Aus dem Zentrum für Neurologie der Universität Tübingen
Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische Hirnforschung
Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt Neurodegenerative Erkrankungen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. T. Gasser

^{1}H-Magnetresonanz-Spektroskopie und Transcranielle Sonographie der Substantia nigra- Befunde bei Parkinsonpatienten mit idiopathischer und monogenetischer Erkrankung sowie deren Angehörigen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Adriana Di Santo

aus

Reutlingen

2009

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Frau Professor Dr. D. Berg
2. Berichterstatter:	Professor Dr. U. Klose

Dedicato ai miei genitori

Rosa Maria e Lelio Di Santo

e mia figlia Fabienne.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS IV

1. EINLEITUNG 1

2. GRUNDLAGEN 4

2.1 Klinische Grundlagen 4

2.1.1 Krankheitsbild des Morbus Parkinson 4

2.1.1.1 Epidemiologie 4

2.1.1.2 Klinik 4

2.1.1.3 Diagnose 5

2.1.2 Klassifizierung der Parkinson-Syndrome 6

2.1.2.1 Primäre Parkinson-Syndrome 6

2.1.2.2 Sekundäre oder symptomatische Parkinson-Syndrome 11

2.1.2.3 Atypische Parkinson-Syndrome 12

2.1.3 Funktionelle Anatomie und Pathophysiologie 12

2.1.4 Therapie 15

2.1.4.1 Medikamentöse Therapie 16

2.1.4.2 Tiefe Hirnstimulation 16

2.1.5 Ätiologie 17

2.1.6 Bildgebende Verfahren zur Darstellung des Krankheitsprozesses 18

2.1.6.1 Transcranielle Sonographie 18

2.1.6.2 Computertomographie (CT) und Magnetresonanz-Tomographie (MRT) 18

2.1.6.3 Single-Positron-Computed-Tomographie (SPECT) und Positronen-Emissions-Tomographie (PET) 18

2.2 Physikalische Grundlagen 19

2.2.1 Transcranielle Sonographie 19

2.2.2 Magnetresonanztomographie (MRT) 22

2.2.2.1 T1- und T2-Wichtung 22

2.2.2.2 Homogenität des Magnetfeldes 23

2.2.3 Magnet-Resonanz-Spektroskopie (MRS) 24

2.2.3.1 Spektrenentstehung 24

2.2.3.2 Stärke des Magnetfeldes 26

2.2.3.3 J-Kopplung 26

2.2.4 ^{1}H-Magnetresonanz-Spektroskopie (^{1}H-MRS) 26

2.2.5 MRS-Lokalisationsverfahren 33

2.2.5.1 Single-Voxel-Spektroskopie (SVS) 33

2.2.5.2 Magnetic Resonance Specroscopic Imaging (MRSI / CSI) 33

2.2.6 Spektrenauswertung 33

3. PROBANDEN, PATIENTEN UND METHODEN 36

3.1 Probanden und Patienten 36

3.2 Ablauf der Studie 39

3.3 Durchführung der apparativen Untersuchungen 40

3.3.1 Transcranielle Sonographie 40

3.3.2 Kernspintomographie 40

3.3.2.1 Messprotokoll 41

3.3.2.2 Verarbeitung der Messdaten 42

3.3.3 Gemessene Hirnmetabolite 43

3.3.4 Auswertung der Daten 44

4. ERGEBNISSE 45

4.1 Qualität der Spektren 45

4.2 Messbarkeit der Metabolite 45

4.2.1 Messbarkeit der Einzelspektren 46

4.2.2 Messbarkeit innerhalb der Kohorten 47

4.3 Einflussgrößen auf die Metabolitenmesswerte 48

4.3.1 Alter und Geschlecht 48

4.3.2 Voxelposition 49

4.4 Vergleich der unterschiedlichen Kohorten 52

4.4.1 Echogenität der Substantia nigra und Metabolitenmesswerte 52

4.4.2 Gruppenvergleiche der Metabolitenmesswerte 55

4.4.2.1 Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen 58

4.4.2.2 Korrelation zwischen symptomatischer Seite und kontralateralen Messwerten 64

4.4.2.3 Vergleich von idiopathisch und monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten ... 68

4.4.2.4 Vergleich zwischen Kontrollen und Angehörigen 71

4.4.2.5 Vergleich zwischen Angehörigen mit sonographisch unauffälliger Substantia nigra und Probanden mit auffälliger Substantia nigra 74

4.4.2.6 Vergleich der Kohorten mit sonographisch auffälliger Substantia nigra 76

5. DISKUSSION 79

6. ZUSAMMENFASSUNG 87

7. LITERATURVERZEICHNIS 90
8. DANKSAGUNG 97
9. LEBENSLAUF 98

Abkürzungsverzeichnis

aA	auffällige Angehörige
Abb.	Abbildung
ACh	Acetylcholin
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
^{13}C	^{13}Kohlenstoff
CSI	Chemical Shift Imgaging
Cr	Kreatin
GABA	ɣ-Aminobuttersäure
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
Glx	Glutamat und Glutamin
GPC	Glycerophosphorylcholin
^{1}H	^{1}Wasserstoff
^{1}HMRS	^{1}H-Magnetresonanz-Spektroskopie
IBZM-SPECT	Iodbenzamid- Single Photon Emission Computed Tomography
iPD	idiopathische Parkinsonerkrankung
Kap.	Kapitel
LCModel	Linear Combination of Model Spectra
*m*I	*myo*-Inositol
mM	Millimol
MHz	MegaHertz
MR	Magnetresonanz
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MRSI	Magnetic Resonance Spectroscopy Imaging
MRT	Magnetresonanz-Tomographie
mPD	monogenetische Parkinsonerkrankung
MP	Morbus Parkinson
MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin
n	Anzahl der Stichprobe

NAA	N-Acetyl-Aspartat
NAAG	N-Acetylaspartylglutamat
^{31}P	^{31}Phosphor
PD	Parkinsonerkrankung
PET	Positronen Emissions Tomographie
ppm	Parts per million
PRESS	Point Resolved Spectroscopy
PS	Parkinson-Syndrom
ROI	Region of interest
SN	Substantia Nigra
SN^+	hyperechogene Substantia Nigra
SN^-	normechogene Substantia Nigra
STEAM	Stimulated Echo Acquiring Method
SVS	Single-Voxel-Spektroskopie
Tab.	Tabelle
TCS	Transcranielle Sonographie
THS	Tiefenhirnstimulation
TMS	Tetramethylsilan
TR	Repetitionszeit
uA	unauffällige Angehörige
ZNS	Zentralnervensystem

1. Einleitung

Der **Morbus Parkinson** ist eine langsam fortschreitende neurologische Erkrankung des extrapyramidalmotorischen Systems, die durch den Untergang nigro-striataler Neurone gekennzeichnet ist. Aufgrund der bei den Betroffenen typischerweise auftretenden Symptome wie Zittern (Tremor) und Muskelsteifigkeit (Rigor) wurde die Krankheit im Jahre 1817 von seinem Erstbeschreiber, dem Arzt James Parkinson, als „Paralysis agitans“ (Zitter-oder Schüttellähmung) bezeichnet.

Die typische Parkinson-Symptomatik ist bedingt durch ein Transmitterungleichgewicht, welches durch das Absterben nigro-striataler Neurone im Bereich der Substantia nigra (SN) und dem damit verbunden Dopaminmangel entsteht. Trotz einer guten Kenntnis der Pathomechanismen, die zum Nervenzelluntergang führen, ist die genaue Ursache hierfür weiterhin unbekannt. Eine multifaktorielle Genese wird angenommen. Hierbei scheint unter anderem eine genetische Prädisposition eine wichtige Rolle zu spielen. So konnten in molekulargenetischen Untersuchungen eine Reihe von Genveränderungen identifiziert werden, die im Zusammenhang mit der Parkinsonerkrankung stehen (Kap. 2.1.2.1; Familiäre Parkinsonerkrankungen).

Prinzipiell erfolgt die Diagnosestellung des Morbus Parkinson (M. Parkinson) anhand der Beurteilung motorischer Symptome. Diese manifestieren sich jedoch erst nach Degeneration von ca. 60 % der dopaminergen Neurone der SN und können zu Beginn der Erkrankung nur sehr diskret ausgeprägt sein (McGeer, Itagaki et al. 1988; Hawkes 2008). Somit kommt einer Früherkennung, insbesondere unter dem Aspekt der Gabe potentiell nervenzellschützender Medikamente, eine besondere Bedeutung zu. Sehr hilfreich ist hierbei die Darstellung der SN mittels transcranieller Sonographie (TCS) (Becker, Seufert et al. 1995; Berg, Grote et al. 1999; Berg, Roggendorf et al. 2002; Berg 2006). Bei Vorliegen bestimmter Merkmale, wie z. B. einer echoreichen (hyperechogenen) SN mit einer Fläche größer als 0.20 cm^2 kann die Veranlagung für ein Parkinson-Syndrom festgestellt sowie eine

Verdachtsdiagnose bei noch gering ausgeprägter Klinik erhärtet werden (Berg, Becker et al. 1999; Berg, Siefker et al. 2001). Diese Merkmale können bei ca. 90 % der Parkinsonerkrankten und ca. 40% ihrer Angehörigen nachgewiesen werden (Ruprecht-Dorfler, Berg et al. 2003; Berg 2006). Zudem ermöglicht die TCS eine Abgrenzung zu Krankheitsbildern mit ähnlicher Symptomatik (Berg 2006).

Während die TCS-Diagnostik beim Morbus Parkinson Hinweise auf strukturelle, durch Eisenablagerungen zumindest mitbedingte Veränderungen innerhalb der SN liefert (Berg 2006; Berg 2007), können mit Hilfe der Magnetresonanzspektroskopie (MRS) Veränderungen auf molekularer Ebene dargestellt werden. Hierbei handelt es sich um eine auf der Kernspinresonanz (MR) beruhende Technik, die eine qualitative und quantitative Bestimmung von Stoffwechselprodukten *in- vivo* ermöglicht.

Ein besonderes Verfahren stellt dabei das Chemical Shift Imaging (CSI, Kap. 2.2.3.2) dar. Es erlaubt die Bestimmung von Metabolitenkonzentrationen innerhalb eines definierten zweidimensionalen Messbereiches (Region Of Interest; ROI) und ermöglicht zudem die nachträgliche exakte Positionierung des entsprechenden Messvolumens (Voxel).

Im Bereich des Zentralnervensystems (ZNS) findet die Protonen-Magnetresonanz-Spektroskopie (^{1}H-MRS) z. B. in der Differentialdiagnostik unklarer Raumforderungen sowie zur Bestimmung der Tumorart Anwendung (Demaerel, Johannik et al. 1991). Von besonderer Bedeutung ist die ^{1}H-MRS bei bioptisch schwer zugänglichen Regionen, da hierdurch nicht-invasiv wichtige Informationen über krankhafte Veränderungen gewonnen werden können.

In der Parkinsonforschung wurde die ^{1}H-MRS bisher hauptsächlich zur Bestimmung von Metabolitenprofilen außerhalb der SN, z. B. im Bereich des Kortex, der Basalganglien oder des Lobus occipitalis angewandt (Bowen, Block

et al. 1995; Lucetti, Del Dotto et al. 2001). Messungen innerhalb der SN, welche bei der Parkinsonerkrankung am stärksten vom Nervenzelluntergang betroffen ist, wurden bisher wegen der geringeren Größe der SN nur selten durchgeführt (Choe, Park et al. 1998; O'Neill, Schuff et al. 2002). Um Einflüsse des Nachbargewebes zu minimieren, ist ein entsprechend kleines Messvolumen notwendig. Auf diese Problematik zur Bestimmung der Hirnmetabolite innerhalb der SN wies unter anderem O´Neil et al. (2002) hin, der eine Reduktion von Kreatin in der SN bei Parkinsonpatienten nachweisen konnte. In einer späteren Untersuchung konnte Oz et al. (2006) diesen Befund nicht bestätigen, fand jedoch in der SN von Parkinsonpatienten eine Erniedrigung der Metabolite Glutamat (Glu) und N-Acetyl-Aspartat (NAA). Aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse konnte sich die ^{1}H-MR-Spektroskopie, im Gegensatz zur TCS, als differentialdiagnostisches Instrument bisher noch nicht durchsetzen.

Vor diesem Hintergrund sollte in der vorliegenden Arbeit zunächst geklärt werden, ob bei Verwendung einer geringeren Voxelgröße als bisher üblich (>2,2ml) in Verbindung mit der CSI-Technik eine qualitativ hochwertige Spektrenaufzeichnung im Bereich der SN möglich ist. Zur Auswertung der Spektren wurde eine speziell für die CSI-Auswertung entwickelte Software verwendet.

Darauf aufbauend sollten die Spektren von Patienten mit idiopathischem sowie monogenetischem Parkinson-Syndrom und gesunden Kontrollpersonen auf Unterschiede hinsichtlich ihrer Metabolitenprofile untersucht werden. In gleicher Weise sollten Patienten mit idiopathischem und monogenetischem Parkinson-Syndrom miteinander verglichen werden. Schließlich sollte auch die Frage geklärt werden, ob sich die nach TCS-Merkmalen unterscheidbaren Angehörigen untereinander und von gesunden Kontrollen sowie Parkinsonpatienten anhand ihres Metabolitenprofils unterscheiden lassen.

2. Grundlagen

2.1 Klinische Grundlagen

2.1.1 Krankheitsbild des Morbus Parkinson

2.1.1.1 Epidemiologie

Die Parkinsonerkrankung ist nach der Alzheimer-Erkrankung die zweithäufigste neurologische Erkrankung im fortgeschrittenen Alter. Untersuchungen zur geschlechtsspezifischen Häufung erbrachten im Jahre 1999 eine leichte Männerwendigkeit, die zwischenzeitlich mehrfach bestätigt werden konnte (Kuopio, Marttila et al. 1999; Alves, Forsaa et al. 2008). Die Prävalenz ist unter anderem auch vom Alter abhängig. Sie wird in Deutschland auf 100-200 Erkrankte pro 100.000 Einwohner geschätzt, wobei die meisten Parkinsonerkrankungen zwischen der 5. und 6. Lebensdekade diagnostiziert werden. Bei den über 65-jährigen liegt die Prävalenz bei 1.800 pro 100.000 Einwohnern (Vieregge, Kleinhenz et al. 1991). Bedingt durch die Veränderungen der Altersstruktur in unserer Bevölkerung, ist in Zukunft mit einem Anstieg der Parkinsonerkrankungen zu rechnen.

2.1.1.2 Klinik

Das typische Bild der Parkinsonkrankheit ist bedingt durch einen Dopaminmangel und dem dadurch verbundenen Transmitterungleichgewicht. Neben den bereits beschriebenen typischen Symptomen Tremor und Rigor bestehen weitere Kardinalsymptome wie eine Akinese (Bewegungsarmut), die durch Brady- und oder Hypokinese sowie eine posturale Instabilität (Haltungsinstabilität) gekennzeichnet ist.

Meist manifestiert sich die Erkrankung zunächst nur auf einer Seite, z. B. durch Tremor einer Extremität oder einer Verschlechterung der Feinmotorik. Im Krankheitsverlauf breiten sich die Symptome auf beide Seiten aus.

Daneben zeigen sich bei den Betroffenen oft auch nicht-motorische Symptome wie zum Beispiel sensorische Beschwerden (Missempfindungen u. Schmerzen) oder vegetative Begleitsymptome (vermehrter Speichelfluss und Störungen der Darmmotorik). Eine erhebliche Einschränkung der Lebensqualität kann sich auch durch Störungen der Harn-blasenfunktion oder der sexuellen Funktionen ergeben. Nicht selten entwickeln sich im Laufe der Erkrankung zudem auch psychische Symptome wie z. B. Depressionen oder kognitive Störungen in Form einer Demenz.

Abb. 1: Typisches Erscheinungsbild eines an M. Parkinson erkrankten Menschen. Dargestellt ist beispielhaft die vornüber gebeugte Haltung mit angewinkelten Armen. Abb. aus onmeda.de

2.1.1.3 Diagnose

Die Diagnose eines Parkinson-Syndroms wird zunächst klinisch gestellt. Das Vorhandensein von mindestens drei Kardinalsymptomen und zusätzlichen typischen Begleitsymptomen macht die Diagnose sehr wahrscheinlich. In manchen Fällen kann jedoch eine Diagnose nur sehr schwer gestellt werden. Dies ist zum Beispiel dann der Fall, wenn nur ein Kardinalsymptom besteht oder die Symptomatik sehr diskret ausgeprägt ist. Auch die Abgrenzung zu atypischen Parkinson-Syndromen (Kap. 2.1.2.3) ist nicht immer eindeutig. In diesen Fällen ist es möglich, durch zusätzliche apparative Untersuchungen (Kap. 2.1.6; Bildgebende Verfahren zur Darstellung des Krankheitsprozesses) die Diagnose zu erhärten.

2.1.2 Klassifizierung der Parkinson-Syndrome

Unter den Begriffen Parkinson-Erkrankung (Parkinson´s disease; PD) oder Parkinson-Syndrom (PS), welche synonym verwendet werden, finden sich Krankheiten mit ähnlicher klinischer Symptommanifestation, jedoch z. T. unterschiedlicher Genese. Es gibt verschiedene Einteilungsmöglichkeiten, die hier gewählte Gliederung unterscheidet **primäre, sekundäre** und **atypische Parkinson-Syndrome**. Bei den typischen Syndromen wird eine Einteilung in Bezug auf die vorherrschende klinische Symptomatik getroffen.

Es können drei Arten der typischen Parkinson-Erkrankung unterschieden werden. Steht der Tremor im Vordergrund, wird vom *tremordominanten Typ* gesprochen. Manifestiert sich die Symptomatik in einer ausgeprägten Bewegungsarmut (Akinese) und nur geringem oder gar fehlendem Zittern, spricht man von einem *akinetisch-rigiden Typ*. Kommen beide Hauptsymptome vor, sowohl das Zittern als auch die Bewegungsarmut in gleicher Ausprägung, spricht man von einem *Äquivalenz-Typ*.

Zudem wird, je nach Schweregrad der Erkrankung in Stadien nach Hoehn und Yahr von 1 (einseitige Erkrankung) bis 5 (ohne Hilfe an den Rollstuhl gefesselt oder bettlägerig) eingeteilt (Hoehn and Yahr 1967).

2.1.2.1 Primäre Parkinson-Syndrome

Hierunter fallen sowohl die sporadisch als auch familiär auftretenden Erkrankungen. Beide weisen ein ähnliches Krankheitsbild auf und zeichnen sich durch einen Verlust dopaminerger Neurone und dem Vorhandensein von Lewy-Körpern in der Substantia nigra und anderen Hirnregionen aus.

Idiopathisches oder sporadisches Parkinson-Syndrom (iPD)

Es macht ca. dreiviertel aller Parkinson-Syndrome aus und ist gekennzeichnet durch das Vorhandensein der Hauptsymptome Tremor, Rigor, Bradykinese und in individueller Variation den zuvor beschriebenen Zusatzsymptomen. Neben dem in der Regel relativ späten Manifestationsalter zwischen 50 und 70 Jahren

sind ein gutes Ansprechen auf dopaminerge Stimulation sowie eine nur geringfügig erniedrigte Lebenserwartung, im Vergleich zu Gesunden, weitere Merkmale dieser Untergruppe.

Familiäres oder monogenetisches Parkinson-Syndrom (mPD)

Bei ca. 10-15 % der Parkinsonerkrankungen handelt es sich um eine erbliche Erkrankung, bei der die Ursache der Erkrankung in einer Genmutation liegt (Gasser 2005; Gasser 2009). Meist sind ein oder mehrere Familienmitglieder betroffen. Durch molekulargenetische Untersuchungen konnten 15 Genorte kartiert und 6 Gene identifiziert werden, die kausal an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt sind. Zudem sind mehrere Suszeptibilitätsorte und –gene bekannt. So wird davon ausgegangen, dass bestimmte Mutationen zu einer genetischen Prädisposition führen, die von einer Generation auf die nächste, z. T. autosomal dominant oder rezessiv (Tab. 1) mit unterschiedlicher Penetranz weitervererbt wird. In vielen Fällen sind zusätzliche, z. T. unbekannte Faktoren (Kap. 2.1.7; Risikofaktoren) notwendig, damit es zur Krankheitsmanifestation kommt (Swanson, Sesso et al. 2009).

Die klinische Symptomatik des monogenetischen Parkinson-Syndroms unterscheidet sich bis auf den oft früheren Krankheitsbeginn und der mitunter schnelleren Krankheitsprogression kaum von der eines idiopathischen Parkinson-Syndroms.

Es ist jedoch anzumerken, dass ungeachtet des Vorhandenseins einer Mutation, Angehörige von Parkinsonpatienten im Vergleich zu einem Menschen mit negativer Familienanamnese in Bezug auf Parkinson ein doppelt so hohes Risiko tragen, im Laufe ihres Lebens an einem Parkinson-Syndrom zu erkranken (Sellbach, Boyle et al. 2006; Sundquist, Li et al. 2006; Arabia, Grossardt et al. 2007).

Tab. 1 : Bekannte autosomale Mutationen und Genloci, die in kausalpathogenetischem Zusammenhang mit der Parkinson-Erkrankung stehen. Die Tabelle stellt die bekannten Parkinson-assoziierten Gene mit Vererbungsmodus sowie Genlokalisation dar (Brandt 2007; Gasser 2009).

Gen	Vererbungsmodus	Lokalisation
PARK1 und PARK4 = alpha-synuclein	dominant	4q21
PARK2 = Parkin	rezessiv	6q25
PARK6 = PINK1	rezessiv	1p36
PARK7 = DJ-1	rezessiv	1p36
PARK8 = LRRK2	dominant	12q12
**PARK9= ATP13A2* *Kufor-Rakeb-Syndrom*	*rezessiv*	*1p36*

**wird zwischenzeitlich den Multisystemerkrankungen mit Parkinson-Syndrom zugeordnet.*

Bekannte Genmutationen bei Parkinson-Syndrom

PARK1 / PARK4 (α-synuclein, 4q21)

Die sehr seltene autosomal-dominante PARK1-assoziierte Parkinson Erkrankung wurde erstmals 1990 in einer italienischen und 1996 in drei griechischen Familien untersucht und beschrieben (Golbe, Di Iorio et al. 1990; Polymeropoulos, Higgins et al. 1996). Krankheitsauslösend ist eine Punktmutation (A53T) im α-Synuclein-Gen auf Chromosom 4 (Polymeropoulos, 1998). Das Gen ist für die Synthese von α-Synuclein verantwortlich, welches unter anderem in Neuronen und Gliazellen zu finden ist. Außerdem sind zwei weitere krankheitsverursachende Mutationen in dem Gen bekannt (E46K, A30P) (Gasser 2009). Zudem stellt α-Synuclein einen wesentlichen Bestandteil der Lewy-Körperchen dar, was dazu geführt hat, Polymorphismen dieses Gens auch beim sporadischen Parkinson zu untersuchen. Der genaue

Pathomechanismus ist nicht bekannt. Möglicherweise kommt es zu einer Oligomerisierung und Aggregation von α-Synuclein (in modifizierter Form oder auch von Fragmenten des Proteins). Die Erkrankten zeigen einen relativ frühen Erkrankungsbeginn mit durchschnittlich 46 Jahren sowie einen rasch progredienten Verlauf (Ibanez, Lesage et al. 2009).
Für den PARK4-Lokus hat sich herausgestellt, dass es sich um eine Variation des selben Gens (α-Synuclein) handelt. Jedoch besteht in diesem Fall keine Punktmutation, sondern eine Duplikation oder Triplikation bzw. Multiplikation des Gens. Daher wurden der PARK1- und der PARK4-Lokus zusammengefasst (Singleton, Farrer et al. 2003). Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 37 Jahren und es kommt zur Ausbildung einer Demenz. Es finden sich unter anderem in der SN als auch im Kortex Einschlusskörperchen vom Lewy-Körper-Typ.

PARK2 (Parkin, 6q25)

Mutationen in diesem Gen werden in einem autosomal-rezessiven Erbgang vererbt. Betroffen ist der lange Arm des Chromosoms 6 (6q25), das Genprodukt ist eine E3-Ubiquitin-Ligase, welche abzubauende Proteine für den proteasomalen Abbau markiert (Shimura, Hattori et al. 2000). Als eine mögliche Folge der Mutationen kann es zu unvollständigem Proteinabbau kommen. Dies kann unter anderem toxisch für Nervenzellen sein. Da die Mutationsträger meist in der zweiten oder dritten Lebensdekade erkranken, spricht man hier auch vom juvenilen Parkinsonismus. Die Symptome sind denen eines idiopathischen Parkinson-Syndroms sehr ähnlich. Es finden sich in der Regel keine typischen Lewy-Körperchen in der SN (Mori, Kondo et al. 1998). Das kann einerseits daran liegen, dass Patienten nicht alt genug werden, um Lewy-Körperchen zu entwickeln oder es sind noch nicht genügend Fälle autopsiert worden, um dies ausreichend beurteilen zu können. Untersuchungen haben gezeigt, dass Parkin-Mutationen häufig die Ursache eines Parkinson-Syndroms in jungen Jahren (<35 Jahre) darstellen (Abbas, Lucking et al. 1999; Ibanez, Lesage et al. 2009).

PARK6 (PINK1; PTEN-induced Kinase 1, 1p36)

Mutationen in diesem Gen führen zu einer Veränderung eines mitochondrialen Matrixenzyms mit Protein-Kinase-Aktivität auf Chromosom 1. Die Vererbung erfolgt autosomal-rezessiv und die Patienten erkranken sehr jung (Funayama and Hattori 2007; Liu, Vives-Bauza et al. 2009).

PARK7 (DJ-1; 1p36)

Patienten mit Mutationen in diesem Gen, die autosomal-rezessiv vererbt werden, sind sehr selten. Sie erkranken ebenfalls sehr jung, wobei hier überdurchschnittlich viele Patienten an Panikattacken leiden (Djarmati, Hedrich et al. 2004; Mellick, Siebert et al. 2009).

PARK8 (LRRK2; Leucin-rich-repeat Kinase 2, 12q12)

Mutationen im PARK8-Gen sind erst in jüngerer Zeit entdeckt worden und bis heute die häufigste Ursache von autosomal-dominant vererbten Parkinson-Erkrankungen (Nichols, Elsaesser et al. 2007). Die PARK8-assoziierte Parkinson-Erkrankung entspricht klinisch und pathologisch der ätiologisch ungeklärten Form der Erkrankung. Die häufigste LRRK2-Mutation wird in ca. 1-2% der sporadisch Erkrankten weltweit gefunden.

PARK9 (ATP13A2, Kufor-Rakeb-Syndrom, 1p36)

Mutationen in diesem Gen sind ausgesprochen selten. Das Gen liegt auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1. Die Patienten erkranken bereits zwischen der ersten und zweiten Lebensdekade und weisen neben Pyramidenbahnzeichen eine supranukleäre Blickparese sowie Demenz auf. Die Erkrankung wird zwischenzeitlich den Multisystemerkrankungen mit Parkinson-Syndrom zugeordnet (Ramirez, Heimbach et al. 2006; Vilarino-Guell, Soto et al. 2009).

Weitere PARK-Loci wurden beschrieben, deren Bedeutung ist derzeit aber noch unklar. Deshalb soll an dieser Stelle nicht weiter darauf eingegangen werden.

2.1.2.2 Sekundäre oder symptomatische Parkinson-Syndrome

Das klinische Erscheinungsbild des sekundären oder symptomatischen Parkinson-Syndroms ähnelt dem eines iPD. Hierbei ist jedoch eine direkte Ursache bzw. ein Auslöser für die Entwicklung der Symptomatik bekannt (Tab. 2). Außer bei strukturell bedingten Ursachen (z. B. mikrovaskuläre Läsionen) sind bei Beseitigung der Ursache (z. B. Normaldruckhydrozephalus) oder Weglassen auslösender Faktoren (bestimmte Medikamente) die Symptome fast vollständig rückläufig. Nachfolgend sind Beispiele sekundärer Parkinson-Syndrome und ihrer möglichen Ursachen in Tab. 2 dargestellt.

Tab. 2: Klassifikation sekundärer Parkinson-Syndrome. Die Tabelle zeigt Beispiele sekundärer Parkinson-Syndrome und ihre möglichen Ursachen (modifiziert nach „Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie 2008“).

Sekundäre PS-Syndrome	**Mögliche Ursachen**
Pseudo-Parkinsonismus	Normaldruck-Hydrozephalus zerebrale Arteriosklerose : -subcorticale arteriosklerotische Enzephalopathie -lakunäre Infarkte Posttraumatisch Hirntumor Depression
Medikamenten-induziert	Antiemetika (D2-Rezeptorblocker) Valproinsäure Calcium-Antagonisten Neuroleptika Lithium Reserpin
Toxin-induziert	MPTP, Zyanid, Kohlenmonoxid, Mangan
Metabolisch	Morbus Wilson, Hypoparathyreoidismus
Entzündlich	Postenzephalitisch - AIDS-Enzephalopathie, Enzephalitis lethargica

2.1.2.3 Atypische Parkinson-Syndrome

Hierbei handelt es sich um neurodegenerative Erkrankungen mit parkinson-ähnlicher Symptomatik wie z. B. Tremor oder Rigor, jedoch mit unterschiedlicher Ätiologie und im Verlauf ausgeprägterer Zusatzsymptomatik. Durch die ähnliche Symptommanifestation zu Beginn der Erkrankung kann eine differentialdiagnostische Einordnung erschwert werden. Allerdings sind einige Symptome wie z. B. das im Krankheitsverlauf sehr frühe Auftreten von autonomen Dysfunktionen, posturaler Instabiliät mit häufigen Stürzen oder eine dementielle Entwicklung innerhalb des ersten Jahres ein deutlicher Hinweis auf das Vorliegen einer atypischen Parkinsonerkrankung. Die Symptome setzen bei diesen Krankheitsbildern meist abrupt ein und schreiten fast ausnahmslos schnell voran, so dass nach wenigen Jahren eine Pflegebedürftigkeit besteht. Dopaminerge Medikation hilft, wenn überhaupt, nur zu Beginn der Erkrankung. Bei einigen atypischen Erkrankungen kann die Gabe von Dopamin zu einer Krankheitsprogression führen.

Beispiele für atypische Parkinsonerkrankungen

- Multisystematrophie (MSA)
  Parkinson-Typ (MSA-P) oder zerebellärer Typ MSA-C)
- Progressive supranukleäre Blickparese (PSP)
- Corticobasale Degeneration (CBD)

2.1.3 Funktionelle Anatomie und Pathophysiologie

Zur Übermittlung von Signalen im zentralen Nervensystem dienen unter anderem die Neurotransmitter Dopamin, Serotonin, γ-Aminobuttersäure (GABA), Histamin, Serotonin und die Aminosäuren Glutamat und Glycin. Während Glutamat über seine Rezeptoren eine erregende Wirkung auf nachgeschaltete Nervenzellen zeigt, wirken GABA und Glycin hemmend.

Für die zentralnervöse Regulation der Motorik spielen die Basalganglien als eine Gruppe subkortikal gelegener, funktionell zusammengehöriger Kerngebiete eine wichtige Rolle (Abb. 2). Sie setzen sich aus dem Striatum (Nucleus caudatus und Putamen), Globus pallidus, Nucleus subthalamicus sowie der Substantia nigra zusammen. Diese besteht aus der Zona compacta mit großen neuromelaninhaltigen Neuronen des dopaminergen Systems und der Zona reticulata.

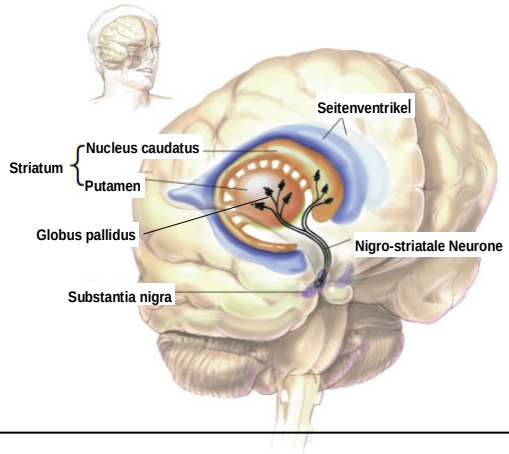

Abb. 2: Organisation des nigro-striatalen Systems. Dargestellt sind in blau die beiden Seitenventrikel sowie in orange der Globus pallidus, das Striatum, bestehend aus Nucleus caudatus und Putamen. Projektionswege von der Substantia nigra (in lila) zum Striatum sind in schwarzen Pfeilen angedeutet. Abb. modifiziert, aus vimhans.com

Das Striatum, dessen Hauptinnervation glutamaterg aus dem prämotorischen Cortex auf das Putamen erfolgt, bildet die Eingangsstruktur bei der motorischen Erregungsfortleitung. Die Ausgangsstruktur wird vom Globus pallidus internus und der Substantia nigra pars reticulata, von denen GABAerge Bahnen zum Hirnstamm und dem Thalamus ziehen, gebildet. Über verschiedene Stationen ziehen vom Putamen zwei Bahnen zum Thalamus. Der direkte Weg führt GABAerg zum Globus pallidus internus und über ihn zur Anregung des Thalamus, während der indirekte Weg GABAerg zum Globus pallidus externus und Nucleus subthalamicus und glutamaterg zum Globus pallidus internus zieht und dadurch zur Inhibition des Thalamus führt. Sowohl der direkte als auch der indirekte Weg steuern Agonisten und Antagonisten der Muskeln und wirken daher synergistisch. Beide Wege werden über dopaminerge Fasern aus der Substantia nigra moduliert, die je nach Dopaminrezeptorsubtyp inhibierend oder stimulierend wirken (Abb. 3).

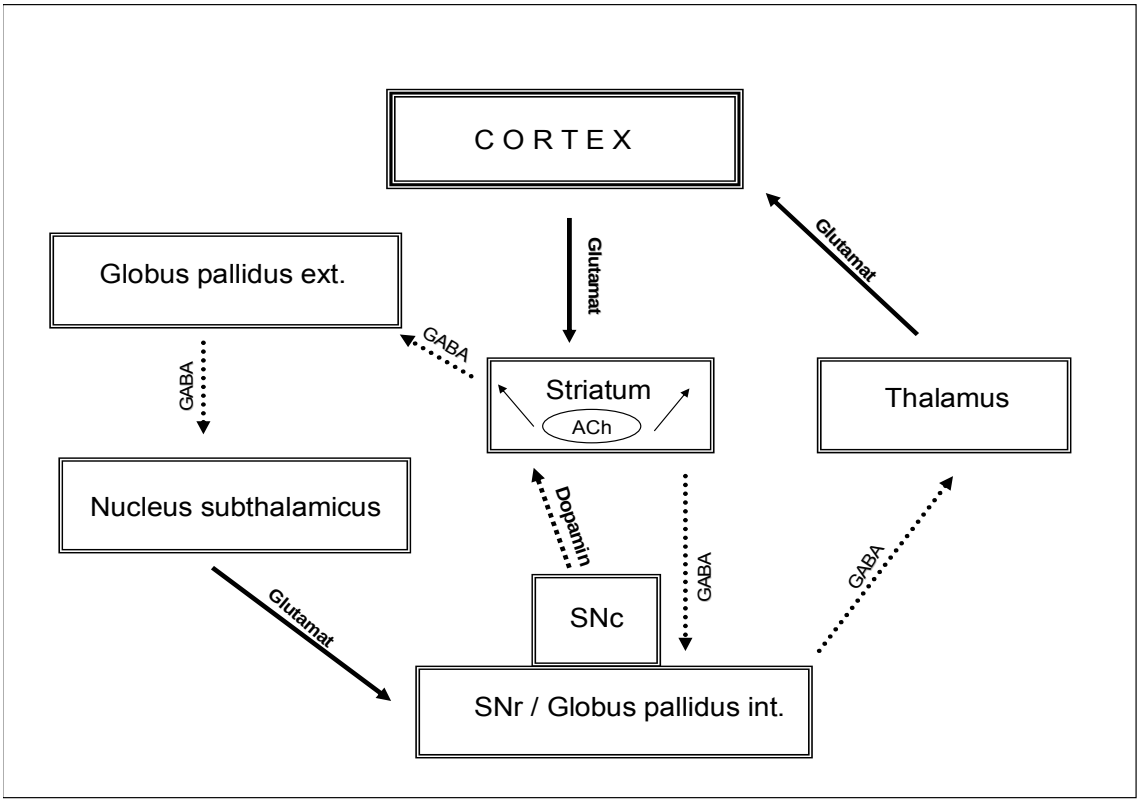

Abb. 3: Schematische Darstellung der neuronalen Verschaltungen in den Basalganglien. Der Kortex innerviert über glutamaterge Neurone das Striatum (durchgezogene Linie). Von den hiesigen GABAergen Neuronen kann über zwei Wege inhibitorisch projiziert werden. Der direkte Weg (gepunktete Linien) projiziert auf den Globus pallidus internus und die Substantia nigra pars reticulata (SNr). Der indirekte Weg projiziert über den Globus pallidus externus (gepunktete Linie) und den Nucleus subthalamicus (durchgezogene Linie) auf den Globus pallidus internus bzw. die SNr. Von hier aus wird (gepunktete Linie) über den Thalamus (durchgezogene Linie) in den Cortex projiziert. Zudem werden GABAergen Neurone im Striatum lokal von cholinergen Neuronen (ACh) stimuliert (kurze durchgezogene Pfeile) und von dopaminergen Neuronen aus der Substantia nigra pars compacta (SNc) inhibiert (gepunktete Linie).

Pathophysiologie

Da die Basalganglien über die Steuerung des Muskeltonus von Agonisten und Antagonisten die Willkürmotorik unterstützen, führen Nervenzellverluste und krankhafte Veränderungen in diesem Gebiet z. B. zu hypo- oder hyperkinetischen Syndromen, im Falle der Hypokinese z. B. zum Parkinson-Syndrom.

Die Degeneration der dopaminergen Neurone ist im ventrolateralen Teil der SN pars compacta, welcher zum Putamen zieht, besonders ausgeprägt (Fearnley and Lees 1991). Bei einem Verlust von ca. 60-80 % neuromelaninhaltiger Neurone oder einer Verminderung des striatalen Dopamingehaltes um 70-80 % kommt es zur Manifestation der charakteristischen Parkinson-Symptome Tremor, Rigor und Bradykinese (Bernheimer, Birkmayer et al. 1973; Hornykiewicz 1982; McGeer, Itagaki et al. 1988).

Zudem finden sich unter anderem in der Substantia nigra von Parkinsonpatienten kleine Proteinkonglomerate, die sog. Lewy-Körperchen (Gibb and Lees 1988). Diese eosinophilen, zytoplasmatischen Einschlusskörper bestehen hauptsächlich aus dem Protein α-Synuclein, welches die fibrilläre Hauptkomponente darstellt (Spillantini, Schmidt et al. 1997). Daneben spielen noch Proteine wie z. B. Ubiquitin, UCH-L1, Synphilin oder α2-Makroglobulin eine Rolle (Pollanen, Dickson et al. 1993). Die Lewy-Körperchen sind bei Parkinsonpatienten auch in anderen Regionen wie z. B. dem Hirnstamm zu finden. Auch bei anderen Erkrankungen des ZNS sowie bei 10 % der Gesunden lassen sich Lewy-Körperchen im Gehirn nachweisen (Poeck K 1998).
Bei der PARK2-Mutation (Parkin) und dem durch die Enzephalitis lethargica ausgelösten Parkinsonsyndrom finden sich seltener oder keine Einschlusskörperchen.

2.1.4 Therapie

Zur Therapie des Parkinson-Syndroms stehen neben den nicht-medikamentösen Therapien (z. B. Physiotherapie oder Logopädie) die medikamentösen und operativen Behandlungsmöglichkeiten (Tiefe Hirnstimulation; THS) zur Verfügung. Seit Einführung der Dopaminersatztherapie liegt die Lebenserwartung mittlerweile nur mehr leicht unter dem Bevölkerungsdurchschnitt. Von den vielen verschiedenen Substanzklassen und Medikamenten sollen im Folgenden lediglich die wichtigsten kurz angesprochen werden.

2.1.4.1 Medikamentöse Therapie

Der Goldstandard bei der medikamentösen Therapie des M. Parkinson ist aufgrund der rasch einsetzenden und stärksten Wirkung das Dopamin bzw. L-Dopa. Da dieses jedoch bei langjähriger Anwendung zu charakteristischen motorischen Komplikationen (Spätdyskinesien) führen kann, steht bei der Mittelauswahl zunächst das Alter des Patienten (biologisches Alter, evtl. abweichend vom kalendarischen Alter) im Vordergrund.
So erhalten Patienten jenseits des 70. Lebensjahres gemäß den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie eine Monotherapie mit L-Dopa.
Bei Patienten, die jünger als 70 Jahre sind, sollte eine Monotherapie mit einem Dopaminagonisten in ausreichender Dosierung angestrebt werden. Bei unzureichender Symptomlinderung kann eine Kombinationstherapie mit L-Dopa eingeleitet werden (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2008).

2.1.4.2 Tiefe Hirnstimulation

Als funktionelle neurochirurgische Behandlung des Parkinson-Syndroms zählt die Tiefe Hirnstimulation (Stimulation des Nucleus subthalamicus und je nach Indikation auch anderer Kerngebiete) inzwischen zu einem festen Bestandteil der Parkinsontherapie. Es werden stereotaktisch in der Regel mehrere Elektroden pro Zielstruktur implantiert, die mit einem für gewöhnlich unter dem Schlüsselbein implantierten Stimulator verbunden werden. Durch eine individuell angepasste Stimulation gelingt es, die typischen Symptome wie z. B. Tremor oder Akinese zu behandeln. Die THS zählt zu einer der potentesten Behandlungsmethoden für Patienten im fortgeschrittenen Krankheitsstadium mit Dyskinesien und vermindertem Ansprechen auf Medikamente (Weaver, Follett et al. 2009). Seit kurzem werden im Rahmen von Studien auch Patienten mit nur kurzer Krankheitsdauer stimuliert. Ziel ist es, herauszufinden, ob eine frühe operative Intervention den Krankheitsverlauf positiv beeinflusst (Charles, Gill et al. 2008).

2.1.5 Ätiologie

Zwar ist der Pathomechanismus für den Nervenzelluntergang bei der Parkinsonerkrankung weitgehend bekannt, die Ursache hierfür ist jedoch bis heute nicht eindeutig geklärt. Es gibt verschiedene Hypothesen zur Entstehung der Erkrankung. Sowohl bestimmte Umweltfaktoren als auch eine Kombination von genetischen Faktoren, die die Wahrscheinlichkeit zu erkranken erhöhen sollen, werden in Zusammenhang mit dem Absterben der Neurone und somit dem Beginn der Parkinson-Krankheit gebracht.

Risikofaktoren

Als bedeutendster Faktor für die Entwicklung eines Parkinson-Syndroms ist sicherlich das Alter anzusehen; die Wahrscheinlichkeit zu erkranken nimmt mit dem Alter deutlich zu (Tanner 2003).
Eine Reihe weiterer Faktoren wie z. B. oxidativer Stress, Immunprozesse, Apoptose, die Einnahme bestimmter Medikamente bei bestehender Veranlagung (Tab. 2) oder endo- und exogene Neurotoxine (Pestizide, Schwermetalle) werden diskutiert (Rybicki, Johnson et al. 1993; Mizuno, Mori et al. 1995; Seidler, Hellenbrand et al. 1996; Dhillon, Tarbutton et al. 2008). Zudem finden sich bei Parkinson-Patienten häufig bestimmte Persönlichkeitsstrukturen wie ausgeprägtes Verantwortungsbewußtsein, Perfektionismus und Unflexibilität (Menza 2000). Bis heute ist jedoch nicht klar, ob diese Persönlichkeitsmerkmale nicht ein sehr frühes Zeichen der Erkrankung darstellen. Des weiteren gibt es auch beim sporadischen Parkinson-Syndrom genetische Faktoren, die die Vulnerabilität erhöhen (Lozano, Lang et al. 1998). Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass nicht ein einzelner Faktor für die Entstehung der Parkinson-Erkrankung verantwortlich gemacht werden kann. Vermutlich wirkt das Zusammenspiel verschiedener Faktoren im Leben eines Menschen krankheitsfördernd.

2.1.6 Bildgebende Verfahren zur Darstellung des Krankheitsprozesses

2.1.6.1 Transcranielle Sonographie

Die Transcranielle Sonographie (TCS) ist ein bildgebendes Verfahren, welches ohne jegliche Strahlenbelastung und somit nebenwirkungsfrei die Darstellung von Strukturen des Hirnparenchyms ermöglicht (Berg, Becker et al. 1999; Puls, Berg et al. 2000). Im Vergleich zu Gesunden weisen Parkinsonpatienten eine Hyperechogenität der Substantia nigra auf (Kap. 2.2.1).

2.1.6.2 Computertomographie (CT) und Magnetresonanz-Tomographie (MRT)

Die Computertomographischen (CT) oder Magnetresonanztomographischen (MRT) Untersuchungen zur morphologischen Bildgebung des Gehirns dienen bei Verdacht auf einen M. Parkinson dem Ausschluss anderer, v. a. sekundärer Parkinson-Syndrome (Kap. 2.1.2.2). Zur Abgrenzung eines atypischen Parkinson-Syndroms liefert die MRT bei Vorliegen bestimmter typischer Zeichen, wie z. B. einer Atrophie der pons („cross-bun-sign“) oder Verschmächtigung der Crura cerebri („mickey-mouse-Zeichen“) wertvolle Hinweise zur Diagnosestellung.

2.1.6.3 Single-Positron-Computed-Tomographie (SPECT) und Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Zur funktionellen Bildgebung dienen die nuklearmedizinischen Untersuchungen wie Single-Positron-Computed-Tomographie (SPECT) und Positronen-Emissions-Tomographie (PET). Bei der SPECT-Untersuchung kann mit Hilfe hochspezifischer Liganden der Status präsynaptischer, striatal-dopaminerger Nervenenden untersucht und so indirekt das Ausmaß des Zellverlustes in der Substantia nigra beurteilt werden und bei Vorliegen typischer klinischer Symptome die Diagnose eines Parkinson-Syndroms gestellt werden. Zudem kann durch Verlaufsuntersuchungen der Einfluss von Medikamenten auf den

Krankeitsverlauf beurteilt werden. Eine Abgrenzung zwischen typischem und atypischem Parkinson-Syndrom ist hierbei nicht möglich. Zur Differentialdiagnose der Parkinson-Syndrome steht das sog. IBZM-SPECT, welches den striatalen, vorwiegend postsynaptischen D2-Rezeptorstatus darstellt, zur Verfügung.
PET-Untersuchungen zur Darstellung der präsynaptischen L-Dopa Aufnahme-Kapazität sind derzeit nur für wissenschaftliche Fragestellungen relevant.

2.2 Physikalische Grundlagen

2.2.1 Transcranielle Sonographie

Zur Durchführung der Trancraniellen Sonographie kann ein phased-array Ultraschallgerät, welches mit einem 2,5 MHz-Schallkopf ausgestattet ist, verwendet werden. Bei der Untersuchung sitzt der Proband in halbaufrechter Position; der Kopf kommt mit Blick nach vorne auf einer Kopfstütze zum Liegen. Zur Messung wird die mit Kontaktgel versehene Ultraschallsonde nacheinander an beide Seiten des Kopfes auf Höhe der Schläfenregion angesetzt. Die vom Schallkopf ausgehenden Schallwellen passieren das temporale Knochenfenster und werden je nach Gewebebeschaffenheit unterschiedlich reflektiert. Aus diesen Daten wird dann ein entsprechendes Bild auf dem Monitor des Ultraschallgerätes generiert. Leichte Auf- und Abwärtsbewegungen ermöglichen es, die zur Beurteilung der SN optimale Schnittebene zu ermitteln. Es handelt sich hierbei stets um axiale Schnittebenen, die durch Kippen der Sonde die Beurteilung schräger Anschnitte und somit auch verschiedener Höhen ermöglichen (Abb. 4).
Die Verwendung einer Frequenz von 2,5 MHz erlaubt eine gute Eindringtiefe, ist jedoch mit einer schlechteren Auflösung verbunden. Daher können mittelhirnferne Strukturen lediglich auf der kontralateralen Seite dargestellt werden. Die Beurteilung mittelliniennaher Strukturen ist ipsilateral möglich.

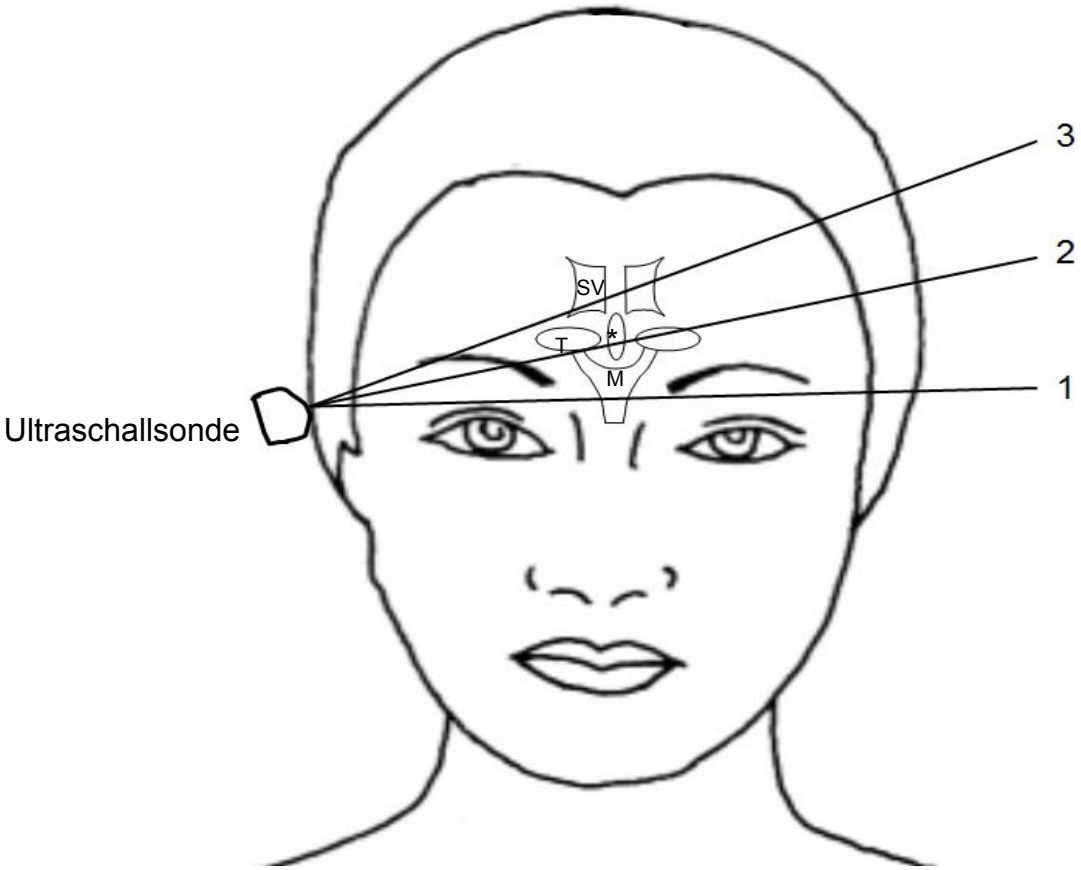

Abb. 4: Kippwinkel der Ultraschallsonde zur Sichtbarmachung von Hirnstrukturen bei der transcraniellen Sonographie (TCS). Schematisch dargestellt sind die verschiedene Kippstellungen der Sonde und die dabei sichtbaren Hirnstrukturen. Schnittebene 1 ermöglicht die Darstellung des Mittelhirns (M). Diese Ebene ist zur Beurteilung der SN geeignet. Die 2. Schnittebene stellt den 3.Ventrikel (*) sowie die Ebene des Thalamus (T) dar. Die oberste Schnittebene erlaubt die Beurteilung der Vorderhörner der beiden Seitenventrikel (SV). Abb. modifiziert nach enveda.de/kopfzonen.gif

Die mittels TCS darstellbaren Strukturen des Hirnstamms sollen im Folgenden kurz beschrieben werden (Abb. 5). Abbildung 5A zeigt ein histologisches Präparat des Hirnstammes. Neben der SN sind die Pedunculi cerebri, der Aquäduct und die Hirnstammraphe zu sehen. In den Abbildungen 5B und C sind die sonographischen Aufnahmen der entsprechenden Region einer gesunden bzw. einer an Parkinson erkrankten Person dargestellt. Der echoarme Hirnstamm ist hier deutlich in der Form eines Schmetterlings zu erkennen. Weiterhin ist die im Gegensatz zur gesunden Person hyperechogene Substantia nigra (s. u. *Hyperechogenität*) des rechten und linken Hirnstammschenkels deutlich erkennbar.

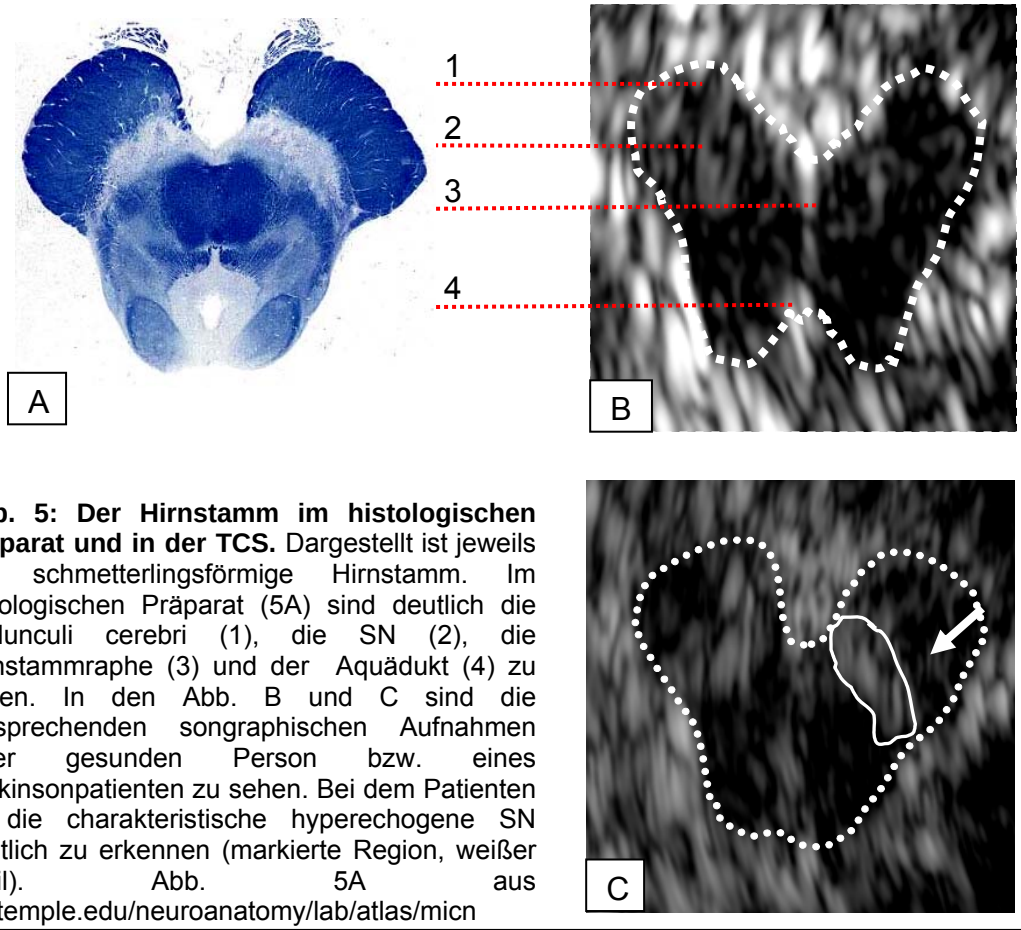

Abb. 5: Der Hirnstamm im histologischen Präparat und in der TCS. Dargestellt ist jeweils der schmetterlingsförmige Hirnstamm. Im histologischen Präparat (5A) sind deutlich die Pedunculi cerebri (1), die SN (2), die Hirnstammraphe (3) und der Aquädukt (4) zu sehen. In den Abb. B und C sind die entsprechenden songraphischen Aufnahmen einer gesunden Person bzw. eines Parkinsonpatienten zu sehen. Bei dem Patienten ist die charakteristische hyperechogene SN deutlich zu erkennen (markierte Region, weißer Pfeil). Abb. 5A aus isc.temple.edu/neuroanatomy/lab/atlas/micn

Hyperechogenität

Als Ursache der Hyperechogenität der Substantia nigra bei Patienten mit M. Parkinson wird ein erhöhter Eisengehalt vermutet (Riederer, Rausch et al. 1988; Berg 2006; Berg 2007). Hierbei wurde die Fläche der SN, die über der 90-sten Perzentile über der Normalpopulation lag, als hyperechogen definiert, was bei Messungen auf dem hier verwendeten Elegra-Gerät einer Fläche von 0.20 cm^2 entspricht. Im Vergleich zu Gesunden lassen sich im Gehirn von Parkinsonpatienten, bedingt durch Veränderungen des Eisenstoffwechsels, bis zu 35 % höhere Eisenkonzentrationen in der pars compacta der SN nachweisen (Riederer, Rausch et al. 1988; Dexter, Sian et al. 1993; Gerlach, Ben-Shachar et al. 1994). Diese korrelieren mit der SN-Hyperechogenität (Berg, Roggendorf et al. 2002). Hierbei scheinen auch genetische Ursachen eine Rolle zu spielen. So konnte bei ca. 40-50 % der gesunden Angehörigen von

Parkinson-Patienten eine Hyperechogenität der SN nachgewiesen werden (Ruprecht-Dorfler, Berg et al. 2003).

2.2.2 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Magnetresonanztomographie (MRT) bzw. Magnetresonanz-Bildgebung (Magnetic resonance imaging; MRI) ermöglicht es, ohne belastende ionisierende Strahlung Darstellungen von Schnittebenen des Körpers in jeder beliebigen Raumrichtung anzufertigen. Hierfür macht man sich die magnetischen Eigenschaften von Wasserstoffkernen und den Kernresonanzeffekt zu nutze (Bloch 1946; Purcell, Torrey et al. 1946). Bei Anlegen eines starken äußeren Magnetfeldes richten sich die Protonen aus und befinden sich in einem magnetischen Gleichgewichtszustand. Ein senkrecht dazu angelegter Radiofrequenzimpuls einer spezifischen Frequenz, der sog. Resonanzfrequenz, vermag dieses Gleichgewicht zu stören, so dass die Protonen ihre Ausrichtung ändern. Wird das Hochfrequenzfeld anschließend abgeschaltet, kehren die Protonen in ihre ursprüngliche Position zurück und geben dabei ein Radiofrequenzsignal ab. Dieses wird für die Erzeugung des MRI-Bildes verwendet.

Der Wasserstoff-Kern ist der sensitivste Kern für MRI-Untersuchungen, zusätzlich ist er in ausreichender Menge vorhanden. Beim MRI nutzt man das starke Wassersignal um Aufnahmen zu erhalten, welche die Wasserverteilung und damit auch die anatomischen Strukturen widerspiegeln.

Die Hauptbestandteile eines Kernspintomographen sind das supraleitende Magnetsystem, das Gradientensystem, Hochfrequenzsender und –empfänger sowie ein Computersystem incl. Bildspeicher und einer Bedien- und Auswertekonsole.

2.2.2.1 T1- und T2-Wichtung

Das aufgenommene Signal ist abhängig von der Protonendichte und den Relaxationszeiten. Letztere beschreiben die Zeit, die angeregte Protonen

benötigen, um in den Gleichgewichtszustand mit ihrer Umgebung (T1-Relaxation) zurückzukehren bzw. die Zeit, in der es zu Austauschprozessen mit der Umgebung kommt. Die Relaxationszeiten sind vom untersuchten Gewebe und der chemischen Umgebung abhängig, so dass je nach untersuchter Region eine unterschiedliche Gewichtung sinnvoll ist. Feingewebsstrukturen erscheinen z. B. in der T1-Wichtung besonders signalintensiv, während Flüssigkeiten im T2-gewichteten Bild besonders gut zu erkennen sind. In T1-gewichteten Aufnahmen wird der Bildkontrast durch Unterschiede in der Wiederherstellung der longitudinalen Magnetisierung erreicht. Diese beschreibt die unterschiedlich schnelle Rückkehr der Spins in ihre Ausgangslage. Durch die Wahl einer kurzen Repetitionszeit (kurze TR) folgen die Anregungspulse so schnell aufeinander, dass langsam relaxierende Spins noch nicht wieder in ihre Ausgangslage zurückgekehrt sind und somit nicht zur weiteren Signalanhebung beitragen können. Dadurch erscheint das entsprechende Gewebe dunkel. Besitzen Anteile des Gewebes schnell relaxierende Spins, also eine kurze T1-Zeit, so geben diese ein hohes Signal ab und erscheinen hyperintens. Der Verlust der transversalen Magnetisierung, also der Phasenkohärenz der Spins beschreibt den Bildkontrast in der T2-Wichtung. Gewebe mit einer langen T2-Zeit erscheint auch bei Wahl einer langen Echozeit (lange TE) hell, während das Signal von Gewebe mit kurzer T2-Zeit bereits zerfallen ist und dunkel erscheint. Bei Wahl einer langen TE wirkt sich die unterschiedliche transversale Relaxation stärker aus. Um bei der T2-Wichtung einen guten Kontrast zu erhalten, muss neben einer langen Echozeit auch eine lange Repetitionszeit (lange TR) gewählt werden.

2.2.2.2 Homogenität des Magnetfeldes

Um eine gute Bildqualität zu erzielen, ist eine hohe Feldhomogenität nötig. Diese unterliegt verschiedenen Störeinflüssen. So können luftgefüllte Hohlräume (z. B. Stirnhöhlen) oder auch Eisenablagerungen in pigmentiertem Gewebe (z. B. SN) die Homogenität beeinflussen. Durch Verwendung sog.

Shim-Spulen, welche ein Ausgleichsfeld erzeugen, kann die Homogenität im Messfeld verbessert werden.

2.2.3 Magnet-Resonanz-Spektroskopie (MRS)

Die Magnetresonanz-Spektroskopie (MRS) beruht auf ähnlichen Techniken wie die Magnetresonanz-Bildgebung. Während diese der Darstellung anatomischer Strukturen dient, liefert die MRS Intensitätsspektren von Frequenzsignalen, welche die biochemische Zusammensetzung von Gewebe widerspiegeln (Kap. 2.2.2.1 Spektrenentstehung).

In der Chemie stellt die Spektroskopie eine der leistungsfähigsten instrumentellen Analysemethoden dar und ermöglicht somit, nicht-invasiv quantitative, chemische Analysen von Materialien durchzuführen (Hoult, Busby et al. 1974). In der analytischen Chemie werden in der Regel nur kleine, homogene Probenvolumina in kleinen Untersuchungsröhren und starken Magnetfeldern spektroskopisch bestimmt. Die Heterogenität von Geweben oder Flüssigkeiten im menschlichen Körper erlaubte nur eine eingeschränkte Auswertung. Erst die Entwicklung von Tomographen mit einer Magnetfeldstärke ab 1,5 T ermöglichten klinisch verwertbare MRS-Befunde, so dass Signalbeiträge einiger Metabolite *in-vivo* bestimmt werden können. Somit stellt die Protonen-MRS ein nützliches Werkzeug dar, den regulären Metabolismus des Gehirns sowie pathologische Veränderungen *in-vivo* zu verfolgen (Frahm, Bruhn et al. 1991).

2.2.3.1 Spektrenentstehung

Die Bindungsverhältnisse innerhalb eines Moleküls als auch die Nachbaratome haben Einfluss auf die Resonanzfrequenz des jeweiligen Atomkerns. Die variierende Resonanzfrequenz von Kernen in unterschiedlichen Molekülen wird „Chemische Verschiebung“ (Chemical Shift) genannt. Sie ermöglicht die Identifikation und Quantifizierung bestimmter Metabolite in einem mit MRS gemessenen Frequenzspektrum. Die Angabe der Chemischen Verschiebung erfolgt in ppm (parts per million) und beträgt bei Protonen bis zu 4 ppm. Als dimensionslose Einheit hat sie gegenüber der Darstellung in Hertz den Vorteil,

dass sie unabhängig von der magnetischen Feldstärke ist. Sie wird auf der x-Achse von rechts nach links aufgetragen. Das empfangene MR-Signal wird mit Hilfe der Fourier-Transformation von einer Zeit-Kurve in eine Frequenzkurve (Abb. 6; Spektrum) transformiert, wodurch erst eine Spektrenanalyse möglich wird. Da die Resonanzfrequenzen einige Hertz auseinander liegen, werden sie im Spektrum als getrennte Peaks sichtbar, so dass eine Zuordnung der Peaks zu den einzelnen Metaboliten möglich wird.

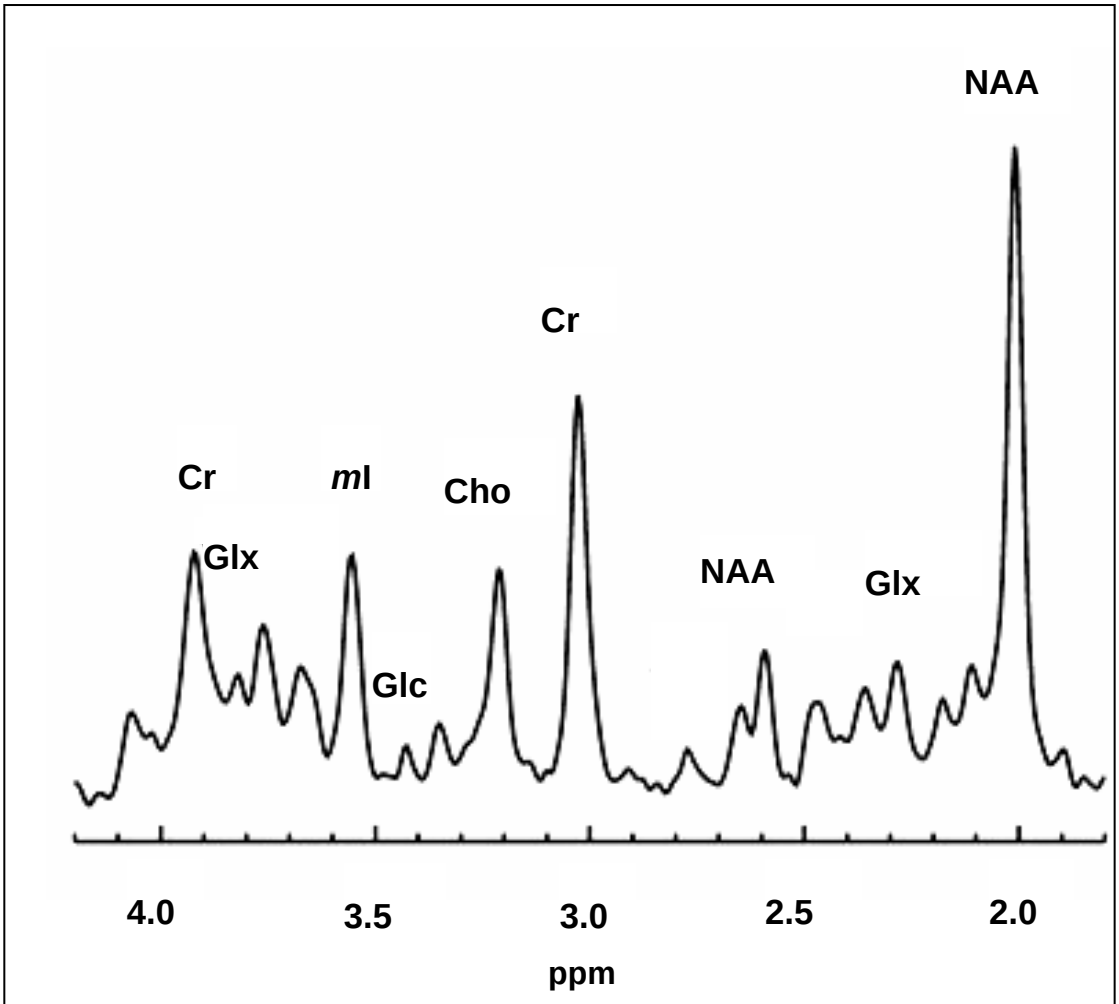

Abb. 6: Beispiel eines ^{1}H-Spektrums der grauen Substanz einer gesunden Person. Das Spektrum zeigt die typischen Peaks der Metabolite NAA = N-Acetyl-Aspartat, Glx = Glutamat + Glutamin, Cr = Kreatin, Cho = Cholin, Glc = Glucose, *m*I = myo-Inositol, sI = *scyllo*-Inositol. Abbildung modifiziert nach mpibpc.mpg.de/inform/25years/Frahm.html

2.2.3.2 Stärke des Magnetfeldes

Die in der Spektroskopie am häufigsten untersuchten Isotope ^{1}H, ^{31}P und ^{13}C weisen lediglich kleine Resonanzfrequenzunterschiede auf. Um diese nachweisen zu können, sind hohe Signalintensitäten und eine große Aufspaltung der Resonanzlinien von Vorteil. Dies kann mit Geräten ab einer Feldstärke von 1,5 T erreicht werden.

Wie bereits erwähnt, sind hohe Magnetfeldstärken und homogene Untersuchungsregionen für eine gute Qualität der Spektren entscheidend. Bei der *in-vivo* Spektroskopie des Gehirns sind durch die relative Homogenität des ZNS sowie aufgrund der Nähe zum Isozentrum des Magneten diese Voraussetzungen erfüllt.

2.2.3.3 J-Kopplung

Enthält ein Molekül mehrere äquivalente Kerne mit gleicher chemischer Verschiebung, so bedingt ihre Anzahl die Peak-Amplituden im Spektrum. Hierbei können sich diese Kerne aufgrund ihrer magnetischen Momente auch gegenseitig beeinflussen, d. h. die Spins der Kerne „koppeln“ miteinander. Ergibt sich diese Kopplung durch die Bindungselektronen zweier Kerne, so wird sie als J-Kopplung (Spin-Spin- oder J-Coupling) bezeichnet. Sie ist dafür verantwortlich, dass sich Peaks aufspalten. Es entstehen also neben Singuletts z. B. auch Dupletts, Tripletts, Quartetts oder Multipletts. Die Aufspaltung ist um so weiter, je stärker die J-Kopplung ist. Die Spin-Spin-Kopplung der Kerne ist unabhängig von der Feldstärke des Grundmagnetfeldes.

2.2.4 ^{1}H-Magnetresonanz-Spektroskopie (^{1}H-MRS)

Der beim Menschen am häufigsten spektroskopisch gemessene Kern ist das Proton (^{1}H). Aufgrund seiner hohen Konzentration in biologischem Gewebe und Empfindlichkeit können wichtige Aminosäuren oder Laktat bestimmt werden (Berkelbach van der Sprenkel, Luyten et al. 1988).

Obwohl das Wasser unabdingbar für das MRI ist, stellt es zugleich eine Erschwernis in der ^{1}H-Spektroskopie dar. Die ^{1}H-enthaltenden Metabolite,

deren Konzentrationen sich im millimolaren Bereich befinden, zeigen ein viel weniger intensives Signal als das Wasser. Somit muss in der ^{1}H-MRS das Wassersignal unterdrückt werden, dies geschieht durch spezielle Sättigungsimpulse. Als Referenzsubstanz in der Chemie wird bei der Protonenspektroskopie das inerte Trimethylsilan (TMS) verwendet. Dessen chemische Verschiebung wird hierbei auf 0.00 ppm definiert. Es dient der Kalibrierung von Kernresonanzspektren.

Metabolite in der ^{1}H-MRS

N-Acetyl-Aspartat (NAA)

Der spektroskopisch darstellbare Metabolit N-Acetyl-Aspartat (NAA) wurde bisher ausschließlich im zentralen und peripheren Nervensystem nachgewiesen. Je nach Hirnstruktur finden sich unterschiedliche Konzentrationen (Bruhn, Frahm et al. 1989). In gesundem Hirngewebe zeigt sich in der Spektroskopie ein durch das Proton der Methylgruppe bedingter einzelner Peak bei 2.02 ppm. Dieser stellt zugleich das größte Metaboliten-Signal im ^{1}H-Spektrum dar (Birken and Oldendorf 1989; Baslow, Suckow et al. 2000). Da es eine lange T2-Relaxationszeit aufweist, ist es bei allen TEs deutlich zu erkennen.

Die anderen Protonen des NAA-Moleküls zeigen aufgrund ihrer J-Kopplung allerdings eine Abhängigkeit von der Echozeit und der Magnetfeldstärke, so dass sie seltener Gegenstand einer Spektrenauswertung sind. Das NAA unterliegt im Laufe des Lebens starken Konzentrationsveränderungen. Seine Konzentration nimmt nach der Geburt mit steigendem Lebensalter zu (van der Knaap, van der Grond et al. 1990; Huppi, Posse et al. 1991) und ab etwa Mitte dreißig wieder ab. Die genaue Funktion des NAA ist allerdings bis heute nicht eindeutig geklärt (Miller 1991). Es ist jedoch bekannt, dass es für die Osmoregulation im Gehirn verantwortlich ist (Baslow 2003) und man vermutet daher auch eine Funktion bei der Signaltransduktion (Baslow, Suckow et al. 2000).

Ausserdem konnte gezeigt werden, dass das in den Neuronen produzierte NAA beim Zelluntergang vermindert ist und somit womöglich ein Marker für den neuronalen Zelluntergang darstellen könnte (Vion-Dury, Meyerhoff et al. 1994). 1989 fanden Bruhn et al heraus, dass die NAA-Konzentration nach einem Schlaganfall in der betreffonen Region nicht mehr messbar ist (Bruhn, Frahm et al. 1989). Auch bei Bewegungsstörungen wie z. B. der Huntingtonkrankheit, die mit Nervenzellverlusten einhergeht, zeigte sich ein NAA-Abfall (van Dellen, Welch et al. 2000; Rigotti, Inglese et al. 2007). Ebenso in Tumoren oder der Multiplen Sklerose (Bruhn, Frahm et al. 1989). In hohen Konzentration soll NAA im Gehirn eine toxische Wirkung haben (Miller 1991).

Kreatin (Cr) und Phosphokreatin (PCr)

In jedem Gewebe, welches Kreatinkinase enthält, ist sowohl das Kreatin als auch seine phosphorylierte Form, das Phosphokreatin zu finden (Miller 1991). In der ^{1}H-MRS zeigt es zwei einzelne Peaks bei 3.03 ppm (Methylgruppe) sowie 3.95 ppm (Methylenprotonen). Es besteht keine Beeinflussung des Signales durch Veränderung der Echozeit oder durch das J-Coupling.
Der Unterschied zwischen der chemischen Verschiebung der ensprechenden Protonen des Kreatins und Phosphokreatins ist sehr viel kleiner als die typische *in-vivo* Spektrallinienbreite, so dass diese nicht voneinander zu unterscheiden sind.
Man findet das Phosphokreatin vor allem in Neuronen, Gliazellen und Muskelzellen (Kreis and Boesch 1996). Es spielt eine große Rolle im Energiestoffwechsel des Gewebes (Wallimann, Wyss et al. 1992). Die Aufgaben des Kreatins/Phosphokreatins werden kontrovers diskutiert. Man vermutet, dass es als Energiereserve zur Aufrechterhaltung des ATP-Spiegels fungiert (Miller 1991). Im Muskel soll es die Aufgabe eines Energielieferanten innehaben und die vom Mitochondrium produzierte Energie zum Verbraucher, den Myofibrillen transportieren.

Es wird angenommen, dass die Cr-Konzentration sowohl bei Gesunden als auch den meisten cerebralen Erkrankungen relativ konstant ist. Daher eignet

sich das Kreatin für die *in-vivo*-Bestimmung als Referenzwert. Zudem scheint seine Konzentration keine Altersabhängigkeit zu zeigen und bis auf einige chronische Erkrankungen auch im Alter konstant zu bleiben (deGraaf 1998). Daher wird Kreatin üblicherweise als Referenzwert zur Quantifizierung betrachtet und zur besseren Vergleichbarkeit stets der Quotient von gemessenem Metaboliten zum entsprechenden Kreatin-Wert berechnet.

Cholin (Cho) und cholinhaltige Verbindungen

Cholin und die cholinhaltigen Verbindungen Phosphocholin (PCh) und Glycerophosphorylcholin (GPC) werden für die Herstellung von Zellmembranen benötigt. So ist es gemeinsam mit cholinhaltigen Verbindungen im Stoffwechselprozess der Phospholipidsynthese und -degradation in allen Organen zu finden. Zudem ist es Vorläufer des Neurotransmitters Acetylcholin. Aufgrund seiner im Vergleich zu den anderen Metaboliten geringen Konzentration ist es als Einzelbestandteil nicht detektierbar. Da auch andere Signale zum 3.22 ppm-Signal beitragen, spricht man von cholinhaltigen Verbindungen, diese sind zum größten Teil das PCh und GPC. So lässt sich seine größte Resonanz bei 3.22 ppm festlegen. Diese wird durch die 9 magnetisch äquivalenten Protonen seiner 3 Methylgruppen im Molekül verursacht. Daneben zeigen sich noch 2 Multipletts bei 3.54 und 4.05 ppm, die allerdings aufgrund der Größe der J-Kopplung in der ^{1}H-MRS nicht aufgelöst werden können und daher kaum eine Bedeutung haben. 1991 gelang es, bei Messungen an 3 Patienten eine Erniedrigung des Cholin-Peaks bei chronischer hepatischer Enzephalopathie nachzuweisen (Kreis, Farrow et al. 1991).

Glutamat (Glu) und Glutamin (Gln)

Glutamat stellt den bedeutendsten exzitatorischen Neurotransmitter des Zentralen Nervensystems dar und ist in allen Nervenzellen zu finden; in den Neuronen besitzt es die höchste Konzentration. Das Glutamin ist nur in geringer Konzentration vorhanden. Stoffwechselwege, in denen das Glutamat involviert ist, sind z. B. die Transaminierung, Dehydrogenierung und Decarboxylierung zu GABA (Gamma-amino-Buttersäure) (Ross 1991). Obwohl Glutamat ungefähr

die gleiche z. T. auch eine höhere Konzentration als das NAA aufweist, ist es aufgrund einiger Besonderheiten und Schwierigkeiten bei der Auswertung seltener Gegenstand von Messungen. Zum einen liegt dies an den Protonen des Glutamats und Glutamins, welche sich sterisch behindern und durch J-Kopplungseffekte (Kap. 2.2.3.3) zu überlappenden Resonanzen führen. So sind die jeweils vier Signale des Glutamins und Glutamats schwer zu trennen. Sie werden deshalb meist als Summe (Glx) angegeben. Es ergibt sich ein komplexes Aufspaltungsmuster mit Resonanzen zwischen 3.74 und 2.04 ppm. Da die J-Kopplungskonstanten etwa gleich groß sind, besitzen das Glutamat und Glutamin große Kopplungs-Effekte zweiter Ordnung. Dies ist der Grund dafür, dass die Spektren von Glutamat und Glutamin von der Magnetfeldstärke abhängig sind. Eine größere Magnetfeldstärke führt zu einer besseren Trennbarkeit von Glutamat und Glutamin.

Außerdem kann durch Bestimmung dieser Metabolite der glutamat- und glutamin-beinhaltende Stoffwechselweg der Ammoniakentgiftung untersucht werden. Ammoniak zeigt bereits in kleinen Mengen im Gehirn eine toxische Wirkung. Normalerweise sorgt der Entgiftungsmechanismus des Harnsäurezyklus in der Leber für eine geringe Konzentration im Gehirn. Bei einer Leberfunktionsstörung wie z. B. der hepatischen Enzephalopathie steigt der Ammoniakspiegel im Blut an, so dass Ablagerungen und der Versuch der Entgiftung im Hirn erfolgt. Dieser Prozess beinhaltet die Aufnahme von Ammoniak aus Glutamat in Glutamin durch die Glutamin-Synthetase. Es konnte bei der hepatischen Enzephalopathie in ^{1}H-MRS-Messungen eine Reduktion von Glutamat und damit verbunden eine Erhöhung von Glutamin bestätigt werden (Fitzpatrick, Hetherington et al. 1989; Chamuleau, Bosman et al. 1991; Kreis, Farrow et al. 1991).

myo-Inositol (mI)

Myo-Inositol findet sich im Hirn und in den Nieren (Cerdan, Parrilla et al. 1985). Es zeigt 4 verschiedene Resonanzen bei 3.28 ppm, 3.54 ppm, 3.60 ppm und 4.05 ppm. Insbesondere nach der Geburt ist eine hohe Konzentration an *myo*-

Inositol im Gehirn zu finden, diese reduziert sich jedoch innerhalb weniger Wochen auf eine bis zum Erwachsenalter konstante Konzentration. Seine genaue Aufgabe ist noch nicht bekannt. Das Inositolphosphat spielt eine wichtige Rolle in der intrazellulären Signaltransduktion. Vermutlich regelt es mit Hilfe von Inositol-Diphosphat die intrazelluläre Kalziumkonzentration, indem es die Freisetzung aus intrazellulären Speichern sowie evtl. indirekt die Calciumaufnahme in die Zelle beeinflusst (Berridge and Irvine 1989; Kaftan, Ehrlich et al. 1997). Abhängig vom Alter und der Lokalisation zeigen sich unterschiedliche Konzentrationen für *myo*-Inositol (Grachev and Apkarian 2001). Bei der chronischen hepatischen Enzephalopathie findet sich eine erniedrigte Konzentration an *myo*-Inositol, während sich bei einer Hypernatriämie eine Erhöhung zeigt (Kreis, Farrow et al. 1991).
Bei einer kurzen TE lässt sich zudem auch *scyllo*-Inositol detektieren. Es besitzt zwar eine geringere Konzentration, jedoch weisen alle 6 Protonen die gleiche chemische Verschiebung auf, so dass sich bei 3.35 ppm eine deutliche Resonanz zeigt. Auch dessen Funktion ist noch nicht genau bekannt.

Laktat und Glukose

Da bei der anaeroben Glykolyse die Glukose als Substrat für das entstehende Produkt Laktat fungiert, werden diese beiden Stoffe meist gemeinsam betrachtet.
Es ist zudem bekannt, dass bei einer Ischämie, Hypoxie oder dem Vorliegen eines Tumors die Laktat-Konzentration ansteigt. So stellte die Laktatbestimmung die treibende Kraft für die Entwicklung der lokalisierten, wasserunterdrückten *in-vivo* MRS dar. Das Laktat weist bedingt durch die Kopplung zwischen den Protonen der Methylgruppe und des Methins verschiedene Resonanzen auf.
Aufgrund seiner geringen Konzentration mit 1mM in gesundem Gewebe befindet es sich beinahe unter dem Detektionslimit. So zeigen sich insgesamt bei normaler Spektrallinienbreite in gesundem Gewebe keine oder kaum messbare Signale.

Bei einer Hypoxie, dem Schlaganfall oder Tumoren kann die Laktat-Konzentration auf über 10mM steigen, so dass hier sehr gute Resonanzen erhalten werden können. Für diese Indikationen hat sich die diagnostische Anwendung bereits etabliert.
Die Glukose als Energielieferant für Gehirn und andere Organe ist aufgrund seiner anomeren Eigenschaften nur sehr schwer zu bestimmen. Zusätzlich liegen ihre Resonanzen (zwischen 3 und 4 ppm) in der Nähe der chemischen Verschiebung des Wassers, so dass das Signal von Glukose mit dem Wasser unterdrückt wird. Bei einer kurzen TE von unter 30 ms können Signale der Glukose bei 3.34 und 5.23 ppm erhalten werden.
Weitaus besser kann Glukose mit Hilfe der ^{31}P- und ^{13}C-MRS bestimmt werden.

Makromoleküle und Lipide

Da Makromoleküle und Lipide andere Signale überlagern, sie aber kurze T2-Zeiten haben, wird durch Einsatz langer Echozeiten versucht, ihre Signalbeiträge bei der ^{1}H-MRS zu eliminieren. Bei Ischämien oder Tumoren jedoch kann die Untersuchung des Fettstoffwechsels (Fettfreisetzung während und nach der Ischämie) einen wichtigen Beitrag zur Bestimmung des Zellmembranschadens liefern.

Andere Stoffe

Neben den genannten Metaboliten können prinzipiell auch viele andere Stoffe wie z. B. Asparagin, GABA, Glycin oder Alanin bestimmt werden. Aufgrund von Überlappungen und J-Kopplungs-Phänomenen stellt sich ihre Detektion jedoch als sehr schwierig dar.

2.2.5 MRS-Lokalisationsverfahren

2.2.5.1 Single-Voxel-Spektroskopie (SVS)

Grundsätzlich wird bei der Aufnahme von lokalisierten *in-vivo*-Spektren zwischen der Einzelvolumentechnik (Single-Voxel-Spektroskopie; SVS) und der metabolischen Bildgebung (MRSI / CSI) unterschieden.
Bei der Single-Voxel-Spektroskopie wird durch Anregung einer quaderförmigen Zielregion (Voxel) ein einzelnes Spektrum gemessen, welches die biochemische Zusammensetzung der Zielregion widerspiegelt. Das anhand von kernspintomographischen Bildern ausgewählte Zielvolumen kann nachträglich nicht mehr verändert werden. Sequenzen, die diese Methode nutzen, sind z. B. Stimulated Echo Acquiring Method (STEAM) und Point Resolved Spectroscopy (PRESS). Bei den STEAM-Sequenzen können zwar kürzere Echozeiten erreicht werden, jedoch haben diese im Vergleich zu den PRESS-Sequenzen eine geringere Signalintensität. Grund hierfür sind die unterschiedlichen Flipwinkel der Impulse, die zur Definition eines VOI (Volume of Interest) notwendig sind (Safriel, Pol-Rodriguez et al. 2005).

2.2.5.2 Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging (MRSI / CSI)

Die Magnetresonanz-Bildgebung (MRSI / CSI) stellt eine Weiterentwicklung der Einzelvolumen-Spektroskopie (SVS) dar. Durch den Einsatz von Phasenkodiergradienten ist es bei der MRSI möglich, über eine oder mehrere Schichten bzw. über ein großes Volumen eine Vielzahl von lokalisierten Spektren in einem Messvorgang aufzunehmen. Somit kann nachträglich die Position eines Voxels innerhalb des definierten Bereichs verändert und exakter positioniert werden.

2.2.6 Spektrenauswertung

Verschiedene molekulare Verbindungen ergeben bei der ^{1}H-Spektroskopie ein Gesamtspektrum, so dass nicht ohne weiteres eine Zuordnung der Peaks zu den einzelnen Metaboliten und deren Konzentration möglich ist.

Um den Beitrag jedes Metaboliten zum Gesamtspektrum bestimmen zu können, wird das LCModel-Verfahren (Linear Combination of Model Spectra) angewandt (Provencher 1993; Provencher 2001). Durch Frequenzdomänenanalyse ermöglicht es eine sehr valide Bestimmung der Hirnmetabolite (Mierisova and Ala-Korpela 2001). Anhand von zuvor gemessenen *in-vitro* Modellspektren wird durch Linearkombination versucht, die gemessenen *in-vivo* Spektren zu rekonstruieren. Erhalten werden können diese Modellspektren z. B. dadurch, dass bei identischer Messsequenz zuvor die zu erwartenden Metabolite in bekannter Konzentration einzeln spektroskopisch bestimmt werden und dann mit der *in-vivo* Messung abgeglichen werden. Aufgrund der vollautomatischen Datenverarbeitung wird durch dieses Verfahren eine benutzerunabhängige Auswertung der Daten ermöglicht.

3. Probanden, Patienten und Methoden

Ziel der Arbeit war einerseits herauszufinden, ob bei Verwendung der CSI-Technik (Kap. 2.2.5.2; CSI) und einer geringeren Voxelgröße als bisher üblich, eine Spektrenaufzeichnung innerhalb der Substantia nigra möglich ist. Zudem wurde zur Auswertung der Spektren eine speziell für die CSI-Auswertung entwickelte Software (Kap. 3.3.2.2; CULICH) verwendet.

Darüberhinaus sollten die erhaltenen Metabolitenprofile der verschiedenen Kohorten miteinander verglichen werden. Hierbei wurden die einzelnen Kohorten der Erkrankten (idiopathisch erkrankte Parkinsonpatienten (iPD) und monogenetisch erkrankte (mPD)) mit den Gesunden und anschließend beide untereinander verglichen.

Ebenso sollten die nach TCS-Merkmalen unterscheidbaren Angehörigen (SN^+-A und SN^--A) untereinander und im Vergleich zur gesunden Kontrollkohorte sowie zu den Parkinsonpatienten (iPD und mPD) untersucht werden.

Von Interesse war auch die Frage, ob sich eine „sonographisch hyperechogene SN“ auch in auffälligen Metabolitenmesswerten widerspiegelt.

Die in dieser Arbeit untersuchten Daten wurden zwischen November 2004 und Januar 2007 am Universitätsklinikum Tübingen erhoben, so dass bei Beginn der Arbeit 2005 ein Teil der Rohdaten bereits vorlag (s.u.).

3.1 Probanden und Patienten

Insgesamt wurden die Daten von 53 Probanden und Patienten im Alter zwischen 29 und 81 Jahren in dieser Studie bearbeitet (Tab. 3). Hiervon waren 20 weiblichen und 33 männlichen Geschlechtes, wobei 22 Patienten an einem Morbus Parkinson (PD) vom Äquivalenztyp erkrankt waren und 31 Probanden neurologisch unauffällig waren. Die 22 Patienten wiesen alle eine hyperechogene Substantia nigra auf (Kap. 2.2.1; Hyperechogenität) und konnten in zwei Kohorten, die der idiopathisch Erkrankten (iPD, n=11) und monogenetisch Erkrankten (mPD, n=11) eingeteilt werden. Bei letzteren handelt es sich um Patienten mit den in Tabelle 4 dargestellten Mutationen.

Tab. 3: Altersklassenverteilung der Probanden und Patienten. Dargestellt sind die pro Alterklasse eingeschlossenen Probanden und Patienten.

Alterklasse	Anzahl Probanden und Patienten	
20-29 Jahre	1	-
30-39 Jahre	3	-
40-49 Jahre	8	3
50-59 Jahre	8	4
60-69 Jahre	9	8
70-79 Jahre	2	6
80-89 Jahre	-	1

Bei den 31 gesunden Probanden handelte es sich um 21 gesunde Angehörige (A) von PD-Patienten und 10 gesunde Kontrollpersonen (K). Bei den Angehörigen wurde unterschieden zwischen denen, die in der TCS eine unauffällige Echogenität der Substantia nigra zeigten (SN^- -A, n=10) und denen, die eine Hyperechogenität aufwiesen (SN^+ -A, n=11). Die Kontrollpersonen hatten bzgl. einer Parkinsonerkrankung sowohl eine leere Familienanamnese als auch eine unauffällige Echogenität ihrer Substantia nigra in der TCS. Tabelle 4 zeigt die Alters- und Geschlechtsverteilung sowie bei den Parkinsonpatienten die zu Erkrankungsbeginn dominierende Seite.

Tab. 4: Daten zum Probanden- und Patientenkollektiv. Dargestellt sind die einzelnen Probanden- und Patientenkohorten mit Angabe des Durchschnittsalters, der Geschlechtsverteilung sowie bei den Erkrankten die Angabe der zu Beginn der Erkrankung dominierenden Seite.

	Anzahl	Alter in Jahren		Geschlecht		Seitendominanz zu Erkrankungsbeginn	
	n	Mittelwert	SD	w	m	re	li
iPD	11	63,1	8,5	2	9	7	4
mPD	11	61,0	12,4	6	5	6	5
SN^+ -A	11	46,6	13,5	3	8	-	-
SN^- -A	10	48,0	10,7	6	4	-	-
K	10	62,9	7,9	3	7	-	-

Tab. 5: Mutationen der monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten. Dargestellt sind vier Genloci/Gene für monogenetische Parkinsonerkrankungen und die Anzahl an Patienten, die mit der jeweiligen Mutation in die Studie eingeschlossen wurden.

	PARK2 (Parkin)	PARK6 (Pink-1)	PARK7 (DJ-1)	PARK8 (LRRK2)
Anzahl Patienten	2	2	1	5

Die in dieser Arbeit verwendeten Daten der 53 Studienteilnehmer lagen wie bereits erwähnt z. T. bereits als Rohdaten aus anderen Studien vor. Hierbei handelte es sich um den neurologischen Status, die sonographisch bestimmte Größe der Substantia nigra und die spektroskopischen Rohdaten von 22 Parkinsonpatienten und 11 Angehörigen.

Im Rahmen dieser Studie wurden weitere 10 Angehörige von Parkinsonpatienten sowie 10 gesunde Kontrollen neu rekrutiert und neurologisch untersucht. Mittels transcranieller Sonographie (Kap. 2.2.1) wurde die Größe der SN vermessen und anhand der Hyperechogenitäts- und Größenmerkmale in die Gruppen sonographisch unauffällige Substantia nigra (SN^-) und auffällige SN (SN^+) eingeteilt. Von diesen 20 Studienteilnehmern wurden zudem die Hirnmetaboliten-Rohdaten mittels Magnetresonanz-spektroskopie (^{1}H-MRS) bestimmt.
Bei allen 53 Studienteilnehmern wurde mit Hilfe des Auswertungsprogammes CULICH nachträglich manuell für jede SN-Seite ein Voxel in die pars compacta der SN positioniert, so dass 106 Spektren erhalten wurden. Dies ermöglichte es, Metabolitenmesswerte aus der SN mit möglichst wenig Umgebungsgewebe zu erhalten. Die so von allen Studienteilnehmern erhaltenen Metabolitenmesswerte konnten anschließend statistischen Analysen unterzogen werden.

3.2 Ablauf der Studie

Die Studienteilnehmer wurden über Art, Umfang und evtl. Auswirkungen der geplanten Untersuchungen von medizinischem Fachpersonal (Ärzte oder Radiologisch Technische Assistenten) aufgeklärt und erklärten sich mit der Durchführung der Studie schriftlich einverstanden.

1) Alle 20 neu rekrutierten Probanden wurden mit besonderem Schwerpunkt auf die Frage, ob Hinweise für ein Parkinson-Syndrom vorlagen, neurologisch untersucht.

2) Anschließend wurde zur Bestimmung der Echogenität der Substantia nigra eine transcranielle Untersuchung des Hirnstammes durchgeführt (Kap. 2.2.1; Transcranielle Sonographie) und in die Kohorten mit auffälliger oder unauffälliger SN eingeteilt.

3) Danach erfolgte eine kernspintomographische Untersuchung des Kopfes mit CSI-Messungen (Kap. 2.2.4; ^{1}H-MRS) im Bereich des Hirnstammes auf Höhe der Substantia nigra (VOI 8 x 8 x 1,5cm, Voxelgröße 1 x 1 x 1,5 cm).

4) Zuletzt wurden die erhaltenen Messdaten gemeinsam mit den bereits vorliegenden Spektroskopie-Rohdaten mit Hilfe spezieller Software (CULICH, Matlab und LCModel, Kapitel 2.2.6; Spektrenauswertung, Kapitel 3.3.2.2; Verarbeitung der Messdaten) weiterverarbeitet. Dies beinhaltete für alle 53 Studienteilnehmer die manuelle Positionierung je eines Voxels auf die rechte und linke SN pars compacta. Die daraus erhaltenen Daten wurden anschließend ausgewertet und statistisch analysiert.

3.3 Durchführung der apparativen Untersuchungen

3.3.1 Transcranielle Sonographie

Hierfür wurde ein Ultraschallgerät von Siemens (Allegra) verwendet. Bei der Untersuchung saß der Proband in halbaufrechter Position; der Kopf kam mit Blick nach vorne auf einer Kopfstütze zum Liegen. Zur Messung wurde die mit Kontaktgel versehene Ultraschallsonde nacheinander an beide Seiten des Kopfes auf Höhe der Schläfenregion angesetzt. Mit Hilfe von leichten Auf- und Abwärtsbewegungen wurde eine zur Beurteilung der SN optimale Schnittebene ermittelt und die hyperechogene Fläche vermessen. Ab einer Fläche von 0.20 cm^2 wurde die SN als hyperechogen, bzw. in diesem Fall als auffällig (SN^+) definiert (2.2.1; TCS)

3.3.2 Kernspintomographie

Die Messungen erfolgten mit Hilfe des Ganzkörpertomographen Magnetom AVANTO der Firma Siemens (Erlangen, Deutschland). Es handelt sich hierbei um einen routinemäßig für diagnostische Zwecke eingesetzten Tomographen mit einer Feldstärke von 1,5 Tesla (T).

Vor der Messung wurden die Probanden und Patienten über den Ablauf der Untersuchung, Kontraindikationen, wie z. B. ferromagnetisches Material im/am Körper und evtl. Nebenwirkungen aufgeklärt. Anschließend legten sich die Studienteilnehmer mit dem Rücken auf die Liege des Tomographen, wobei der Kopf durch die Kopfspule fixiert wurde. Die Untersuchung dauerte ungefähr eine Stunde und musste lediglich bei einem Probanden (gesunde Kontrolle) abgebrochen werden. In diesem Fall zeigten sich bei Anlegen des Magnetfeldes metallische Strukturen im Frontalhirn, die offenbar von einer Kriegsverletzung herrührten. Der Proband hatte bis zu diesem Zeitpunkt keine Kenntnis hiervon gehabt.

3.3.2.1 Messprotokoll

Zunächst wurde eine transaxiale Schicht auf Höhe der Substantia nigra mittels einer 9 Sekunden dauernden Scout-Aufnahme ausgewählt. Dieses Schnittbild diente der ersten Orientierung sowie der Auswahl des Winkels der nachfolgenden Sequenzen.

Die folgende 2D-Turbospinecho-Sequenz (TSE) war für die Lokalisierung der zu messenden Untersuchungsregion in drei Ebenen notwendig. So wurde die Schnitthöhe in der Ebene der Substantia nigra positioniert. Die Echozeit betrug 94 ms bei dieser eine Minute dauernden Sequenz, die Repetitionszeit 4000 ms. Es wurden 19 Schichten gemessen, wobei das Field of View (FOV) 230 x 230 mm, die Auflösungsmatrix 256 x 256 und die Schichtdicke 5 mm betrugen. Es wurden 2 Mittelungen (Averages) durchgeführt.

Als nächstes wurde nach vier Vorbereitungsscans die CSI-Sequenz mit einer Echozeit von 30 ms und einer Repetitionszeit von 1500 ms durchgeführt. Dabei wurden 6 Mittelungen benötigt. Das FOV betrug 160 x 160, das tatsächliche Anregungsvolumen war noch 80x80 mm groß. Die Schichtdicke betrug 15 mm, die Auflösungsmatrix wieder 16 x 16 bei einer Voxelgröße von 1 x 1 x 1,5 cm.

Zur Sättigung des Wassersignals wurde ein Impuls mit einer Bandbreite von 35 Hz angelegt. Da die CSI-Sequenz mit einer gewichteten Phasenkodierung ablief, dauerte diese Messung 9,5 Minuten.

Das resultiernde VOI wurde mittels eines Programmes zur Weiterbearbeitung der Spektren (Kap. 3.3.2.2; CULICH) durch ein Raster in 256 Felder untergliedert, in welchem später die Voxel manuell positioniert werden konnten. Innerhalb dieses Rasters lag das Messvolumen, die ROI, dessen Größe 8 x 8 cm betrug. Alle für diese Fragestellung entscheidenden Strukturen befanden sich innerhalb der ROI. Die Regionen außerhalb würden sich für Messungen weniger eignen, da hier störende Einflüsse von anderen Gewebearten wie z. B. Knochen oder Luft zu erwarten wären.

3.3.2.2 Verarbeitung der Messdaten

Die spektrokskopischen Rohdaten wurden nach der Messung vom Messgerät aus auf eine externe Workstation der Sektion für experimentelle Kernspinresonanz des ZNS des Universitätsklinikums Tübingen transferiert. Von hier aus konnten die Daten mit Hilfe eines neuen, eigens für diese Art der Spektroskopie-Auswertung entwickelten Programmes Namens CULICH weiterverarbeitet werden (Tab. 7). Es ermöglicht eine nachträgliche Verschiebung der Voxel innerhalb eines definierten Bereiches, wodurch eine genauere Positionierung auf anatomische Strukturen möglich ist (Abb. 7, 8) (Jiru, Skoch et al. 2006). Zur Durchführung der Auswertungen wurde das unter dem Betriebssystem Linux arbeitende Programm Matlab benötigt.

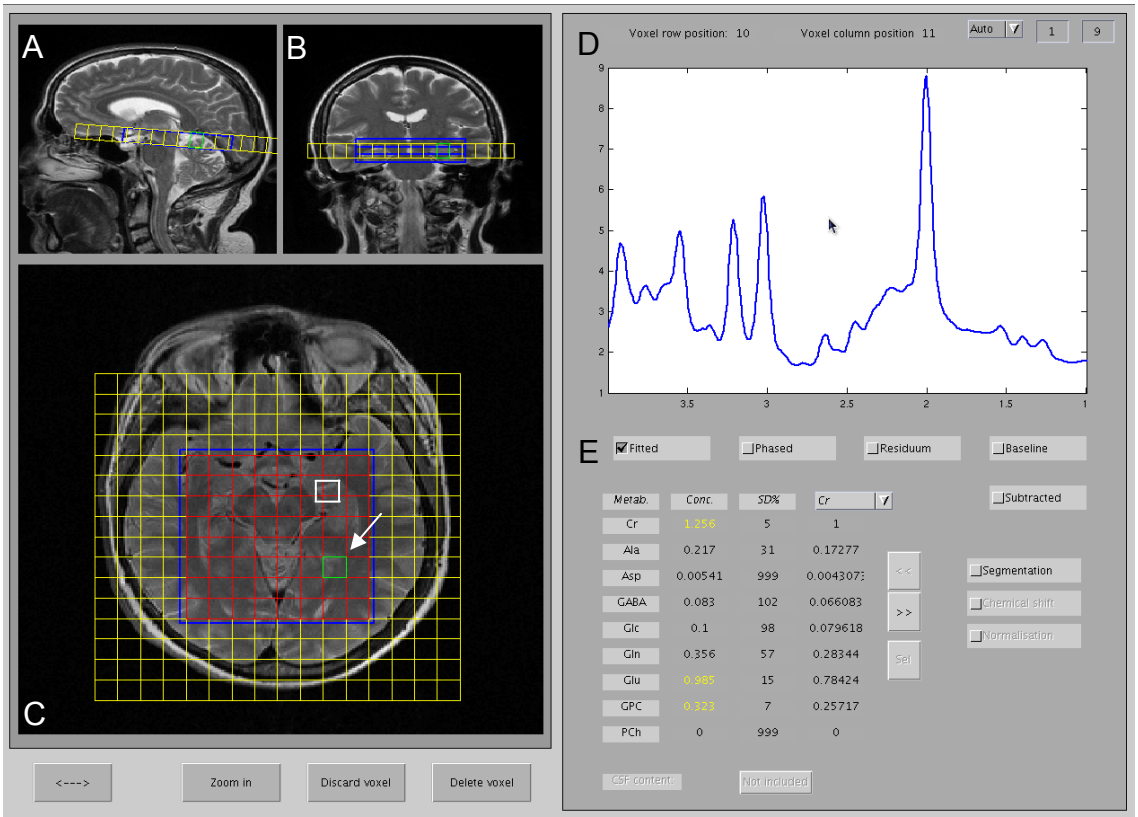

Abb. 7: Ausgabefenster im CULICH-Programm. In der linken oberen Bildhälfte ist die saggitale (A) sowie coronare (B) Scout-Aufnahme des Gehirns zur Bestimmung der Messregion eines Patienten dargestellt. Darunter ist das axiale Schnittbild (C) auf Höhe der SN mit dem gelben Voxelgitternetz zu sehen. Die blau umrahmte Region stellt die ROI (8cm x 8cm) dar. Innerhalb dieser befinden sich die einzelnen Voxel (rot, 1,5cm^3), von denen jeweils Spektren ausgewertet werden können. Für das weisse Messvoxel (angedeutet durch Pfeil) im Bereich der weissen Substanz ist auf der rechten Seite das zugehörige Spektrum (D) mit den entsprechenden Metabolitenmesswerten (E) dargestellt. Messwerte in gelb weisen eine Standardabweichung von max. 20 % und wurden somit als auswertbar definiert.

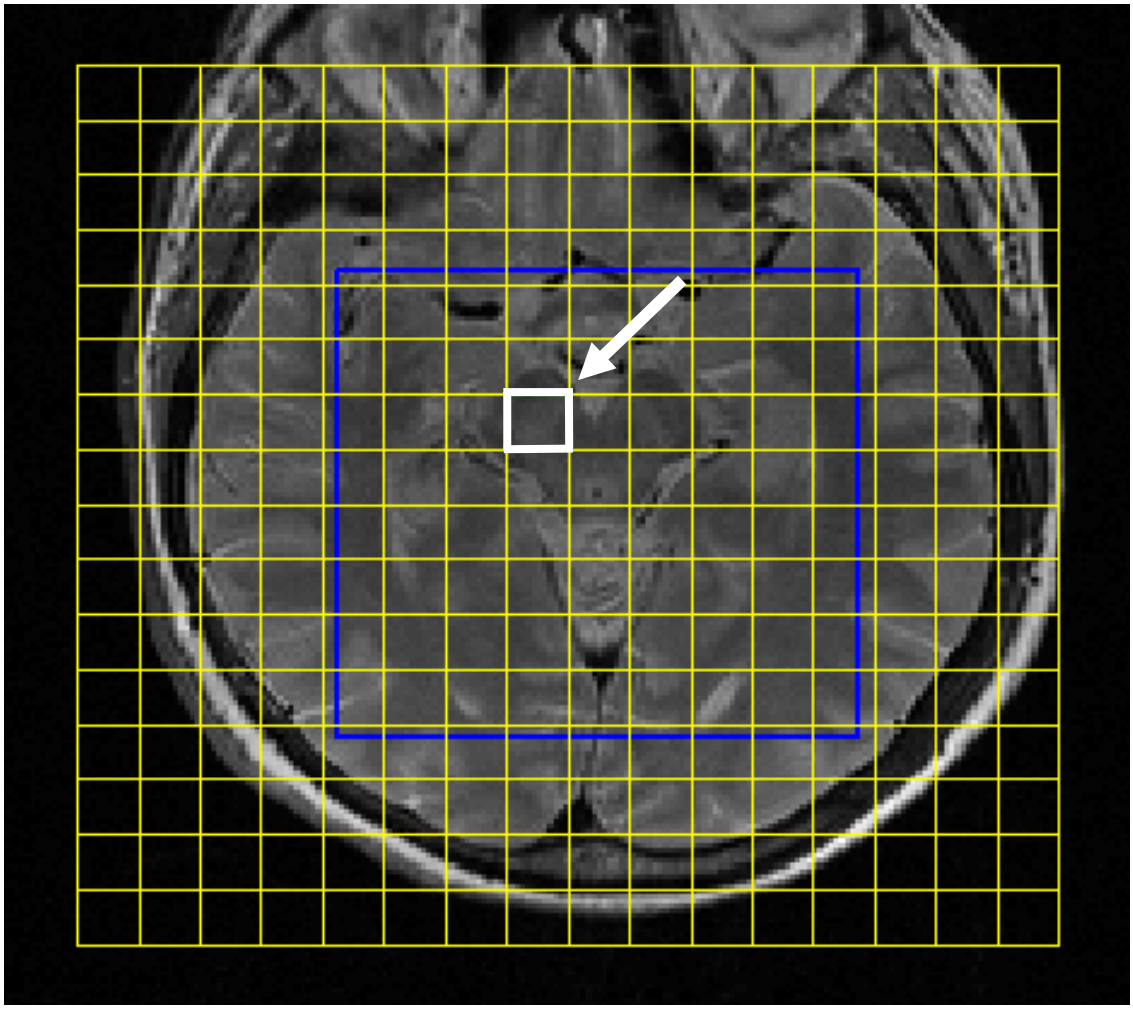

Abb. 8: Voxelpositionierung in der Substantia nigra pars compacta. Vom Ausgangsbild 7C wurde durch Verschieben des Voxelgitternetzes ein Voxel innerhalb des ROIs auf die SN pars compacta verschoben (weisses Voxel mit Pfeil).

3.3.3 Gemessene Hirnmetabolite

Folgende Metabolite wurden in den spektroskopischen Messungen ausgewertet:

1) Kreatin (**Cr**)
2) Glutamat (**Glu**)
3) Glutamat und Glutamin **(Glx)**
4) Glycerophosphorylcholin **(GPC)**
5) *Myo*-Inositol (***m*I**)
6) N-Acetyl-Aspartat (**NAA**)
7) N-Acetylaspartylglutamat **(NAAG)**

Die Konzentration der Metabolite wird normalerweise in mM angegeben. Die in dieser Studie mit Hilfe des LCModels bestimmten Konzentrationen erlauben lediglich untereinander einen validen Vergleich, so dass im Folgenden lediglich die Absolutwerte bzw. Verhältniswerte ohne Einheit angegeben werden. Da die Konzentration des Metaboliten Kreatin sowohl bei Gesunden als auch bei den meisten cerebralen Erkrankungen als relativ konstant angesehen wird, kann Kreatin als Referenzwert genutzt werden. In dieser Studie wurde daher neben den Absolutwerten der einzelnen Metabolite auch der Verhältniswert zu Kreatin analysiert.

3.3.4 Auswertung der Daten

Die statistische Auswertung aller in dieser Studie erhaltenen Daten wurde mit Hilfe des Statistikprogammes SPSS durchgeführt. Hierbei kamen verschiedene Testverfahren wie z. B. ANOVA für die Mittelwertvergleiche und der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest für die Umgebungsrechnungen zur Anwendung. Zur gezielten Alters– und Geschlechtsabhängikeitsanalyse wurde der Kruskall-Wallis und Post hoc Mann-Whitney U-Test sowie die Pearson Korrelation verwendet. Die Abbildungen wurden entweder mit Hilfe des Programms SPSS oder Excel angefertigt.

4. Ergebnisse

4.1 Qualität der Spektren

Die Qualität der durch MRSI gewonnenen Spektren ist ausschlaggebend für eine valide *in-vivo* Bestimmung der Hirnmetabolite. Ein wichtiges Kriterium hierbei ist die Auswertbarkeit der Spektren.

Ein Spektrum wird hier als auswertbar definiert, wenn der Kreatin-Peak vom Cholin-Peak separiert werden konnte.
Bei allen 106 in dieser Studie untersuchten Spektren war dieses Kriterium erfüllt. Abbildung 9 zeigt exemplarisch das Spektrum der rechten SN eines Probanden. Die beiden Peaks für Kreatin und Cholin sind deutlich voneinander abgrenzbar.

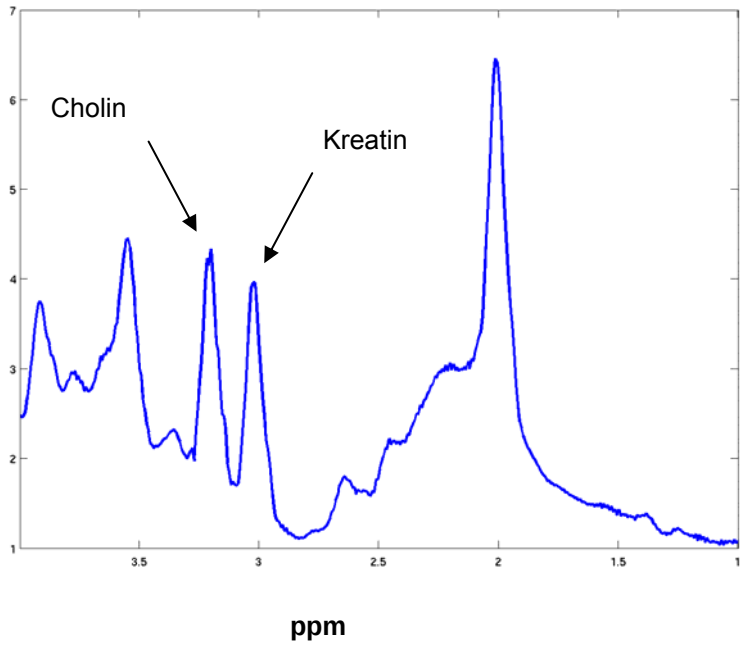

Abb. 9: Beispiel eines auswertbaren MRI-Spektrums eines Probanden. Die beiden mit Pfeil markierten Kurven zeigen die separierbaren Cholin- und Kreatin-Peaks.

4.2 Messbarkeit der Metabolite

Das CULICH-Programm zur Verarbeitung der Spektren (Kap. 3.3.2.2; CULICH) definiert einen Metabolitenmesswert mit einer Standardabweichung über 20 %

als nicht messbar. Um eine Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden, wurden diese Messwerte aus den Berechnungen genommen. Im Nachfolgenden wird aufgezeigt, wie oft Messwerte insgesamt und innerhalb der Kohorten nicht messbar waren.

4.2.1 Messbarkeit der Einzelspektren

Von 53 Patienten und Probanden wurde jeweils ein Spektrum der SN im rechten sowie im linken Hirnstamm-Schenkel aufgezeichnet. Es ergaben sich somit 106 Einzelspektren. Aus diesen wurden die Konzentrationen von jeweils 7 neuronalen Metaboliten berechnet (Kap. 3.3.3; Gemessene Hirnmetabolite), so dass schließlich 742 Messwerte vorlagen.
Konnten alle 7 Metabolite eines Spektrums bestimmt werden, wurde dies als vollständig messbares Spektrum definiert; dies traf für 62,3 % der Spektren zu. Ein einzelner Metabolit war bei 17,9 % nicht messbar sowie zwei Metabolite bei 19,8 % aller Spektren (Abb.10).

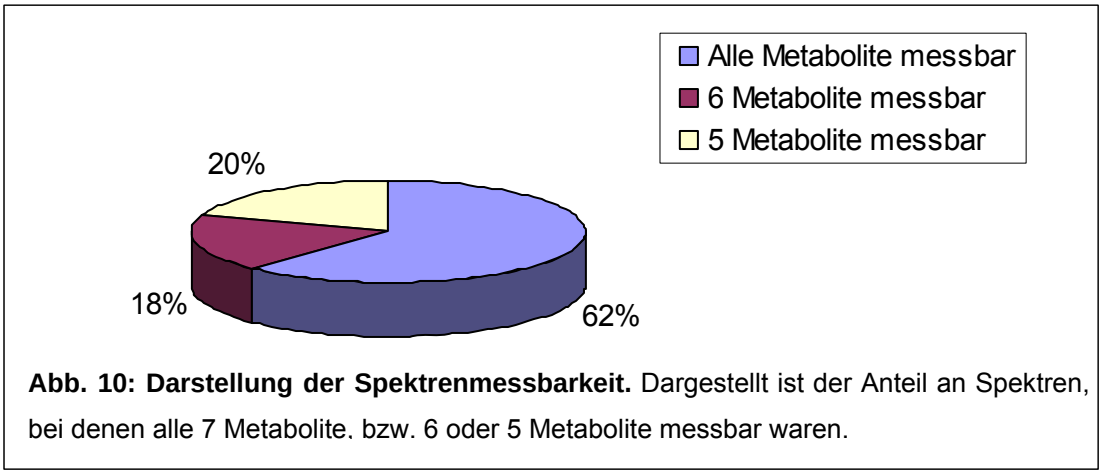

Abb. 10: Darstellung der Spektrenmessbarkeit. Dargestellt ist der Anteil an Spektren, bei denen alle 7 Metabolite. bzw. 6 oder 5 Metabolite messbar waren.

Ingesamt waren von den 742 bestimmten Metaboliten 58 (7,8 %) nicht messbar und mussten aus der Wertung genommen werden. Hierbei fand sich unabhängig von der Kohorte eine Häufung bestimmter Metabolite. So waren die Messwerte für Glx zu 26,42 %, gefolgt von Glu und GPC mit 16,04 % bzw. 6,6 % nicht messbar. Lediglich 5,66 % der NAA-Messwerte konnten nicht verwertet werden. Werte für Kreatin, *m*I und NAAG konnten dagegen in allen Spektren bestimmt werden.

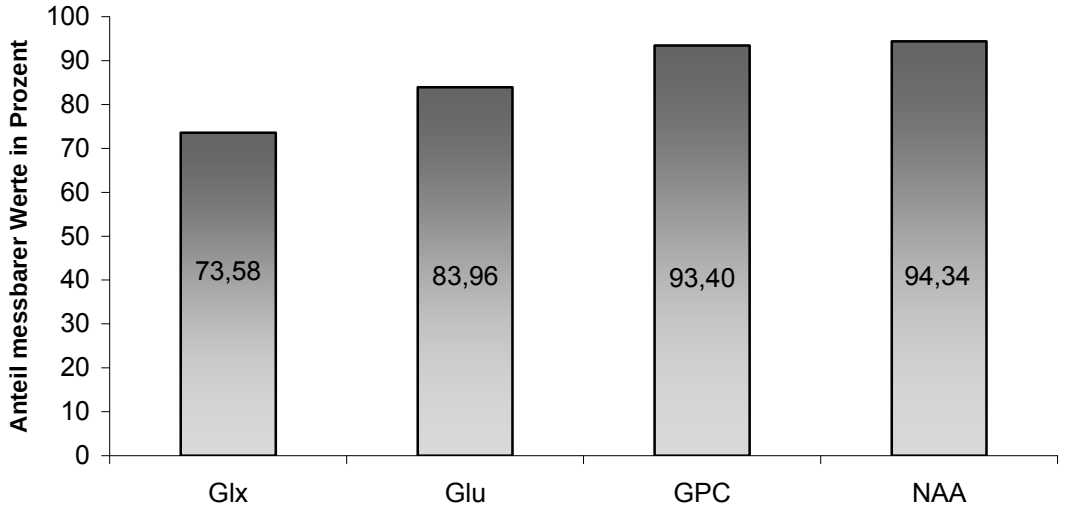

Abb. 11: Anteil der messbaren Werte einzelner Metabolite. Dargestellt sind die vier am häufigsten nicht messbaren Metabolite. Der jeweilige Anteil an messbaren Werten ist in Prozentzahlen angegeben.

4.2.2 Messbarkeit innerhalb der Kohorten

Zwischen den einzelnen Kohorten zeigten sich Unterschiede bzgl. der vollständigen Messbarkeit eines Spektrums. So konnten bei den iPD mit 45,5 % bei weniger als der Hälfte der Spektren alle sieben Metabolitenwerte gemessen werden, während bei den mPD mit 72,7 % beinahe dreiviertel aller Spektren vollständig messbar waren. Die SN^+-Angehörigen unterschieden sich mit 54,5 % deutlich von den SN^--Angehörigen mit 75 % vollständig messbaren Spektren. Bei den gesunden Kontrollen konnten in 65 % der Spektren alle 7 Metabolite gemessen werden (Tab. 6).

Tab. 6: Vollständig messbare Spektren innerhalb der Kohorten. Dargestellt sind die einzelnen Kohorten mit dem Anteil der vollständig messbaren Spektren bezogen auf die jeweiligen gemessenen Spektren.

	iPD	**mPD**	**SN^+-A**	**SN^--A**	**K**
gemessene Spektren	22	22	22	20	20
davon vollständig messbar (%)	10 (45,5)	16 (72,73)	12 (54,6)	15 (75)	13 (65)

4.3 Einflussgrößen auf die Metabolitenmesswerte

Für die Untersuchung eines möglichen Einflusses des Alters oder Geschlechts auf die Metabolitenmesswerte wurden SN^- -Angehörige mit den gesunden Kontrollen (K) zu einer Gruppe (SN^--AK) zusammengefasst. Die SN^+ -Angehörigen wurden als eigenständige Gruppe beibehalten. Die monogenetisch erkrankten Patienten wurden mit den idiopathisch erkrankten zur Gesamtgruppe der Erkrankten als PD zusammengefasst.
Neben dem Alter und Geschlecht stellt aufgrund der geringen Größe der SN auch die Positionierung des Voxels eine mögliche Einflußgröße auf die gemessenen Intensitätswerte der Metabolite dar. Daher wurden Umgebungsmessungen durchgeführt (Kap. 4.3.2; Voxelposition). Des weiteren wurden die Messwerte beider Seiten miteinander verglichen.

4.3.1 Alter und Geschlecht

Um Einflüsse der Geschlechts- und Altersverteilung zwischen den Gruppen auf die Metabolitenmesswerte zu analysieren, wurden diese auf Unterschiede in Alter und Geschlecht untersucht. Dabei zeigten sich zwischen den jeweiligen Kohorten (PD, SN^+ -A, SN^- -AK) hinsichtlich des Geschlechts keine signifikanten Unterschiede. Dagegen fand sich bei der Untersuchung der Altersverteilung nach p-Wert-Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni (3 Kohorten, sign. p-Wert < 0,017) zwischen der Gruppe der SN^+- Angehörigen (46,6 Jahre; +/- 13,5 Jahre) und der PD-Patienten (62,1 Jahre; +/- 10,1) ein signifikanter Altersunterschied (p=0,011).

Zur Überprüfung einer Abhängigkeit der Metabolitenmesswerte vom Alter und Geschlecht wurden Korrelationsanalysen ohne Berücksichtigung der Gruppenzugehörigkeit durchgeführt.

- Diese ergaben bei den Absolutwerten lediglich für NAA und NAAG auf der rechten Seite eine signifikante inverse Korrelation mit dem Alter (R= -0,313, p=0,046 bzw. R= -0,400, p=0,009). Bei Analyse der

entsprechenden Verhältniswerte zu Kreatin zeigte sich jedoch für keinen Metaboliten eine Abhängigkeit vom Alter.

- In der Analyse zum Einfluß des Geschlechts der Probanden auf die Metabolitenmesswerte ergab sich weder für die absoluten Messwerte, noch für die Verhältniswerte zu Kreatin eine Korrelation zum Geschlecht.

4.3.2 Voxelposition

Der Einfluß der Voxelpositionierung innerhalb der SN auf die Intensitätswerte der Metabolite sollte an einem Patienten anhand von sechs Umgebungsmessungen, im Abstand von 1-2 mm in horizontaler und vertikaler Richtung (Abb. 13) um ein zuvor definiertes Ursprungsvoxel (zentral in der Pars compacta der SN) untersucht werden (Abb. 12).

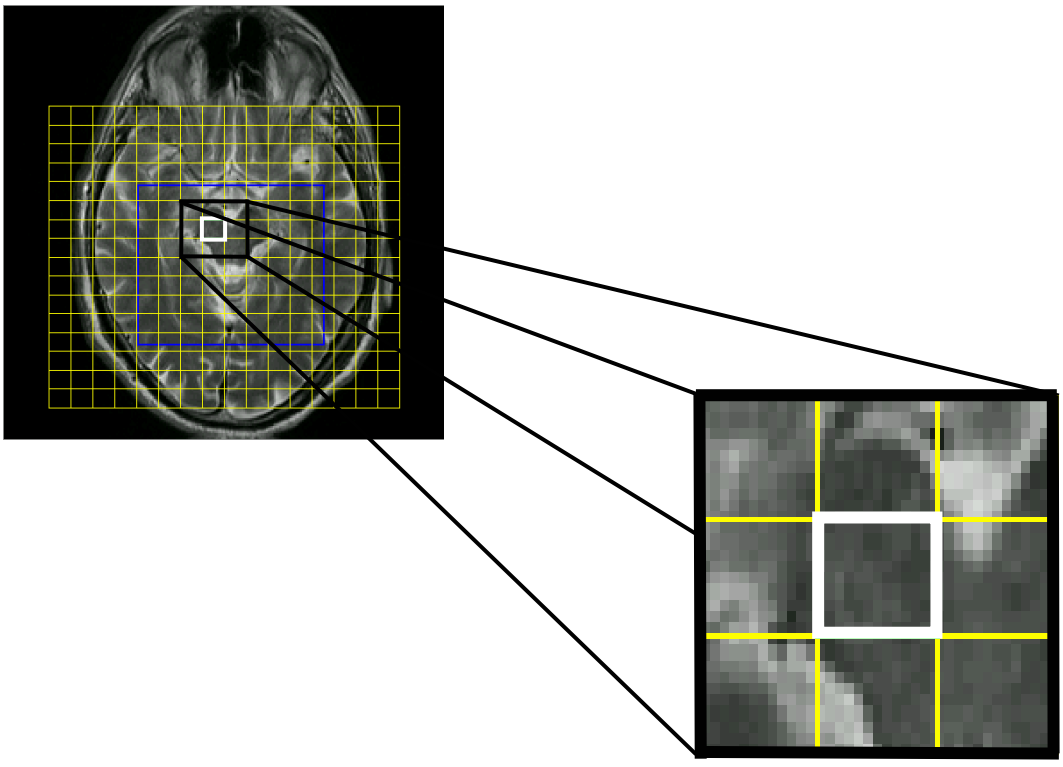

Abb. 12: Voxelpositionierung in der Substantia nigra im Culich-Progamm. Im linken Bild dargestellt ist ein axiales Schnittbild des Kopfes einer Patientin auf Höhe der SN, in der Mitte ist deutlich der Hirnstamm in Form eines Schmetterlings zu erkennen. Das rechte Bild zeigt die Vergrößerung der im linken Bild schwarz markierten Region. Das kleine Kästchen kennzeichnet die Position des Voxels innerhalb des rechten Hirnstammschenkels in der pars compacta der SN.

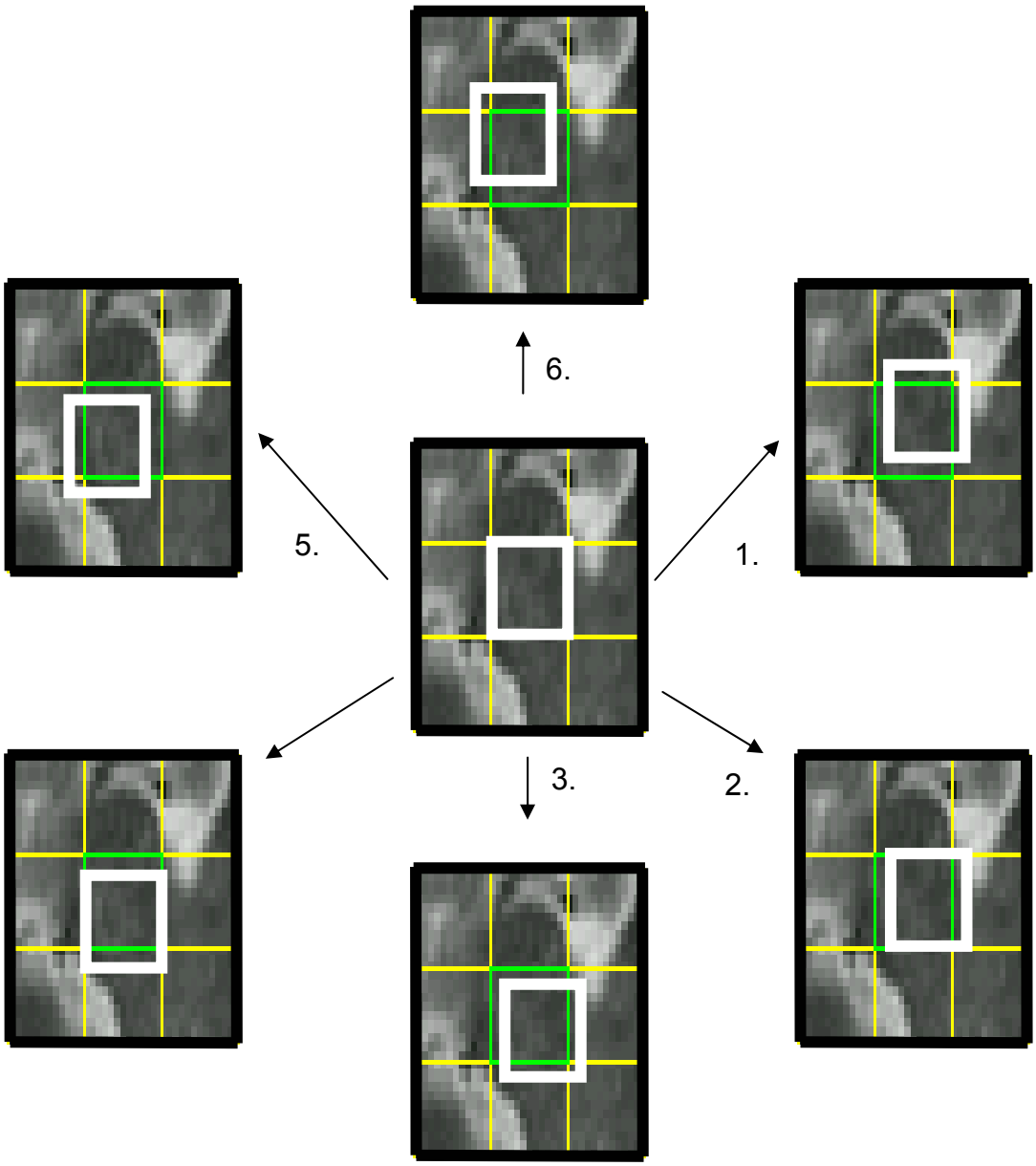

Abb. 13: Positionierung der sechs Umgebungsvoxel. Das mittlere Bild zeigt die Position des Ursprungsvoxels im rechten Hirnstammschenkel in der SN pars compacta (s. auch Abb. 12). Um dieses Bild gruppiert sind Abbildungen der sechs neuen Positionierungen zu sehen. Diese entstehen durch Verschiebungen von jeweils 1-2 mm im Uhrzeigersinn um das Ursprungsvoxel herum.

In der nachfolgenden Tabelle sind die für die jeweiligen Verschiebungen (1-6) gemessenen Metabolitenwerte aufgelistet. Hierbei zeigte sich je nach Lokalisation des Voxels eine Streuung zwischen 1 % (Kreatin) und 7 % (NAA) um die Messwerte des Ursprungsvoxels. Hierbei wiesen die Metabolitenwerte der Messungen 2) und 3), welche sich am nahesten zur Mittelhirnraphe befinden, die größte Abweichung vom Ursprungsvoxel auf. Einflüsse aus dem umgebenden Gewebe scheinen hier größer zu sein.

Tab. 7: Messwerte des Ursprungsvoxels und der sechs Umgebungsmessungen mit Streubreite am Beispiel der rechten SN einer Patientin. Dargestellt sind die sieben Metabolitenmesswerte des Ursprungsvoxels (UV) und der sechs Umgebungsmessungen (UM) mit minimal und maximal vom Ursprungsvoxel abweichenden Werten bzw. in Klammern die Streubreite (SD) in Prozent. Fehlende Werte (-) resultieren aus Messwerten mit einer Standardabweichung von über 20 %.

Rechte SN	Kreatin	Glu	GPC	*m*I	NAA	N+N	Glx
UV	**0,953**	**-**	**0,384**	**0,953**	**1,642**	**1,642**	**-**
1. UM	0,944	-	0,384	0,924	1,624	1,624	-
2. UM	0,994		0,395	0,991	1,756	1,756	-
3. UM	0,988	-	0,384	0,994	1,683	1,683	-
4. UM	0,997	-	0,374	0,987	1,647	1,647	-
5. UM	1,030	0,964	0,385	0,960	1,715	1,715	-
6. UM	0,956	-	0,379	0,949	1,618	1,618	-
Min (Abw. v. UV)	0,944 (1 %)	-	0,384 (3 %)	0,924 (3 %)	1,618 (1,5 %)	1,618 (1,5 %)	-
Max (Abw. v. UV)	0,994 (4,8 %)	-	0,395 (5 %)	0,994 (4 %)	1,756 (7 %)	1,756 (7 %)	-

Seitenvergleich der Messwerte

Zudem wurden für alle Probanden und Patienten die 7 Metabolitenmesswerte der rechten Seite mit denen der linken Seite verglichen.

- Die Messwerte für Glu, Kreatin, GPC, *m*I, NAAG und Glx zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen rechter und linker Seite.
- Sowohl die Absolutwerte als auch die Verhältniswerte für NAA der rechten und linken Seite wiesen signifikante Unterschiede auf, die nach Bonferroni-Korrektur für mulitples Testen (7 Metabolite; Signifikanz bei $p < 0{,}007$, bzw. 6 Verhältniswerte; Signifikanz bei $p < 0{,}008$) nur noch tendenziell vorhanden waren.

4.4 Vergleich der unterschiedlichen Kohorten

4.4.1 Echogenität der Substantia nigra und Metabolitenmesswerte

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die durch TCS erhaltenen Daten der Substantia nigra (SN) des rechten und linken Hirnstammschenkels von 10 Angehörigen anhand der bereits beschriebenen Kriterien (Kap. 3.1; Probanden und Patienten, Kap. 2.2.1; TCS) in die Kategorie SN^+ und SN^- eingeteilt. Hierbei fanden sich 3 SN^+ - und 7 SN^- -Angehörige. In der gesunden Kontrollkohorte befanden sich nur Probanden der SN^- -Kategorie.
Die Werte über die sonographische Größe der SN der Parkinsonpatienten und 11 Angehörigen wurden aus Vorarbeiten übernommen. Hierbei gehörten die Parkinsonpatienten (PD) der Kategorie der SN^+ an, bei den 11 Angehörigen handelte es sich um 8 SN^+ - und 3 SN^- -Angehörige.

Nachstehend ist die Streubreite der sonographisch ermittelten SN-Größe für die einzelnen Gruppen dargestellt (Abb. 14). Idiopathische und monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten sowie die SN^+ -Angehörigen wiesen SN-Größenwerte zwischen 0,14 cm^2 bis 0,34 cm^2 auf. Sonographisch unauffällige Angehörige und Kontrollen wiesen Werte zwischen 0,07 cm^2 und 0,18 cm^2 auf.

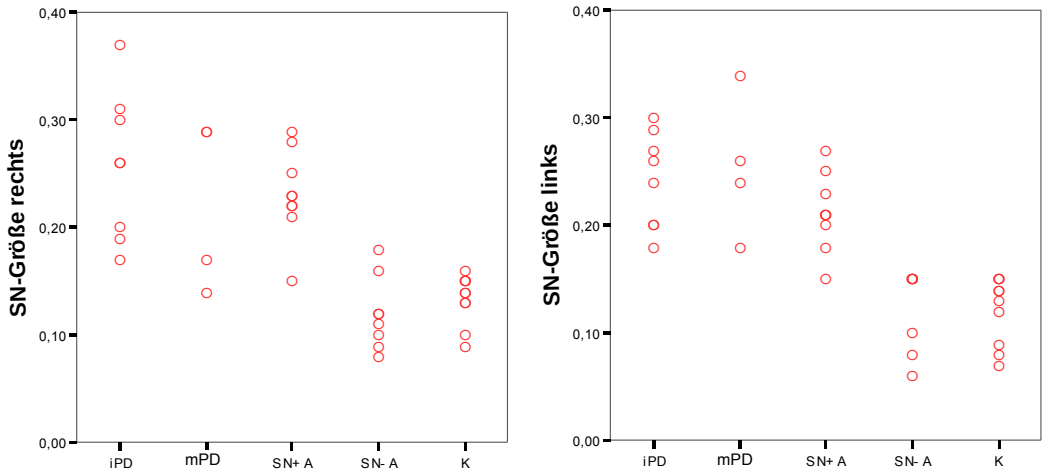

Abb. 14: Sonographische SN-Größen der einzelnen Kohorten. Dargestellt sind die sonographisch ermittelte Größe der rechten SN (linkes Diagramm) und linken SN (rechtes Diagramm) der einzelnen Kohorten.

Im Folgenden wurde analysiert, ob die sonographisch bestimmte Größe der SN in Zusammenhang mit den spektroskopisch gemessenen Metabolitenwerten steht (Kap. 3.3.3; Gemessene Hirnmetabolite). Da nur die drei Metabolite Kreatin, NAA und GPC Unterschiede zwischen Kranken und Gesunden zeigten (Kap. 4.4.2.1; Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen), wurden nur sie für diese Analyse herangezogen (Abb. 15).

Nach Gegenüberstellung zeigt sich für keinen der drei Metabolite ein Zusammenhang zwischen Größe der SN und Höhe der Metabolitenmesswerte.

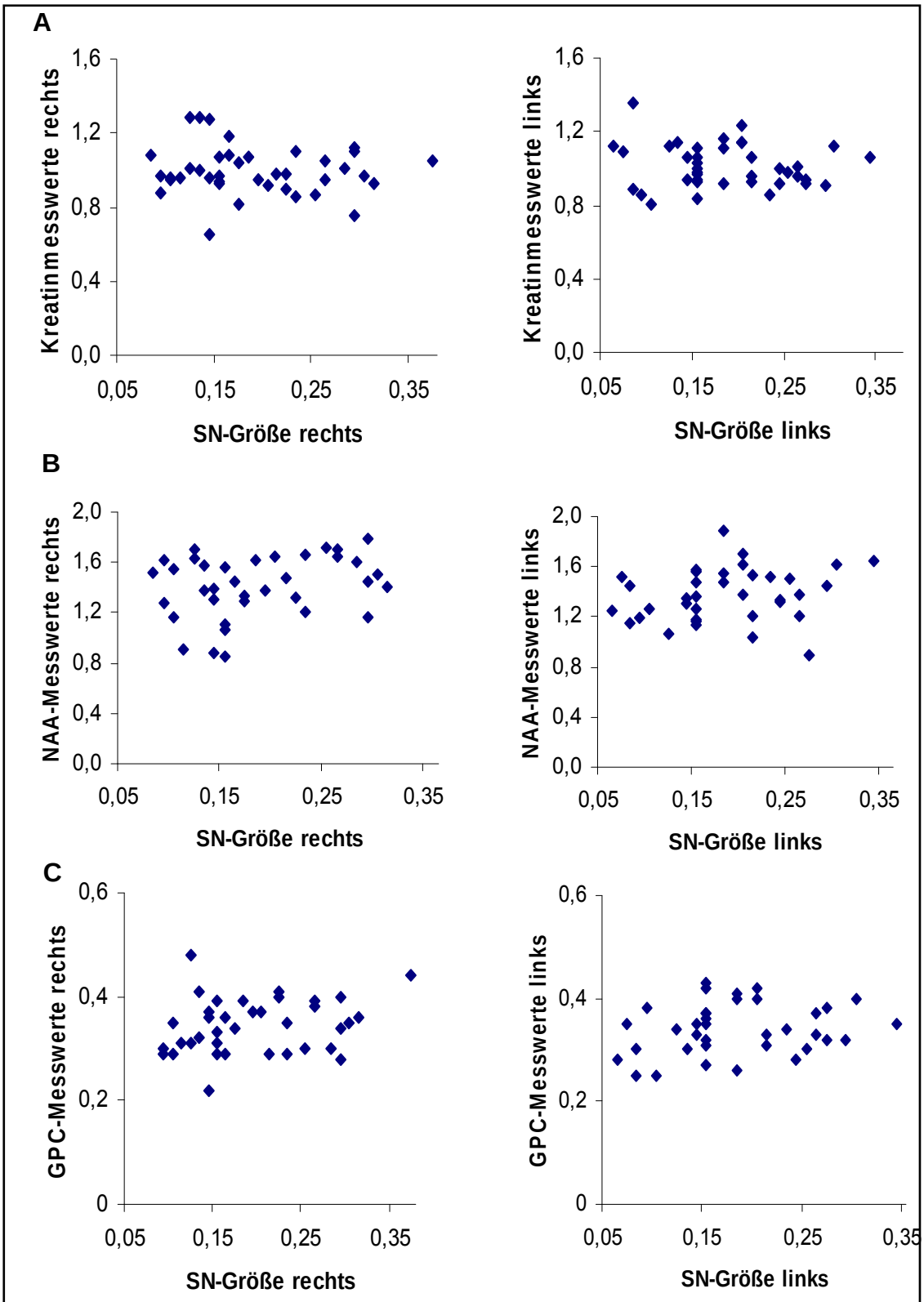

Abb. 15: Sonographisch ermittelte SN-Größen (rechts bzw. links) der Probanden und Patienten mit den für die entsprechende Seite gemessenen Metabolitenabsolutwerten. Auf der x-Achse dargestellt die sonographisch ermittelten SN-Größen der Probanden sowie auf der y-Achse die entsprechenden Metabolitenwerte. In der linken Seitenhälfte sind die Werte für die reche Seite sowie im rechten Teil die Werte für linke Seite aufgetragen. Die Abbildung A) zeigt die Grafiken für den Metaboliten Kreatin, B) für GPC und C) für NAA.

4.4.2 Gruppenvergleiche der Metabolitenmesswerte

Nachfolgend wurden die Metabolitenwerte definierter Kohorten miteinander verglichen. Hierbei handelte es sich um folgende Gegenüberstellungen:

- idiopathisch erkrankte Parkinsonpatienten (iPD) vs. Kontrollen
- monogenetisch erkrankte Parkinsonpatienten (mPD) vs. Kontrollen
- monogenetisch erkrankte Parkinsonpatienten (mPD) vs. idiopathisch erkrankte Parkinsonpatienten (iPD)
- Kontrollen vs. Angehörige (SN^+ -A, SN^- -A)
- SN^+-Angehörige vs. Erkrankte (iPD, mPD).

Eine Übersicht der gemessenen Metabolitenmesswerte sowie Verhältniswerte zu Kreatin der einzelnen Kohorten sind in Tab. 8a bzw. 8b dargestellt. In den folgenden Analysen (ab Tab.9) werden Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Tab. 8a: Mittelwerte der Metabolitenkonzentrationen der einzelnen Kohorten. Dargestellt sind die fünf untersuchten Kohorten mit den Messwerten für alle sieben Metabolite, getrennt nach Seiten.

Metaboliten-konzentrationen	iPD	mPD	SN^+- A	SN^- -A	K
Kreatin-re	0,922	1,045	0,980	1,038	0,974
Kreatin-li	1,007	1,025	0,966	1,016	1,005
Glu-re	1,340	1,468	1,426	1,397	1,384
Glu-li	1,395	1,477	1,408	1,425	1,413
GPC-re	0,355	0,370	0,338	0,354	0,319
GPC-li	0,366	0,354	0,330	0,326	0,330
***m*I-re**	0,839	0,946	0,874	0,957	0,881
***m*I-li**	0,934	0,940	0,824	0,897	0,869
NAA-re	1,417	1,413	1,529	1,533	1,186
NAA-li	1,481	1,445	1,341	1,392	1,278
NAAG-re	1,632	1,656	1,730	1,851	1,610
NAAG-li	1,739	1,708	1,663	1,681	1,673
Glx-re	1,708	1,815	1,696	1,461	1,589
Glx-li	1,684	1,876	1,429	1,560	1,620

Tab. 8b: Mittelwerte der Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin der einzelnen Kohorten. Dargestellt sind die fünf untersuchten Kohorten mit den Metabolitenverhältniswerte für alle sieben Metabolite, getrennt nach Seiten.

Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin	iPD	mPD	SN^+- A	SN^- -A	K
Glu-re	1,406	1,356	1,457	1,362	1,339
Glu-li	1,376	1,461	1,460	1,390	1,393
GPC-re	0,384	0,357	0,350	0,343	0,329
GPC-li	0,370	0,339	0,348	0,327	0,331
mI-re	0,912	0,903	0,901	0,921	0,909
mI-li	0,932	0,925	0,850	0,899	0,869
NAA-re	1,550	1,360	1,580	1,489	1,244
NAA-li	1,465	1,383	1,402	1,391	1,300
NAAG-re	1,774	1,584	1,769	1,799	1,653
NAAG-li	1,743	1,674	1,721	1,679	1,666
Glx-re	1,767	1,698	1,743	1,394	1,513
Glx-li	1,673	1,866	1,475	1,507	1,569

4.4.2.1 Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen

Idiopathische Parkinsonpatienten vs. Kontrollen

Im Folgenden wurde untersucht, ob sich die Kohorte der idiopathisch erkrankten Parkinsonpatienten hinsichtlich ihrer Metabolitenabsolutwerte bzw. der entsprechenden Verhältniswerte zu Kreatin von der gesunden Kontrollkohorte unterscheiden (Tab. 9a, 9b).

- Für GPC links und NAA links zeigten sich signifikant höhere Werte bei den Erkrankten respektive den Kontrollen (GPC links: p= 0,046 und NAA links: p= 0,028). Nach Bonferroni-Korrektur keine signifikanten Unterschiede.
- Für NAA rechts zeigten sich bei den Erkrankten gegenüber den Kontrollen tendenziell höhere Werte (p= 0,052).
- Bei den Verhältniswerten zu Kreatin zeigten sich beidseits sowohl für GPC/Kreatin als auch NAA/Kreatin signifikant höhere Werte bei den Erkrankten gegenüber den Gesunden (GPC/Kreatin rechts: p= 0,003, GPC/Kreatin links: p= 0,044, NAA/Kreatin rechts: p= 0,020, NAA/Kreatin links: p= 0,048). Nach Bonferroni-Korrektur zeigte lediglich die jeweilige rechte Seite beider Metabolitenverhältniswerte signifikante Unterschiede.
- Für alle anderen Metabolite ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 9a: Vergleich der absoluten Metabolitenkonzentrationen zwischen iPD und K. Dargestellt sind die Mittelwerte der einzelnen Metabolitenkonzentrationen beider Gruppen incl. p-Wert. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metabolitenkonzentrationen	**iPD**	**K**	**p-Wert**
Kreatin-re	0,922	0,974	0,357
Kreatin-li	1,007	1,005	0,967
Glu-re	1,340	1,384	0,808
Glu-li	1,395	1,413	0,901
GPC-re	0,355	0,319	0,131
GPC-li	0,366	0,330	**0,046
***m*I-re**	0,839	0,881	0,521
***m*I-li**	0,934	0,869	0,281
NAA-re	1,417	1,186	*0,052
NAA-li	1,481	1,278	**0,028
NAAG-re	1,632	1,610	0,847
NAAG-li	1,739	1,673	0,461
Glx-re	1,708	1,589	0,735
Glx-li	1,684	1,620	0,715

Tab. 9b: Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin der beiden Kohorten iPD und Kontrollen. Dargestellt sind die Mittelwerte der einzelnen Metabolitenverhältniswerte der beiden Gruppen incl. p-Wert. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin	**iPD**	**K**	**p-Wert**
Glu-re	1,406	1,339	0,682
Glu-li	1,376	1,393	0,890
GPC-re	0,384	0,329	***0,003
GPC-li	0,370	0,331	**0,044
mI-re	0,912	0,909	0,949
mI-li	0,932	0,869	0,233
NAA-re	1,550	1,244	***0,020
NAA-li	1,465	1,300	**0,048
NAAG-re	1,774	1,653	0,163
NAAG-li	1,743	1,666	0,349
Glx-re	1,767	1,513	0,378
Glx-li	1,673	1,569	0,890

Patienten mit monogenetischer Erkrankung vs. Kontrollen

Analog zur vorangegangenen Berechnung wurde die Kohorte der monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten mit der gesunden Kontrollgruppe zunächst bzgl. ihrer Absolutwerte und dann der Verhältniswerte verglichen (Tab. 10a, Tab. 10b). Hierbei zeigten sich folgende Unterschiede:

- Für GPC rechts und NAA rechts ergaben sich signifikant höhere Werte bei den Erkrankten respektive den Kontrollen (GPC rechts: p= 0,040 und NAA rechts p= 0,040). Nach Bonferroni-Korrektur zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.
- Für NAA links zeigte sich bei den Erkrankten gegenüber den Kontrollen ein tendenziell höherer Wert (NAA links: p= 0,094).
- Bei allen anderen Metabolitenabsolutwerten sowie für die Verhältniswerte zu Kreatin zeigten sich zwischen den monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten und der gesunden Kontrollgruppe keinerlei signifikante Unterschiede.

Tab. 10a: Gegenüberstellung der absoluten Metabolitenkonzentrationen der Kohorten mPD und Kontrolle. Die Tabelle zeigt die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Metabolitenkonzentrationen incl. p-Wert. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metabolitenkonzentrationen	**mPD**	**K**	**p-Wert**
Kreatin-re	1,045	0,974	0,207
Kreatin-li	1,025	1,005	0,714
Glu-re	1,468	1,384	0,589
Glu-li	1,477	1,413	0,207
GPC-re	0,370	0,319	**0,040
GPC-li	0,354	0,330	0,250
***m*I-re**	0,946	0,881	0,395
***m*I-li**	0,940	0,869	0,298
NAA-re	1,413	1,186	**0,040
NAA-li	1,445	1,278	*0,094
NAAG-re	1,656	1,610	0,659
NAAG-li	1,708	1,673	0,697
Glx-re	1,815	1,589	0,394
Glx-li	1,876	1,620	0,173

Tab. 10b: Gegenüberstellung der Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin der Kohorten mPD und Kontrollen. Dargestellt sind die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Metaboltenverhältniswerte incl. p-Wert. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin	mPD	K	p-Wert
Glu-re	1,356	1,339	0,914
Glu-li	1,461	1,393	0,662
GPC-re	0,357	0,329	0,152
GPC-li	0,339	0,331	0,718
mI-re	0,903	0,909	0,936
mI-li	0,925	0,869	0,399
NAA-re	1,360	1,244	0,279
NAA-li	1,383	1,300	0,410
NAAG-re	1,656	1,653	0,659
NAAG-li	1,674	1,666	0,928
Glx-re	1,698	1,513	0,485
Glx-li	1,866	1,569	0,199

4.4.2.2 Korrelation zwischen symptomatischer Seite und kontralateralen Messwerten

Es ist bekannt, dass motorische Impulse in der kontralateralen Hirnhemisphäre verarbeitet werden. Daher sollte im Folgenden untersucht werden, ob für die Hauptmetabolite N-Acetyl-Aspartat (NAA), Kreatin (Cr) oder Glycero-Phosphorylcholin (GPC) im Falle der beiden Patientengruppen (idiopathisch erkrankte Patienten; iPD und monogenetisch erkrankte Patienten; mPD) ein Zusammenhang mit der Lateralität der Beschwerden besteht.

Hierfür wurde jeweils in eine kontralaterale SN-Seite (kontralateral zur Beginn der Erkrankung betroffeneren Extremitätenseite) und ipsilaterale Seite (ipsilateral zur Symptomatik bei Erkrankungsbeginn) eingeteilt. Zunächst wurden in der Gesamtgruppe der Erkrankten (PD) die Mittelwerte der drei Hauptmetabolite NAA, GPC und Cr bezogen auf die Kontralateralität aufgetragen.
Zwischen den Mittelwerten der kontralatralen und ipsilateralen Seite ließen sich kontralateral erhöhte Metabolitenmittelwerte beobachten, die jedoch für keinen der drei Metabolite Signifikanz erreichten. Hierbei zeigte NAA einen deutlichen und Kreatin einen weniger starken Unterschied zwischen kontralateraler und ipsilateraler Seite. Bei GPC bestand kein nennenswerter Unterschied (Abb. 16A).

Für die Gegenüberstellung der Kohorten der idiopathisch Erkrankten (Abb. 16B) und der monogenetisch Erkrankten (Abb.16C) wurde analog verfahren. Hierbei zeigte sich, dass die bei der Gesamtkohorte der Erkrankten (MP) beobachtete Seitendifferenz für NAA und auch für Kreatin durch die Kohorte der mPD bedingt war. Das heisst, bei den mPD wiesen die kontralateralen SN-Seiten häufiger höhere Werte auf als die ipsilateralen Seiten.

Um zu analysieren, ob in dieser Kohorte zwischen linksdominanter und rechtsdominanter Symptomatik Unterschiede bestehen, wurde in den Abb. 17A und 17B nach der Seite der Symptomatik unterschieden. Für NAA zeigte sich jeweils ein etwa gleich stark ausgeprägter, deutlicher Unterschied zwischen den Werten der kontralateralen und ipsilateralen Seite sowohl bei Rechts- als auch Linkssymptomatik. Die Werte für Kreatin sind bei der linkssymptomatischen Seite höher und unterscheiden sich deutlicher voneinander. Bei GPC ergaben sich sowohl bei Linkssymptomatik als auch bei Rechtssymptomatik lediglich leichte Seitenunterschiede.

Um den Beitrag der einzelnen Messwerte bei den NAA-Mittelwerten beurteilen zu können, wurden diese in Abb. 17C sowohl für die rechts- als auch linkssymptomatische Seite gemeinsam aufgetragen.

Hierbei zeigten sich in sechs von den neun Messwertpaaren erhöhte Werte für die kontralaterale SN-Seite im Vergleich zur ipsilateralen Seite. Alle beobachteten Unterschiede zeigen keine statistische Signifikanz.

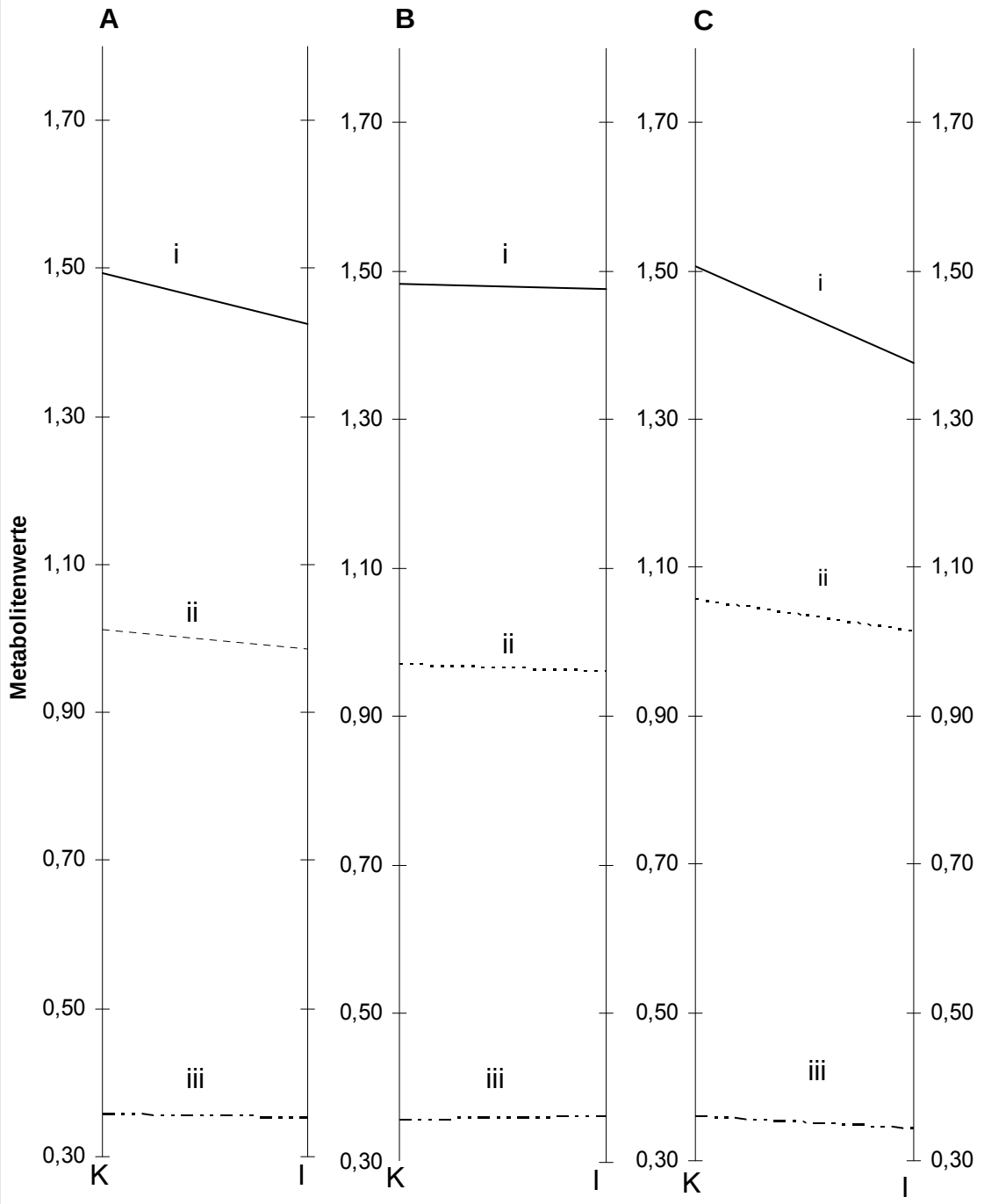

Abb. 16: Gegenüberstellung der zur jeweils betroffeneren Seite kontra- und ipsilateralen Mittelwerte für die Metabolite NAA, Kreatin und GPC bei den Kohorten der Erkrankten. In den Diagrammen sind die Metabolitenmittelwerte für NAA (i) , Kreatin (ii) und GPC (iii) für die bei Erkrankungsbeginn betroffenere Seite, aufgeteilt nach kontralateraler (K) und ipsilateraler (I) SN-Seite. Die Abb. A stellt die Werte für die Gesamterkrankten, die Abb. B für die idiopathisch sowie Abb. C für die monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten dar.

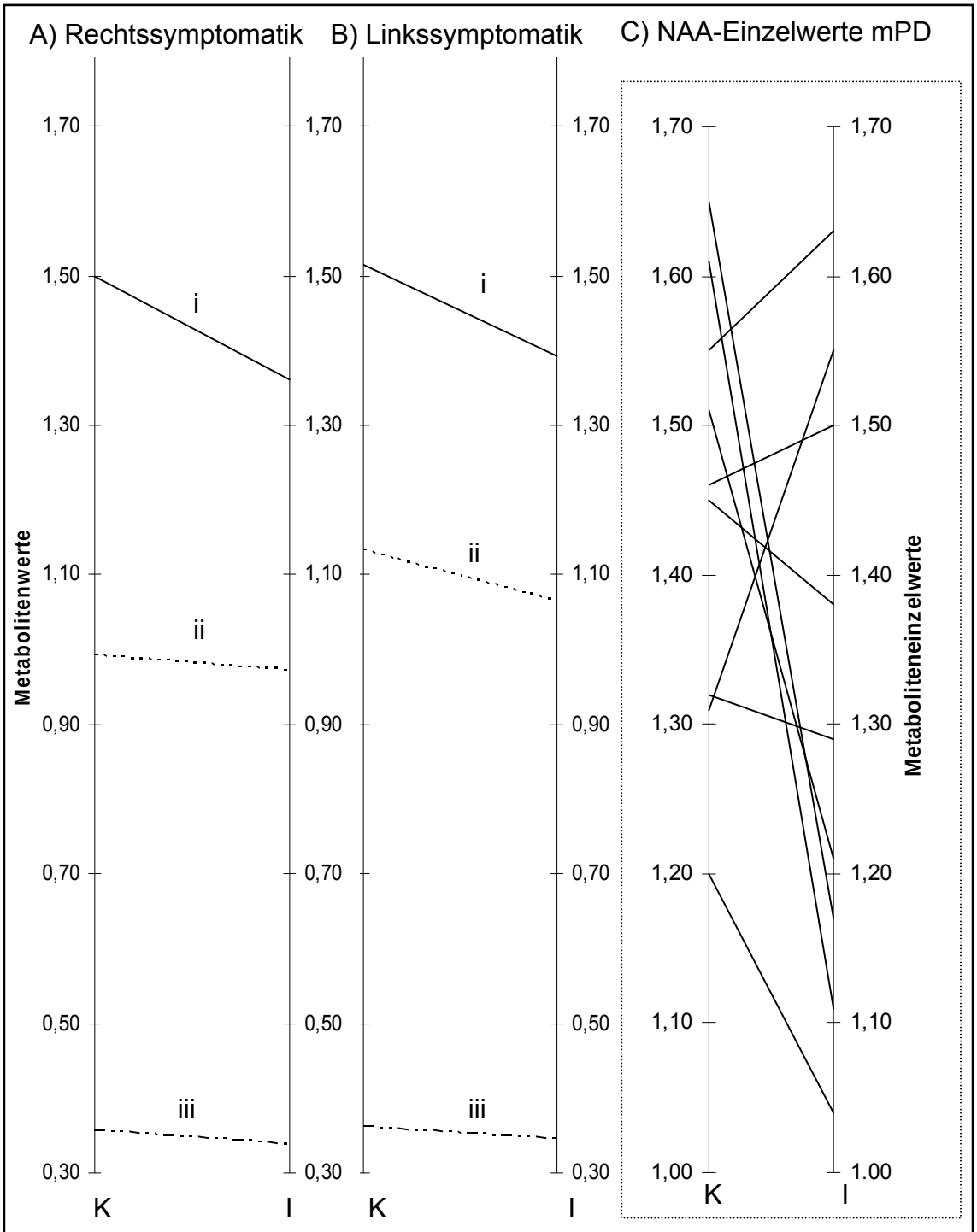

Abb. 17: Gegenüberstellung der Mittelwerte für die Metabolite NAA, Kreatin und GPC bei der Kohorte der monogenetisch Erkrankten (mPD) aufgetragen nach symptomatischer Seite und Einzelmesswerte für den Metaboliten NAA. In der Abbildung sind die Metabolitenmittelwerte für NAA (i), Kreatin (ii) und GPC (iii) in Abhängigkeit von der symptomatischen Seite dargestellt. Abb. A zeigt bei Rechtssymptomatik die Werte der kontralateralen SN (K) und der ipsilateralen Seite (I). Entsprechendes gilt für Abb. B bei Linkssymptomatik. Abb. C zeigt die Einzelmesswerte für den Metaboliten NAA bei den mPD.

4.4.2.3 Vergleich von idiopathisch und monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten

Um zu analysieren, ob sich die Metabolitenwerte der idiopathisch Erkrankten von denen der monogenetisch Erkrankten unterscheiden, wurden im Folgenden die Absolutwerte und Verhältniswerte zu Kreatin miteinander verglichen (Tab. 11a und Tab. 11b).

- Die Absolutwerte für Kreatin rechts und Glu links zeigten sich bei der Kohorte der mPD gegenüber der Kohorte der iPD signifikant erhöht (Kreatin rechts: p= 0,027, Glu links: p= 0,027). Nach Bonferroni-Korrektur zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.
- Die Verhältnsiwerte von NAA zu Kreatin für die rechte Seite wiesen bei den iPD tendenziell erhöhte Werte auf (p= 0,062).
- Alle andere Metabolitenwerte sowie die Verhältniswerte zu Kreatin zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 11a: Gegenüberstellung der Metabolitenkonzentrationen der Kohorten iPD und mPD. Dargestellt sind die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Metaboltenkonzentrationen incl. p-Wert. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metabolitenkonzentrationen	iPD	mPD	p-Wert
Kreatin-re	0,922	1,045	**0,027
Kreatin-li	1,007	1,025	0,740
Glu-re	1,340	1,468	0,449
Glu-li	1,395	1,477	**0,027
GPC-re	0,355	0,370	0,514
GPC-li	0,366	0,354	0,588
ml-re	0,839	0,946	0,155
ml-li	0,934	0,940	0,923
NAA-re	1,417	1,413	0,965
NAA-li	1,481	1,445	0,707
NAAG-re	1,632	1,656	0,811
NAAG-li	1,739	1,708	0,726
Glx-re	1,708	1,815	0,731
Glx-li	1,684	1,876	0,304

Tab. 11b: Gegenüberstellung der Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin der Kohorten iPD und mPD. Dargestellt sind die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Metaboltenverhältniswerte incl. p-Wert. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin	iPD	mPD	p-Wert
Glu-re	1,406	1,356	0,762
Glu-li	1,376	1,461	0,585
GPC-re	0,384	0,357	0,163
GPC-li	0,370	0,339	0,169
mI-re	0,912	0,903	0,894
mI-li	0,932	0,925	0,919
NAA-re	1,550	1,360	*0,062
NAA-li	1,465	1,383	0,404
NAAG-re	1,774	1,656	0,811
NAAG-li	1,743	1,674	0,393
Glx-re	1,767	1,698	0,825
Glx-li	1,673	1,866	0,402

4.4.2.4 Vergleich zwischen Kontrollen und Angehörigen

Um zu überprüfen, ob sich die sonographisch detektierbaren Veränderungen der SN auch in den Metabolitenmesswerten widerspiegeln, wurden in den folgenden Kapiteln die Verhältniswerte der einzelnen Kohorten untereinander untersucht, da diese keine Abhängigkeit vom Alter zeigten.

Tab. 12: Gegenüberstellung der Kohorten der Gesunden und ihrer Verhältniswerte zu Kreatin. Dargestellt sind die Kohorten der Kontrollkohorte und der Angehörigen sowie die dazugehörigen Metabolitenverhältniswerte.

Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin	K	SN^- -A	SN^+ -A
Glu-re	1,339	1,362	1,457
Glu-li	1,393	1,390	1,460
GPC-re	0,329	0,343	0,350
GPC-li	0,331	0,327	0,348
mI-re	0,909	0,921	0,901
mI-li	0,869	0,899	0,850
NAA-re	1,244	1,489	1,580
NAA-li	1,300	1,391	1,402
NAAG-re	1,653	1,799	1,769
NAAG-li	1,666	1,679	1,721
Glx-re	1,513	1,394	1,743
Glx-li	1,569	1,507	1,475

Es sollten zunächst die zwei Kohorten der Gesunden mit den sonographisch unauffälligen Substantiae nigrae (K, SN^- -A) und die Angehörigen mit der auffälligen SN (SN^+ -A) miteinander verglichen werden (Tab. 13). Hierbei fielen folgende Unterschiede auf:

- Die Metabolitenverhältniswerte von NAA zu Kreatin rechts zeigten für beide Kohorten der Angehörigen im Vergleich zur Kontrollkohorte signifikant höhere Werte (K vs. SN^- -A; p= 0,027, K vs. SN^+ -A; p= 0,004). Nach Bonferroni-Korrektur blieb der Unterschied zwischen der Kontrollkohorte und den SN^+ -Angehörigen signifikant.
- Für NAAG zu Kreatin rechts wiesen die SN^- -Angehörigen signifikant höhere Werte als die Kontrollkohorte auf (p= 0,029). Nach Bonferroni-Korrektur zeigte sich keine Signifikanz.
- Insgesamt lässt sich für die Metabolitenverhältniswerte von NAA beidseits, sowie für Glu und GPC rechts bzw. NAAG links ein gradueller Anstieg der Werte von der gesunden Kontrollgruppe über die SN^- -Angehörigen bis zu den SN^+ -Angehörigen beobachten (Tab. 12).

Tab. 13: Gegenüberstellung der Kohorten der Nichterkrankten. Dargestellt sind die drei Kohorten der nichterkrankten Probanden mit Metabolitenverhältniswerte zu Kreatin und entsprechenden p-Werten bei Gegenüberstellung der jeweiligen Kohorte der Angehörigen zur Kontrollkohorte. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metaboliten-verhältnisse zu Kreatin	K		SN^- -A	p-Wert	SN^+-A	p-Wert
Glu-re	1,339		1,362	0,877	1,457	0,467
Glu-li	1,393		1,390	0,987	1,460	0,673
GPC-re	0,329		0,343	0,483	0,350	0,299
GPC-li	0,331		0,327	0,848	0,348	0,450
mI-re	0,909		0,921	0,849	0,901	0,900
mI-li	0,869		0,899	0,661	0,850	0,778
NAA-re	1,244		1,489	*0,027	1,580	***0,004
NAA-li	1,300		1,391	0,379	1,402	0,314
NAAG-re	1,653		1,799	*0,029	1,769	0,257
NAAG-li	1,666		1,679	0,884	1,721	0,511
Glx-re	1,513		1,394	0,646	1,743	0,402
Glx-li	1,569		1,507	0,793	1,475	0,682

4.4.2.5 Vergleich zwischen Angehörigen mit sonographisch unauffälliger Substantia nigra und Probanden mit auffälliger Substantia nigra

Bei diesen Berechnungen sollten zunächst die Verhältniswerte der beiden Kohorten der Angehörigen in Bezug zueinander gesetzt werden (SN^- -A vs. SN^+-A). Ebenso sollten die Werte der unauffälligen Angehörigen (SN^- -A) mit den der beiden Kohorten der Erkrankten (iPD und mPD) verglichen werden (Tab. 14):

- Hierbei unterschieden sich lediglich die iPD durch höhere GPC-Werte beidseits (GPC rechts signifikant; p= 0,041, links nicht signifikant) und NAA rechts (p= 0,041) von den SN^- -Angehörigen. Die Unterschiede waren nach Bonferroni-Korrektur nicht signifikant.
- Für NAAG rechts zeigten die SN^- -Angehörigen tendenziell höhere Werte als die Kohorte der mPD.
- Für alle anderen Gruppen und Metabolite zeigten sich keine Unterschiede.

Tab. 14: Gegenüberstellung der Kohorten der sonographisch unauffälligen Angehörigen mit den Kohorten der sonographisch auffälligen Probanden. Dargestellt sind die Kohorte der SN^- -A in Bezug zu den SN^+ -A sowie den beiden Kohorten der Erkrankten mit den jeweiligen p-Werten. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metaboliten-verhältnisse zu Kreatin	SN^- -A		SN^+-A	p-Wert	mPD	p-Wert	iPD	p-Wert
Glu-re	1,362		1,457	0,538	1,356	0,946	1,406	0,788
Glu-li	1,390		1,460	0,679	1,461	0,670	1,376	0,932
GPC-re	0,343		0,350	0,753	0,357	0,480	0,384	**0,041
GPC-li	0,327		0,348	0,347	0,339	0,581	0,370	*0,059
mI-re	0,921		0,901	0,749	0,903	0,784	0,912	0,885
mI-li	0,899		0,850	0,466	0,925	0,691	0,932	0,620
NAA-re	1,489		1,580	0,402	1,360	0,211	1,550	**0,041
NAA-li	1,391		1,402	0,916	1,383	0,937	1,465	0,463
NAAG-re	1,799		1,769	0,253	1,584	*0,069	1,774	0,554
NAAG-li	1,679		1,721	0,611	1,674	0,953	1,743	0,439
Glx-re	1,394		1,743	0,182	1,698	0,227	1,767	0,230
Glx-li	1,507		1,475	0,889	1,866	0,123	1,673	0,481

4.4.2.6 Vergleich der Kohorten mit sonographisch auffälliger Substantia nigra

Als letztes sollte analysiert werden, ob sich die Angehörigen mit einer sonographisch auffälligen SN (SN^+ -Angehörige) von den Erkrankten (iPD, mPD) unterscheiden (Tab. 15). Es zeigten sich folgende Unterschiede:

- Für den Verhältniswert von NAA rechts zu Kreatin zeigten die SN^+ -Angehörigen im Vergleich zu den mPD signifikant höhere Werte (p= 0,042). Nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen keine Signifikanz.
- Für GPC rechts zeigten die iPD tendenziell höhere Werte als die SN^+ -Angehörigen (p= 0,073).
- Für Glx links zeigten die mPD tendenziell höhere Werte als die SN^+ -Angehörigen.
- Alle anderen Metabolite zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei untersuchten Kohorten.

Insgesamt lässt sich neben den signifikanten Unterschieden und Tendenzen folgendes beobachten:

- die Metabolitenverhältniswerte von GPC rechts zu Kreatin zeigten einen stetigen Anstieg der Werte von der Kontrollkohorte über die Angehörigen (SN^- -A -> SN^+ -A) zu den Erkrankten (mPD -> iPD). Für Glu rechts, NAA bds. und NAAG links zeigten die mPD-Erkrankten zwar höhere Werte als die Kontrollkohorte, jedoch niedrigere als die Angehörigen oder iPD-Erkrankten. Letztere wiesen für Glu und NAA rechts ebenfalls höhere Werte als die Kontrollkohorte auf, jedoch niedrigere als die SN^+ -Angehörigen.

Tab. 15: Gegenüberstellung der Kohorten der sonographisch auffälligen Angehörigen mit den beiden Kohorten der Erkrankten. Dargestellt sind die Kohorten der drei sonographisch auffälligen Probanden. Gegenübergestellt die SN^+ -A mit den iPD- und mPD-Erkrankten incl. der jeweiligen p-Werte. Unterschiede mit einem p-Wert bis 0,1 wurden als tendenziell gewertet und mit * markiert. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind mit ** markiert. Die nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Testen beider Seiten) noch signifikanten Unterschiede ($p < 0,025$) sind mit *** markiert.

Metaboliten-verhältnisse zu Kreatin	**SN^+-A**		**mPD**	**p-Wert**	**iPD**	**p-Wert**
Glu-re	1,457		1,356	0,520	1,406	0,766
Glu-li	1,460		1,461	0,996	1,376	0,597
GPC-re	0,350		0,357	0,686	0,384	*0,073
GPC-li	0,348		0,339	0,685	0,370	0,340
mI-re	0,901		0,903	0,962	0,912	0,857
mI-li	0,850		0,925	0,251	0,932	0,212
NAA-re	1,580		1,360	**0,042	1,550	0,777
NAA-li	1,402		1,383	0,849	1,465	0,519
NAAG-re	1,769		1,584	0,474	1,774	0,341
NAAG-li	1,721		1,674	0,561	1,743	0,784
Glx-re	1,743		1,698	0,866	1,767	0,939
Glx-li	1,475		1,866	*0,084	1,673	0,389

Zusammenfassend konnte keine Abhängigkeit der Metabolitenmesswerte von Geschlecht oder der Voxelposition festgestellt werden. Bezüglich der Lateralität zur klinisch betroffeneren Seite zeigten sich keine signifikanten Zusammenhänge. Jedoch konnten für die zu Erkrankungsbeginn betroffenere SN-Seite tendenziell höhere NAA und GPC Werte gefunden werden. Der Metabolit NAA zeigte eine inverse Korrelation zum Alter. Des weiteren wurde beobachtet, dass sich die Kohorten hinsichtlich des Anteils an vollständig messbaren Spektren deutlich voneinander unterschieden. Am häufigsten zeigten Angehörige mit unauffälliger SN und am seltensten die iPD-Erkrankten vollständig messbare Spektren. Eine unterschiedlich häufige Auswertbarkeit zeigte sich auch bei den sieben Metaboliten. Hierbei konnten die Metabolite NAA, GPC, Glu und Glx zwischen 6 % und 26 % der Fälle nicht zuverlässig (SD > 20 %) gemessen werden.

Die Gruppenanalysen erbrachten folgende Ergebnisse: beide Kohorten der Erkrankten unterschieden sich hinsichtlich der Metabolite NAA und GPC durch höhere Messwerte deutlich von den Kontrollen. Die beiden Erkranktenkohorten zeigten lediglich hinsichtlich der Metabolite Kreatin und Glu Unterschiede zugunsten höherer Werte bei den mPD.
Vergleicht man die drei Kohorten der Nichterkrankten, so zeigten beide Angehörigenkohorten im Vergleich zu den Kontrollen höhere NAA-Werte. Hierbei ist wie auch für die Metabolite Glu, GPC und NAAG z. T. beidseitig ein Anstieg der Werte, von den Kontrollen über die sonographisch unauffälligen Angehörigen zu den sonographisch auffälligen Angehörigen, zu erkennen.

5. Diskussion

Die spektroskopische Bestimmung von Hirnmetaboliten spielt bei der Differentialdiagnose verschiedener Erkrankungen des ZNS wie z. B. intrakranielle Tumore oder dementielle Erkrankungen eine wichtige Rolle. (Shonk, Moats et al. 1995; Rudkin and Arnold 1999; Burtscher and Holtas 2001). Beim Morbus Parkinson konnte die Spektroskopie der Substantia nigra aufgrund technischer Limitierungen bisher noch nicht etabliert werden (Lucetti, Del Dotto et al. 2001; O'Neill, Schuff et al. 2002).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die durch Anwendung eines speziellen Mess- und Auswerteverfahrens innerhalb der Substantia nigra ermittelten Metabolitenkonzentrationen auf ihre Messbarkeit hin zu überprüfen. Zudem sollten die Konzentrationen definierter Metabolite von Gesunden, an Parkinson erkrankten Patienten sowie deren Angehörigen miteinander verglichen werden.

Dabei sollte zum einen herausgefunden werden, ob sich Kranke anhand ihres Metabolitenprofils von Gesunden unterscheiden lassen. Bei den Erkrankten war hierbei die Frage einer Lateralität zur bei Erkrankungsbeginn stärker betroffeneren Seite von besonderem Interesse. Zum anderen sollte überprüft werden, ob sich die Gruppe der Angehörigen (bestehend aus sonographisch auffälligen und unauffälligen) in ihrem Metabolitenspektrum ebenfalls unterscheiden.

Bei der Auswertung der Spektren fiel auf, dass sich die Metabolite in ihrer Messbarkeit (Standardabweichung unter 20 %) deutlich voneinander unterschieden. Während sie für Glutamat + Glutamin (Glx) am schlechtesten war, nahm sie über Glutamat (Glu), Glycerophosphosphorylcholin (GPC) und N-Acetyl-Aspartat (NAA) stetig zu. Die Metabolite *myo*-Inositol (mI), Kreatin (Cr) und N-Acetylaspartylglutamat (NAAG) waren in allen Spektren messbar. Erwartungsgemäß zeigte Glx als Summe von Glu und Gln mit 74 % messbarer Metabolite die geringste Messbarkeit. Hierfür sind die besonders bei geringer Feldstärke auftretenden J-Kopplungseffekte und Überlagerungen durch andere Metabolite verantwortlich, wodurch die einzelnen Resonanzen nur schwer

auftrennbar sind. Die Metabolite GPC und NAA zeigten mit ca. 95 % messbaren Werten eine gute Messbarkeit.

Für die verschiedenen Analysen wurden die Studienteilnehmer in Kohorten zusammengefasst. Diese bestanden aus den beiden Gruppen der idiopathisch und monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten, den sonographisch unauffälligen sowie sonographisch auffälligen Angehörigen sowie der gesunden Kontrollkohorte.
Hinsichtlich der vollständigen Messbarkeit eines Spektrums wiesen die einzelnen Kohorten deutliche Unterschiede auf. Bei den Kohorten mit unauffälliger Substantia nigra (gesunde Kontrollkohorte und SN^- -Angehörige) und den monogenetisch Erkrankten waren etwa dreiviertel aller Spektren vollständig messbar. Dagegen waren bei den Angehörigen mit auffälliger Substantia nigra und den idiopathisch Erkrankten nur etwa die Hälfte der Spektren vollständig messbar.
Folgende Überlegungen könnten diese Beobachtung erklären. Es ist bekannt, dass Eisen bei der Kernspintomographie einen Störfaktor darstellt. Zum anderen bedingen aber gerade diese Eisenablagerungen die sonographische Hyperechogenität der SN, die für ca. 90 % der Parkinsonerkrankten und ca. 50 % der Angehörigen charakteristisch ist. So könnte ein höherer Eisengehalt der SN bei den SN-auffälligen Probanden und idiopathisch Erkrankten eine Erklärung für schlechter messbare Metabolite darstellen. Ein Grund für die bessere Messbarkeit bei den monogenetisch Erkrankten gegenüber den idiopathisch Erkrankten könnten ebenfalls durch diese Phänomene erklärt werden. Vorangegangene TCS-Studien haben gezeigt, dass monogenetisch Erkrankte im Vergleich zu idiopathisch Erkrankten eine kleinere SN und somit vermutlich auch geringere Eisenwerte aufweisen (Schweitzer, Brussel et al. 2007). Hierdurch könnte die bei den mPD bessere Messbarkeit erklärt werden.

Bezüglich der Analyse von Einflußfaktoren auf die Messwerte konnte bis auf den Metaboliten N-Acetyl-Aspartat (NAA) keine Abhängigkeit von Geschlecht, Voxelposition oder Alter festgestellt werden. NAA zeigte eine inverse

Korrelation zum Alter der Probanden und Patienten. Dies steht in guter Übereinstimmung mit der Beobachtung, dass NAA ein Marker für neuronale Integrität ist und zunehmendes Alter mit einem vermehrten Zelluntergang verbunden ist (Vion-Dury, Meyerhoff et al. 1994).

Lateralitätsanalysen in der Kohorte der Erkrankten zeigten höhere NAA-Werte (statistisch nicht signifikant) in der zu Beginn der Erkrankung betroffeneren SN-Seite. Bei genauer Analyse der beiden Kohorten der Erkrankten stellte sich heraus, dass diese Erhöhung aus den deutlichen Seitenunterschieden bei der Kohorte der monogenetisch Erkrankten resultierte. Eine Erhöhung der NAA/Kreatin-Verhältnisse in der betroffeneren SN-Seite wurde in einer anderen Untersuchung beschrieben (Choe, Park et al. 1998). Allerdings handelte es sich hier ausschließlich um Patienten, die zum Untersuchungszeitpunkt an einer unilateralen Parkinsonsymptomatik litten. In der vorliegenden Studie wurden dagegen langjährig erkrankte Patienten untersucht, bei denen die fortschreitenden Veränderungen auf beiden Seiten der SN ein ähnliches Ausmaß erreicht hatten, wodurch die fehlende statistische Signifikanz erklärt werden könnte.

Die Gegenüberstellung der beiden Kohorten der Erkrankten (iPD und mPD) mit der gesunden Kontrollkohorte zeigte für beide bilateral erhöhte Werte für NAA sowie eine einseitige Erhöhung der Glycerophosphorylcholin (GPC)-Werte. Die monogenetisch Erkrankten zeichneten sich hierbei durch etwas höhere Werte aus. Der Vergleich zwischen Kranken und Gesunden bzgl. der Verhältniswerte zu Kreatin ergab lediglich für die Kohorte der iPD eine beidseitige Erhöhung für GPC/Kreatin und NAA/Kreatin. Dies wird dadurch erklärbar, dass die Kohorte der monogenetisch Erkrankten im Vergleich zu den idiopathisch Erkrankten höhere Kreatinwerte aufwies.
Die in dieser Studie gefundenen erhöhten Konzentrationen von NAA und GPC bei den Erkrankten stehen teilweise in Widerspruch zu bereits publizierten Ergebnissen (Choe, Park et al. 1998; O'Neill, Schuff et al. 2002; Oz, Terpstra et al. 2006).

So zeigten sich in den Untersuchungen von Oz et al. 2006 (4T, Single Voxel; VOI 2,2ml) innerhalb der SN zwar ebenfalls erhöhte Cholinwerte (GPC), jedoch waren hier die Werte für NAA und Glutamat (Glu) erniedrigt. Die in der vorliegenden Studie fehlenden Unterschiede für Glu könnten in der geringeren Feldstärke von 1,5T begründet sein, welches eine Messung dieses Metaboliten erschwert (s.o.).
In den Untersuchungen von O´Neill et al. 2002 (1,5T, Single Voxel; VOI linke bis rechte SN umfassend) konnten bei den Erkrankten zwar erniedrigte Werte für Kreatin, jedoch keine Veränderungen für NAA oder Cholin festgestellt werden. Allerdings bedingte das hier verwendete rechteckige Voxel, welches gleichzeitig die rechte und linke SN beinhaltete, einen stärkeren Einfluss des Nachbargewebes auf die Messwerte und ist daher nur schwer mit den vorliegenden Ergebnissen vergleichbar.
Die Arbeitsgruppe von Choe et al. 1998 untersuchte beidseitig die SN von unilateral betroffenen Parkinsonpatienten mit unterschiedlich langer Krankheitsdauer und einer gesunden Kontrollgruppe (1,5T, Single Voxel, VOI 3,375 ml). Hierbei wurden in Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen bei 13 von 15 Patienten erhöhte Werte für NAA/Kreatin gefunden, was Choe als mögliche Zellaggregation deutete.

In weiteren Studien wurden Metabolitenprofile bei Parkinsonpatienten in Regionen außerhalb der SN wie z. B. dem Putamen, dem Frontalkortex oder dem Motorkortex erstellt (Bowen, Block et al. 1995; Abe, Terakawa et al. 2000; Lucetti, Del Dotto et al. 2001). Hierbei zeigte sich für die an Parkinson erkrankten Patienten entweder kein Unterschied oder eine Erniedrigung der Verhältniswerte von NAA zu Kreatin.

Die in der vorliegenden Studie beschriebene Erhöhung von NAA zu Kreatin innerhalb der SN von Parkinsonpatienten ist in der Literatur nur einmal beschrieben (Choe, Park et al. 1998). Dies kann durch verfahrenstechnische Unterschiede wie Lokalisationsverfahren, Feldstärke oder Voxelgröße bedingt sein. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Studien, bei denen das Single

Voxel Verfahren angewandt wurde, erfolgte die Lokalisation des Voxels in der vorliegenden Studie mit Hilfe Chemical Shift Imagings. Daneben wiesen die jeweiligen Voxelgrößen z. T. beträchtliche Unterschiede auf.

So ist die hier gefundene Erhöhung von NAA bzw. NAA-Verhältniswerten für Parkinson als neurodegenerative Erkrankung unerwartet. Da NAA vorwiegend in Nervenzellen enthalten ist und es bei vielen ZNS-Erkrankungen zum Nervenzelluntergang kommt, wurde eine verminderte NAA-Konzentration mit Nervenzelluntergang assoziiert (van der Knaap, van der Grond et al. 1992).

Es gibt jedoch Hinweise, dass ein Wiederanstieg der NAA-Konzentration unter bestimmten Umständen möglich ist. So konnte gezeigt werden, dass Parkinsonpatienten mit L-Dopatherapie im Gegensatz zu untherapierten Patienten höhere NAA/Cholin-Verhältniswerte aufweisen (Holshouser, Komu et al. 1995; Ellis, Lemmens et al. 1997).
Auch bei anderen Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose konnte gezeigt werden, dass nach Abheilung einer Läsion, in der zuvor erniedrigte NAA/Kreatin-Konzentrationen gemessen worden waren, diese wieder auf normale Werte anstiegen (Arnold, Matthews et al. 1990). NAA kann somit als reversibler Marker für neuronalen Zelluntergang angesehen werden.
Zudem legen *in vitro*-Studien nahe, dass NAA nicht nur in Neuronen sondern auch in Oligodendrozyten (sowohl während der Differenzierung als auch im adulten Zustand) gebildet wird (Urenjak, Williams et al. 1992; Bhakoo and Pearce 2000). Somit könnten die in der vorliegenden Arbeit gefundenen erhöhten Werte für NAA auch durch eine erhöhte Differenzierung von Oligodendrozyten erklärt werden.

Eine weitere mögliche Erklärung für erhöhte NAA/Kreatinwerte bei Parkinsonpatienten könnte ein verminderter Abbau von NAA durch das Enzym Aspartoacylase (ASPA) darstellen. Dieses befindet sich in den Oligodendrozyten und spaltet NAA in Essigsäure und Asparaginsäure. Bei der Canavan-Krankheit, die besonders häufig bei der Volksgruppe der Ashkenazi-

Juden vorkommt, liegt ein Gendefekt vor, der über eine verminderte Aktivität der ASPA zu einem sehr starken Anstieg von NAA im Gehirn führt (Kumar, Sowmyalakshmi et al. 2006). Diese neurodegenerative Erkrankung verläuft meist bereits im Kindesalter tödlich. Sie manifestiert sich erst im Alter von ca. 3-6 Monaten durch ein Ausbleiben der motorischen Entwicklung. Die Babys bzw. Kinder können weder den Kopf heben, noch sitzen, stehen oder gehen. Durch die fortschreitende Neurodegeneration kommt es zu spastischen Paresen, Opisthotonus, Schlafstörungen oder einem Krampfleiden. Bildgebend lässt sich eine Leukodystrophie des Gehirns diagnostizieren, die histopathologisch als spongiöse Degeneration imponiert.

Unter der Annahme, dass NAA in physiologischer Konzentration als Osmoregulator im Gehirn fungiert, könnte eine Akkumulation zu einer Dysregulation des osmotischen Druckes führen und neurodegenerativ wirken (Baslow 2003).

Den in dieser Studie bei den Kohorten der Erkrankten gefundenen erhöhten NAA-Werten könnte ein ähnlicher Mechanismus, jedoch in geringerer Ausprägung zugrunde liegen.

Da NAA an einigen neuronalen Stoffwechselwegen beteiligt ist, sind auch Einflüsse wie psychiatrische Erkrankungen oder Medikamente auf die NAA-Konzentration denkbar (Tsai and Coyle 1995). Es konnte z. B. gezeigt werden, dass sowohl eine Depression als auch die Einnahme von Antidepressiva (MAO-B -Hemmer, SSRI) oder Antipsychotika (Lithium) zu einem Anstieg cerebraler NAA-Konzentrationen führen kann (McIntosh and Cooper 1964; Sharma, Venkatasubramanian et al. 1992; Mostert, Sijens et al. 2006; Forester, Finn et al. 2008).

Auch die bei den monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten gefundene Erhöhung der Kreatinwerte könnten durch den Einfluss nebenbefundlich bestehender psychiatrischer Erkrankungen erklärt werden. Diese können die Kreatinkonzentration verändern (Weber-Fahr 2005). Denkbar wäre ein vermehrtes Vorkommen von psychiatrischen Begleiterkrankungen, wie z. B. einer Depression in der Kohorte der monogenetisch erkrankten Parkinsonpatienten.

Cholin (GPC) spielt als integraler Bestandteil der Membranen eine wichtige Rolle. In einer Studie konnten im Striatum von Parkinsonpatienten während der „ON-Phase“ höhere Cholin/Kreatin-Konzentrationen als in der „OFF-Phase“ detektiert werden, weshalb die Veränderungen mit „wearing-off-Phänomenen“ in Zusammenhang mit verstärktem Membranumbau gebracht wurden (Aotsuka, Shinotoh et al. 1997). Eine weitere Studie zeigte bei *de novo* Patienten nach 6-monatiger Medikation mit einem Dopaminagonisten einen Anstieg der zuvor erniedrigten GPC-Werte im Motorkortex (Lucetti, Del Dotto et al. 2007). Die in der vorliegenden Studie erhöhten GPC-Werte bei beiden Kohorten der Erkrankten könnten unter Berücksichtigung o. g. Studien Ausdruck von Plastizität sein.
Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde zum Untersuchungszeitpunkt keine Datenerhebung bzgl. möglicher Einflussfaktoren auf die Hirnmetabolite, wie z. B. Erkrankungsdauer, Krankheitsstadium, kognitiven Fähigkeiten, Depressions- oder Medikationsstatus durchgeführt. Eine eindeutige Interpretation der vorliegenden Ergebnisse ist daher nur bedingt möglich.

Bei Vergleich der Angehörigenkohorten mit der gesunden Kontrollkohorte fiel auf, dass beide Angehörigenkohorten höhere NAA/Kreatin-Verhältniswerte aufwiesen. Von den beiden Angehörigenkohorten unterschieden sich wiederum diejenigen mit sonographisch auffälliger Substantia nigra stärker von den Kontrollen. Bei Betrachtung der Mittelwerte ließ sich sowohl für die Verhältniswerte von NAA zu Kreatin sowie z. T. auch für die Metabolitenverhältniswerte von GPC, NAAG und Glu ein Anstieg von den Kontrollen über die SN^- - Angehörigen zu den SN^+ -Angehörigen beobachten.

Diese Beobachtung legt einen Zusammenhang zwischen dem sonographischen Befund (normechogene bzw. hyperechogene SN) und den gemessenen Metabolitenwerten nahe. Die Angehörigen ähneln in ihrem spektroskopischen Profil eher den Erkrankten als den Gesunden.
Da das Merkmal der Hyperechogenität der SN bei 50 % der Angehörigen ebenfalls vorhanden ist, könnte geschlussfolgert werden, dass bei der

Parkinsonerkrankung erbliche Faktoren, die z. B. die Hyperechogenität bedingen, auch einen Einfluss auf die Metabolitenwerte in der ^{1}H-MRS haben könnten.
Hierzu passt auch die Beobachtung, dass die Kohorte der sonographisch auffälligen Angehörigen sich stärker von der Kontrollkohorte unterscheidet als die sonographisch unauffälligen Angehörigen. Dies könnte ein weiterer Hinweis sein, dass Hyperechogenität der SN mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit einhergeht, im Laufe des Lebens an einem Parkinson-Syndrom zu erkranken, und dass Hypoechogenität der SN als ein eher protektives Zeichen anzusehen ist.

Gründe für eine Erhöhung der NAA-Werte bei den Angehörigen könnten ähnliche sein, wie sie bereits für die Erkrankten diskutiert wurden. Denkbar wäre, dass bei Angehörigen mit bestimmter Veranlagung (z. B. Hyperechogenität der SN) eine NAA-Erhöhung und/oder GPC-Erhöhung Zeichen einer sich entwickelnden Erkrankung sein könnte. Dies würde auch die z. T. nur einseitig signifikant erhöhten Werte erklären.
Unter der Annahme, dass erhöhte NAA-Konzentrationen neurotoxisch wirken, wäre andererseits auch vorstellbar, dass die gemessene NAA-Verhältniswerterhöhung bei den sonographisch auffälligen Angehörigen zum Nervenzelluntergang führt und im Laufe der Jahre zur Krankheitsentstehung beiträgt (Miller 1991).

6. Zusammenfassung

Der Morbus Parkinson zählt zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen im fortgeschrittenen Alter. Es kommt hierbei durch Absterben dopaminerger Neurone in der Substantia nigra (SN) und dem entstehenden Transmitterungleichgewicht zu tiefgreifenden Veränderungen im Hirnstoffwechsel. Die SN als hauptsächlich betroffene Region ist Gegenstand vieler Forschungsuntersuchungen. Allerdings ist sie bedingt durch ihre geringe Größe und den damit verbundenen Schwierigkeiten magnetresonanz-spektroskopisch kaum untersucht worden. Dies lag z. T. auch an der Größe der möglichen Messvolumina, die oft die Größe der SN überstiegen.

In der vorliegenden Arbeit sollte mit Hilfe eines speziellen Lokalisationsverfahrens (Chemical shift imgaging; CSI) der Magnetresonanz-Spektroskopie untersucht werden, ob Hirnmetabolite innerhalb der sehr kleinen SN bestimmbar sind. Zudem wurde durch eine spezielle Software die Positionierung der Messvolumeneinheit (Voxel) nachträglich manuell optimiert.

Hierbei sollten auch die Hirnmetabolite von Parkinsonpatienten, ihren Angehörigen und einer gesunden Kontrollgruppe bestimmt und miteinander verglichen werden. Von großem Interesse war auch die Frage, ob sich ein sonographisch auffälliger Befund der SN, der bei 90 % der Parkinsonpatienten und 50 % der Angehörigen nachweisbar ist, auch in den spektroskopischen Metabolitenprofilen dieser Gruppen widerspiegelt.

Im Rahmen der Arbeit konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe des Chemical shift imagings und einem Messvolumen von 1,5 cm^3 eine Spektrenaufzeichnung und Metabolitenbestimmung innerhalb der Substantia nigra möglich ist. Es zeigte sich, dass bei allen aufgezeichneten Spektren die Peaks für Cholin und Kreatin separiert werden konnten und somit die Spektren auswertbar waren. Somit scheint das Chemical shift imaging für die Messung von Hirmetaboliten in sehr kleinen Regionen wie z. B. der SN anderen Verfahren gegenüber überlegen zu sein.

Bei Vergleich der beiden Kohorten der Parkinsonpatienten (idiopathisch und monogenetisch Erkrankte) mit der Kontrollkohorte zeigten sich für beide erhöhte

Absolutwerte von NAA und GPC sowie deren Verhältniswerte zu Kreatin. Dies steht in Widerspruch mit den meisten bisher durchgeführten Studien. Hier wurden keine Veränderungen oder sogar niedrigere NAA-Verhältniswerte gefunden. Dies könnte jedoch in Zusammenhang mit der Verwendung anderer Messverfahren in anderen Messorten als der SN stehen.

Die beiden Kohorten der Erkrankten unterschieden sich hinsichtlich der vollständigen Metabolitenmessbarkeit ihrer Spektren deutlich voneinander. Hierbei wiesen die monogenetisch Erkrankten eine größere Anzahl vollständig messbarer Spektren auf.
Dies könnte durch die Beobachtungen in der Transcraniellen Sonographie (TCS) der SN erklärt werden. Die monogenetisch Erkrankten unterscheiden sich sonographisch von den idiopathisch Erkrankten durch eine geringere Größe ihrer SN. Diese wiederum erscheint aufgrund von Eisenablagerungen hyperechogen und somit vermessbar. Wenn die sonographische SN-Größe substantiell durch die Menge an Eisen bedingt ist, könnte die kleinere SN bei den monogenetisch erkrankten Patienten weniger Eisen und damit weniger Störeinflüsse in der spektroskopischen Bestimmung der Metabolite bedeuten.

Bei Untersuchung der Lateralität bzgl. der Metabolitenwerte bei beiden Kohorten der Erkrankten zeigten sich ebenfalls Unterschiede. Während die monogenetisch Erkrankten, kontralateral zur Seite, die zu Beginn der Erkrankung betroffen war, höhere Metabolitenmesswerte aufwiesen, zeigten die idiopathisch Erkrankten kaum Unterschiede zwischen kontralateraler und ipsilateraler Seite. Hierbei ist jedoch anzumerken, dass bei Fortschreiten der Erkrankung die Veränderungen auf beiden Seiten der Substantia nigra ein ähnliches Ausmaß erreichen. Zudem wurde keine Datenerhebung bzgl. Krankheitsdauer, Krankheitsstadium, Medikamentenanamnese oder Begleiterkrankungen zum Messzeitpunkt durchgeführt. Diese Faktoren könnten Einflüsse auf die Messergebnisse gehabt haben.
Für die Untersuchung der Angehörigen wurden diese aufgrund sonographischer Kriterien in zwei Gruppen geteilt, den sonographisch auffälligen und

unauffälligen Angehörigen. Die Kohorte der Gesunden wiesen unauffällige SN-Befunde auf.
Beide Kohorten der Angehörigen zeigten im Vergleich zur Kontrollkohorte, wie bereits die Erkrankten, ebenfalls erhöhte NAA- und GPC-Verhältniswerte zu Kreatin. Die unauffälligen Angehörigen ähnelten in ihren Werten eher der gesunden Kontrollkohorte, während sich die Werte der auffälligen Angehörigen eher den Parkinsonpatienten annäherten.
Die NAA-Erhöhung hat bei den Angehörigen vermutlich die gleiche Ursache wie bei den Kranken. Hierbei könnte bei bestimmter Veranlagung die NAA-Erhöhung als Zeichen einer sich entwickelnden Erkrankung angesehen werden. Es ist fraglich, ob im Rahmen der Krankheitsentwicklung erhöhte NAA-Werte auftreten oder vielleicht erst die NAA-Erhöhung eine toxische Wirkung auf die Neuronen ausübt und somit zum Nervenzelluntergang und letztendlich zum Krankheitsausbruch führt.
Insgesamt zeigte das Spektroskopieprofil einiger Metabolite bei den Nicht-Erkrankten einen graduellen Anstieg der Werte von der gesunden Kontrolle über die unauffälligen Angehörigen zu den auffälligen Angehörigen.

Ein Zusammenhang zwischen Größe der hyperechogenen Fläche der SN und Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen und Verhältnisse zu Kreatin scheint also gegeben.
Weitere Studien an größeren Kohorten müssen eine mögliche Abhängigkeit von Gemütserkrankungen und Medikation zeigen. Sollten sich die gefundenen Verhältnisse bestätigen, könnte die Metabolitendarstellung als ein interessanter neuer *in-vivo* Marker für die Parkinson-Erkrankung eingesetzt werden.

7. Literaturverzeichnis

Abbas, N., C. B. Lucking, et al. (1999). "A wide variety of mutations in the parkin gene are responsible for autosomal recessive parkinsonism in Europe. French Parkinson's Disease Genetics Study Group and the European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease." Hum Mol Genet **8**(4): 567-74.

Abe, K., H. Terakawa, et al. (2000). "Proton magnetic resonance spectroscopy of patients with parkinsonism." Brain Res Bull **52**(6): 589-95.

Alves, G., E. B. Forsaa, et al. (2008). "Epidemiology of Parkinson's disease." J Neurol **255 Suppl 5**: 18-32.

Aotsuka, A., H. Shinotoh, et al. (1997). "[Magnetic resonance spectroscopy in Parkinson's disease and multiple system atrophy]." Nippon Rinsho **55**(1): 249-54.

Arabia, G., B. R. Grossardt, et al. (2007). "Increased risk of depressive and anxiety disorders in relatives of patients with Parkinson disease." Arch Gen Psychiatry **64**(12): 1385-92.

Arnold, D. L., P. M. Matthews, et al. (1990). "Proton magnetic resonance spectroscopy of human brain in vivo in the evaluation of multiple sclerosis: assessment of the load of disease." Magn Reson Med **14**(1): 154-9.

Baslow, M. H. (2003). "Brain N-acetylaspartate as a molecular water pump and its role in the etiology of Canavan disease: a mechanistic explanation." J Mol Neurosci **21**(3): 185-90.

Baslow, M. H. (2003). "N-acetylaspartate in the vertebrate brain: metabolism and function." Neurochem Res **28**(6): 941-53.

Baslow, M. H., R. F. Suckow, et al. (2000). "Effects of ethanol and of alcohol dehydrogenase inhibitors on the reduction of N-acetylaspartate levels of brain in mice in vivo: a search for substances that may have therapeutic value in the treatment of Canavan disease." J Inherit Metab Dis **23**(7): 684-92.

Becker, G., J. Seufert, et al. (1995). "Degeneration of substantia nigra in chronic Parkinson's disease visualized by transcranial color-coded real-time sonography." Neurology **45**(1): 182-4.

Berg, D. (2006). "In vivo detection of iron and neuromelanin by transcranial sonography--a new approach for early detection of substantia nigra damage." J Neural Transm **113**(6): 775-80.

Berg, D. (2006). "Transcranial sonography in the early and differential diagnosis of Parkinson's disease." J Neural Transm Suppl(70): 249-54.

Berg, D. (2007). "Disturbance of iron metabolism as a contributing factor to SN hyperechogenicity in Parkinson's disease: implications for idiopathic and monogenetic forms." Neurochem Res **32**(10): 1646-54.

Berg, D., G. Becker, et al. (1999). "Vulnerability of the nigrostriatal system as detected by transcranial ultrasound." Neurology **53**(5): 1026-31.

Berg, D., C. Grote, et al. (1999). "Iron accumulation in the substantia nigra in rats visualized by ultrasound." Ultrasound Med Biol **25**(6): 901-4.

Berg, D., W. Roggendorf, et al. (2002). "Echogenicity of the substantia nigra: association with increased iron content and marker for susceptibility to nigrostriatal injury." Arch Neurol **59**(6): 999-1005.

Berg, D., C. Siefker, et al. (2001). "Echogenicity of the substantia nigra in Parkinson's disease and its relation to clinical findings." J Neurol **248**(8): 684-9.

Berkelbach van der Sprenkel, J. W., P. R. Luyten, et al. (1988). "Cerebral lactate detected by regional proton magnetic resonance spectroscopy in a patient with cerebral infarction." Stroke **19**(12): 1556-60.

Bernheimer, H., W. Birkmayer, et al. (1973). "Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations." J Neurol Sci **20**(4): 415-55.

Berridge, M. J. and R. F. Irvine (1989). "Inositol phosphates and cell signalling." Nature **341**(6239): 197-205.

Bhakoo, K. K. and D. Pearce (2000). "In vitro expression of N-acetyl aspartate by oligodendrocytes: implications for proton magnetic resonance spectroscopy signal in vivo." J Neurochem **74**(1): 254-62.

Birken, D. L. and W. H. Oldendorf (1989). "N-acetyl-L-aspartic acid: a literature review of a compound prominent in 1H-NMR spectroscopic studies of brain." Neurosci Biobehav Rev **13**(1): 23-31.

Bloch, F. (1946). "Nuclear Induction." Physical Review **70**(7-8): 460 LP - 474.

Bowen, B. C., R. E. Block, et al. (1995). "Proton MR spectroscopy of the brain in 14 patients with Parkinson disease." AJNR Am J Neuroradiol **16**(1): 61-8.

Brandt, D., Diener (2007). Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen. Stuttgart, Kohlhammer.

Bruhn, H., J. Frahm, et al. (1989). "Cerebral metabolism in man after acute stroke: new observations using localized proton NMR spectroscopy." Magn Reson Med **9**(1): 126-31.

Burtscher, I. M. and S. Holtas (2001). "Proton magnetic resonance spectroscopy in brain tumours: clinical applications." Neuroradiology **43**(5): 345-52.

Cerdan, S., R. Parrilla, et al. (1985). "1H NMR detection of cerebral myo-inositol." FEBS Lett **187**(1): 167-72.

Chamuleau, R. A., D. K. Bosman, et al. (1991). "What the clinician can learn from MR glutamine/glutamate assays." NMR Biomed **4**(2): 103-8.

Charles, P. D., C. E. Gill, et al. (2008). "Is deep brain stimulation neuroprotective if applied early in the course of PD?" Nat Clin Pract Neurol **4**(8): 424-6.

Choe, B. Y., J. W. Park, et al. (1998). "Neuronal laterality in Parkinson's disease with unilateral symptom by in vivo 1H magnetic resonance spectroscopy." Invest Radiol **33**(8): 450-5.

deGraaf (1998). in vivo NMR Spektroscopy. West Sussex, Wiley & Sons.

Demaerel, P., K. Johannik, et al. (1991). "Localized 1H NMR spectroscopy in fifty cases of newly diagnosed intracranial tumors." J Comput Assist Tomogr **15**(1): 67-76.

Dexter, D. T., J. Sian, et al. (1993). "Implications of alterations in trace element levels in brain in Parkinson's disease and other neurological disorders affecting the basal ganglia." Adv Neurol **60**: 273-81.

Dhillon, A. S., G. L. Tarbutton, et al. (2008). "Pesticide/environmental exposures and Parkinson's disease in East Texas." J Agromedicine **13**(1): 37-48.
Djarmati, A., K. Hedrich, et al. (2004). "Detection of Parkin (PARK2) and DJ1 (PARK7) mutations in early-onset Parkinson disease: Parkin mutation frequency depends on ethnic origin of patients." Hum Mutat **23**(5): 525.
Ellis, C. M., G. Lemmens, et al. (1997). "Changes in putamen N-acetylaspartate and choline ratios in untreated and levodopa-treated Parkinson's disease: a proton magnetic resonance spectroscopy study." Neurology **49**(2): 438-44.
Fearnley, J. M. and A. J. Lees (1991). "Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity." Brain **114 (Pt 5)**: 2283-301.
Fitzpatrick, S. M., H. P. Hetherington, et al. (1989). "Effects of acute hyperammonemia on cerebral amino acid metabolism and pHi in vivo, measured by 1H and 31P nuclear magnetic resonance." J Neurochem **52**(3): 741-9.
Forester, B. P., C. T. Finn, et al. (2008). "Brain lithium, N-acetyl aspartate and myo-inositol levels in older adults with bipolar disorder treated with lithium: a lithium-7 and proton magnetic resonance spectroscopy study." Bipolar Disord **10**(6): 691-700.
Frahm, J., H. Bruhn, et al. (1991). "[Localized proton MR spectroscopy. A non-invasive insight into brain metabolism]." Radiologe **31**(11): 558-66.
Funayama, M. and N. Hattori (2007). "[Molecular genetics of PINK1]." Brain Nerve **59**(8): 831-8.
Gasser, T. (2005). "Genetics of Parkinson's disease." Curr Opin Neurol **18**(4): 363-9.
Gasser, T. (2009). "Mendelian forms of Parkinson's disease." Biochim Biophys Acta.
Gerlach, M., D. Ben-Shachar, et al. (1994). "Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases?" J Neurochem **63**(3): 793-807.
Gibb, W. R. and A. J. Lees (1988). "The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease." J Neurol Neurosurg Psychiatry **51**(6): 745-52.
Golbe, L. I., G. Di Iorio, et al. (1990). "A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease." Ann Neurol **27**(3): 276-82.
Grachev, I. D. and A. V. Apkarian (2001). "Aging alters regional multichemical profile of the human brain: an in vivo 1H-MRS study of young versus middle-aged subjects." J Neurochem **76**(2): 582-93.
Hawkes, C. H. (2008). "The prodromal phase of sporadic Parkinson's disease: does it exist and if so how long is it?" Mov Disord **23**(13): 1799-807.
Hoehn, M. M. and M. D. Yahr (1967). "Parkinsonism: onset, progression and mortality." Neurology **17**(5): 427-42.
Holshouser, B. A., M. Komu, et al. (1995). "Localized proton NMR spectroscopy in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease: a multicenter pilot study." Magn Reson Med **33**(5): 589-94.
Hornykiewicz, O. (1982). "Brain catecholamines in schizophrenia -- a good case for noradrenaline." Nature **299**(5883): 484-6.
Hoult, D. I., S. J. Busby, et al. (1974). "Observation of tissue metabolites using 31P nuclear magnetic resonance." Nature **252**(5481): 285-7.

Huppi, P. S., S. Posse, et al. (1991). "Magnetic resonance in preterm and term newborns: 1H-spectroscopy in developing human brain." Pediatr Res **30**(6): 574-8.

Ibanez, P., S. Lesage, et al. (2009). "Alpha-synuclein gene rearrangements in dominantly inherited parkinsonism: frequency, phenotype, and mechanisms." Arch Neurol **66**(1): 102-8.

Jiru, F., A. Skoch, et al. (2006). "Error images for spectroscopic imaging by LCModel using Cramer-Rao bounds." Magma **19**(1): 1-14.

Kaftan, E. J., B. E. Ehrlich, et al. (1997). "Inositol 1,4,5-trisphosphate (InsP3) and calcium interact to increase the dynamic range of InsP3 receptor-dependent calcium signaling." J Gen Physiol **110**(5): 529-38.

Kreis, R. and C. Boesch (1996). "Spatially localized, one- and two-dimensional NMR spectroscopy and in vivo application to human muscle." J Magn Reson B **113**(2): 103-18.

Kreis, R., N. Farrow, et al. (1991). "Localized 1H NMR spectroscopy in patients with chronic hepatic encephalopathy. Analysis of changes in cerebral glutamine, choline and inositols." NMR Biomed **4**(2): 109-16.

Kumar, S., R. Sowmyalakshmi, et al. (2006). "Does ASPA gene mutation in Canavan disease alter oligodendrocyte development? A tissue culture study of ASPA KO mice brain." Adv Exp Med Biol **576**: 175-82; discussion 361-3.

Kuopio, A. M., R. J. Marttila, et al. (1999). "Changing epidemiology of Parkinson's disease in southwestern Finland." Neurology **52**(2): 302-8.

Liu, W., C. Vives-Bauza, et al. (2009). "PINK1 defect causes mitochondrial dysfunction, proteasomal deficit and alpha-synuclein aggregation in cell culture models of Parkinson's disease." PLoS ONE **4**(2): e4597.

Lozano, A. M., A. E. Lang, et al. (1998). "New developments in understanding the etiology of Parkinson's disease and in its treatment." Curr Opin Neurobiol **8**(6): 783-90.

Lucetti, C., P. Del Dotto, et al. (2001). "Proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) of motor cortex and basal ganglia in de novo Parkinson's disease patients." Neurol Sci **22**(1): 69-70.

Lucetti, C., P. Del Dotto, et al. (2007). "Influences of dopaminergic treatment on motor cortex in Parkinson disease: a MRI/MRS study." Mov Disord **22**(15): 2170-5.

McGeer, P. L., S. Itagaki, et al. (1988). "Rate of cell death in parkinsonism indicates active neuropathological process." Ann Neurol **24**(4): 574-6.

McIntosh, J. C. and J. R. Cooper (1964). "Function of N-Acetyl Aspartic Acid in the Brain: Effects of Certain Drugs." Nature **203**: 658.

Mellick, G. D., G. A. Siebert, et al. (2009). "Screening PARK genes for mutations in early-onset Parkinson's disease patients from Queensland, Australia." Parkinsonism Relat Disord **15**(2): 105-9.

Menza, M. (2000). "The personality associated with Parkinson's disease." Curr Psychiatry Rep **2**(5): 421-6.

Mierisova, S. and M. Ala-Korpela (2001). "MR spectroscopy quantitation: a review of frequency domain methods." NMR Biomed **14**(4): 247-59.

Miller, B. L. (1991). "A review of chemical issues in 1H NMR spectroscopy: N-acetyl-L-aspartate, creatine and choline." NMR Biomed **4**(2): 47-52.

Mizuno, Y., H. Mori, et al. (1995). "Parkinson's disease: from etiology to treatment." Intern Med **34**(11): 1045-54.
Mori, H., T. Kondo, et al. (1998). "Pathologic and biochemical studies of juvenile parkinsonism linked to chromosome 6q." Neurology **51**(3): 890-2.
Mostert, J. P., P. E. Sijens, et al. (2006). "Fluoxetine increases cerebral white matter NAA/Cr ratio in patients with multiple sclerosis." Neurosci Lett **402**(1-2): 22-4.
Nichols, W. C., V. E. Elsaesser, et al. (2007). "LRRK2 mutation analysis in Parkinson disease families with evidence of linkage to PARK8." Neurology **69**(18): 1737-44.
O'Neill, J., N. Schuff, et al. (2002). "Quantitative 1H magnetic resonance spectroscopy and MRI of Parkinson's disease." Mov Disord **17**(5): 917-27.
Oz, G., M. Terpstra, et al. (2006). "Proton MRS of the unilateral substantia nigra in the human brain at 4 tesla: detection of high GABA concentrations." Magn Reson Med **55**(2): 296-301.
Poeck K, H. W. (1998). "Neurologie."
Pollanen, M. S., D. W. Dickson, et al. (1993). "Pathology and biology of the Lewy body." J Neuropathol Exp Neurol **52**(3): 183-91.
Polymeropoulos, M. H., J. J. Higgins, et al. (1996). "Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23." Science **274**(5290): 1197-9.
Provencher, S. W. (1993). "Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra." Magn Reson Med **30**(6): 672-9.
Provencher, S. W. (2001). "Automatic quantitation of localized in vivo 1H spectra with LCModel." NMR Biomed **14**(4): 260-4.
Puls, I., D. Berg, et al. (2000). "Transcranial sonography of the brain parenchyma: comparison of B-mode imaging and tissue harmonic imaging." Ultrasound Med Biol **26**(2): 189-94.
Purcell, E. M., H. C. Torrey, et al. (1946). "Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid." Physical Review **69**(1-2): 37 LP - 38.
Ramirez, A., A. Heimbach, et al. (2006). "Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase." Nat Genet **38**(10): 1184-91.
Riederer, P., W. D. Rausch, et al. (1988). "Biochemical fundamentals of Parkinson's disease." Mt Sinai J Med **55**(1): 21-8.
Rigotti, D. J., M. Inglese, et al. (2007). "Whole-brain N-acetylaspartate as a surrogate marker of neuronal damage in diffuse neurologic disorders." AJNR Am J Neuroradiol **28**(10): 1843-9.
Ross, B. D. (1991). "Biochemical considerations in 1H spectroscopy. Glutamate and glutamine; myo-inositol and related metabolites." NMR Biomed **4**(2): 59-63.
Rudkin, T. M. and D. L. Arnold (1999). "Proton magnetic resonance spectroscopy for the diagnosis and management of cerebral disorders." Arch Neurol **56**(8): 919-26.
Ruprecht-Dorfler, P., D. Berg, et al. (2003). "Echogenicity of the substantia nigra in relatives of patients with sporadic Parkinson's disease." Neuroimage **18**(2): 416-22.

Rybicki, B. A., C. C. Johnson, et al. (1993). "Parkinson's disease mortality and the industrial use of heavy metals in Michigan." Mov Disord **8**(1): 87-92.
Safriel, Y., M. Pol-Rodriguez, et al. (2005). "Reference values for long echo time MR spectroscopy in healthy adults." AJNR Am J Neuroradiol **26**(6): 1439-45.
Schweitzer, K. J., T. Brussel, et al. (2007). "Transcranial ultrasound in different monogenetic subtypes of Parkinson's disease." J Neurol **254**(5): 613-6.
Seidler, A., W. Hellenbrand, et al. (1996). "Possible environmental, occupational, and other etiologic factors for Parkinson's disease: a case-control study in Germany." Neurology **46**(5): 1275-84.
Sellbach, A. N., R. S. Boyle, et al. (2006). "Parkinson's disease and family history." Parkinsonism Relat Disord **12**(7): 399-409.
Sharma, R., P. N. Venkatasubramanian, et al. (1992). "Proton magnetic resonance spectroscopy of the brain in schizophrenic and affective patients." Schizophr Res **8**(1): 43-9.
Shimura, H., N. Hattori, et al. (2000). "Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase." Nat Genet **25**(3): 302-5.
Shonk, T. K., R. A. Moats, et al. (1995). "Probable Alzheimer disease: diagnosis with proton MR spectroscopy." Radiology **195**(1): 65-72.
Singleton, A. B., M. Farrer, et al. (2003). "alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease." Science **302**(5646): 841.
Spillantini, M. G., M. L. Schmidt, et al. (1997). "Alpha-synuclein in Lewy bodies." Nature **388**(6645): 839-40.
Sundquist, K., X. Li, et al. (2006). "Familial risks of hospitalization for Parkinson's disease in first-degree relatives: a nationwide follow-up study from Sweden." Neurogenetics **7**(4): 231-7.
Swanson, C. R., S. L. Sesso, et al. (2009). "Can we prevent parkinson's disease?" Front Biosci **14**: 1642-60.
Tanner, C. M. (2003). "Is the cause of Parkinson's disease environmental or hereditary? Evidence from twin studies." Adv Neurol **91**: 133-42.
Tsai, G. and J. T. Coyle (1995). "N-acetylaspartate in neuropsychiatric disorders." Prog Neurobiol **46**(5): 531-40.
Urenjak, J., S. R. Williams, et al. (1992). "Specific expression of N-acetylaspartate in neurons, oligodendrocyte-type-2 astrocyte progenitors, and immature oligodendrocytes in vitro." J Neurochem **59**(1): 55-61.
van Dellen, A., J. Welch, et al. (2000). "N-Acetylaspartate and DARPP-32 levels decrease in the corpus striatum of Huntington's disease mice." Neuroreport **11**(17): 3751-7.
van der Knaap, M. S., J. van der Grond, et al. (1992). "1H and 31P magnetic resonance spectroscopy of the brain in degenerative cerebral disorders." Ann Neurol **31**(2): 202-11.
van der Knaap, M. S., J. van der Grond, et al. (1990). "Age-dependent changes in localized proton and phosphorus MR spectroscopy of the brain." Radiology **176**(2): 509-15.
Vieregge, P., J. Kleinhenz, et al. (1991). "Epidemiology and out-patient care in Parkinson's disease--results from a pilot-study in northern Germany (Schleswig-Holstein)." J Neural Transm Suppl **33**: 115-8.

Vilarino-Guell, C., A. I. Soto, et al. (2009). "ATP13A2 variability in Parkinson disease." Hum Mutat **30**(3): 406-10.

Vion-Dury, J., D. J. Meyerhoff, et al. (1994). "What might be the impact on neurology of the analysis of brain metabolism by in vivo magnetic resonance spectroscopy?" J Neurol **241**(6): 354-71.

Wallimann, T., M. Wyss, et al. (1992). "Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis." Biochem J **281 (Pt 1)**: 21-40.

Weaver, F. M., K. Follett, et al. (2009). "Bilateral deep brain stimulation vs best medical therapy for patients with advanced Parkinson disease: a randomized controlled trial." Jama **301**(1): 63-73.

Weber-Fahr, W., Braus D. F. (2005). "Quantifizierung und Absolutquantifizierung" in Walter, H. (Hrsg.): Funktionelle Bildgebung in Psychiatrie und Psychotherapie, Schattauer Verlag, Stuttgart.

8. Danksagung

Frau Prof. Dr. Daniela Berg danke ich für die Vergabe der Doktorarbeit und ihre sehr hilfsbereite und tatkräftige Unterstützung, die interessanten Diskussionen und die sehr gute Betreuung während der gesamten Promotionszeit.

Herrn Prof. Dr. Uwe Klose möchte ich für seine stets geduldige und freundliche Art danken, mit mir immer wieder Ergebnisse zu diskutieren, technische Probleme zu lösen und nicht zuletzt für die intensive Betreuung während der Erstellung der Doktorarbeit.

Bei Herrn Prof. Gasser und Herrn Prof. Grodd möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, in ihren Abteilungen promovieren zu können.

Den Mitarbeitern der Sektion für Experimentelle Kernspinresonanz des ZNS, v. a. den MTA Holger Putzhammer und Mathias Röger sowie Herrn Prof. Klose danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der Kernspinmessungen, vor allem wenn diese an Wochenenden stattfanden.
Filip Jiru danke ich für die Entwicklung des Programmes CULICH und seine Hilfsbereitschaft bei Anwendungsfragen.
Frau Dr. Anna Wolpert möchte ich für die freundliche und geduldige Einarbeitung in das CULICH-Programm sowie für die angenehme Zusammenarbeit während der praktischen Durchführung der Studie danken.
Auch bei den 53 Studienteilnehmern möchte ich mich bedanken, denn ohne ihre Bereitschaft an dieser Studie teilzunehmen, hätte diese Arbeit nicht zustande kommen können.
Bei meinen Kollegen der Neurologischen Klinik Frau Dr. Inga Liepelt und Fr. Dr. Adriane Gröger und vor allem bei Frau Dr. Jana Godau möchte ich mich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung bedanken.

Ein besonderer Dank geht an meine Familie, die mich stets unterstützt hat, insbesondere an meine Eltern, ohne deren Hilfe mein Studium und diese Arbeit nicht möglich gewesen wären. Meiner Tante Rita Mancuso danke ich herzlich für das Korrekturlesen meiner Arbeit.
Bei meinem Lebensgefährten Dr. Bernd Köberlein möchte ich mich für die stets liebevolle Unterstützung, die Kraft und Motivation insbesondere während der Promotionszeit bedanken.
Nicht zuletzt möchte ich mich ganz besonders bei meiner Tochter Fabienne bedanken, die mit sehr viel Verständnis für die vielen Doktorarbeitsstunden mir ermöglicht hat, diese Arbeit fertigzustellen.

9. Lebenslauf

Zur Person

	A d r i a n a D i S a n t o
	* 14.06.1976 in Reutlingen
	ledig, 1 Tochter (10 Jahre)

Berufserfahrung

Seit 11/2005	Assistenzärztin
	Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Universität Tübingen

Promotion

seit 11/ 2005	Thema:
	„^{1}H-Magnetresonanz-Spektroskopie und Transcranielle Sonographie der Substantia nigra - Befunde bei Parkinsonpatienten mit idiopathischer und monogenetischer Erkrankung sowie deren Angehörigen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe“.
	Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Universität Tübingen

Studium

	Eberhard-Karls-Universität Tübingen
10/1995	Beginn Medizinstudium
03/1998 - 03/2000	Mutterschaftsurlaub
04/2002 - 09/2002	Erziehungsurlaub
28.04.2005	Ärztliche Prüfung (3. Staatsexamen)

Schulbildung

1982 - 1995	Schulbesuch in Gomaringen und Reutlingen
06/1995	Abitur