfachen Methode 53,8 % Langsam-Acetylierer-Genotypen und mit der präziseren Methode 57 % Langsam-Acetylierer-Genotypen in ihrer Stichprobe nachgewiesen wurden. Um den Acetylierer-Status der Probanden exakt zu bestimmen, sollte daher die aufwändigere Methode angewendet werden, um Ergebnisse gemäß der neuen internationalen Terminologie zu gewinnen.

Eine Assoziation zwischen dem Langsam-Acetylierer-Status und MP wurde in drei Studien beschrieben: die erste fand in ihrem Kollektiv eine signifikante Häufung von Langsam-Acetylierern bei Patienten mit familiärem MP [8, 10], die zweite entdeckte in ihrem Kollektiv eine signifikante Assoziation zwischen den Langsam-Acetylierer-Genotyp und EOPD [2] und die dritte berichtete über eine Assoziation zwischen dem M3-Allel und MP [107]. Trägern des M3-Allels wird auch beim heterozygoten Vorkommen, verglichen mit hetero- oder homozygoten Trägern des M1- oder M2-Allels, die geringste Acetylierungsfähigkeit zugesprochen [26]. Diese Ergebnisse sollten mit Vorsicht interpretiert werden, da die Studien Limitierungen aufwiesen. In der oben beschriebenen zweiten Studie [2] wurde z. B. eine statistisch signifikante Aussage anhand von nur 37 EOPD-Patienten getroffen und es fand keine Anpassung der Kontrollgruppe an die Patientengruppe bezüglich des Alters und des Geschlechts statt. Zur Vermeidung von statistischen Fehlern sollten Probanden und Patienten sich aber möglichst nur in dem zu untersuchenden Attribut, in diesem Fall dem Polymorphismus im *NAT2*, unterscheiden. Weiterhin fiel auf, dass in der oben beschriebenen dritten Studie [26] nicht konsequent darauf geachtet wurde, dass die Probanden einen gemeinsamen ethnischen Ursprung hatten. In ihrer Stichprobe waren nur „fast alle Probanden weiß“. In einer großen Metaanalyse wurde gezeigt, dass die Genotypenverteilung im *NAT2* jedoch einer deutlichen interethnischen Variabilität unterliegt. Die häufigsten Allele in der kaukasischen Population sind das *NAT2*5B*-Allel mit 44,8 % und das *NAT2*6A*-Allel mit 30,2 %. Das Wildtyp-Allel (*NAT2*4*) kommt bei 19,9 % dieser Bevölkerung vor, während die Allele *NAT*5A*, *NAT2*5C* und *NAT2*7B* mit einer Frequenz von 1 – 3 % bei Kaukasiern vertreten sind. Die Verteilung unterscheidet sich sehr von der, die man bei Asiaten und hier

insbesondere bei Japanern festgestellt hat. In dieser Population kommt das Allel *NAT2*5B* so gut wie nicht vor, während *NAT2*6A* und *NAT*7B* zu den häufigsten Allelen gehören [196]. Das Allel *NAT2*14B* wurde insbesondere in der afrikanischen Population entdeckt [26]. Aufgrund dieser Unterschiede ist es unerlässlich, die Probanden aus einer einheitlichen Volksgruppe zu rekrutieren, da schon wenige Probanden einer anderen ethnischen Zugehörigkeit die Genotypenfrequenzen drastisch verändern und somit zu Fehlinterpretationen führen könnten.

In der Mehrzahl der bisher publizierten Allelassoziationsstudien [58, 123, 124, 145, 185] und auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich keine Assoziation zwischen einem bestimmten *NAT2*-Allel oder -Genotyp und EOPD. Durch das Überwiegen der Studien ohne eine Assoziation und die beschriebenen Einschränkungen im Studiendesign der positiven Assoziationsstudien erscheint ein Zusammenhang zwischen MP und *NAT2* eher unwahrscheinlich.

Da *NAT2* eine wichtige Rolle im Fremdstoffmetabolismus spielt, wurde die Stichprobe der vorliegenden Arbeit in einer weiteren Analyse auf Personen beschränkt, die Pestiziden beruflich oder privat in erhöhtem Maße ausgesetzt waren. Es wurde erhofft, durch diese Korrelation eine mögliche Interaktion zwischen genetischen und umweltbedingten Faktoren entdecken zu können. Dieses war bisher in keiner Studie erfolgt. Eine Assoziation konnte dabei allerdings nicht nachgewiesen werden, die Stichprobe war aber auch mit 29 exponierten EOPD-Patienten und 24 exponierten Kontrollen sehr klein.

4.4. Exogene Faktoren und MP

4.4.1. Nikotin

Die Beobachtung, die bisher sehr beständig in epidemiologischen Studien nachgewiesen wurde, ist eine umgekehrte Assoziation zwischen dem Rauchen und MP. In einem *Review* von insgesamt 35 Studien, die bis 1994 publiziert wurden, zeigte sich in 34 Studien dieser Zusammenhang [121]. Seitdem wurden weitere Studien durchgeführt, die alle zu demselben Ergebnis führten [32, 50, 56, 65, 103, 155, 181]. Auch in der vorliegenden Arbeit schien das Rauchen eine negative Wirkung auf die Entwicklung eines EOPD zu haben.

Erklärungen hierfür sind bisher noch spekulativ. Gegen die Annahme, dass Artefakte im Studiendesign die negative Assoziation zwischen MP und Rauchen erklären könnten, spricht, dass dieser Zusammenhang sowohl in prospektiven Kohortenstudien, als auch in Fall-Kontroll-Studien und familienbasierten Studien sehr konsistent nachgewiesen wurde. Sehr unwahrscheinlich ist auch die Hypothese, dass ein *recall bias* in den Studien vorliegen könnte, da es sich um eine negative Assoziation handelt und dieser Fehler eher bei positiver Assoziation auftritt, da Patienten eher nach Risikofaktoren ihrer Erkrankung suchen, als gesunde Kontrollen.

Möglicherweise beeinflusst das Rauchen DNA-Reparaturmechanismen ungünstig, so dass Raucher mit weniger effizienten Mechanismen früher versterben und ältere überlebende Raucher aufgrund effektiverer DNA-Reparaturmechanismen unter Umständen vor der Entwicklung eines MP geschützt sein könnten. Die selektive Mortalität durch das frühere und häufigere Erleiden von tödlichen Erkrankungen, wie die koronare Herzkrankheit oder Lungenkrebs führt dazu, dass Raucher in der Altersgruppe, die typischerweise an MP erkrankt, unterrepräsentiert sind. Gegen diese Theorie spricht, dass die inverse Assoziation auch in großen prospektiven Kohortenstudien nachgewiesen wurde [53].

Das Dopamin scheint eine wichtige Rolle bei Belohnungsmechanismen in der Suchtentstehung zu spielen [135, 192], so dass prädestinierte MP-Patienten, die wahrscheinlich verglichen mit Kontrollen einen niedrigeren Dopaminspiegel aufweisen, weniger anfällig sind, vom Nikotin abhängig zu werden.

Diskutiert wird auch eine bestimmte prämorbid Persönlichkeitsstruktur [134], die sich möglicherweise bedingt durch einen niedrigen Dopaminspiegel, durch Eigenschaften wie Ernsthaftigkeit, Diszipliniertheit, Introvertiertheit, Pedanterie etc. auszeichnet. Ein solches Persönlichkeitsprofil könnte zu einer Abstinenz gegenüber dem Rauchen führen.

Es gibt aber auch Hinweise für einen kausalen, in diesem Fall protektiven Effekt des Zigarettenrauchens auf die Entwicklung eines MP. Der Zigarettenrauch enthält verschiedene chemische Substanzen, von denen das Nikotin bislang am besten untersucht wurde. Nikotinerge Acetylcholinrezeptoren existieren in den meisten Arealen des Gehirns und kommen auch in den dopaminergen Neuronen des *Striatums* vor. Die genaue Funktion ist noch nicht untersucht, man weiß aber, dass eine Stimulation dieser Rezeptoren zu einer Acetylcholin-Freisetzung, zu einer Modifikation der neuronalen Erregbarkeit im ZNS sowie zu einer Regulation der Freisetzung anderer Neurotransmitter, inklusive Dopamin führt [122]. Nach akuter subkutaner Nikotingabe wurde im Striatum von Ratten mittels Mikrodialyse eine erhöhte Dopaminausschüttung gemessen [161]. Die Gabe von Nikotin

hat zudem in Tierversuchen gezeigt, dass Nikotin dem dopaminergen Zellverlust entgegenwirkt [149]. Die Vorbehandlung mit Nikotin beugte der Glutamat-induzierten Neurotoxizität in verschiedenen neuronalen Zellkulturen, inklusive dem Striatum vor. In einer weiteren Studie wurde gezeigt, dass die Neurotoxizität des MPP+, einem Metaboliten des MPTP durch Nikotin abgeschwächt wurde, messbar in einer Verringerung der erwarteten Abnahme von dopaminergen Zellen. Da dieses durch einen Nikotin-Rezeptorantagonisten blockiert werden konnte, legte es den Schluss nahe, dass dieser Effekt durch einen nikotinergeren Acetylcholinrezeptor vermittelt wurde [142]. Zusätzlich zeigte sich, dass Nikotin über die Inhibition der MAO-B-Aktivität im Gehirn Mäuse vor durch MPTP induzierten Parkinsonismus schützt [162]. Andere Substanzen des Zigarettenrauchs, das 4-Phenyl-Pyridin [77] und das Hydrazin [198] schützten Mäuse vor einem Zellschaden der nigrostrialen Zellen durch MPTP, wahrscheinlich durch Konkurrenz am Rezeptor. Kohlenmonoxid oder andere Faktoren des Zigarettenrauchs könnten freie Radikale abbauen und dadurch das MP-Risiko verringern [25].

Zudem scheint das Risiko an MP zu erkranken auch mit der Dauer und Länge der Exposition in Zusammenhang zu stehen. In einer kürzlich veröffentlichten Studie zeigte sich, dass das Risiko an MP zu erkranken am niedrigsten ist unter Probanden mit der längsten Rauchanamnese, der höchsten Nikotindosis während der bisherigen Lebenszeit, sowie der höchsten täglichen Zigarettenanzahl [181].

4.4.2. Pestizide

Durch die zufällige Entdeckung des MPTP als Ursache eines rigid-akinetisch betonten Parkinsonsyndroms wurde die Aufmerksamkeit auf die Hypothese toxischer Einflüsse in der Krankheitsentstehung gelenkt. Dies führte zu der Annahme, dass Stoffe, die dem MPTP in Struktur oder biologischer Aktivität ähnlich sind, möglicherweise MP verursachen könnten. Ein besonderes Augenmerk fiel dabei auf Pestizide aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zwischen Paraquat und MPTP [11].

Pestizide werden unterschieden in Insektizide, Herbizide, sowie Fungizide [99]. Für verschiedene Substanzklassen der Pestizide ist im Tierexperiment gezeigt worden, dass sie mit dem Dopaminstoffwechsel der Basalganglien interferieren. Paraquat überwindet nach Gabe in niedriger Dosierung über längere Zeit die Blut-Hirn-Schranke und akkumuliert in den melaninhaltigen Zellen der Substantia nigra. Es verursacht eine Verhaltensänderung an

Mäusen im Sinne eines Dopaminmangels, der auch striatal nachweisbar ist [19]. Einen weiteren Erkenntnisfortschritt brachte der Befund, dass sich bei Ratten, die intravenös mit dem Insektizid Rotenon in niedriger Dosierung über Wochen behandelt worden waren, nicht nur eine Zerstörung nigraler, dopaminerger Neurone nachweisen ließ, sondern auch eine Einschlusskörperbildung nach Art der Lewy-Körper [15]. Alle Tiere hatten parkinsonistische Verhaltenszüge auch nach Ende der Exposition.

Seit 1978 tauchten auch regelmäßig Berichte über Einzelfallbeschreibungen nach einer Pestizidexposition auf, z. B. über die Entwicklung eines Parkinsonsyndroms bei einem Erntehelfer, nach mehreren Jahren akuter und chronischer Organophosphat-Intoxikation [31] oder bei einem 32-jährigen Bauern, der über 15 Jahre mit Paraquat gearbeitet hatte [151].

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen MP und Pestizidexposition mittels einer Fall-Kontroll-Studie untersucht. In der Stichprobe ergab sich kein Hinweis für eine positive Assoziation zwischen der Verwendung von Pestiziden und dem Auftreten des MP. Dieser Befund war kongruent mit einer Vielzahl von Fall-Kontroll-Studien [28, 79, 88, 92, 115, 165, 167, 179, 194, 195]. Im Gegensatz dazu sind positive Assoziationen zwischen einer Pestizidexposition und MP ebenfalls auf mehreren Kontinenten nachgewiesen worden [6, 27, 34, 47, 49, 66, 70, 74, 103, 157, 159, 202].

Die Interpretation dieser Ergebnisse muss jedoch wiederum unter Berücksichtigung methodischer Beschränkungen retrospektiver Fall-Kontroll-Studien, insbesondere Erinnerungsverzerrungen erfolgen. Auch unsichere klinische Diagnosen, Artefakte in der Zuweisung passender Kontrollen und unterschiedliche Definitionen einer Pestizidexposition können zu widersprüchlichen Untersuchungsergebnissen beitragen. Viele Studien vergleichen nur exponierte und nie exponierte Individuen und berücksichtigen hierdurch weder den Zeitpunkt der Exposition im Verhältnis zum Symptombeginn, noch die Dosis oder die chemische Klasse des Pestizids.

Eine aktuelle Metaanalyse [21] überprüfte den Zusammenhang zwischen MP und Pestiziden, in dem sie alle verfügbaren Studien (n = 38) kritisch evaluierte. Es zeigte sich eine relativ konsistente Beziehung, insbesondere zwischen der Exposition von Herbiziden und Insektiziden und MP und vor allem nach langer Expositionsdauer.

Trotz des fehlenden Nachweises eines Zusammenhangs zwischen einer Pestizidexposition und EOPD in der vorliegenden Arbeit und aller methodischen Kritikpunkte sprechen die epidemiologischen Daten, insbesondere das Ergebnis der aktuellen Metaanalyse, derzeit

für eine Assoziation zwischen einer Pestizidexposition und MP, reichen aber nicht aus, um daraus einen kausalen Zusammenhang abzuleiten.

4.6. Fazit

Die Daten der vorliegenden Arbeit weisen sowohl auf eine genetische, als auch auf eine exogene Beeinflussung der Entwicklung des MP hin. Hinweise für eine Interaktion zwischen genetischen und exogenen Faktoren ergaben sich aber nicht.

Unter den MP-Patienten der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine Häufung des *ApoE-ε4/ε4*-Genotyps und unter den EOPD-Patienten eine Häufung des heterozygoten *VL380*-Genotyps des *Parkin*. Weiterhin wurde eine Modulation des Erkrankungsalters durch das *ApoE* nachgewiesen und eine negative Assoziation zwischen dem Rauchen und MP. Nach Einordnung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit in die Datenlage der bislang vorhandenen Literatur lassen sich deutliche Trends feststellen:

1. Die untersuchten Polymorphismen im *Parkin*, *NACP-Rep1* und *NAT2* weisen eine interethnische Variabilität in der Häufigkeit auf.
2. Genetische Einflüsse scheinen vor allem in der Entstehung des EOPD eine Rolle zu spielen.
3. Träger des *NACP-Rep1*-Allels 0 scheinen ein reduziertes Risiko zu haben, an MP zu erkranken. Dieses konnte sowohl in der kaukasischen, als auch in der asiatischen Population festgestellt werden. Auch in der vorliegenden Arbeit konnte dieser Trend bestätigt werden, ohne jedoch statistisch interessant zu sein. Unterstützung findet dieses Resultat in dem *in vitro* Ergebnis, dass Varianten des *NACP-Rep1* einen regulatorischen Einfluss auf die Expression des α -Synuklein-Gens haben.
4. Das *ApoE* scheint, wie beim MA, das Erkrankungsalter der EOPD-Patienten zu beeinflussen und zwar dahingehend, dass das Vorhandensein eines *ApoE-ε2*-Allels zu einem verzögerten und das Vorhandensein eines *ApoE-ε4*-Allels zu einem früheren Erkrankungsbeginn führt.
5. Raucher erkranken seltener an MP als Nichtraucher. Eine eindeutige Erklärung hierfür wurde bislang noch nicht gefunden, obwohl diese Beobachtung konsistent in den meisten Studien und auch in der vorliegenden nachgewiesen wurde.

Hinweise für eine direkte Interaktion zwischen genetischer Prädisposition und Umwelteinflüssen durch eine Korrelation der Polymorphismen im *GST* bzw. *NAT2* mit einer Pestizidexposition und MP ergaben sich nicht. Die Anzahl der Probanden in den Subanalysen war aber auch sehr gering.

Da es sich bei der vorliegenden Studie um eine deskriptive, hypothesengenerierende Studie handelt, sollten alle Ergebnisse noch mal anhand einer unabhängigen Studie bestätigt werden.

4.7. Ausblick

Auffällig beim Vergleich der verschiedenen publizierten Studien waren häufig gegensätzliche Daten und Schlussfolgerungen. Erst durch die Durchführung von Metaanalysen an einer großen Anzahl von Studien ließen sich deutliche Tendenzen nachweisen. In der Zukunft sollte man daher für das Erheben von statistisch signifikanten und allgemeingültigen Ergebnissen die genetischen und epidemiologischen Untersuchungen an sehr viel größeren Stichproben durchführen. Insbesondere bei der Analyse der genetischen Faktoren sollte auf ein sorgfältiges Auswählen der Fälle und Kontrollen geachtet werden, da deutliche Unterschiede in der Frequenz der Polymorphismen zwischen den verschiedenen Bevölkerungsgruppen vorlagen. Da insbesondere bei den Patienten mit frühem Erkrankungsbeginn eine genetische Beeinflussung zu bestehen scheint, erscheint eine Beschränkung auf EOPD-Patienten bei der Analyse von genetischen Faktoren besonders vielversprechend. Hilfreich bei der Interpretation der Ergebnisse der Assoziationsstudien wären zudem weitere Untersuchungen zur funktionellen Relevanz der Polymorphismen, um pathogenetische Mechanismen aufdecken und biologische Plausibilität überprüfen zu können.

Eine Korrelation verschiedener Polymorphismen untereinander und mit verschiedenen exogenen Faktoren wäre zur Überprüfung einer möglichen Interaktion zwischen exogenen und genetischen Faktoren sinnvoll, sollte aber an einer sehr großen Stichprobe durchgeführt werden, um auch bei der Bildung von hierzu nötigen Untergruppen noch eine genügend große Anzahl an Probanden zu haben, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen.

5. Zusammenfassung

Die Ursache des MP ist trotz jahrzehntelanger Forschung weitgehend ungeklärt. Für den sporadischen MP wird eine multifaktorielle Pathogenese angenommen, für die eine genetische Prädisposition und Umweltfaktoren als wichtige Faktoren angesehen werden. Bislang fanden sich in der Literatur überwiegend Studien, die entweder den Einfluss von exogenen oder von genetischen Faktoren auf die Krankheitsentwicklung untersuchten. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die These der multifaktoriellen Genese der Erkrankung an einer Gruppe von 113 EOPD-Patienten und 125 Kontrollen durch die gemeinsame Analyse von Umweltfaktoren und genetischen Faktoren zu überprüfen. Hierfür konnte auf eine Gruppe gut charakterisierter Probanden zurückgegriffen werden.

Die genetischen Einflüsse wurden durch eine Allelassoziationsstudie an fünf verschiedenen MP-Suszeptibilitätsgenen (*α-Synuklein*, *ApoE*, *Parkin*, *GST* und *NAT2*) mit insgesamt 18 Polymorphismen untersucht. Hierfür war es essentiell, Methoden zu etablieren, die durch einen niedrigen zeitlichen und apparativen Aufwand zuverlässige Ergebnisse produzierten. Weiterhin wurden die Probanden hinsichtlich ihrer Pestizidexposition und ihres Rauchverhaltens analysiert und abschließend fand eine Korrelation zwischen ausgewählten genetischen und nicht-genetischen Faktoren, wie dem Zusammenhang zwischen MP, einer Pestizidexposition und *GST* bzw. *NAT2* sowie dem Erkrankungsalter und *ApoE*, statt.

Es gelang der Nachweis einer Häufung des *ApoE-ε4/ε4*-Genotyps unter den MP-Patienten, vor allem unter den EOPD-Patienten und der Nachweis einer Häufung des heterozygoten *V/L380*-Genotyps des *Parkin* nach Beschränkung der Patientengruppe auf EOPD-Patienten, was die These einer genetischen Beeinflussung vor allem bei Patienten mit frühem Erkrankungsalter untermauerte. Weiterhin zeigte sich, dass Träger des *ApoE-ε2*-Allels ein späteres Erkrankungsalter aufwiesen und dass eine negative Assoziation zwischen dem Rauchen und MP bestand. Eine Assoziation zwischen Polymorphismen im *α-Synuklein*, im *NAT2* oder im *GST* und MP sowie zwischen einer Pestizidexposition und MP wurden nicht gefunden. Ebenfalls ergaben sich keine Hinweise für eine Interaktion zwischen Polymorphismen im *NAT2* oder *GST* und einer Pestizidexposition als Ursache für einen MP.

Nach kritischer Evaluierung der Ergebnisse der Literatur gemeinsam mit den Daten der vorliegenden Arbeit zeigen sich folgende allgemeine Trends: 1. die Häufigkeiten der

Polymorphismen im *Parkin*, *NACP-Rep1* und *NAT2* unterliegen einer interethnischen Variabilität; 2. genetische Einflüsse in der Krankheitsentwicklung kommen vor allem bei EOPD-Patienten als Ursache in Betracht; 3. Träger des *NACP-Rep1*-Allels 0 und Raucher besitzen ein erniedrigtes MP-Erkrankungsrisiko; 4. *ApoE* vermag das Erkrankungsalter bei MP-Patienten zu modulieren.

Da es sich um eine deskriptive, hypothesengenerierende Studie handelt, müssen die Ergebnisse durch eine unabhängige Studie validiert werden, zur Erhebung von statistisch signifikanten und allgemeingültigen Ergebnissen idealerweise an einer sehr viel größeren Stichprobe.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Abbas N, Lücking C, Ricard S, Dürr A, Bonifati V, De Michele G, Bouley S, Vaughan JR, Gasser T, Marconi R, Broussolle E, Brefel-Courbon C, Harhangi BS, Oostra BA, Fabrizio E, Böhme GA, Pradier L, Wood NW, Filla A, Meco G, Deneffe P, Agid Y, Brice A. A wide variety of mutations in the *parkin* gene are responsible for autosomal recessive parkinsonism in Europe. *Hum Mol Gen* 1999;8:567-574
- [2] Agúndez JAG, Jiménez-Jiménez FJ, Luengo A, Molina JA, Ortí-Pareja M, Vázquez A, Ramos F, Duarte J, Coria F, Ladero JM, Alvarez-Cermeño JC, Benítez J. Slow allotypic variants of the NAT2 gene and susceptibility to early-onset Parkinson's disease. *Neurology* 1998;51:1587-1592
- [3] Ahmadi, A, Frederikson M, Jerregard H, Akerback A, Fall PA, Rannug A, Axelson O, Soderkvist P. GSTM 1 and mEPHX polymorphisms in Parkinson's disease and age of onset. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;269:676-680
- [4] Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao J-X, Buolamwini J. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. *J Biol Chem* 1997;272:10004-10012
- [5] Arai H, Muramatsu T, Higuchi S, Sasaki H, Trojanowski JQ. Apolipoprotein E gene in Parkinson's disease with or without dementia. *Lancet* 1994;344:889
- [6] Ascherio A, Chen H, Weisskopf MG, O'Reilly E, McCullough ML, Calle EE, Schwarzschild MA, Thun MJ. Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2006;60:197-203
- [7] Ballering LAP, Steffens-Nakken HM, Esselink RAJ, De Vos RAI, Jansen Steur ENH, Vermes I. Apolipoprotein E genotyping in patients with neurodegenerative diseases. *Clin Biochem* 1997;30:405-411

-
- [8] Bandmann O, Vaughan JR, Holmans P, Marsden CD, Wood NW. Association of slow acetylator genotype for N-acetyltransferase 2 with familial Parkinson's disease. *Lancet* 1997;350:1136-1139
- [9] Bandmann O, Marsden CD, Wood NW. Genetic aspects of Parkinson's disease. *Mov Disord* 1998;13:203-211
- [10] Bandmann O, Vaughan JR, Holmans P, Marsden CD, Wood NW. Detailed genotyping demonstrates association between the slow acetylator genotype for N-acetyltransferase 2 (NAT2) and familial Parkinson's disease. *Mov Disord* 2000;15:30-35
- [11] Barbeau A. Etiology of Parkinson's disease: a research strategy. *Can J Neurol Sci* 1984;11:24-28
- [12] Behari M, Srivastava AK, Das RR, Pandey RM. Risk factors of Parkinson's disease in Indian patients. *J Neurol Sci* 2001;190:49-55
- [13] Ben-Shlomo Y. How far are we in understanding the cause of Parkinson's disease? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;61:4-16
- [14] Benjamin R, Leake A, Edwardson JA, McKeith IG, Ince PG, Perry RH, Morris CM. Apolipoprotein E genes in Lewy body and Parkinson's disease. *Lancet* 1994;343:1565
- [15] Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 2000;3:1301-1306
- [16] Blömeke B, Sieben S, Spötter D, Landt O, Merk HF. Identification of N-acetyltransferase 2 genotypes by continuous monitoring of fluoregenic hybridization probes. *Anal Biochem* 1999;275:93-97

- [17] Board PG, Coggan M, Hohnston P, Ross V, Suzuki T, Webb G. Genetic heterogeneity of the human glutathione transferases: A complex of gene families. *Pharmacol Ther* 1990;48:357-369
- [18] Board PG, Baker RT, Chelvanayagam G, Jermin LS. Zeta, a novel class of glutathione transferases in a range of species from plants to humans. *Biochem J* 1997;328:929-935
- [19] Bocchetta A, Corsini GU. Parkinson's disease and pesticides. *Lancet* 1986;2:1163
- [20] Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, Dekker MC, Squitieri F, Ibanez P, Joosse M, van Dongen JW, Vanacore N, van Swieten JC, Brice A, Meco G, van Duijn CM, Oostra BA, Heutink P. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 2003;299:256-259
- [21] Brown TP, Rumsby PC, Capleton AC, Rushton L, Levy LS. Pesticides and Parkinson's disease-is there a link? *Environ Health Perspect* 2006;114:156-164
- [22] Buchanan DD, Silburn PA, Prince JA, Mellick GD. Association of APOE with Parkinson disease age-at-onset in women. *Neurosci Lett* 2006;411:185-188
- [23] Burn DJ, Mark MH, Playford ED, Maraganore DM, Zimmermann TR, Duvoisin RC, Harding AE, Marsden CD, Brooks DJ. Parkinson's disease in twins studied with 18F-dopa and positron emission tomography. *Neurology* 1992;42:1894-1900
- [24] Butterfield PG, Valanis BG, Spencer PS, Lindeman CA, Nutt JG. Environmental antecedents of young-onset Parkinson's disease. *Neurology* 1993;43:1150-1158
- [25] Calne DB, Langston JW. Etiology of Parkinson's disease. *Lancet* 1983;2:1457-1459
- [26] Cascorbi I, Drakoulis N, Brockmüller J, Maurer A, Sperling K, Roots I. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated

- Caucasian individuals: correlation with phenotyping activity. *Am J Hum Genet* 1995;57:581-592
- [27] Chan DKY, Woo J, Ho SC, Pang CP, Law LK, Ng PW et al. Genetic and environmental risk factors for Parkinson's disease in a Chinese population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65:781-784
- [28] Chaturvedi S, Oestbye T, Stoessl AJ, Merskey H, Hachinski V. Environmental exposures in elderly Canadians with Parkinson's disease. *Can J Neurol Sci* 1995;22:232-234
- [29] Chiba-Falek O, Touchman JW, Nussbaum RL. Functional analysis of intra-allelic variation at NACP-Rep1 in the alpha-synuclein gene. *Hum Genet* 2003;113:426-431
- [30] Ciechanover A. Linking ubiquitin, parkin and synphilin-1. *Nat Med* 2001;7:1108-1109
- [31] Davis KL, Yesavage JA, Berger PA. Single case study. Possible organophosphate induced parkinsonism. *J Nerv Ment Disord* 1978;166:222-225
- [32] De Michele G, Filla A, Volpe G, Demarco V, Gogliettino A, Ambrosio G, Marconi R, Castellano AE, Campanella G. Environmental and genetic risk factors in Parkinson's disease: a case-control study in southern Italy. *Mov Disord* 1996;11:17-23
- [33] De Palma G, Mozzoni P, Mutti A, Calzetti S, Negrotti A. Case-control study of interactions between genetic and environmental factors in Parkinson's disease. *Lancet* 1998;352:1986-1987
- [34] Dick FD, De Palma G, Ahmadi A, Scott NW, Prescott GJ, Bennett J, Semple S, Dick S, Counsell C, Mozzoni P, Haites N, Wettinger SB, Mutti A, Otelea M, Seaton A, Söderkvist P, Felice A; Geoparkinson study group. Environmental risk

- factors for Parkinson's disease and parkinsonism: the Geoparkinson study. *Occup Environ Med* 2007;64:666-672
- [35] Eerola J, Launes J, Hellström O, Tienari PJ. Apolipoprotein E (ApoE), parkin and catechol-O-methyltransferase (COMT) genes and susceptibility to sporadic Parkinson's disease in Finland. *Neurosci Lett* 2002;330:296-298
- [36] Evans DA. N-acetyltransferase. *Pharmacol Ther* 1989;42:157-234
- [37] Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM. Effect of sex, age and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease. A meta analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 1998;278:1349-1356
- [38] Farrer M, Gwinn-Hardy K, Muentner M, De Vrieze FW, Crook R, Perez-Tur J, Lincoln S, Maraganore D, Adler C, Newman S, MacElwee K, McCarthy P, Miller C, Waters C, Hardy J. A chromosome 4p haplotype segregating with Parkinson's disease and postural tremor. *Hum Mol Genet* 1999;8:81-85
- [39] Farrer M, Maraganore DM, Lockhart P, Singleton A, Lesnick TG, de Andrade M, West A, de Silva R, Hardy J, Hernandez D. α -synuclein gene haplotypes are associated with Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2001;10:1847-1851
- [40] Farrer M, Kachergus J, Forno L, Lincoln S, Wang DS, Hulihan M, Maraganore D, Gwinn-Hardy K, Wszolek Z, Dickson D, Langston JW. Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications. *Ann Neurol* 2004;55:174-179
- [41] French Parkinson's disease genetics study group. Apolipoprotein E genotype in familial Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;63:394-395

- [42] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-198
- [43] Foltynie T, Brayne C, Barker RA. The heterogeneity of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol* 2002;249:138-145
- [44] Funayama M, Hasegawa K, Kowa H, Saito M, Tsuji S, Obata F. A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol* 2002;51:296-301
- [45] Gasser T, Müller-Myhsok B, Wszolek ZK, Oehlmann R, Calne DB, Bonifati V, Bereznoi B, Fabrizio E, Vieregge P, Horstmann RD. A susceptibility locus for Parkinson's disease maps to chromosome 2p13. *Nat Genet* 1998;18:262-265
- [46] Giovanni P, Piccolo I, Genitrini S, Soliveri P, Girotti F, Geminiani G, Scigliano G, Caraceni T. Early-onset Parkinson's disease. *Mov Disord* 1991;6:36-42
- [47] Golbe LI, Farell T, Davis P. Follow-up study of early-life protective and risk factors in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1990;5:66-70
- [48] Golbe LI, Di Iorio G, Markopoulou K, Athanassiadou A, Papapetropoulos S, Watts RL, Vance JM, Bonifati V, Williams TA, Szychala JR, Stenroos ES, Johnson WG. Glutathione S-transferase polymorphisms and onset age in alpha-synuclein A53T mutant Parkinson's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007;144:254-258
- [49] Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA, Peterson EL, Richardson RJ. The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well-water, and rural living. *Neurology* 1998;50:1346-1350
- [50] Gorell JM, Rybicki BA, Johnson CC, Peterson EL. Smoking and Parkinson's disease. A dose-response relationship. *Neurology* 1999;52:115-119

- [51] Gorell JM, Peterson EL, Rybicki BA, Johnson CC. Multiple risk factors for Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2004;217:169-174
- [52] Gowers W. *A manual of diseases of the nervous system*. London: J & A Churchill, 1888:589f
- [53] Grandinetti A, Morens DM, Reed D, MacEachern D. Prospective study of cigarette smoking and the risk of developing idiopathic Parkinson's disease. *Am J Epidemiol* 1994;139:1129-1138
- [54] Haack DG, Baumann RJ, McKean HE, Jameson HG, Turbek JA. Nicotine exposure and Parkinson's disease. *Am J Epidemiol* 1981;114:191-200
- [55] Hadjigeorgiou GM, Xiromerisiou G, Gourbali V, Aggelakis K, Scarmeas N, Papadimitriou A, Singleton A. Association of α -synuclein Rep1 polymorphism and Parkinson's disease: influence of Rep1 on age at onset. *Mov Disord* 2006;21:534-539
- [56] Hancock DB, Martin ER, Stajich JM, Jewett R, Stacy MA, Scott BL, Vance JM, Scott WK. Smoking, caffeine, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in families with Parkinson disease. *Arch Neurol* 2007;64:576-580
- [57] Harada S, Fujii C, Hayashi A, Ohkoshi N. An association between idiopathic Parkinson's disease and polymorphisms of phase II detoxification enzymes: glutathione S-transferase M1 and quinone oxidoreductase 1 and 2. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288:887-892
- [58] Harhangi BS, Oostra BA, Heutink P, van Duijn CM, Hofman A, Breteler MMB. N-acetylmethyltransferase-2 polymorphism in Parkinson's disease: the Rotterdam study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67:518-520
- [59] Harhangi BS, de Rijk MC, van Duijn CM, van Broeckhoven C, Hofman A, Breteler MMB. *APOE* and the risk of PD with or without dementia in a population-based study. *Neurology* 2000;54:1272-1276

- [60] Hattori N, Kitada T, Matsumine H, Asakawa S, Yamamura Y, Yoshino H, Kobayashi T, Yokochi M, Wang M, Yoritaka A, Kondo T, Kuzuhara S, Nakamura S, Shimizu N, Mizuno Y. Molecular genetic analysis of a novel *parkin* gene in Japanese families with autosomal recessive juvenile parkinsonism: evidence for variable homozygous deletions in the *parkin* gene in affected individuals. *Ann Neurol* 1998;44:935-941
- [61] Hattori N, Matsumine H, Asakawa S, Kitada T, Yoshino H, Elibol B, Brookes AJ, Yamamura Y, Kobayashi T, Wang M, Yoritaka A, Minoshima S, Shimizu N, Mizuno Y. Point mutation (Thr240Arg and Ala311Stop) in the *parkin* gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;249:754-758
- [62] Hedrich K, Kann M, Lanthaler AJ, Dalski A, Eskelson C, Landt O, Schwinger E, Vieregge P, Lang AE, Breakefield XO, Ozelius LJ, Pramstaller PP, Klein C. The importance of gene dosage studies: mutational analysis of the *parkin* gene in early-onset parkinsonism. *Hum Mol Genet* 2001;10:1649-1656
- [63] Hedrich K, Marder K, Harris J, Kann M, Lynch T, Meija-Santana H, Pramstaller PP, Schwinger E, Bressman SB, Fahn S, Klein C. Evaluation of 50 probands with early-onset Parkinson's disease for *parkin* mutations. *Neurology* 2002;58:1239-1246
- [64] Hein DW, Doll MA, Rustan TD, Gray K, Feng Y, Ferguson RJ, Grant DM. Metabolic activation and deactivation of arylamine carcinogens by recombinant human NAT1 and polymorphic NAT2 acetyltransferases. *Carcinogenesis* 1993;14:1633-1638
- [65] Hellenbrand W, Seidler A, Robra BP, Vieregge P, Oertel WH, Joerg J, Nischan P, Schneider E, Ulm G. Smoking and Parkinson's disease: a control study in Germany. *Int J Epidemiol* 1997;26:328-339
- [66] Herishanu YO, Medvedovski M, Goldsmith JR, Kordysh E. A case-control study of Parkinson's disease in urban population of Southern Israel. *Can J Neurol Sci* 2001;28:144-147

- [67] Hernan MA, Takkouche B, Caamano-Isorna F, Gestal-Otero JJ. A meta-analysis of coffee-drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2002;52:276-284
- [68] Hickman D, Risch A, Buckle V, Spurr NK, Jeremiah SJ, McCarthy A, Sim E. Chromosomal localization of human genes for arylamine N-acetyltransferase. *Biochem J* 1994;297:441-445
- [69] Hicks AA, Petursson H, Johnsson T, Stefansson H, Johannsdottir HS, Sainz J, Frigge ML, Kong A, Gulcher JR, Stefansson K, Sveinbjörnsdottir S. A susceptibility gene for late-onset idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2002;52:549-555
- [70] Ho SC, Woo J, Lee CM. Epidemiologic study of Parkinson's disease in Hong Kong. *Neurology* 1989;39:1314-1318
- [71] Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 1967;17:427-442
- [72] Hofmann A, Schulte W, Tanja TA, van Duijn CM, Haaxma R, Lameris AJ, Otten VM, Saan RJ. History of dementia and Parkinson's disease in first degree relatives of patients with Alzheimer disease. *Neurology* 1998;39:1589-1592
- [73] Hu CJ, Sung SM, Liu HC, Lee CC, Tsai CH, Chang JG. Polymorphisms of the *parkin* gene in sporadic Parkinson's disease among chinese in Taiwan. *Eur Neurol* 2000;44:90-93
- [74] Hubble JP, Cao T, Hassanein RES, Neuberger JS, Koller WC. Risk factors for Parkinson's disease. *Neurology* 1993;43:1693-1697
- [75] Huang X, Chen PC, Poole C. APOE- ϵ 2 allele associated with higher prevalence of sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2004;62:2198-2202

- [76] Inzelberg R, Chapman J, Treves TA, Asherov A, Kipervasser S, Hilkewicz O, Verchovsky R, Klimowitzky S, Korczyn AD. Apolipoprotein E4 in Parkinson disease and dementia: new data and meta-analysis of published studies. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998;12:45-48
- [77] Irwin I, Langston JW, DeLanney LE. 4-Phenylpyridine (4PP) and MPTP: The relationship between striatal MPP+ concentrations and neurotoxicity. *Life Sci* 1987;40:731-740
- [78] Izumi Y, Morino H, Oda M, Maruyama H, Udaka F, Kameyama M, Nakamura S, Kawakami H. Genetic studies in Parkinson's disease with α -synuclein/NACP gene polymorphism in Japan. *Neurosci Lett* 2001;300:125-127
- [79] Jiménez- Jiménez FJ, Mateo D, Giménez-Roldan S. Exposure to well water and pesticides in Parkinson's disease: a case-control study in the Madrid area. *Mov Disord* 1992;7:149-152
- [80] Jiménez- Jiménez FJ, Mateo D, Giménez-Roldan S. Premorbid smoking, alcohol consumption, and coffee drinking habits in Parkinson's disease: a case control study. *Mov Disord* 1992;7:339-344
- [81] Kann M, Jacobs H, Mohrmann K, Schumacher K, Hedrich K, Garrels J, Wieggers K, Schwinger E, Pramstaller PP, Brakefield XO, Ozelius LJ, Vieregge P, Klein C. Role of *parkin* mutations in 111 community-based patients with early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 2002;51:621-625
- [82] Kelada SN, Stapleton PL, Farin FM, Bammler TK, Eaton DL, Smith-Weller T, Franklin GM, Swanson PD, Longstreth JR WT, Checkoway H. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2003;337:5-8
- [83] Khan N, Graham E, Dixon P, Morris C, Mander A, Clayton D, Vaughan J, Quinn N, Lees A, Daniel S, Wood N, de Silva R. Parkinson's disease is not associated

- with the combined α -synuclein/apolipoprotein E susceptibility genotype. *Ann Neurol* 2001;49:665-668
- [84] Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N. Mutations in the *parkin* gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998;392:605-608
- [85] Klein C, Schumacher K, Jacobs H, Hagenah J, Kis B, Garrels J, Schwinger E, Ozelius L, Pramstaller P, Vieregge P, Kramer PL. Association studies of Parkinson's disease and *parkin* polymorphisms. *Ann Neurol* 2000;48:126-127
- [86] Klein C, Pramstaller PP, Kis B, Page CC, Kann M, Leung J, Woodward H, Castellan CC, Scherer M, Vieregge P, Breakefield XO, Kramer PL, Ozelius LJ. *Parkin* deletions in a family with adult-onset, tremor-dominant parkinsonism: expanding the phenotype. *Ann Neurol* 2000;48:65-71
- [87] Ko Y, Koch B, Harth V, Sachinidis A, Thier R, Vetter H, Bolt HM; Brüning T. Rapid analysis of *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* polymorphisms using real-time polymerase chain reaction. *Pharmacogenetics* 2000,10:1-4
- [88] Koller W, Veter-Overfield B, Gray C, Alexander C, Chin T, Dolezal J, Hassanein R, Tanner C. Environmental risk factors in Parkinson's disease. *Neurology* 1990;40:1218-1221
- [89] Koller WC, Glatt SL, Hubble JP, Paolo A, Troster AI, Handler MS, Horvat RT, Martin C, Schmidt K, Karst A, et al. Apolipoprotein E genotypes in Parkinson's disease with and without dementia. *Ann Neurol* 1995;37:242-245
- [90] Krüger T, Kuhn W, Müller T, Woitalla D, Graeber M, Kosel S, Przuntek H, Epplen JT, Schols L, Riess O. Ala30Pro mutation in the gene encoding α -synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet* 1998;18:106-108
- [91] Krüger R, Vieira-Saecker AMM, Kuhn W, Berg D, Müller T, Kühnl N, Fuchs GA, Storch A, Hungs M, Woitalla D, Przuntek H, Epplen JT, Schöls L, Riess O.

- Increased susceptibility to sporadic Parkinson's disease by a certain combined α -synuclein/apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol* 1999;45:611-617
- [92] Kuopio A-M, Martilla MJ, Helenius H, Rinne UK. Environmental risk factors in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1999;14:928-939
- [93] Kurz M, Alves G, Aarsland D, Larsen JP. Familial Parkinson's disease: a community-based study. *Eur J Neurol* 2003;10:159-163
- [94] Kuusisto J, Koivisto K, Kervinen K, Mykkänen L, Helkala EL, Vanhanen M, Hänninen T, Pyörälä K, Kesäniemi YA, Riekkinen P. Association of apolipoprotein E phenotypes with late onset Alzheimer's disease: population based study. *Br Med J* 1994;309:636-638
- [95] Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. First of two parts. *N Engl J Med* 1998;339:1044-53
- [96] Langston JW, Ballard PA, Tertrud JW, Irwin I. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine analog synthesis. *Science* 1983;219:979-980
- [97] Langston JW. Epidemiology versus genetics in Parkinson's disease: progress in resolving an age-old debate. *Ann Neurol* 1998;44(3 Suppl 1):S45-S52
- [98] Le W-d, Xu P, Jankovic J, Jiang H, Appel SH, Smith RG, Vassilatis DK. Mutations in *NR4A2* associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet* 2003;33:85-89
- [99] Le Couteur DG, McLean AJ, Taylor MC, Woodham BL, Board PG. Pesticides and Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother* 1999;53:122-130
- [100] Leroy E, Boyer R, Auburger G, Leube B, Ulm G, Mezey E, Harta G, Brownstein MJ, Jonnalagada S, Chernova T, Dehejia A, Levedan C, Gasser T, Steinbach PJ, Wilkinson KD, Polymeropoulos MH. The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 1998;395:451-452

- [101] Li YJ, Hauser MA, Scott WK, Martin ER, Booze MW, Qin XJ, Walter JW, Nance MA, Hubble JP, Koller WC, Pahwa R, Stern MB, Hiner BC, Jankovic J, Goetz CG, Small GW; Mastaglia F, Haines JL, Perikac-Vance MA, Vance JM. Apolipoprotein E controls the risk and age of onset of Parkinson disease. *Neurology* 2004;62:2005-2009
- [102] Lincoln SJ, Maraganore DM, Lesnick TG, Bounds R, De Andrade M, Bower JH, Hardy JA, Farrer MJ. Parkin variants in North American Parkinson's disease: case and controls. *Mov Disord* 2003;18:1306-1311
- [103] Liou HH, Tsai MC, Chen CJ, Jeng JS, Chang YC, Chen SY, Chen RC. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan. *Neurology* 1997;48:1583-1588
- [104] Lopez M, Guerrero J, Yescas P, Boll MC, Familiar I, Ochoa A, Rasmussen A, Alonso ME. Apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele is associated with Parkinson disease risk in a mexican mestizo population. *Mov Disord* 2007;22:417-420
- [105] Lücking C, Dürr A, Bonifati V, Vaughan J, De Michele G, Gasser T, Harhangi BS, Meco G, Deneffe P, Wood NW, Agis Y, Brice A. Association between early onset Parkinson's disease and mutations in the *parkin* gene. *N Engl J Med* 2000;342:1560-1567
- [106] Mahley RW. ApolipoproteinE: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 240:622-630
- [107] Maraganore DM, Farrer MJ, Hardy JA, McDonnell SK, Schaid DJ, Rocca WA. Case-control study of debrisoquine 4-hydroxylase, N-acetyltransferase 2, apolipoprotein E gene polymorphisms in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2000;15:714-719
- [108] Maraganore DM, de Andrade M, Elbaz A, Farrer MJ, Ioannidis JP, Krüger R, Rocca WA, Schneider NA, Lesnick TG, Lincoln SJ, Hulihan MM, Aasly JO, Ashizawa T, Chartier-Harlin MC, Checkoway H, Ferrarese C, Hadjigeorgiou G,

- Hattori N, Kawakami H, Lambert JC, Lynch T, Mellick GD, Papapetropoulos S, Parsian A, Quattrone A, Riess O, Tan EK, Van Broeckhoven C. Collaborative analysis of α -synuclein gene promoter variability and Parkinson disease. *JAMA* 2006;296:661-670
- [109] Marder K, Maestre G, Cote L, Mejia H, Alfaro B, Halim A, Tang M, Tycko B, Mayeux R. The apolipoprotein epsilon 4 allele in Parkinson's disease with and without dementia. *Neurology*. 1994;44:1330-1331
- [110] Marder K, Tang MX, Mejia H, Alfaro B, Cote L, Louis E, Groves J, Mayeux R. Risk of Parkinson's disease among first-degree relatives: a community based study. *Neurology* 1996;47:155-160
- [111] Marder K, Tang MX, Alfaro B, Mejia H, Cote L, Louis E, Stern Y, Mayeux R. Risk of Alzheimer disease in relatives of Parkinson disease patients with and without dementia. *Neurology* 1999;52:719-724
- [112] Marsden CD. Twins and Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987;50:105-106
- [113] Mattila PM, Koskela T, R ytt  M, Lehtim ki T, Pirttil  TA, Ilveskoski E, Karhunen P, Rinne JO. Apolipoprotein E ϵ 4 allele frequency is increased in Parkinson's disease only with co-existing Alzheimer pathology. *Acta Neuropathol* 1998;96:417-420
- [114] Mayeux R, Ting M-X, Marder K, Cote LJ, Stern Y. Smoking and Parkinson's disease. *Mov Disord* 1994;9:207-212
- [115] McCann SJ, LeCouteur DG, Green AC, Brayne C, Johnson AG, Chan D, McManus ME, Pond SM. The epidemiology of Parkinson's disease in an Australian population. *Neuroepidemiology* 1998;17:310-317

- [116] Mellick GD, Maraganore DM, Silburn PA. Australian data and meta-analysis lend support for alpha-synuclein (NACP-Rep1) as a risk factor for Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2005;375:112-116
- [117] Menegon A, Board PG, Blackburn AC, Mellick GD, Le Couteur DG. Parkinson's disease, pesticides, and glutathione transferase polymorphisms. *Lancet* 1998;352:1344-1346
- [118] Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215
- [119] Mizuta I, Nishimura M, Mizuta E, Yamasaki S, Ohta M, Kuno S. Meta-analysis of α -synuclein/NACP polymorphism in Parkinson's disease in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:343-350
- [120] Mjones H. Paralysis agitans: a clinical and genetic study. *Acta Neurol Scand* 1949;Suppl 54:1-195
- [121] Morens DM, Grandinetti A, Reed D, White LR, Ross GW. Cigarette smoking and protection from Parkinson's disease: false association or etiologic clue? *Neurology* 1995;45:1041-1051
- [122] Newhouse PA, Potter A, Levin ED. Nicotinic system involvement in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for therapeutics. *Drugs aging* 1997;11:206-228
- [123] Nicholl DJ, Bennett P. Acetylator genotype and Parkinson's disease. *Lancet* 1998;351:141-142
- [124] Nicholl DJ, Bennett P, Hiller L, Bonifati V, Vanacore N, Fabbrini G, Marconi R, Colosimo C, Lamberti P, Stocchi F, Bonuccelli U, Vieregge P, Ramsden DB, Meco G, Williams AC. A study of five candidate genes in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. *Neurology* 1999;53:1415-1421

- [125] Oliveira SA, Scott WK, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Koller WC; Lyons KE, Pahwa R, Stern MB, Hiner BC, Jankovic J, Ondo WG, Allen FH, Scott BL, Goetz CG, Small GW, Mastaglia FL, Stajich JM, Zhang F, Booze MW, Reaves JA, Middleton LT, Haines JL, Pericak-Vance MA, Vance JM, Martin ER. Association studie of parkin gene polymorphisms with idiopathic Parkinson's disease. Arch Neurol 2003;60:975-980
- [126] Oliveri RL, Nicoletti G, Cittadella R, Manna I, Branca D, Zappia M, Gambardella A, Caracciolo M, Quattrone A. Apolipoprotein E polymorphisms and Parkinson's disease. Neurosci Lett 1999;277:83-86
- [127] Oliveri RL, Zappia M, Annesi G, Bosco D, Annesi F, Spadafora P, Pasqua AA, Tomaino C, Nicoletti G, Pirritano D, Labate A, Gambardella A, Logroscino G, Manobianca G; Epifanio A, Morgante L, Savettieri Quattrone A. The *parkin* gene is not involved in late-onset Parkinson's disease. Neurology 2001;57:369-362
- [128] Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK, Halter C, Rudolph A, Shults C, Conneally PM, Foroud T, the Parkinson Study Group. Significant linkage of Parkinson disease to chromosome 2q36-37. Am J Hum Genet 2003;72:1053-1057.
- [129] Pankratz N, Byder L, Halter C, Rudolph A, Shults CW, Conneally PM, Foroud T, Nichols WC. Presence of an APOE4 allele results in significantly earlier onset of Parkinson's disease and a higher risk with dementia. Mov Disord 2006;21:45-49
- [130] Papapetropoulos S, Farrer MJ, Stone JT, Milkovic NM, Ross OA, Calvo L, McQuorquodale D, Mash DC. Phenotypic associations of tau and ApoE in Parkinson's disease. Neurosci Lett 2007;414:141-144
- [131] Parkinson J. An essay on the shaking palsy. London: Sherwood, Neely and Jones, 1817:1-66
- [132] Parsian A, Racette B, Zhang Zh, Chakraverty S, Rundle M, Goate A, Perlmutter JS. Mutation, sequence analysis, and association studies of α -synuclein in Parkinson's disease. Neurology 1998;51:1757-1759

- [133] Parsian A, Racette B, Goldsmith LJ, Perlmutter JS. Parkinson's disease and apolipoprotein E: possible association with dementia but not age at onset. *Genomics* 2002;79:458-461
- [134] Paulson GW, Dadmehr N. Is there a premorbid personality typical for Parkinson's disease? *Neurology* 1991;41(5 Suppl 2):73-76
- [135] Paulson GW. Addiction of nicotine is due to high intrinsic levels of dopamine. *Med Hypoth* 1992;38:206-207
- [136] Payami H, Grimslid H, Oken B, Camicioli R, Sexton G, Dame A, Howieson D, Kaye J. A prospective study of cognitive health in the elderly (Oregon brain aging study): effects of family history and apolipoprotein E genotype. *Am J Hum Genet* 1997;60:984-956
- [137] Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Ketterer B, Taylor JB. Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994;300:271-276
- [138] Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic functions in twins. *Ann Neurol* 1999;45:577-582
- [139] Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997;276:2045-2047
- [140] Poskanzer DC, Schwab RS. Cohort analysis of Parkinson's syndrome. Evidence for a single etiology related to subclinical infection about 1920. *J Chron Dis* 1963;16:961-97

- [141] Priyadarshhi A, Khuder SA, Schaub EA, Priyadarshi SS. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environ Res* 2001;86:122-127
- [142] Quik M, Jeyarasasingam G. Nicotinic receptors and Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol* 2000;393:223-230
- [143] Rahbar A, Kempkes M, Muller T, Reich S, Welter FL, Meves S, Przuntek H, Bolt HM, Kuhn W. Glutathione S-transferase polymorphism in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2000;107:331-334
- [144] Ramirez A, Heimbach A, Grundemann J, Stiller B, Hampshire D, Cid LP, Goebel I, Mubaidin AF, Wriekat AL, Roeper J, Al-Din A, Hillmer AM, Karsak M, Liss B, Woods CG, Behrens MI, Kubisch C. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nature Genet* 2006;38:1184-1191
- [145] Ray-Chaudhuri K, Smith C, Gough AC, Novak N, Chamoun V, Wolf CR; Leigh PN. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism in Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;58:109
- [146] Ritz K. Assoziationsstudien zu Dystonien und Parkinsonsyndromen. Bachelor-Arbeit Lübeck, 2003
- [147] Roots I, Drakoulis N, Brockmöller J (1992) Polymorphic enzymes and cancer risk: concepts, methodology and data review. In: Kalow W (ed). *Pharmacogenetics of drug metabolism*. Pergamon New York: 815-841
- [148] Ross VL, Board PG, Webb GC. Chromosomal mapping of the human Mu class glutathione S-transferases to 1p13. *Genomics* 1993;18:87-91
- [149] Ross GW, Petrovitch H. Current evidence for neuroprotective effects of nicotine and caffeine against Parkinson's disease. *Drugs Aging* 2001;18:797-806

- [150] Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA Polymerase. *Science* 1988;239:487-491
- [151] Sanchez-Ramos JR, Hefti F, Weiner WJ. Paraquat and Parkinson's disease. *Neurology* 1987;37:728
- [152] Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:5463-5467
- [153] Satoh JI, Kuroda Y. Association of codon 167 Ser/Asn heterozygosity in the parkin gene with sporadic Parkinson's disease. *Neuro Report* 1999;10:2735-2739
- [154] Schellenberg G. Genetic dissection of Alzheimer disease, a heterogeneous disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:8552-8559
- [155] Scott WK, Zhang F, Stajich JM, Scott BL, Stacy MW, Vance JM. Family-based case-control study of cigarette smoking and Parkinson disease. *Neurology* 2005;64:442-447
- [156] Seidegård J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on *trans*-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:7293-7297
- [157] Seidler A, Hellenbrand W, Robra B-P, Vieregge P, Nischan P, Joerg J, Oertel WH, Ulm G, Schneider E. Possible environmental, occupational and other etiologic factors for Parkinson's disease: a case control study in Germany. *Neurology* 1996;46:1275-1284
- [158] Semchuk KM, Love EJ, Lee RF. Parkinson's disease and exposure to rural environmental factors: a population based case-control study. *Can J Neurol Sci* 1991;18:279-286

- [159] Semchuk KM, Love EJ, Lee RF. Parkinson's disease and exposure to agricultural work and pesticide chemicals. *Neurology* 1992;42:1328-1335
- [160] Semchuk KM, Love EJ, Lee RF. Parkinson's disease: a test of the multifactorial etiologic hypothesis. *Neurology* 1993;43:1173-1180
- [161] Seppa T, Ahtee L. Comparison of the effects of epibatidine and nicotine on the output of dopamine in the dorsal and ventral striatum of freely-moving rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000;362:444-447
- [162] Shahi GS, Nagaratnam PD, Moochhala S. 1-methyl-4-phenyl-2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity: partial protection against striato-nigral dopamine depletion in C57BL/6J mice by cigarette smoke exposure and by b-naphthoflavone-pretreatment. *Neurosci Lett* 1991;127:247-250
- [163] Shimura H, Hattori N, Kubo S, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Iwai K, Chiba T, Tanaka K, Suzuki T. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 2000;25:302-305
- [164] Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum R, Lincoln S, Crawley A, Hanson M, Maraganore D, Adler C, Cookson MR, Muentner M, Baptista M, Miller D, Blancato J, Hardy J, Gwinn-Hardy K. Alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 2003;302:841
- [165] Smargiassi A, Mutti A, De Rosa A, De Palma G, Negrotti A, Calzetti S. A case-control study of occupational and environmental risk factors for Parkinson's disease in the Emilia-Romagna region of Italy. *Neurotoxicology* 1998;19:709-712
- [166] St Clair D. Apolipoprotein E gene in Parkinson's disease, Lewy body dementia and Alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl* 1997;51:161-165

- [167] Stern M, Dulaney E, Gruber SB, Golbe L, Bergen M, Hurtig H, Gollump S, Stolley P. The epidemiology of Parkinson's disease: a case-control study of young-onset and old-onset patients. *Arch Neurol* 1991;48:903-907
- [168] Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA. Glutathione S-Transferase family of enzymes. *Mutat Res* 2001;482:21-26
- [169] Strauss KM, Martins LM, Plun-Favreau H, Marx FP, Kautzmann S, Berg D, Gasser T, Wszolek Z, Muller T, Bornemann A, Wolburg H, Downward J, Riess O, Schulz JB, Kruger R. Loss of function mutations in the gene encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2005;14:2099-2111.
- [170] Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD. Apolipoprotein E: high-affinity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1977-1981
- [171] Stroombergen MC, Waring RH. Determination of glutathione S-transferase mu and theta polymorphisms in neurological disease. *Hum Exp Toxicol* 1999;18:141-145
- [172] Tan EK, Khajavi M, Thornby JI, Nagamitsu S, Jankovic J, Ashizawa T. Variability and validity of polymorphism association studies in Parkinson's disease. *Neurology* 2000;55:533-538
- [173] Tan EK, Matsuura T, Nagamitsu S, Khajavi M, Jankovic J, Ashizawa T. Polymorphisms of NACP-Rep1 in Parkinson's disease: an etiologic link with essential tremor? *Neurology* 2000;54:1195-1198
- [174] Tan EK, Tan C, Shen H, Chai A, Lum SY, Teoh ML, Yih Y, Wong MC, Zhao Y: Alpha synuclein promoter and risk of Parkinson's disease: microsatellite and allelic size variability. *Neurosci Lett* 2003;336:70-72

- [175] Tan EK, Chai A, Teo YY, Zhao Y, Tan C, Shen H, Chandran VR, Teoh ML, Yih Y, Pavanni R, Wong MC, Puvan K, Lo YL, Yap E. Alpha-synuclein haplotypes implicated in risk of Parkinson's disease. *Neurology* 2004;62:128-131
- [176] Tang G, Xie H, Xu L, Hao Y, Lin D, Ren D. Genetic study of apolipoprotein E gene, alpha-1 antichymotrypsin gene in sporadic Parkinson disease. *Am J Med Genet* 2002;114:446-449
- [177] Tanner CM, Ben-Shlomo Y. Epidemiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1999;80:153-159
- [178] Tanner CM, Ottman R, Goldman SM, Ellenberg J, Chan P, Mayeux R, Langston JW. Parkinson disease in twins. An etiologic study. *JAMA* 1999;281:341-346
- [179] Taylor CA, Saint-Hilaire MH, Cupples LA, Thomas CA, Burchard AE; Feldmann RG, Myers RH. Environmental, medical, and family history risk factors for Parkinson's disease: a New England-based case control study. *Am J Med Genet* 1999;88:742-749
- [180] Taylor MC, Board PG, Blackburn AC, Mellick GD, Le Couteur DG. Zeta class glutathione transferase polymorphisms and Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70:407
- [181] Thacker, EL, O'Reilly EJ, Weisskopf MG, Chen H, Schwarzschild, MA, McCullough, ML, Calle EE, Thun, MJ, Ascherio A. Temporal relationship between cigarette smoking and risk of Parkinson disease. *Neurology* 2007;68:764-768
- [182] Tipton KF, Singer TP. Advances in our understanding of the mechanisms and the understanding of the mechanisms of the neurotoxicity of MPTP and related compounds. *J Neurochem* 1993;61:1191-1206
- [183] Tison F, Coutelle C, Henry P, Cassaigne A. Glutathione S-transferase (class mu) phenotype in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1994;4:117-118

- [184] Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH, Ferraris A, Ialongo T, Frontali M, Albanese A, Wood NW. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet* 2001;68:895-900
- [185] van der Walt JM, Martin ER, Scott WK, Zhang F, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Haines JL, Koller WC, Lyons K, Pahwa R, Stern MB, Colcher A, Hiner BC, Jankovic J, Ondo WG, Allen FH Jr, Goetz CG, Small GW, Mastaglia F, Roses AD, Stajich JM, Booze MW, Fujiwara K, Gibson RA, Middleton LT, Scott BL, Pericak-Vance MA, Vance JM. Genetic polymorphisms of the N-acetyltransferase genes and risk of Parkinson's disease. *Neurology* 2003;60:1189-1191
- [186] Vatsis KP, Weber WW, Bell DA, Dupret JM, Evans DA, Grant DM, Hein DW, Lin HJ, Meyer UA, Relling MV, et al. Nomenclature for N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics* 1995;57:581-592
- [187] Vieregge P, Schiffke KA, Friedrich HJ, Muller B, Ludin HP. Parkinson's disease in twins. *Neurology* 1992;42:1453-1461
- [188] Wang M, Hattori N, Matsumine H, Kobayashi T, Yoshino H, Morioka A, Kitada T, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Mizuno Y. Polymorphism in the *parkin* gene in sporadic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1999;45:655-658
- [189] Ward CD, Duvoisin RC, Ince SE, Nutt JD, Eldrige R, Calne DB. Parkinson's disease in 65 pairs of twins and in a set of quadruplets. *Neurology* 1983;33:815-824
- [190] Wahner AD, Glatt CE, Bronstein JM, Ritz B. Glutathione S-transferase mu, omega, pi, and theta class variants and smoking in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2007;413:274-278
- [191] Warner TT, Schapira AH. Genetic and environmental factors in the cause of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;53(Suppl 3):S16-S25

- [192] Wise RA, Rompré P-P. Brain dopamine and reward. *Ann Rev Psychol* 1989;40:191-225
- [193] Whitehead AS, Bertrand S, Finnan F, Butler A, Smith GD, Ben-Shlomo Y. Frequency of the apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele in a case-control study of early onset Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;61:347-351
- [194] Wright JM, Keller-Byrne J. Environmental determinants of Parkinson's disease. *Arch Environ Occup Health* 2005;60:32-38
- [195] Wong GF, Gray CS, Hassanein RS, Koller WC. Environmental risk factors in siblings with Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1991;48:287-289
- [196] Wormhoudt LW, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S-transferase and epoxid hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity. *Crit Rev Toxicol* 1999;29:59-124
- [197] Xia Y, de Silva RHA, Rosi BL, Yamaoka LH, Rimmler JB, Pericak-Vance MA, Roses AD, Chen X, Masliah E, DeTeresa R, Iwai A, Sundsmo M, Thomas RG, Hofstetter CR, Gregory E, Hansen LA, Katzman R, Thal LJ, Saitoh T. Genetic studies in Alzheimer's disease with an NACP/ α -synuclein polymorphism. *Ann Neurol* 1996;40:207-215
- [198] Yong VW, Perry TL. Monoamine oxidase B, smoking, and Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 1986;72:265-272
- [199] Zareparsis S, Kaye J, Camicioli R, Grimslid H, Oken B, Litt M, Nutt J, Bird T, Schellenberg G, Payami H. Modulation of the age at onset of Parkinson's disease by apolipoprotein E genotypes. *Ann Neurol* 1997;42:655-658
- [200] Zareparsis S, Camicioli R, Sexton G, Bird T, Swanson P, Kaye J, Nutt J, Payami H. Age at onset of Parkinson disease and apolipoprotein E genotypes. *Am J Med Genet* 2002;107:156-161

-
- [201] Zarranz JJ, Alegre J, Gómez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, Vidal L, Hoenicka J, Rodriguez O, Atarés B, Llorens V, Gomez Tortosa E, del Ser T, Muñoz DG, de Yebenes JG. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol* 2004;55:164-173
- [202] Zorzon M, Capus L, Pellegrino A, Cazzato G, Zivadinov R. Familial and environmental risk factors in Parkinson's disease: a case-control study in north-east Italy. *Acta Neurol Scand* 2002;105:77-82

7. Anhang

7.1. Tabellen

Tabelle I: Übersicht über die verwendeten Primer und ihre spezifischen PCR-Bedingungen und Reaktionsansätze

| <i>Primer</i> | <i>Primersequenzen (5'→3')</i> | PCR-Bedingungen | Reaktionsansatz |
|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>ApoE</i> | F: 5'CGGGCACGGCTGTCCAAGGA R: 5'GGGCCCCGGCTGGTACAC | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 60° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 5 µl DNA je 1 µl <i>Primer</i> 5 µl dNTPs 0,125 µl <i>Taq</i> -Polymerase 2,5 µl DMSO 2,5 µl 10x-Puffer |
| <i>GSTP1</i> + 313 | F: 5'CTCTATGGGAAGGACCAGCAGGAG R: 5'CAAGCCACCTGAGGGGTAAGG | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 64° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 5 µl DNA je 0.4 µl <i>Primer</i> 2 µl dNTPs 0,05 µl <i>Taq</i> -Polymerase 1 µl 10x-Puffer |
| <i>GSTP1</i> + 341 | F: 5'GTTGTGGGGAGCAAGCAGAGG R: 5'CACAATGAAGTCTTGCCTCCC | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 64° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 5 µl DNA je 0.4 µl <i>Primer</i> 2 µl dNTPs 0,05 µl <i>Taq</i> -Polymerase 1 µl 10x-Puffer |
| <i>GSTZ1</i> | F: 5'TGACCACCCAGAAGTGTTAG R: 5'AGTCCACAAGACACAGTTTC | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 64° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 5 µl DNA je 1 µl <i>Primer</i> 5 µl dNTPs 0,125 µl <i>Taq</i> -Polymerase 2,5 10x-Puffer |
| <i>NACP</i> | F M13: AACGACGCAATAGAGTAGAC- AAAAGGATGG R: 5'CTACATGACTGGCCCAAGATTA | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 57° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 3 µl DNA je 0.06 µl <i>Primer</i> 1 µl dNTPs 0,05 µl M13- <i>Primer</i> 0,05 µl <i>Taq</i> -Polymerase 0,5 µl 10x-Puffer |
| <i>NAT2</i> (P-69 F 547 R) | F: 5'GTCACACGAGGAAATCAAATGC R: 5'TTGGCAGGAGATGAGAATTAAGA | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 54° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 10 µl DNA je 1,6 µl <i>Primer</i> 8 µl dNTPs 0,2 µl <i>Taq</i> -Polymerase 4 µl 10x-Puffer |
| <i>NAT2</i> | F: 5'TGCATTTTCTGCTTGACA R: 5'GTTGGGTGATACATACAAA | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 54° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 10 µl DNA je 1,6 µl <i>Primer</i> 8 µl dNTPs 0,2 µl <i>Taq</i> -Polymerase 4 µl 10x-Puffer |
| <i>Parkin</i> Exon 4o | F: 5'ACAAGCTTTTAAAGAGTTTCTTGT R: 5'AGGCAATGTGTTAGTACACA | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 55° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 3 µl DNA je 0,1 µl <i>Primer</i> 1 µl dNTPs 0,05 µl <i>Taq</i> -Polymerase 0,5 µl 10x-Puffer |
| <i>Parkin</i> Exon 10 | F: 5'ATTGCCAAATGCAACCTAATGTC R: 5'TTGGAGGAATGAGTAGGGCATT | 95° C: 5 min 35 Zyklen: 95° C: 1 min 55° C: 1 min 72° C: 1 min 72° C: 10 min | 5 µl DNA je 0.4 µl <i>Primer</i> 2 µl dNTPs 0,05 µl <i>Taq</i> -Polymerase 1 µl 10x-Puffer |

Tabelle II: Übersicht über die verwendeten *Primer* und „Kontroll-Primer“ bei der Duplex-PCR

| Gen | <i>Primer</i> | „Kontroll-Primer“ |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>GSTM1</i> | <i>GSTM1 F:</i> 5'CTGCCCTACTTGATTGATGGG <i>GSTM1 R:</i> 5'CTGGATTGTAGCAGATCATGC | <i>Parkin Exon 4i F:</i> 5'AGGTAGATCAATCTACAACAGCT <i>Parkin Exon 4i R:</i> 5'CTGGGTCAAGGTGAGCGTTGCCTGC |
| <i>GSTT1</i> | <i>GSTT1 F:</i> 5'TTCCTTACTG-GTCCTCACATCTC <i>GSTT1 R:</i> 5'TCACCGGATCATGGCCAGCA | <i>Parkin Exon 7i F:</i> 5'TGCCTTTCCACACTGACAGGTACT <i>Parkin Exon 7i R:</i> 5'TCTGTTCTTCATTAGCATTAGAGA |

Tabelle III: Übersicht über die Reaktionsbedingungen der verwendeten Restriktionsendonuklease

| Enzym | Inkubations-Dauer | Inkubations-temperatur | Reaktionsansatz | Auftrennung der Fragmente |
|------------------|-------------------|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <i>AlwNI</i> | 3 h | 37° C | Gesamtvolumen: 10 µl 5 µl PCR-Produkt (Parkin Exon 4) 0,25 µl <i>AlwNI</i> 1 µl 1x-NEBuffer 4 | 3 % Agarosegel 75 min bei 80 V |
| <i>BsmAI</i> | 2 h | 55° C | Gesamtvolumen: 10 µl 5 µl PCR-Produkt (GSTZ I) 0,25 µl <i>BsmAI</i> 1 µl 1x-NEBuffer 3 | 6 % Polyacrylamidgel 90 min bei 60 W |
| <i>Bsp1286 I</i> | 3 h | 37° C | Gesamtvolumen: 10 µl 5 µl PCR-Produkt (Parkin Exon 10) 0,25 µl <i>Bsp1286 I</i> 1 µl BSA 1 µl 1x-NEBuffer | 3 % Agarosegel 75 min bei 80 V |
| <i>Fok I</i> | 2 h | 55° C | Gesamtvolumen: 10 µl 5 µl PCR-Produkt (GSTZ I) 0,25 µl <i>Fok I</i> 1 µl 1x-NEBuffer 4 | 6 % Polyacrylamidgel 90 min bei 60 W |
| <i>Hha I</i> | 3 h | 37° C | Gesamtvolumen: 20 µl 10 µl PCR-Produkt (ApoE) 0,35 µl <i>Hha I</i> 3 µl BSA 3 µl 1x-Amersham Buffer | 6 % Polyacrylamidgel 75 min bei 60 W |
| <i>Nci I</i> | 3 h | 37° C | Gesamtvolumen: 10 µl 5 µl PCR-Produkt (Parkin Exon 10) 0,25 µl <i>Nci I</i> 1 µl 1x-NEBuffer 4 | 3 % Agarosegel 75 min bei 80 V |

Tabelle IV: Rahmenbedingungen der Polyacrylamidgel-Elektrophorese

| Verwendung | Gelgemisch | Glasplatten | Elektrophoresebedingungen | Geräte |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Restriktionsfragmente | 0,5 ml 10 % APS 70 ml PAA-Lösung (denaturierend) | 39,4 cm x 33,3 cm 41,9 cm x 33,3 cm | 60 W für 75 - 90 min | Elektrophorese- kammer Model S2 |
| SSCP-Analyse | 0,5 ml 10 % APS 70 ml PAA-Lösung (nicht-denaturierend) | 39,4 cm x 33,3 cm 41,9 cm x 33,3 cm | 6 W für 14 h | Elektrophorese- kammer Model S2 |
| Genotypisierung | 180 µl 10 % APS 30 ml PAA-Lösung (denaturierend) | 41 x 25 cm | 1500 V, 35 mA, 31,5 W und 50° C für durchschnittlich 2,5 h | <i>LI-COR</i> |
| Sequenzierung | 180 µl 10 % APS 30 ml PAA-Lösung (denaturierend) | 41 x 25 cm | 1500 V, 35 mA, 31,5 W und 50° C für durchschnittlich 12 h | <i>LI-COR</i> |

Tabelle V: Sequenzen der verwendeten Hybridisierungssonden

| Sonde | Anker | Sensor |
|-----------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| GSTP1 | <i>LC Red640-</i> TGTGAGCATCTGCACCAGGGTTGGGC | TGCAAATACATCTCCCTCATCTACACCAAC-X |
| GSTPx 6 | <i>LC Red705-</i> CCAGACACCACCATGTATCATCCTACTC | GTCATCCTTGCCACCTCCT-X |
| NAT2 191 | <i>LC Red705-</i> TACAATGTGATCAAAAATAGCCTCTAAGCCC | CACCCACCCCGGTTCTTC-X |
| NAT2 282 | <i>LC Red640-</i> ATACAGCACTGGCATGGTTCACCTTCTC | GGTATTTTTACATCCCTCCAGTTAA-X |
| NAT2 341 | <i>LC Red640-</i> TCGATGCTGGGTCTGGAAGCTCCTCCC | CAGGTGACCACTTGACGGCAGGAATTACAT-X |
| NAT2*5 | <i>LC Red640-</i> TCTGGTACCTGGACCAAATCAGGA | GCATTTTCTGCTTGACAGAAGAGAGAGGA-X |
| NAT2*6 | <i>LC Red640-</i> TCAATTGTTTCGAGGTTCAAGCGT | GACGTCTGCAGGTATGTAAACATAGACTCAAAAT-X |
| NAT2*7 | <i>LC Red640-</i> CAAACCTGGTGATGGATCCCT | TTCCTTGGGGAGAAATCTGTGC-X |
| NAT2 803 | <i>LC Red640-</i> TTCCTTGGGGCGAAATCTCGTGC | AGGTTGAAGAATTGCTGAAAAATATATTTAA-X |

Tabelle VI.1: Klinische und genetische Daten der EOPD-Patienten

| EOPD Patient | Geschlecht | Erkrankungsalter (Jahre) | Alter (Jahre) | FMME-Score | NACP-Rep1 | ApoE | Parkin R/W366 | Parkin V/L380 | Parkin S/N167 |
|--------------|--------------|--------------------------|---------------|------------|------------|--------|---------------|---------------|---------------|
| | 1 - männlich | | | | 0 – 259 bp | 2 – ε2 | | | |
| | 2 - weiblich | | | | 1 – 261 bp | 3 – ε3 | | | |
| | | | | | 2 – 263 bp | 4 – ε4 | | | |
| | | | | | 3 – 265 bp | | | | |
| Patient | Geschlecht | Erkrankungsalter | Alter | FMME | NACP-Rep1 | ApoE | R/W366 | V/L380 | S/N167 |
| 1.001 | 1 | 37 | 44 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.002 | 2 | 41 | 50 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.003 | 1 | 42 | 50 | 29 | 1, 2 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.004 | 1 | 39 | 47 | 29 | 0, 1 | 2, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.005 | 2 | 45 | 48 | 29 | 0, 2 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.006 | 2 | 38 | 44 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.007 | 2 | 41 | 47 | 29 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.008 | 1 | 35 | 45 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.009 | 1 | 28 | 33 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.010 | 1 | 40 | 43 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.011 | 1 | 36 | 43 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.012 | 1 | 23 | 43 | 26 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.013 | 1 | 39 | 47 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.014 | 2 | 35 | 48 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.015 | 1 | 29 | 42 | 30 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.017 | 2 | 33 | 42 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.018 | 1 | 24 | 41 | 30 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.019 | 2 | 34 | 42 | 28 | 0, 1 | 2, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.020 | 1 | 37 | 37 | 30 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.021 | 1 | 31 | 40 | 26 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.022 | 2 | 38 | 40 | 27 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.024 | 1 | 27 | 38 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.025 | 2 | 39 | 48 | 26 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.026 | 1 | 44 | 49 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.027 | 2 | 36 | 43 | 26 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.028 | 1 | 16 | 48 | 27 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.030 | 2 | 42 | 49 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.031 | 1 | 44 | 48 | 29 | | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.033 | 2 | 37 | 41 | 25 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.034 | 1 | 38 | 42 | 28 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.035 | 1 | 34 | 42 | 30 | 0, 1 | 4, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.036 | 2 | 39 | 47 | 26 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.037 | 2 | 36 | 41 | 27 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.038 | 2 | 31 | 39 | 26 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.039 | 2 | 46 | 50 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.041 | 2 | 34 | 42 | 28 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.042 | 1 | 40 | 46 | 30 | 1, 1 | 4, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.043 | 1 | 45 | 49 | 26 | 0, 1 | 4, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.044 | 2 | 31 | 42 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.045 | 2 | 42 | 46 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 1.046 | 1 | 32 | 41 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.047 | 2 | 40 | 48 | 28 | 0, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.048 | 1 | 37 | 43 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.050 | 2 | 39 | 42 | 27 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.051 | 1 | 37 | 50 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.052 | 1 | 38 | 44 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.053 | 2 | 35 | 40 | 30 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.054 | 1 | 46 | 50 | 27 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.055 | 2 | 47 | 48 | 22 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.056 | 2 | 39 | 41 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.057 | 1 | 46 | 49 | | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380L/L | 167S/S |
| 1.058 | 2 | 40 | 50 | 28 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.059 | 2 | 33 | 42 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.060 | 1 | 38 | 46 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380L/L | 167S/S |
| 1.061 | 1 | 45 | 47 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.062 | 1 | 34 | 40 | 29 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.063 | 1 | 37 | 49 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.065 | 2 | 39 | 47 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.067 | 1 | 43 | 48 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.068 | 1 | 28 | 44 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.069 | 1 | 37 | 48 | 30 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |

| Patient | Geschlecht | Erkrankungsalter | Alter | FMME | NACP-Rep1 | ApoE | R/W 366 | V/L380 | S/N 167 |
|---------|------------|------------------|-------|------|-----------|------|---------|--------|---------|
| 1.070 | 1 | 41 | 47 | 26 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.071 | 1 | 44 | 47 | 29 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.072 | 1 | 37 | 41 | 30 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.073 | 1 | 45 | 49 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.074 | 2 | 45 | 48 | 29 | 1, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.076 | 2 | 34 | 37 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.077 | 2 | 41 | 46 | 30 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.078 | 1 | 44 | 46 | 28 | | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.080 | 1 | 35 | 45 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.081 | 1 | 24 | 33 | 27 | 1, 2 | 3, 4 | | 380V/L | 167S/S |
| 1.082 | 2 | 36 | 46 | 25 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.083 | 2 | 41 | 50 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.084 | 2 | 45 | 47 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.085 | 1 | 40 | 50 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.086 | 1 | 25 | 40 | 27 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.087 | 2 | 44 | 48 | 25 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.088 | 1 | 47 | 48 | 28 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.089 | 1 | 34 | 44 | 28 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.090 | 1 | 38 | 45 | 29 | 0, 0 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.091 | 2 | 37 | 40 | 29 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.092 | 2 | 31 | 37 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.093 | 2 | 30 | 50 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.094 | 1 | 15 | 48 | 29 | 1, 1 | 2, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.095 | 2 | 31 | 43 | 28 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.096 | 2 | 33 | 37 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.097 | 1 | 44 | 48 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.099 | 1 | 42 | 49 | 28 | 1, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.101 | 1 | 41 | 43 | 28 | 1, 1 | 2, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.102 | 2 | 41 | 46 | 27 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.103 | 1 | 43 | 46 | 28 | 1, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.104 | 1 | 44 | 49 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.105 | 2 | 28 | 34 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.107 | 1 | 16 | 43 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.108 | 1 | 36 | 48 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.109 | 1 | 40 | 44 | 29 | 0, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.110 | 2 | 27 | 42 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.111 | 1 | 21 | 50 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.112 | 2 | 28 | 39 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.113 | 1 | 33 | 48 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.114 | 2 | 42 | 49 | 29 | 1, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.115 | 1 | 40 | 45 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.116 | 2 | 29 | 50 | 24 | 0, 1 | 2, 2 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.117 | 2 | 36 | 47 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.118 | 1 | 44 | 49 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.120 | 1 | 44 | 49 | | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.121 | 1 | 40 | 47 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.122 | 2 | 40 | 47 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.123 | 1 | 40 | 44 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.124 | 2 | 41 | 49 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 1.125 | 1 | 37 | 44 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.127 | 1 | 35 | 45 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 1.128 | 2 | 39 | 42 | 29 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |

Tabelle VI.2: Genetische Daten der EOPD-Patienten

| EOPD Patient | <i>GSTM1</i> | <i>GSTT1</i> | <i>GSTZ1</i> <i>Lys32Glu</i> | <i>GSTZ1</i> <i>Arg42Gly</i> | <i>GSTP1</i> | <i>NAT2</i> <i>G191A</i> | <i>NAT2</i> <i>C282T</i> | <i>NAT2</i> <i>C341T</i> | <i>NAT2</i> <i>C481T</i> | <i>NAT2</i> <i>G590A</i> |
|--------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | <i>GSTM1-1-</i> | <i>GSTT1-1-</i> | | | | | | | | |
| | <i>GSTM1-0-</i> | <i>GSTT1-0-</i> | | | | | | | | |
| | Genotyp | Genotyp | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| Patient | <i>GSTM1</i> | <i>GSTT1</i> | <i>Lys32Glu</i> | <i>Arg42Gly</i> | <i>GSTP1</i> | <i>G191A</i> | <i>C282T</i> | <i>C341T</i> | <i>C481T</i> | <i>G590A</i> |
| 1.001 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.002 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.003 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/C | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.004 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.005 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 1.006 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.007 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | c/t | g/g |
| 1.008 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.009 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | GG | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.010 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.011 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.012 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.013 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 1.014 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.015 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.017 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.018 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/c | g/a |
| 1.019 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | AG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.020 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | B/C | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.021 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.022 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.024 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | B/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.025 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | B/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.026 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.027 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | B/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.028 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.030 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.031 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/g |
| 1.033 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 1.034 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.035 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.036 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.037 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | B/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 1.038 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.039 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.041 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | AG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.042 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.043 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.044 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.045 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.046 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.047 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.048 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.050 | | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.051 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.052 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.053 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.054 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.055 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/C | g/g | c/c | c/c | c/t | g/g |
| 1.056 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | B/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.057 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.058 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | B/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.059 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | B/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.060 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/C | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.061 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.062 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | AG | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.063 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.065 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.067 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.068 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | AA | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.069 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |

| Patient | <i>GSTM1</i> | <i>GSTT1</i> | <i>Lys32Glu</i> | <i>Arg42Gly</i> | <i>GSTP1</i> | <i>G191A</i> | <i>C282T</i> | <i>C341T</i> | <i>C481T</i> | <i>G590A</i> |
|---------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1.070 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.071 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AA | GG | A/C | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.072 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | B/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.073 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AA | GG | A/C | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.074 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.076 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.077 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/c | g/g |
| 1.078 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.080 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.081 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/C | g/g | c/c | c/c | c/t | g/g |
| 1.082 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.083 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 1.084 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.085 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.086 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/C | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.087 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.088 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.089 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.090 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.091 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | B/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.092 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | B/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 1.093 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.094 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/c | g/a |
| 1.095 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.096 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.097 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 1.099 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 1.101 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/C | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.102 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.103 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.104 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.105 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.107 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | GG | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.108 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/C | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.109 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.110 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.111 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.112 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 1.113 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | B/C | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.114 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 1.115 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.116 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | B/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 1.117 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.118 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 1.120 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.121 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | AG | GG | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 1.122 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | AG | AG | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 1.123 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.124 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | AA | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 1.125 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | B/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.127 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | AA | GG | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 1.128 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | GG | GG | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |

Tabelle VI.3: Genetische Daten und Expositionsdaten der EOPD-Patienten

| EOPD Patient | NAT2 A803G | NAT2 G857A | NAT2-Allele | Rauchen | JEM 55 Pestizide | JEM 56 Fungizide | Herbizide | Insektizide |
|--------------|------------|------------|-------------|-------------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| | | | | 0 – nie | | | 0 – nie | 0 – nie |
| | | | | 1 – früher | | | 1 – kaum | 1 – kaum |
| | | | | 2 – derzeit | | | 2 – bei Bedarf | 2 – bei Bedarf |
| | | | | | | | 3 – regelmäßig | 3 – regelmäßig |
| Patient | A803G | G857A | NAT2-Allele | Rauchen | JEM 55 | JEM 56 | Herbizide | Insektizide |
| 1.001 | a/a | g/a | *6/*7B | | | | 0 | 0 |
| 1.002 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 1 |
| 1.003 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | | |
| 1.004 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | 12 | 36 | 0 | 0 |
| 1.005 | a/a | g/g | *4/*4 | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.006 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.007 | a/g | g/g | *5A/*5C | 0 | | | | |
| 1.008 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | 15 | 10 | 0 | 0 |
| 1.009 | a/a | g/g | *5A/*5A | 1 | | 3 | 0 | 0 |
| 1.010 | a/a | g/g | *5A/*5A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.011 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.012 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.013 | a/a | g/g | *4/4* | 2 | | | 0 | 2 |
| 1.014 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.015 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.017 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | 24 | 32 | 3 | 3 |
| 1.018 | a/g | g/g | *5C/*6A | 0 | | | 3 | 3 |
| 1.019 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.020 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.021 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.022 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.024 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | | |
| 1.025 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.026 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 1 | 1 |
| 1.027 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.028 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | 3 | 0 | 0 |
| 1.030 | a/a | g/g | *6A/*6A | 2 | | | 2 | 0 |
| 1.031 | a/a | g/a | *4/*7B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.033 | a/a | g/g | *4/*4 | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.034 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.035 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 2 | 2 |
| 1.036 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.037 | a/g | g/g | *5B/*13 | 0 | 12 | 12 | 0 | 0 |
| 1.038 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 1 | 0 |
| 1.039 | a/a | g/a | *6A/*7B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.041 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | | |
| 1.042 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | 16 | 16 | 1 | 1 |
| 1.043 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | 112 | 112 | 0 | 0 |
| 1.044 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.045 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.046 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.047 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | 84 | 112 | 0 | 0 |
| 1.048 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.050 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.051 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.052 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.053 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.054 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.055 | g/g | g/g | *5B/*5C | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.056 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.057 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.058 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | 96 | 96 | 0 | 0 |
| 1.059 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.060 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.061 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 1 | 1 |
| 1.062 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.063 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.065 | a/a | g/g | *5A/*6A | 0 | | | 2 | 0 |
| 1.067 | a/g | g/g | *5A/*5B | 0 | | | | |
| 1.068 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 1 | 1 |
| 1.069 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 1 | 1 |

| Patient | A803G | G857A | NAT2-Allele | Rauchen | JEM 55 | JEM 56 | Herbizide | Insektizide |
|---------|-------|-------|-------------|---------|--------|--------|-----------|-------------|
| 1.070 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.071 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 2 |
| 1.072 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.073 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 0 | 2 |
| 1.074 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | 7 | | 0 | 1 |
| 1.076 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | 13 | | | |
| 1.077 | a/g | g/g | *5C/*13 | | | | 0 | 0 |
| 1.078 | a/a | g/g | *6A/*13 | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.080 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | | |
| 1.081 | g/g | g/g | *5B/*5C | 1 | | | 0 | 2 |
| 1.082 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 1 | 2 |
| 1.083 | a/g | g/g | *5B/*13 | 0 | 29 | 73 | 1 | 1 |
| 1.084 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | 6 | 8 | 2 | 2 |
| 1.085 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.086 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.087 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.088 | a/g | g/g | *5B/*6A | | | | 0 | 2 |
| 1.089 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.090 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 1 | 1 |
| 1.091 | a/a | g/g | *4/*6A | | | | 0 | 0 |
| 1.092 | a/g | g/a | *5B/*7B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.093 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | 6 | | 0 | 0 |
| 1.094 | a/g | g/g | *5C/*6A | 0 | | | 0 | 1 |
| 1.095 | a/a | g/g | *5A/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.096 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.097 | a/g | g/g | *5B/*13 | 0 | | | 0 | 2 |
| 1.099 | a/g | g/a | *5B/*7B | 1 | | 22 | 0 | 0 |
| 1.101 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.102 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.103 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 3 | 1 |
| 1.104 | a/a | g/g | *6A/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.105 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | | |
| 1.107 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.108 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.109 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.110 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.111 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 1 | 1 |
| 1.112 | a/g | g/g | *5A/*13 | 2 | | | 0 | 0 |
| 1.113 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 1 |
| 1.114 | a/g | g/a | *5B/*7B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.115 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.116 | a/a | g/g | *6A/*6A | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 |
| 1.117 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.118 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.120 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.121 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 2 | 1 |
| 1.122 | a/a | g/g | *4/*4 | 0 | | | 0 | 0 |
| 1.123 | a/a | g/g | *6A/*13 | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.124 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 1.125 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 |
| 1.127 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | | |
| 1.128 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | | |

Tabelle VII.1: Klinische und genetische Daten der Kontrollgruppe

| Proband | Geschlecht | Alter (1998) (Jahre) | FMME- Score | NACP | ApoE | Parkin R/W 366 | Parkin V/L380 | Parkin S/N 167 |
|---------|--------------|-------------------------|----------------|------------|--------|-------------------|------------------|-------------------|
| | 1 – männlich | | | 0 – 259 bp | 2 – ε2 | | | |
| | 2 – weiblich | | | 1 – 261 bp | 3 – ε3 | | | |
| | | | | 2 – 263 bp | 4 – ε4 | | | |
| | | | | 3 – 265 bp | | | | |
| Proband | Geschlecht | Alter | FMME | NACP | ApoE | R/W 366 | V/L380 | S/N 167 |
| 2.001 | 1 | 45 | 27 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.002 | 2 | 37 | 27 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.003 | 2 | 40 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.004 | 2 | 40 | 29 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.005 | 2 | 45 | 29 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.007 | 2 | 42 | 24 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.008 | 2 | 45 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.010 | 2 | 45 | 27 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.011 | 1 | 38 | 28 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.012 | 1 | 44 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 2.013 | 2 | 36 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.014 | 1 | 31 | 27 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.015 | 1 | 32 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.016 | 2 | 35 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.017 | 2 | 45 | 28 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.018 | 1 | 33 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.019 | 1 | 36 | 29 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380L/L | 167S/S |
| 2.020 | 1 | 44 | 24 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.021 | 1 | 42 | 30 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.022 | 1 | 41 | 29 | 0, 0 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.023 | 1 | 45 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.025 | 1 | 40 | 29 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.026 | 1 | 39 | 29 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.027 | 2 | 41 | 27 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.028 | 1 | 43 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380L/L | 167S/S |
| 2.029 | 1 | 44 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.030 | 2 | 47 | 29 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.031 | 2 | 44 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.032 | 2 | 45 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.033 | 2 | 37 | 27 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.034 | 2 | 42 | 26 | 1, 1 | 2, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.035 | 2 | 42 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.036 | 2 | 37 | 30 | 1, 2 | 2, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.037 | 2 | 36 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.038 | 2 | 45 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.039 | 1 | 42 | 27 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.040 | 1 | 31 | 28 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.041 | 1 | 43 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.042 | 1 | 45 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.043 | 2 | 45 | 29 | 0, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.044 | 2 | 40 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.047 | 1 | 39 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.048 | 2 | 42 | 29 | 0, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.049 | 1 | 45 | 27 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.050 | 2 | 37 | 28 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.051 | 1 | 44 | 27 | 0, 0 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 2.052 | 1 | 43 | 28 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.054 | 1 | 36 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.055 | 2 | 38 | 30 | 1, 2 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.056 | 2 | 44 | 29 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.057 | 1 | 41 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.058 | 1 | 42 | 28 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.059 | 2 | 38 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.060 | 2 | 48 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.061 | 1 | 44 | 28 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.062 | 1 | 41 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.063 | 1 | 41 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.064 | 1 | 41 | 25 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.065 | 2 | 45 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.066 | 2 | 42 | 29 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |

| Proband | Geschlecht | Alter | FMME | NACP | ApoE | R/W 366 | V/L380 | S/N 167 |
|---------|------------|-------|------|------|------|---------|--------|---------|
| 2.067 | 1 | 41 | 28 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.068 | 1 | 42 | 29 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.069 | 2 | 48 | 29 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.070 | 1 | 41 | 28 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.071 | 1 | 42 | 28 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.072 | 1 | 41 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.073 | 1 | 49 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.074 | 2 | 48 | 30 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.075 | 1 | 47 | 27 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.076 | 1 | 41 | 28 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.077 | 1 | 43 | 26 | 0, 0 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.078 | 2 | 49 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.079 | 1 | 45 | 28 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.080 | 1 | 37 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.081 | 1 | 44 | 30 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.082 | 1 | 48 | 28 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.083 | 1 | 34 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.084 | 2 | 50 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.085 | 1 | 47 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.086 | 1 | 50 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 2.087 | 1 | 48 | 26 | 0, 0 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.088 | 1 | 46 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.089 | 2 | 50 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.090 | 1 | 49 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.091 | 2 | 48 | 29 | 0, 0 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.092 | 1 | 46 | 27 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.093 | 1 | 50 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.094 | 2 | 49 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.095 | 2 | 49 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.096 | 2 | 47 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.099 | 1 | 50 | 30 | 0, 1 | | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.100 | 2 | 49 | 28 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.101 | 1 | 50 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.102 | 2 | 46 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.103 | 1 | 41 | 30 | 1, 2 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.104 | 1 | 47 | 28 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.105 | 2 | 47 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 2.106 | 2 | 47 | 28 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.107 | 2 | 48 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.108 | 1 | 49 | 30 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 2.109 | 1 | 48 | 28 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.110 | 2 | 49 | 28 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.111 | 2 | 47 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.112 | 2 | 48 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.113 | 2 | 48 | 30 | 1, 1 | 2, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.114 | 2 | 49 | 30 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.115 | 2 | 50 | 30 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.116 | 2 | 46 | 28 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.118 | 1 | 41 | 29 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.119 | 1 | 48 | 29 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.120 | 1 | 46 | 28 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.121 | 2 | 47 | | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.122 | 2 | 47 | 29 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.123 | 2 | 46 | 30 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.125 | 1 | 47 | 29 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.126 | 1 | 47 | 30 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.127 | 1 | 49 | 30 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.128 | 1 | 48 | 28 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.129 | 2 | 46 | 28 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.130 | 1 | 48 | 27 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 2.131 | 1 | 49 | 28 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.132 | 1 | 48 | 30 | 0, 0 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.133 | 1 | 49 | 29 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.134 | 1 | 48 | 25 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 2.135 | 1 | 48 | 25 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |

Tabelle VII.2: Genetische Daten der Kontrollgruppe

| Proband | <i>GSTM1</i> | <i>GSTT1</i> | <i>GSTZ1</i> <i>Lys32Glu</i> | <i>GSTZ1</i> <i>Arg42Gly</i> | <i>GSTP1</i> | <i>NAT2</i> <i>G191A</i> | <i>NAT2</i> <i>C282T</i> | <i>NAT2</i> <i>C341T</i> | <i>NAT2</i> <i>C481T</i> | <i>NAT2</i> <i>G590A</i> |
|---------|-----------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | <i>GSTM1-1-</i> | <i>GSTT1-1-</i> | | | | | | | | |
| | <i>GSTM1-0-</i> | <i>GSTT1-0-</i> | | | | | | | | |
| | Genotyp | Genotyp | | | | | | | | |
| Proband | <i>GSTM1</i> | <i>GSTT1</i> | <i>Lys32Glu</i> | <i>Arg42Gly</i> | <i>GSTP1</i> | <i>G191A</i> | <i>C282T</i> | <i>C341T</i> | <i>C481T</i> | <i>G590A</i> |
| 2.001 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.002 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.003 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.004 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.005 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.007 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | a/g | C/C | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.008 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.010 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.011 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.012 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.013 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 2.014 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.015 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.016 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.017 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.018 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | a/a | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.019 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.020 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.021 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.022 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.023 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.025 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.026 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.027 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | a/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.028 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.029 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.030 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.031 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.032 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.033 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | c/t | g/g |
| 2.034 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.035 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 2.036 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.037 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.038 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | B/B | g/g | c/t | c/t | c/c | g/a |
| 2.039 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.040 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | B/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.041 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.042 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.043 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.044 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.047 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.048 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.049 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/g |
| 2.050 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/C | g/g | c/t | t/t | c/c | g/g |
| 2.051 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/C | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.052 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.054 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | a/a | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.055 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.056 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.057 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.058 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | a/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.059 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.060 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/t | c/c | g/g |
| 2.061 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.062 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.063 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/a | g/g | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.064 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.065 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.066 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | B/B | g/g | c/c | c/c | c/t | g/g |
| 2.067 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |

| Proband | <i>GSTM1</i> | <i>GSTT1</i> | <i>Lys32Glu</i> | <i>Arg42Gly</i> | <i>GSTP1</i> | <i>G191A</i> | <i>C282T</i> | <i>C341T</i> | <i>C481T</i> | <i>G590A</i> |
|---------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2.068 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.069 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.070 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.071 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | a/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.072 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.073 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.074 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.075 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.076 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | B/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 2.077 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.078 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.079 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.080 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.081 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/C | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.082 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.083 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.084 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.085 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.086 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.087 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.088 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.089 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | B/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.090 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/g |
| 2.091 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.092 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.093 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.094 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.095 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.096 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/a | g/g | B/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.099 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/a | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.100 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.101 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.102 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.103 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.104 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/t | c/t | c/c | g/a |
| 2.105 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.106 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.107 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.108 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.109 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.110 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.111 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/A | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.112 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | B/C | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.113 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | c/t | g/g |
| 2.114 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.115 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.116 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.118 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | t/t | t/t | c/c | a/a |
| 2.119 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.120 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | B/C | g/g | c/c | c/c | c/t | g/g |
| 2.121 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/B | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.122 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.123 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-0</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.125 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | B/B | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.126 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/A | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |
| 2.127 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/C | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.128 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.129 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.130 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/C | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.131 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/A | g/g | c/t | c/t | c/t | g/a |
| 2.132 | <i>GSTM1-1</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/a | g/g | A/B | g/g | c/c | c/t | c/t | g/g |
| 2.133 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | g/g | g/g | A/B | g/g | c/t | t/t | c/c | g/a |
| 2.134 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | g/g | A/C | g/g | c/c | c/c | t/t | g/g |
| 2.135 | <i>GSTM1-0</i> | <i>GSTT1-1</i> | a/g | a/g | A/B | g/g | c/c | t/t | c/c | g/g |

Tabelle VII.3: Genetische Daten und Expositionsdaten der Kontrollgruppe

| Proband | NAT2 A803G | NAT2 G857A | NAT2- Allele | Rauchen | JEM 55 Pestizide | JEM 56 Fungizide | Herbizide | Insektizide |
|---------|---------------|---------------|-----------------|-------------|---------------------|---------------------|----------------|----------------|
| | | | | 0 – nie | | | 0 – nie | 0 – nie |
| | | | | 1 – früher | | | 1 – kaum | 1 – kaum |
| | | | | 2 – derzeit | | | 2 – bei Bedarf | 2 – bei Bedarf |
| | | | | | | | 3 – regelmäßig | 3 – regelmäßig |
| Proband | A803G | G857A | NAT2-Allele | Rauchen | JEM 55 | JEM 56 | Herbizide | Insektizide |
| 2.001 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.002 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 1 | |
| 2.003 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | | |
| 2.004 | a/a | g/g | *4/*4 | 1 | | | | |
| 2.005 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.007 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.008 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.010 | a/g | g/g | *5A/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.011 | a/a | g/g | *4/*5A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.012 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.013 | a/g | g/g | *5A/*13 | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.014 | a/a | g/g | *4/*4 | 2 | | | | |
| 2.015 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.016 | a/a | g/a | *6A/*13 | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.017 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 2 |
| 2.018 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.019 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | 28 | 28 | 0 | 0 |
| 2.020 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.021 | a/g | g/g | *5A/*5B | 0 | 19 | 19 | 0 | 0 |
| 2.022 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.023 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | | |
| 2.025 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.026 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.027 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | 44 | 44 | 0 | 0 |
| 2.028 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | 24 | | 2 | 2 |
| 2.029 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.030 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.031 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.032 | a/a | g/g | *4/*4 | 1 | | | 2 | 2 |
| 2.033 | g/g | g/g | *5B/*5C | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.034 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | | |
| 2.035 | a/a | g/a | *5A/*7B | 2 | | | | |
| 2.036 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.037 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.038 | a/g | g/g | *5C/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.039 | a/a | g/g | *6A/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.040 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.041 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | | |
| 2.042 | a/a | g/g | *6A/*13 | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.043 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | 1 | 1 | | |
| 2.044 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.047 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.048 | a/a | g/g | *4/*4 | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.049 | a/a | g/g | *4/*13 | 1 | 24 | | 0 | 0 |
| 2.050 | a/a | g/g | *4/*13 | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.051 | a/a | g/g | *6A/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.052 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.054 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.055 | a/a | g/a | *6A/*7B | 2 | | | | |
| 2.056 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | 22 | | 0 | 0 |
| 2.057 | a/a | g/g | *4/*4 | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.058 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.059 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.060 | a/g | g/g | *4/*5C | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.061 | a/a | g/g | *5A/*6A | 2 | | | 0 | 1 |
| 2.062 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.063 | a/a | g/g | *6A/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.064 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.065 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.066 | g/g | g/g | *5B/*5C | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.067 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |

| Proband | A803G | G857A | NAT2-Allele | Rauchen | JEM 55 | JEM 56 | Herbizide | Insektizide |
|---------|-------|-------|-------------|---------|--------|--------|-----------|-------------|
| 2.068 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.069 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.070 | a/g | g/g | *5A/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.071 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 3 | 3 |
| 2.072 | a/a | g/g | *4/*4 | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.073 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | 3 | 0 | 0 |
| 2.074 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.075 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | 1 | | 2 | 0 |
| 2.076 | a/g | g/g | *5B/*13 | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.077 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.078 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.079 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.080 | a/a | g/g | *6A/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.081 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 1 | 0 |
| 2.082 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.083 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 1 | 1 |
| 2.084 | a/g | g/g | *5A/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.085 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | 3 | 9 | 0 | 0 |
| 2.086 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | 8 | 8 | 0 | 0 |
| 2.087 | a/g | g/g | *4/*5B | | 28 | | 2 | 2 |
| 2.088 | g/g | g/g | *5B/*5B | 1 | 1 | 9 | 2 | 1 |
| 2.089 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 1 |
| 2.090 | a/g | g/a | *5B/*7B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.091 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.092 | a/g | g/g | *5A/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.093 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.094 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | | |
| 2.095 | a/a | g/g | *6A/*6A | 2 | | | | |
| 2.096 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.099 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 3 | 3 |
| 2.100 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 1 | 2 |
| 2.101 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.102 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.103 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.104 | a/g | g/g | *5C/*6A | 1 | 24 | | 2 | 2 |
| 2.105 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 1 | 2 |
| 2.106 | a/g | g/g | *5B/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.107 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.108 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.109 | a/g | g/g | *4/*5B | 1 | | | | |
| 2.110 | a/a | g/g | *4/*6A | 0 | | | 0 | 1 |
| 2.111 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.112 | a/a | g/g | *4/*6A | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.113 | g/g | g/g | *5B/*5C | 2 | | | 0 | 1 |
| 2.114 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 1 |
| 2.115 | a/a | g/g | *4/*4 | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.116 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.118 | a/a | g/g | *6A/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.119 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.120 | g/g | g/g | *5B/*5C | 2 | | | 0 | 1 |
| 2.121 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.122 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 1 |
| 2.123 | g/g | g/g | *5B/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.125 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.126 | a/a | g/g | *4/*4 | 1 | 12 | 12 | 1 | 0 |
| 2.127 | a/g | g/g | *4/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.128 | a/a | g/g | *5A/*6A | 1 | | | 2 | 0 |
| 2.129 | a/g | g/g | *5B/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.130 | a/a | g/g | *4/*5A | 2 | | | 1 | 1 |
| 2.131 | a/g | g/g | *5B/*6A | 0 | | | 1 | 0 |
| 2.132 | a/g | g/g | *4/*5B | 2 | | | 0 | 0 |
| 2.133 | a/a | g/g | *4/*6A | 1 | | | 0 | 0 |
| 2.134 | g/g | g/g | *5B/*5B | 0 | | | 0 | 0 |
| 2.135 | a/a | g/g | *4/*4 | 2 | | | 0 | 0 |

Tabelle VIII: Klinische und genetische Daten der LOPD-Patienten

| LOPD Patient | Geschlecht | Erkrankungsalter (Jahre) | Alter (1998) (Jahre) | NACP-Rep1 | ApoE | Parkin R/W 366 | Parkin V/L380 | Parkin S/N 167 |
|--------------|--------------|--------------------------|----------------------|------------|--------|----------------|---------------|----------------|
| | 1 - männlich | | | 0 – 259 bp | 2 – ε2 | | | |
| | 2 - weiblich | | | 1 – 261 bp | 3 – ε3 | | | |
| | | | | 2 – 263 bp | 4 – ε4 | | | |
| | | | | 3 – 265 bp | | | | |
| Patient. | Geschlecht | Erkrankungsalter | Alter | NACP-Rep1 | ApoE | R/W 366 | V/L380 | S/N 167 |
| 3.001 | 1 | 62 | 68 | 1, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.002 | 2 | 49 | 60 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.003 | 1 | 55 | 60 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.004 | 2 | 72 | 73 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.005 | 1 | 68 | 69 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.006 | 1 | 66 | 70 | 0, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 3.007 | 2 | 53 | 60 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.008 | 1 | 59 | 74 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.009 | 2 | 86 | 87 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.010 | 2 | 75 | 89 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.011 | 2 | 61 | 64 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.012 | 2 | 68 | 72 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.013 | 2 | 49 | 53 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.014 | 1 | 58 | 76 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.015 | 2 | 69 | 77 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.016 | 2 | 54 | 71 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.017 | 1 | 49 | 60 | 2, 2 | 4, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.018 | 1 | 72 | 77 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.019 | 1 | 65 | 75 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.020 | 2 | 69 | 75 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.021 | 2 | 49 | 52 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.022 | 1 | 59 | 61 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.023 | 2 | 62 | 70 | 0, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.024 | 1 | 75 | 85 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.025 | 2 | 57 | 59 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.026 | 2 | 64 | 72 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.027 | 1 | 55 | 59 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.028 | 1 | 61 | 70 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.029 | 2 | 66 | 77 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 3.030 | 2 | 77 | 78 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.031 | 1 | 72 | 73 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.032 | 2 | 60 | 66 | 0, 0 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.033 | 2 | 62 | 71 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.034 | 1 | 57 | 69 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.035 | 2 | 59 | 68 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.036 | 1 | 56 | 60 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.037 | 1 | 55 | 64 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.038 | 2 | 74 | 85 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.039 | 2 | 51 | 60 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.040 | 1 | 81 | 82 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.041 | 2 | 70 | 72 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.042 | 2 | 72 | 76 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.043 | 1 | 57 | 61 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.044 | 1 | 68 | 73 | 0, 0 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.045 | 2 | 67 | 77 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.046 | 1 | 61 | 67 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.047 | 1 | 60 | 79 | 1, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.048 | 1 | 81 | 85 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.049 | 2 | 52 | 74 | 1, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.050 | 2 | 55 | 61 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.051 | 1 | 66 | 74 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.052 | 2 | 51 | 78 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.053 | 1 | 80 | 87 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.054 | 1 | 68 | 74 | 0, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.055 | 1 | 52 | 59 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.056 | 2 | 65 | 72 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.057 | 1 | 65 | 75 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.058 | 2 | 75 | 77 | 0, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.059 | 2 | 60 | 68 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.060 | 2 | 57 | 76 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.061 | 1 | 52 | 67 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |

| Patient | Geschlecht | Erkrankungsalter | Alter | NACP-Rep1 | ApoE | R/W 366 | VL380 | S/N 167 |
|---------|------------|------------------|-------|-----------|------|---------|--------|---------|
| 3.062 | 2 | 63 | 69 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.063 | 2 | | | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.064 | 1 | 64 | 67 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.065 | 1 | 57 | 60 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.066 | 2 | 74 | 77 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.067 | 2 | 69 | 73 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.068 | 2 | 67 | 67 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.069 | 1 | 71 | 78 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/L | 167S/S |
| 3.070 | 1 | 72 | 72 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |
| 3.071 | 2 | 70 | 78 | 0, 0 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.072 | 1 | 63 | 69 | 0, 1 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.073 | 1 | 67 | 76 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.074 | 2 | 56 | 69 | 1, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.075 | 2 | 64 | 69 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.076 | 1 | 67 | 68 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.077 | 2 | 65 | 76 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.078 | 1 | 60 | 75 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.079 | 2 | 72 | 76 | 1, 3 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.080 | 2 | 62 | 62 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.081 | 1 | 81 | 86 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.082 | 2 | 56 | 60 | 0, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.083 | 2 | 72 | 74 | 1, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.084 | 1 | 63 | 71 | 1, 2 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.085 | 1 | 66 | 67 | 0, 2 | 3, 4 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.086 | 1 | 66 | 71 | 0, 1 | 3, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/S |
| 3.087 | 2 | 74 | 78 | 1, 1 | 2, 3 | 366R/R | 380V/V | 167S/N |

7.2. Genehmigung der Ethikkommission

Die Studie wurde unter dem Titel: „Mitarbeit des Regionalzentrums Lübeck an der kooperativen DNA-Bank GEPARD (Genbank Parkinson'sche Krankheit Deutschland) im Rahmen des Kompetenzwerks Parkinson“ von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck genehmigt (Aktenzeichen: 00-167, Datum des Genehmigungsschreibens: 16.10.2002).

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Christine Klein für die Überlassung des interessanten Themas und die umfassende und hervorragende Betreuung während aller Abschnitte der Arbeit. Sie hat mir die Grundlagen der Molekularbiologie näher gebracht, bei der Durchführung der Experimente stets hilfreich mit Rat und Tat beiseite gestanden und durch ihre konstruktive Kritik beim Verfassen des Textes wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. med. Eberhard Schwinger danke ich für die freundliche Aufnahme am Institut für Humangenetik der Universität Lübeck und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Herrn Dr. med. Helfried Jacobs danke ich für die klinische Untersuchung und Befragung der Patienten sowie für die Erstellung der *Job-Exposure-Matrix*.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Humangenetik, insbesondere der Arbeitsgruppe Neurogenetik, möchte ich für das angenehme Arbeitsklima und die allzeit gewährte Hilfestellung danken.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei meinen Eltern, meinem Ehemann Tobias, meiner Schwester Inken, meiner Familie und meinen Freunden für ihren Rückhalt und ihre Unterstützung.

LEBENS LAUF

Kirsten Urbach, geb. Schumacher

geboren am 23.01.1976 in Hamburg

verheiratet

SCHULBILDUNG

| | |
|-------------|----------------------------------|
| 1982 – 1986 | Grundschule Nydamer Weg, Hamburg |
| 1986 – 1995 | Gymnasium Oldenfelde, Hamburg |
| 1995 | Abitur |

STUDIUM

| | |
|-------------|-------------------------------------------------------|
| 1995 – 1996 | Studium des Lehramtes an der Universität Hamburg |
| 1996 – 2003 | Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck |
| 09/1998 | Ärztliche Vorprüfung |
| 08/1999 | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| 03/2002 | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| 05/2003 | Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |

BERUF

| | |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 07/2003 – 10/2004 | Ärztin im Praktikum in der Abteilung für Innere Medizin der Asklepios Klinik Bad Oldesloe |
| seit 10/2004 | Assistenzärztin in der Abteilung für Innere Medizin der Asklepios Klinik Bad Oldesloe |

PROMOTION

seit 05/1999

Thema: „Einfluss ausgewählter genetischer und exogener
Faktoren auf die Entwicklung des Morbus Parkinson“

Dauer der experimentellen Arbeiten: 1999 - 2002

Publikationsverzeichnis

ORIGINALARBEITEN:

Klein C, **Schumacher K**, Jacobs H, Hagenah J, Kis B, Garrels J, Schwinger E, Ozelius L, Pramstaller P, Vieregge P, Kramer PL. Association studies of Parkinson's disease and *parkin* polymorphisms. *Ann Neurol* 2000;48:126-127

Kann M, Jacobs H, Mohrmann K, **Schumacher K**, Hedrich K, Garrels J, Wiegers K, Schwinger E, Pramstaller PP, Brakefield XO, Ozelius LJ, Vieregge P, Klein C. Role of *parkin* mutations in 111 community-based patients with early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 2002;51:621-625

ABSTRACTS:

Schumacher K, Vieregge P, Jacobs H, Pramstaller PP, Kis B, Garrels J, Brakefield XO, Ozelius L, Schwinger E, Klein C. Association studies in Parkinson's disease using polymorphisms in the Parkin gene and introduction of a new screening method. *Medgen* 2000;12:54-55

Schumacher K, Vieregge P, Jacobs H, Pramstaller PP, Kis B, Brakefield XO, Ozelius L, Schwinger E, Klein C. Polymorphisms in the parkin gene in early-versus late-onset Parkinson's disease and introduction of a new screening method. *Neurology* 2000;54(Suppl 3)A263-A264

Schumacher K, Kramer PL, Hagenah J, Kis B, Schwinger E, Pramstaller PP, Vieregge P, Klein C. Analyse eines kombinierten Alpha-Synuklein/Apolipoprotein-E-Genotyps bei Parkinson-Patienten aus Deutschland und Italien. *Akt Neurol* 2000;27:S112

Kramer PL, **Schumacher K**, Jacobs H, Kis B, Hagenah J, Sexton G, Pramstaller PP, Ozelius LJ, Klein C, Vieregge P. Analysis of a combined alpha-synuclein/ApolipoproteinE

genotype in Parkinson's disease patients from Germany and Italy. *Mov Disord* 2000;15(Suppl.3):S200

Schumacher K, Vieregge P, Jacobs H, Pramstaller PP, Kramer P, Klein C. Association study of glutathione transferase and N-acetyltransferase polymorphism in early-onset parkinsonism. *Mov Disord* 2002;17(Suppl 5):S155