

Aus dem Institut für Neuropathologie
(Univ.-Prof. Dr. med. C. Stadelmann-Nessler)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Autopsiestudie zur myopathologischen Manifestation klinischer Muskelbeschwerden beim Morbus Parkinson

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Kai Winckler

aus Wilhelmshaven

Göttingen 2022

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück
Referent: Prof. Dr. med. W. Schulz-Schaeffer
Ko-Referentin: Prof. Dr. med. C. Trenkwalder

Datum der mündlichen Prüfung: 11.08.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Autopsiestudie zur myopathologischen Manifestation klinischer Muskelbeschwerden beim Morbus Parkinson“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den
(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	IX
1. Einleitung	1
1.1 Der Morbus Parkinson	1
1.2 Die Kamptokormie	15
1.3 Therapie der Kamptokormie	22
1.4 Pathophysiologie der Kamptokormie	24
1.5 Zielsetzung dieser Arbeit	27
2. Material und Methoden	29
2.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs	29
2.2 Probengewinnung	31
2.3 Enzymhistochemische Färbungen	34
2.4 Verwendete Materialien	38
2.5 Immunhistochemie	41
2.6 PET und Histo-Blot	45
3. Darstellung der Ergebnisse	49
3.1 Enzymhistochemie	50
3.2 Immunhistochemische Detektion von α -Synuklein	74
3.3 Identifizierung von α -Synuklein-Aggregaten mittels PET-Blot	79
4. Diskussion	81
4.1 Die Vorteile und Limitationen des untersuchten Probenmaterials	81
4.2 Existiert eine zeitliche Abfolge in der Entstehung der Läsionen?	83
4.3 Warum ist die Rumpfmuskulatur stärker betroffen?	84
4.4 Gegenüberstellung mit den Ergebnissen vorheriger Arbeitsgruppen	85
4.5 Propriozeptive Dysregulation als Mechanismus der Läsionsentstehung	86

4.6 Gibt es einen Hinweis auf eine periphere α -Synuklein-Pathologie?	89
4.7 Ist die Parkinsonerkrankung assoziiert mit peripherer α -Synukleinaggregation?	90
5. Zusammenfassung	91
6. Literaturverzeichnis	93

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Die neuronale Verschaltung und Transmitter der Basalganglien, modifiziert nach Frank Lehmann Horn (2007)	3
Abbildung 2	Läsionen im Musculus erector spinae in HE-, NADH-, Trichrom-, COX/SDH-, SDH- und SP-Färbung	60
Abbildung 3	Die Häufigkeit von zentralen Strukturdefekten in der SDH-Färbung von Rumpf- und Extremitätenmuskulatur	72
Abbildung 4	Die Häufigkeit von Streamings in der SP-Färbung von Rumpf- und Extremitätenmuskulatur	73
Abbildung 5	Die Häufigkeit von zentralen Strukturdefekten und Streamings in der SDH- und SP-Färbung von Mm. paraspinalis	73
Abbildung 6	Immunhistochemie zur Detektion von α -Synuklein mittels des Antikörpers 10D2 in peripheren Nervenanschnitten eines Parkinsonpatienten	76
Abbildung 7	Immunhistochemie zur Detektion von α -Synuklein mittels des Antikörpers 10D2 in peripheren Nervenanschnitten eines jungen Patienten ohne neurodegenerative Erkrankung	77
Abbildung 8	Abbildung einer PET-Blot-Positivkontrolle im Hirngewebe und Gegenüberstellung einer Muskelprobe im PET-Blot ohne Signalanreicherung und in der IHC mit Antikörpern gegen α -Synuklein	80

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Haupt- und Nebenkriterien für eine Kamptokormiediagnose bei iPS aus „Kamptokormie bei Morbus Parkinson“ (Margraf und Deuschl 2010)	19
Tabelle 2:	Diagnostische Kriterien, die für eine entzündliche oder dystone Ätiologie einer Kamptokormie sprechen (Margraf und Deuschl 2010)	21
Tabelle 3:	Auswertung klinischer Aspekte zur Verlaufsbeurteilung der Kamptokormie nach Margraf et al. (2010)	21
Tabelle 4:	Haupt- und Nebenkriterien zur myopathologische Diagnose einer Kamptokormie bei Parkinsonpatienten nach Wrede et al. (2012)	26
Tabelle 5a:	Übersicht über das Patientenkollektiv 1	29
Tabelle 5b:	Übersicht über das Patientenkollektiv 2	30
Tabelle 6:	Gliederung der auf- beziehungsweise absteigenden Alkoholreihe zur Überführung von Gewebeschnitten in wasserbasierte oder hydrophobe Reaktionsmedien	34
Tabelle 7a:	Durchführung der enzymhistochemischen Färbungen Teil 1	35
Tabelle 7b:	Durchführung der enzymhistochemischen Färbungen Teil 2	36
Tabelle 8:	Durchführung der pH-abhängigen ATPasen-Färbung	37
Tabelle 9:	Übersicht über die Basislösungen der Enzymhistochemie	37
Tabelle 10:	Verwendete Substanzen	38
Tabelle 11:	Verwendete Antikörper	39
Tabelle 12:	Verwendete Materialien und Geräte	40
Tabelle 13:	Übersicht über die Basislösungen der Immunhistochemie	42
Tabelle 14:	Übersicht über die Basislösungen für den PET-Blot	46
Tabelle 15a:	Ergebnisse von HE- und EvG-Färbung bei den Parkinsonpatienten	53
Tabelle 15b:	Ergebnisse von PAS-, ORO-, MAD- und Trichrom-Färbung bei den Parkinsonpatienten	54
Tabelle 15c:	Ergebnisse von COX-, SDH-, COXSDH-, NADH- und MAG-Färbung bei den Parkinsonpatienten	57
Tabelle 15d:	Ergebnisse von der Saure-Phosphatase und ATPasen-Färbung bei den Parkinsonpatienten	59
Tabelle 16a:	Ergebnisse von HE- und EvG-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen	62
Tabelle 16b:	Ergebnisse von PAS-, ORO-, MAD- und Trichrom-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen	63
Tabelle 16c:	Ergebnisse von COX-, SDH-, COXSDH-, NADH- und MAG-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen	66

Tabelle 16d:	Ergebnisse von der Saure-Phosphatase und ATPasen-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen	67
Tabelle 17a:	Übersicht über das Vorhandensein der Kamptokormie Haupt- und Nebenkriterien von Wrede et al. (2012) in den einzelnen Muskelproben der Parkinsonpatienten	69
Tabelle 17b:	Übersicht über das Vorhandensein der Kamptokormie Haupt- und Nebenkriterien von Wrede et al. (2012) in den einzelnen Muskelproben der Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen	70
Tabelle 18a:	Übersicht über die α -Synuklein-Reaktivität der Parkinsonpatienten in der Immunhistochemie mit dem Antikörper 10D2	78
Tabelle 18b:	Übersicht über die α -Synuklein-Reaktivität der zweiten Patientengruppe in der Immunhistochemie mit dem Antikörper 10D2	79

Abkürzungsverzeichnis

AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol
AF	atrophe Fasern
AGD	Silberkornkrankheit/Agyrophilie (engl. <i>agyrophilic agrain disease</i>)
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
AON	anteriorer olfaktorischer Nukleus
AP	alkalische Phosphatase
ATP	Adenosintriphosphat
ATPase	Adenosintriphosphatase
BCIP	5-Brom-4-chlor-3-indoxylphosphat
C7	Wirbelkörperhöhe cervical 7
CAPN3	Calpain-3
CBD	Corticobasale Degeneration
CJD	Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (engl. <i>Creutzfeldt Jakob disease</i>)
COX	Cytochrom-C-Oxidase
COX/SDH	kombinierte COX-SDH-Färbung
CT	Computertomographie
DaTSCAN	Dopamin-Transporter-Szintigrafie
DBS	tiefe Hirnstimulation (engl. <i>deep brain stimulation</i>)
DD	differentialdiagnostisch
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
DLB	Demenz mit Lewy-Körperchen
DMFA	Dimethylformamid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EIFEL	EIFEL-Skala (franz. <i>Echelle d'Incapacité Fonctionnelle pour l'évaluation des lombalgies</i>)
EM	Elektronenmikroskopie
EMG	Elektromyographie

EvG	Elastica van Gieson
FHL-1	Skelettmuskelprotein FHL-1 (engl. für <i>four-and-a-half LIM domains 1</i>)
FTD	frontotemporale Demenz
FTDP-17	Chromosom-17-assoziierte frontotemporale Demenz mit Parkinson (engl. <i>frontotemporal dementia with parkinsonism-17</i>)
GABA	γ -Aminobuttersäure (engl. <i>gamma-amino buttyric acid</i>)
GPi	Globus pallidus pars interna
GPe	Globus pallidus pars externa
HE	Hämatoxylin-Eosin
HRP	horseradish peroxidase
IBZM	¹²³ I-Jodbenzamid
IHC	Immunhistochemie
IK	interne Kerne
iPS	Idiopathisches Parkinsonsyndrom
L2	Wirbelkörperhöhe lumbal 2
LB	Lewy-Körperchen (engl. <i>Lewy body</i>)
L-Dopa	Levodopa
KS	Kernsäcke
KV	Kalibervariation
M.	Musculus
MAD	Myoadenylatdeaminase
MAG	Menadione-linked α -Glycerophosphat-Dehydrogenase
MFM	Myofibrilläre Myopathie
MRT	Magnetresonanztomographie
MSA	Multi-System-Atrophie
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Dehydrogenase
NBT	Nitroblau-Tetrazoliumchlorid
NTM	Natrium-Tris-Magnesium-Puffer

ORO	Oil-Red-O
PAS	Periodic acid-Schiff
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (engl. <i>phosphate buffered saline</i>)
PBST	PBS mit Tween® 20
PDD	Parkinsonerkrankung mit Demenz
PET	in Paraffin eingebettetes Gewebe (engl. <i>paraffin embedded tissue</i>)
PFA	Paraformaldehyd
PK	Proteinase K
PLP	Perjodat-Lysin-Paraformaldehyd
PSP	Progressive supranukleäre Blickparese
RYR1	Ryanodin-Rezeptor 1
SDH	Succinatdehydrogenase
SP	Saure Phosphatase
SPECT	Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (engl. <i>single photon emission computed tomography</i>)
STN	Nucleus subthalamicus
TBS	TRIS-gepufferte Salzlösung (engl. <i>tris-buffered saline</i>)
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
UE	unspezifische Esterase
UPDRS	einheitliche Bewertungsskala für die Parkinson-Krankheit (engl. für <i>unified Parkinson's disease rating scale</i>)
WF	verdrehte Muskelfasern (engl. <i>whorled fibres</i>)

1. Einleitung

1.1 Der Morbus Parkinson

Die Parkinson'sche Erkrankung ist eine neurodegenerative Erkrankung, deren Name sich an die Erstbeschreibung durch James Parkinson (1817) anlehnt. Während Parkinson noch den Begriff der Paralysis agitans verwendet hat, spricht man heute von dem idiopathischen Parkinson-Syndrom (iPS), welches von einem sekundären Parkinson-Syndrom abzugrenzen ist. Im deutschsprachigen Raum umgangssprachlich auch Schüttellähmung genannt, wird im Englischen von der *Parkinson's disease* oder *shaking palsy* gesprochen. Die Trias aus den Symptomen Tremor, Rigor und Akinese charakterisiert diese Erkrankung. Die Diagnose eines iPS wird nach leitliniengerechter Abklärung gestellt. Letztlich kann das iPS anhand der klinischen Diagnosekriterien jedoch nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit diagnostiziert werden. Die definitive Bestätigung und damit die schlussendliche Diagnose eines M. Parkinson erfolgt erst im Falle der Durchführung einer Autopsie und bei Erfüllung der histopathologischen Diagnosekriterien.

1.1.1 Basalganglionäre Dysfunktion aufgrund dopaminerger Dysbalance

Bereits am Ende des 19. Jahrhunderts waren die Basalganglien als anatomisch bedeutende Struktur in der Pathogenese des Morbus Parkinson identifiziert (Brissaud 1893). Zu Beginn des 20. Jahrhunderts hat Friedrich Lewy (1912) kugelige eosinophile Strukturen zunächst im dorsalen Nucleus des Nervus vagus bei verstorbenen Parkinsonpatienten beschrieben, später zudem im Globus pallidus, und diese als Ausdruck von abgelagerten proteinreichen Abbauprodukten interpretiert (Lewy 1913). Allerdings wurden diese Gebilde erst in den darauffolgenden Jahren ebenfalls in der Substantia nigra nachgewiesen und erstmals der Ausdruck Lewy-Körperchen (Abk. LB von engl. *Lewy body*) verwendet (Trétiakoff 1919).

Makroskopisch ist bereits ein Abblässen der normalerweise dunklen Substantia nigra bei fortgeschrittener Parkinsonerkrankung zu erkennen. Die physiologische Farbe kommt durch eingelagertes Eisen und Melanin in dort beheimateten Neuronen zustande. Dass ein Verlust jener dunkel gefärbten Neurone das spezifische Charakteristikum des Morbus Parkinson ist, wurde in Autopsiestudien der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts beschrieben (Foix und Niculescu 1925; Hassler 1938). Nachdem in vorangegangenen Arbeiten in den Gehirnen von Ratten und Kaninchen neben Adrenalin und Noradrenalin auch das Vorkommen von Dopamin nachgewiesen werden konnte (Carlsson et al. 1957; Montagu

1957; Weil-Malherbe und Bone 1957), wurde gegen Ende der Fünfziger Jahre die exzitatorische Wirkung von Dopamin klinisch beschrieben (Blaschko 1957; Holtz et al. 1957) und nachfolgend zudem experimentell bestätigt (Carlsson et al. 1958). Folglich wurde Dopamin neben anderen Katecholaminen ebenfalls als Neurotransmitter betrachtet. Mit der Entwicklung der Fluoreszenzspektroskopie gelang die Etablierung einer neuen Nachweismethoden monoaminhaltiger Zellen (Carlsson und Waldeck 1958; Carlsson et al. 1962; Falck und Torp 1962). Diese Methode ermöglichte die Darstellung, dass Dopamin vor allem innerhalb der Basalganglien und insbesondere des Striatums vorkommt (Bertler und Rosengren 1959a; 1959b; Sano et al. 1959).

Ein direkter Beweis für eine Verbindung zwischen erniedrigten Dopaminleveln innerhalb der Basalganglien und einer Erkrankung an Parkinson erfolgte in einer Autopsiestudie. In dieser Arbeit wurde Gewebe von Parkinsonpatienten mit Proben von Patienten mit Huntington'scher Erkrankung, sowie mit Material von Patienten ohne neurologische Auffälligkeiten verglichen. Sowohl in den Basalganglien der Kontrollgruppe wie der Patienten mit Morbus Huntington zeigten sich normale Dopaminlevel, der Dopamingehalt in den Proben der Parkinsonpatienten war dagegen deutlich erniedrigt (Ehringer und Hornykiewicz 1960). In einer weiteren Autopsiestudie wurde die für die Erkrankung relevante morphologische Schädigung in der Substantia nigra lokalisiert (Hornykiewicz 1963). Nachfolgende Arbeiten zeigten, dass produziertes Dopamin aus der Substantia nigra, vor allem der Pars Compacta, über eine nigrostriatale Neuronenbahn mit synaptischer Verschaltung im Striatum seine regulatorischen Effekte in den Basalganglien ausübt (Anden et al. 1964; Dahlstroem und Fuxe 1964).

In den nachfolgenden Jahrzehnten gelang eine weitere Verfeinerung der Methodik, so dass das Umgebungsgewebe weniger geschädigt und mikroskopische Zusammenhänge besser beurteilt werden konnten (Lindvall und Björklund 1974). Im Zuge des Aufkommens immunhistochemischer Methoden gelang eine noch bessere Lokalisation und Diskrimination der neuronalen Subpopulationen. Heutzutage existieren verschiedene Varianten moderner bildgebender Verfahren zur In-vivo-Quantifizierung dopaminerger Neurone in den Basalganglien wie beispielsweise Dopamin-Transporter-Szintigrafie (DaTSCAN) und ¹²³I-Jodbenzamid-Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (IBZM-SPECT (englisch für *single photon emission computed tomography*)). Mithilfe dieser Verfahren konnte zwischen verwandten neurodegenerativen Erkrankungen ein Unterschied im neuronalen Verlust über den Verlauf der Erkrankungen gezeigt werden. Damit können diese Verfahren zu deren Unterscheidung im Diagnoseprozess beitragen (Jakobson Mo et al. 2013). Zum anderen ermöglichen sie die Früherkennung und das Monitoring von Parkinsonerkrankungen (Leenders et al. 1990; Park et al. 2013), sowie eine weitere Differenzierung

verschiedener Rezeptorsubtypen und deren Verhalten im Krankheitsverlauf (Rinne et al. 1990).

Aufgrund der gewonnenen Erkenntnisse aus obigen Studien, Tiermodellen und Methoden, klinischen Beobachtungen sowie Erfahrungen mit pharmakologischen und hirnchirurgischen Behandlungen, wurde die Hypothese aufgestellt, dass der Verlust der dopaminergen Neurone in der Substantia nigra und konsekutivem Dopaminmangel im Striatum der primäre pathophysiologische Mechanismus der Erkrankung sei (Narabayashi 1995).

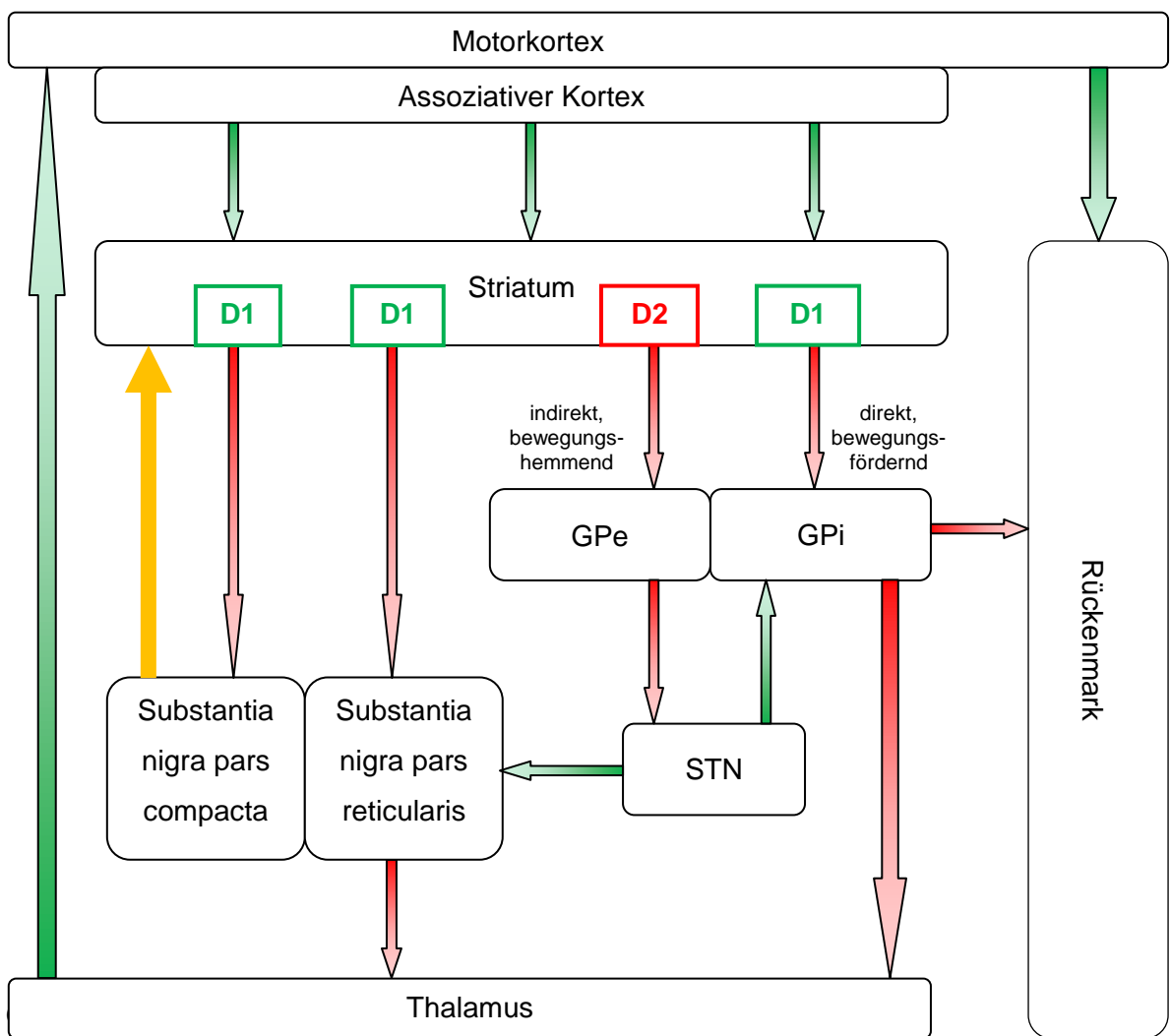


Abbildung 1: Die neuronale Verschaltung und Transmitter der Basalganglien modifiziert nach Frank Lehmann Horn (2007) mit freundlicher Genehmigung des Springer Nature Verlags

- glutamaterg, exzitatorisch
- GABAerg, inhibitorisch
- dopaminerg, an D₁-Rezeptoren exzitatorisch, an D₂-Rezeptoren inhibitorisch

Die Basalganglien sind ein komplex verschaltetes Netzwerk mehrerer Kerngebiete, deren Verschaltung letztlich über den Globus pallidus pars interna (GPi) einen hemmenden Einfluss auf den Thalamus und damit den Motorcortex ausübt. Vorgeschaltet existiert zum einen eine direkte Verbindung über das Striatum auf den GPi. Dieser Einfluss bewirkt eine Disinhibition des Thalamus und somit eine Bewegungsförderung. Zum anderen wird der GPi glutamaterg durch den Nucleus subthalamicus (STN) erregt, welcher wiederum vom Globus pallidus pars externa (GPe) über γ -Aminobuttersäure (GABA) inhibiert wird. Durch striatale Inhibition des GPe resultiert indirekt eine Aktivierung des GPi und damit eine Bewegungshemmung (Obeso et al. 2008).

Abgesehen von corticostriatalen Einflüssen, moduliert die Substantia nigra die Balance zwischen der indirekten und direkten Verschaltungen. Dopamin inhibiert generell das Striatum, wobei dieses sowohl D_1 - wie D_2 -Rezeptoren besitzt. Bindung von Dopamin an D_1 -Rezeptoren führt zur Inhibition des direkten Weges, aktivierte D_2 -Rezeptoren inhibieren die indirekte Verbindung. Hierdurch werden Bewegungen kontrolliert, gewünschte Bewegungen unterstützt und unerwünschte Bewegungen unterdrückt (Marsden und Obeso 1994). Ein Wegfall der dopaminergen Innervation führt jedoch zu einem gestörten Gleichgewicht der beiden Wege. In der Folge kommt es zu einer Abschwächung der Aktivität des direkten Verschaltungsweges, wohingegen die Disinhibition des Nucleus subthalamicus im indirekten Regelkreis zu einer verstärkten Hemmung der Bewegung führt (Mehler-Wex et al. 2006). Allerdings scheint der Körper im Anfangsstadium der Erkrankung zu einer Gegenregulierung durch erhöhte Expression von Dopaminrezeptoren im Stande zu sein (Ebadi et al. 1996). Insgesamt resultiert aus dieser Dysbalance und Hyperaktivität des STN eine starke Verarmung und Fehlkontrolle der Bewegungsmuster des Parkinsonpatienten.

1.1.2 Die Rollen von Lewy-Körperchen und α -Synuklein im Krankheitsgeschehen

Die Ergebnisse histopathologischer Untersuchungen ergaben unterschiedliche Verteilungsmuster von LBs in verschiedenen anatomischen Strukturen. Die Interpretation von Braak legt eine Assoziation mit dem (zeitlichen) Progress der Erkrankung nahe. Das in dieser Arbeit entwickelte Schema fasst diesen Zusammenhang in sechs Stufen zusammen und propagiert ein rostro-caudales Ausbreitungsmuster (Braak et al. 2003; 2004). Es folgten Arbeiten mit ähnlichen Ergebnissen (Beach et al. 2010; Pouclet et al. 2012), jedoch werden eine direkte Korrelation des Braak-Schemas mit der klinischen Ausprägung der Erkrankung, sowie das postulierte Ausbreitungsmuster kontrovers diskutiert (Burke et al. 2008; Jellinger 2009). Es wurde beobachtet, dass bis zu zwei Drittel der Individuen mit

ausgeprägter Anzahl an nachgewiesenen Lewy-Körperchen klinisch keine Anzeichen eines Parkinsonismus zeigen (Parkkinen et al. 2005; 2008). Darüber hinaus scheinen unterschiedlichen Verlaufsformen der Parkinson'schen Erkrankung ebenso unterschiedliche, teilweise vom Braak'schen Schema abweichende Verteilungsmuster zugrundezuliegen (Halliday et al. 2008). Ob diese Fälle als präsymptomatische Stadien einer Parkinsonerkrankung zu werten sind (Dickson et al. 2008) oder Lewy-Körperchen Teil des physiologischen Alterungsprozesses sind (Gibb und Lees 1988), ist nicht abschließend geklärt. Zudem sind diese Einschlüsse auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen zu finden, bei denen sie regelmäßig keine parkinsonoiden Symptome hervorrufen (Jellinger 2004). Außerdem erhöhen intrazelluläre Lewy-Körperchen nicht die Wahrscheinlichkeit der betroffenen Neurone abzusterben (Tompkins und Hill 1997). In der zusammenfassenden Interpretation der Daten ergeben sich somit starke Hinweise darauf, dass die Lewy-Körperchen als ursächliches Agens in der Pathogenese des Morbus Parkinson nicht in Frage kommen. Vielmehr scheint die Formation dieser neuronalen Einschlüsse die Toxizität von darin abgelagertem Material abzuschwächen (Chen und Feany 2005; Wakabayashi et al. 2007). Aus diesem Zusammenhang heraus stellt sich die Frage, aus welchen Ablagerungen ein Lewy-Körperchen besteht. Die seit längerem bekannte Hauptkomponente ist α -Synuklein (Spillantini et al. 1997), wobei daneben eine Anzahl weiterer Proteine nachweisbar sind die abnormale filamentöse Strukturen bilden (Spillantini et al. 1998) und somit teilweise nicht-löslich ausgefällt werden (Baba et al. 1998). Wichtige Vertreter in diesem Proteingemenge sind beispielsweise Ubiquitin (Kuzuhara et al. 1988; Lowe et al. 1988), Neurofilamentproteine (Goldman et al. 1983; Schmidt et al. 1991), Tau-Protein (Xu et al. 2016) und alpha-B-Kristallin (Liu et al. 2015).

α -Synuklein ist ein physiologisch in menschlichen Nervenzellen vorkommendes Protein, welches nahe der präsynaptischen Membran sowie perinukleär zu finden ist. Daher leitet sich auch der Name ab. Seine exakte Funktion ist bis heute nicht abschließend geklärt. Jedoch ist davon auszugehen, dass es den Dopaminstoffwechsel beeinflusst. Dieser Umstand würde eine Erklärung dafür liefern, warum grade die dopaminergen Neurone beim Morbus Parkinson der Degeneration unterliegen. α -Synuklein scheint die Synthese, Ausschüttung wie Wiederaufnahme und den Abbau des Neurotransmitters zu regulieren (Sidhu et al. 2004). So wurde eine Verbindung zwischen dem Protein und der Bildung sowie Kontrolle von synaptischen Vesikel nachgewiesen (Cabin et al. 2002). Folglich ist es an der Aufrechterhaltung der synaptischen Funktionen beteiligt (Al-Wandi et al. 2010). Jedoch existieren wiederum auch Hinweise, dass ein zu hoher Level an α -Synuklein die Vesikelfunktion beeinträchtigt (Larsen et al. 2006). Dass α -Synuklein in der Pathogenese des Morbus Parkinson eine Rolle spielt, wird auch durch genetische Analysen gestützt.

So wurden mittlerweile verschiedene Genmutationen entdeckt, die bei familiären Varianten der Erkrankung vorkommen und einen Einfluss auf die Funktionalität oder den Expressionslevel von α -Synuklein haben. Zum einen kann es aus genetischer Ursache heraus zu einer Überexpression von α -Synuklein in Neuronen kommen (Chartier-Harlin et al. 2004; Farrer et al. 2004; Fuchs et al. 2007). Hierbei konnte eine direkte Korrelation des hereditär gesteigerten Zellgehalts an α -Synuklein und einem damit verbundenen früheren Erkrankungszeitpunkt nachgewiesen werden. Zum anderen sei hier die häufigste Ursache für einen Morbus Parkinson mit frühem Krankheitsbeginn, die Mutation des Parkin-Gens, erwähnt (Klein und Schlossmacher 2006). Parkin ist eine Ubiquitin-Ligase und ubiquitinyliert physiologischerweise unter anderem α -Synuklein. Aufgrund der Mutation verliert das Enzym seine Funktion, wodurch α -Synuklein nicht mehr für den Abbau markiert wird und somit akkumuliert (Shimura et al. 2001). Insbesondere scheint eine beeinträchtigte Degradation von α -Synuklein dabei zu dessen Akkumulation zu führen (Kuznetsov und Kuznetsov 2016).

Abgesehen von der Akkumulation, scheint die Aggregation von α -Synuklein im Zytoplasma der Präsynapse eine wichtige Rolle in der neuronalen Schädigung zu spielen. Je höher der Gehalt an intrazellulärem α -Synuklein, desto häufiger ist ebenso eine intrazelluläre Aggregation von α -Synuklein nachweisbar (Wan et al. 2016). Physiologischerweise liegt α -Synuklein im Zytoplasma gelöst vor, assoziiert an die synaptische Membran. Hierbei besitzt es eine definierte Ultrastruktur, die abhängig von Temperatur, pH-Wert der Umgebung, Wechselwirkung mit benachbarten Molekülen und vielen weiteren Faktoren ist. Andererseits hängen von dieser so genannten Konformation die chemischen und biologischen Eigenschaften eines Proteins unmittelbar ab. Durch eine Konformationsänderung können die enzymatische Aktivität, das Löslichkeitsverhalten und die Empfindlichkeit des Proteins gegenüber Abbaumechanismen abgeschwächt werden, oder gar verloren gehen. Aggregierende Proteine besitzen eine Struktur, die es ihnen ermöglicht sich dicht aneinander zu lagern, weitere Proteine anzuziehen und auf gleiche Weise zu binden. Das daraus entstehende Gebilde ist meist nicht mehr im Zytoplasma löslich und in der Regel sehr widerstandsfähig gegenüber einem physiologischen Abbau. Erste Hinweise, dass Proteinaggregation in der Erkrankung einer Rolle spielen könnte, ergaben sich bereits Mitte des 20. Jahrhunderts. Damals wurde ein hoher Gehalt an fibrillären neben granulären Komponenten in Lewy-Körperchen beschrieben (Wolman und Roy 1969). Jedoch gelang es erst Ende der 90er Jahre, das diesen Fibrillen angesammelte Material als aggregiertes α -Synuklein zu identifizieren (Spillantini et al. 1998). Die Fähigkeit des Proteins zur Bildung von aggregierenden Fibrillen wurde in der Folge bestätigt (Crowther et al. 1998). In der Folge wurde beobachtet, dass α -Synuklein, welches seine Bindung zu der

synaptischen Membran verliert, eine Konformationsänderung durchläuft und danach eine erhöhte Bereitschaft zur Aggregation zeigt (Zhu und Fink 2003; Smaldone et al. 2015). Hierbei scheint der Verlust des Kontakts von Protein und Membran eine Rolle zu spielen (Jo et al. 2004). Es wird postuliert, dass eine Phosphorylierung von α -Synuklein die Aggregation begünstigt (Fujiwara et al. 2002). In einigen Zellkulturmodellen zeigte phosphoryliertes α -Synuklein eine höhere Neurotoxizität (Chen und Feany 2005).

Allerdings kommt weniger den Aggregaten innerhalb der Lewy-Körperchen eine Bedeutung zu als denen, die an der präsynaptischen Endigung vorliegen (Kramer und Schulz-Schaeffer 2007). Es ließ sich zeigen, dass ca. 90 % aller in einer Probe nachgewiesenen Aggregate eben dort lokalisiert sind (Schulz-Schaeffer 2010). Diese Ablagerungen sind von eher feiner Struktur (Mikroaggregate) und werden in den normalen neuropathologischen Untersuchungsverfahren nicht erfasst.

1.1.3 Nachweis von Proteinaggregaten in Geweben

Ogleich große Proteinaggregate schon in einfachen Übersichtsfärbungen sichtbar sind, existiert ein breites Spektrum an Techniken zum Nachweis von Proteinaggregaten. Dabei finden sich unspezifische, nicht von einem bestimmten Protein abhängende histochemische Verfahren, wie beispielsweise die Kongorot- und die Thioflavinfärbung. Auch immunhistochemisch existieren unspezifische Detektionsverfahren, wie die Markierung mittels Markern gegen ubiquitinylierte Proteine (z.B. Protein p62) (Homma et al. 2014). Außerdem kommen auf fluoreszierenden Farben basierende Nachweismethoden zum Einsatz (Hawe et al. 2008). Des Weiteren werden Proteinaggregate über spezifische Antikörper direkt nachgewiesen. Hierbei erfolgt der Rückschluss auf das Vorliegen von Aggregaten häufig anhand der morphologischen Beschaffenheit der Signale (kompakte rundliche oder verdickte Strukturen). Die eigentliche Aussage, ob ein Protein wirklich in aggregierter Form vorliegt, liefert erst ein Verdau mittels Proteasen. Dementsprechend ist die Methode mit der bisher höchsten Sensitivität für Proteinaggregate der PET-Blot (Schulz-Schaeffer et al. 2000). Hiermit können auch die Mikroaggregate sichtbar gemacht werden. Weitere Vorteile dieses Verfahrens liegen in der guten morphologischen Zuordnung, zudem werden nicht aggregierte Proteine mithilfe eines enzymatischen Verdau entfernt. Somit bleiben lediglich die tatsächlichen Proteinaggregate zurück, welche im Folgenden von Antikörpern detektiert werden können.

1.1.4 Mechanismen der Neurodegeneration im Zusammenhang mit α -Synuklein

Die Mechanismen, aufgrund derer aggregiertes α -Synuklein der Präsynapse zu Funktionsverlust und schließlich Degeneration dopaminerger Neurone führt, sind derzeit Gegenstand der Forschung. Zum einen wird dabei eine Störung des intrazellulären Proteinabbaus durch α -Synukleinaggregate diskutiert (McNaught et al. 2001; Tanaka et al. 2001), eine gewisse Beeinträchtigung des Golgi-Apparates wurde nachgewiesen (Soper et al. 2011). Zum anderen wird ein mitochondrialer Einfluss auf die Krankheitsentstehung diskutiert. Dieser Gedanke stützt sich unter anderem auf Genanalysen, die neben Mutationen der Gene für α -Synuklein und dessen regulatorischer Proteine, zusätzliche Defekte in Genen identifiziert haben, die für mitochondriale Proteine kodieren (Klein und Schlossmacher 2006). Eine dritte These propagiert, dass α -Synukleinaggregate den axonalen Transport innerhalb des Neurons behindert und so zu dessen Untergang führen (Cheng et al. 2010; Siebert et al. 2010). Neuere Untersuchungen konnten bestätigen, dass aggregiertes α -Synuklein tatsächlich den Transport bestimmter Zellorganellen behindert (Volpicelli-Daley et al. 2014).

An dieser Stelle sei erwähnt, dass neben dem Morbus Parkinson die Multi-System-Atrophie (MSA) und die Lewy-Körperchen-assoziierte Demenz (DLB, englisch *dementia with Lewy bodies*) (Goedert und Spillantini 1998) mit α -Synuklein-Aggregation einhergehen. Letztere ist durch ein Parkinsonsyndrom und eine Demenz charakterisiert. Da sich im Verlaufe einer Parkinsonerkrankung aber auch eine Einschränkung der Kognition entwickeln kann, setzt die Diagnose einer DLB die klinische Ausprägung der Demenz frühzeitig mit dem Erscheinen motorischer Symptome voraus (McKeith 2006). Die Krankheitsbilder Morbus Parkinson, PDD, DLB und MSA werden häufig als „Synukleinopathien“ bezeichnet, was von seiner Begrifflichkeit her schwierig ist. Der Begriff legt nahe, dass physiologisches α -Synuklein der krankheitsbestimmende Faktor ist. Aus den oben gemachten Ausführungen wird aber klar, dass bei diesen Erkrankungen eine augenfällige Aggregation von α -Synuklein das diagnostische Merkmal ist. Das bedeutet jedoch nicht, dass dies auch der entscheidende pathogenetische Faktor sein muss. Die Erkrankungen hängen nicht von dem physiologischen α -Synuklein ab, eine pathologische Erhöhung des physiologischen α -Synukleins kann die Aggregation allerdings befördern. Es sind Erkrankungen, die mit einer α -Synukleinaggregation einhergehen. Sie sollten deshalb korrekterweise als α -Synuklein-Aggregationskrankheiten bezeichnet werden.

1.1.5 Einordnung in die Gruppe der neurodegenerativen Erkrankungen

Das gemeinsame Merkmal neurodegenerativer Erkrankungen liegt in einem meist langsam fortschreitenden Verlust höherer Nervenzellfunktionen und/oder einem Verlust von Funktionen des zentralen Nervensystems. Dieser Funktionsverlust kann sich in Form von Demenz, Bewegungsstörung, Lähmung, Ataxie, autonomer Dysfunktion oder Kombinationen aus den vorgenannten Symptomen äußern. Im Spektrum neurodegenerativer Erkrankungen finden sich somit Krankheitsbilder mit dominierender dementieller Symptomatik, wie beispielsweise der Morbus Alzheimer. Demgegenüber ist der Morbus Parkinson vor allem durch motorische Störungen charakterisiert, das Risiko der Entwicklung dementieller Symptome ist jedoch auch erhöht (Aarsland et al. 2001; 2003).

Im Spektrum der neurodegenerativen Erkrankungen kommt es zur Aggregation verschiedener Proteine bei den unterschiedlichen Krankheitsbildern. Beispielfhaft erwähnt seien hier der Morbus Alzheimer, die PSP und der Morbus Pick als Vertreter der Tauopathien, bei denen es vor allem zu Ansammlungen von aggregiertem Tau-Protein kommt. Bei der DLB, dem iPS und der PDD liegt eine Aggregation vor allem des α -Synukleins vor. Abhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung variiert das Muster der neuronalen Degeneration. Während beim Morbus Parkinson das striatonigrale System degeneriert, sind beim Morbus Pick vorrangig frontotemporal gelegene Neurone geschädigt. Demgegenüber sind beim Morbus Alzheimer primär die Neurone des Hippocampus in ihrer Funktion gestört. Die Selektivität des Degenerationsprozesses begründet sich in einer unterschiedlichen Vulnerabilität der Neurone für die jeweiligen krankheitstypischen Veränderungen (Sandmann-Keil und Braak 2005). Dabei zeigen einzelne Neuronenpopulationen abweichende Sensibilität gegenüber den unterschiedlichen Proteinaggregaten, sodass es an unterschiedlicher Stelle mit abweichender Ausprägung zu einer neuronalen Schädigung kommt. Zudem scheint es auch innerhalb der einzelnen Gruppen von Proteinaggregatonskrankungen unterschiedliche Vulnerabilitäten von Neuronen gegenüber der aggregatvermittelten Schädigung zu kommen, deren zugrundeliegender pathophysiologischer Mechanismus noch nicht geklärt ist.

Aus dieser spezifischen Schädigung im Rahmen der jeweiligen neurodegenerativen Erkrankung heraus entsteht ihr jeweiliges klinisches Erscheinungsbild. Somit resultiert aus dem Funktionsverlust hippokampaler Strukturen beim Morbus Alzheimer vor allem eine Störung der Gedächtnisfunktion und der Orientierung. Patienten mit frontotemporaler Demenz entwickeln demgegenüber eher Verhaltens- und Sprachstörungen sowie Veränderungen der Persönlichkeit. Im Falle des Morbus Parkinson entsteht bei Schädigung des striatonigralen Systems daraufhin die erwähnte Dysbalance in der motorischen Regulati-

on. Allerdings ist zu beachten, dass mit Progress der Erkrankung zusätzliche Hirnareale betroffen sein können (Braak et al. 2006). Zudem gibt es Hinweise auf eine Beteiligung von enterischem (Wakabayashi et al. 1988) und peripherem Nervensystem (Del Tredici et al. 2010). Dieser Aspekt legt eine Ausbreitungskinetik nahe. In diesem Zusammenhang ist die Rolle der Befunde einer peripheren Pathologie für die Erklärung der klinischen Symptomatik noch völlig unklar. Auch die Einbeziehung von Körperorganen in die Pathologie ist noch nicht geklärt.

1.1.6 Epidemiologie und Genetik

Der Morbus Parkinson ist eine weltweit vorkommende Erkrankung mit schleichendem Beginn und chronisch-progredientem Verlauf. Mit einer Prävalenz von 0,1-0,3 % in Europa (Schwarz 2007) gehört sie zu den häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen in unserer Gesellschaft. Der Erkrankungsgipfel liegt in der 6. Lebensdekade, jedoch erkranken rund 10 % der Patienten vor dem 40. Lebensjahr (Kasten et al. 2007). Hierbei sind idiopathische bzw. sporadische Parkinsonerkrankungen von genetischen sowie sekundären Formen zu unterscheiden.

Genetische Parkinsonsyndrome können ererbt werden oder durch Neumutationen erworben werden. Dies trifft auf 5 bis 10 % aller Parkinsonpatienten zu (Lesage und Brice 2009). Eine Vielzahl von Genen kann dabei betroffen sein. Diese monogenetischen Syndrome folgen je nach Defekt einem autosomal dominanten oder rezessiven Mendel'schem Erbgang (Klein und Schlossmacher 2006). Wenngleich sich genetische und sporadische Parkinsonformen in ihrer klinischen Symptomatik nicht sehr stark voneinander unterscheiden (Lohmann et al. 2003), sind juvenile sowie präsenile Parkinsonerkrankungen sehr häufig auf genetische Defekte zurückzuführen (Hedrich et al. 2004; Oliveira et al. 2005). Daneben gibt es auch andere genetisch bedingte neurodegenerative Erkrankungen, die mit einem sekundären Parkinsonsyndrom einhergehen können wie die FTDP-17 (Chromosom-17-assoziierte frontotemporale Demenz mit Parkinson, engl. *frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17*) (Murrell et al. 1997).

Von den idiopathischen und genetischen Formen des Morbus Parkinson sind sekundäre Parkinsonsyndrome abzugrenzen. Als Ursachen hierfür sind insbesondere andere neurodegenerative Erkrankungen wie die Tau-assoziierten Proteinaggregationserkrankungen, beispielsweise die kortikobasale Degeneration (CBD), die Silberkornkrankheit bzw. Agryrophilie (*agyrophilic grain disease* (AGD)) und die PSP zu nennen (Yoshida 2014), aber auch andere α -Synukleinopathien wie die MSA und die Prion-assoziierte Creutzfeld-Jakob-Erkrankung (*Creutzfeld Jakob disease* (CJD)).

Weitere Ursachen für sekundäre Parkinsonsyndrome sind Intoxikationen, beispielsweise mit Medikamenten (Lithium) oder Schwermetallen (Mangan). Weitere Auslöser sind entzündliche, metabolische sowie vaskuläre Prozesse (DGN 2016). Darüber hinaus scheinen weitere Umweltfaktoren, insbesondere Exposition gegenüber Pestiziden und Industriechemikalien, eine Erkrankung zu begünstigen (Tanner et al. 1989; Priyadarshi et al. 2001).

1.1.7 Die klassische Symptomtrias

Eine Beeinträchtigung des olfaktorischen Systems ist häufig die erste Manifestation des idiopathischen Parkinsonsyndroms (iPS) (Müller et al. 2002), noch bevor sich die eigentliche Kernsymptomatik entwickelt. Eine Erklärung dafür könnte im zeitlichen Ausbreitungsverlauf der Proteinaggregate liegen. Wenn man sich die Braak-Stadien zur Klassifikation der Synukleinpathologie beim PD ansieht, so findet sich im Stadium I (früh) eine Ablagerung im Bulbus olfactorius, dem anterioren olfaktorischen Nukleus (AON) und dem Nucleus dorsalis nervi vagi (Braak et al. 2002). Alternativ konnten Neurone nachgewiesen werden, die von der Substantia nigra in den Bulbus olfactorius ziehen und die bei einer Schädigung der Substantia nigra eine mögliche Beeinträchtigung der Riechbahn nach sich ziehen (Höglinger et al. 2015).

Die nachfolgend beschriebene, klassische Symptomatik der Parkinsonerkrankung lässt sich durch die nigrostriatale Degeneration und daraus resultierender dopaminerger Dysbalance erklären. Sie besteht klassischerweise aus Bewegungsverarmung, Störung der Stell- und Haltungsreflexe, einer generellen Steifigkeit der Muskulatur sowie einer Fehlregulation motorischer Abläufe und beginnt initial oft einseitig (Hughes et al. 1993). Dieser Symptomkomplex stellt die klassische Trias aus Rigor, Tremor und Akinese dar. Häufig kommen in späteren Stadien der Erkrankung vegetative Symptome sowie Beeinträchtigungen der Kognition (bis hin zu einer Demenz) dazu.

Der Tremor ist eines der charakteristischsten Symptome des iPS. Er tritt bei ca. 75 % aller Parkinsonpatienten auf und beginnt dabei häufig distal an der oberen Extremität einer Seite. Es handelt sich dabei um einen niederfrequenten Ruhetremor, der durch affektive Erregung verstärkt wird (Playfer und Hindle 2008). Die auch als Rigor bezeichnete Muskelstarre kommt durch eine Erhöhung des Muskeltonus zustande und bereitet dem Patienten Schmerzen. Während einer klinischen Untersuchung spürt der Untersucher bei passiver Bewegung der Extremitäten einen wächsernen Widerstand, ein Zahnradphänomen ist regelhaft nachweisbar. Die Bewegungsverarmung mündet in einer generellen Brady- bis Akinese des Patienten. Daraus resultieren das für den Morbus Parkinson typische, kleinschrittige Gangbild mit erhöhter Wendeschrittzahl, eine Hypomimie und Mikro-

graphie. Außerdem besteht eine Beeinträchtigung der Willkürmotorik, sodass die Initiierung eines Bewegungsablaufs Probleme bereiten kann. Zusätzlich kommt es zu Phasen des plötzlichen unwillkürlichen Erstarrens, so genannten Bewegungsblockaden oder *freezings* (Giladi et al. 1997). Diese können von unterschiedlicher Dauer sein und als Nebenwirkung der Levodopatherapie des Patienten auftreten. Bei einer Bewegungsblockade aufgrund nachlassender Wirkung der Medikamente spricht man von einem *off-freezing*, ein paradoxes Erstarren aufgrund erhöhter Wirkspiegel wird als *on-freezing* bezeichnet (Espay et al. 2012). Bewegungsstörungen sprechen im Initialstadium gut auf eine Medikation mit L-Dopa an, *off*-Phasen häufen und verlängern sich jedoch mit Progress der Erkrankung.

1.1.8 Einteilung von Parkinsontypen und zusätzliche Symptomatik

Ogleich die Brady- bis Akinesie ein obligates Symptom des iPS darstellt, können Tremor wie Rigor individuell unterschiedlich ausgeprägt sein. Daher wird klinisch zwischen drei Subtypen unterschieden. Bestimmen Bradykinesie und Rigor das klinische Bild bei geringer Ausprägung oder Fehlen des Tremors, entspricht dies der akinetisch-rigiden Variante. Demgegenüber steht der Tremordominanz-Typ, bei dem vor allem ein typischer Tremor bei verhältnismäßig geringen motorischen Einschränkungen und Rigor vorliegt. Sind alle drei Symptome gleichsam ausgeprägt, definiert dies den Äquivalenztyp (DGN 2016). Weiterhin typisch für die Erkrankung ist die ausgeprägte posturale Instabilität aufgrund der gestörten Reflexbahnen zur Kontrolle von aufrechter Körperhaltung und Wahrung des Gleichgewichts (Robertson et al. 2001; Rocchi et al. 2002). Im Zusammenspiel mit den anderen bereits erläuterten Symptomen ergibt sich eine ausgeprägte Neigung der Patienten zu Stürzen (Lindholm et al. 2015; Cole et al. 2016). Außerdem resultiert daraus die charakteristische starre Haltung eines Parkinsonpatienten: leichte Vorwärtsneigung des Oberkörpers, eng anliegende Arme, diskrete Flexion der Beine (Budrys 2005). Insgesamt entsteht der Eindruck einer gedrungenen Körperhaltung, im Englischen durch den Begriff *stooped posture* ausgedrückt und in einer weithin bekannten Zeichnung von Sir William Richard Gowers (1886) bildlich festgehalten.

Abgesehen von Bewegungsstörungen sind Patienten bei Progress eines idiopathischen Parkinsonsyndroms häufiger als bei anderen chronischen Erkrankungen von psychiatrischen Komorbiditäten betroffen. Im Zuge der Erkrankung sind ca. 40 % aller Parkinsonpatienten von einer Depression betroffen (Cummings 1992). Ebenso können Halluzinationen auftreten, die darüber hinaus häufig zu einer dauerhaften Unterbringung in einer Pflegeeinrichtung führen (Goetz und Stebbins 1993). Neben einer Bradyphrenie kann sich im Verlauf der Erkrankung eine dementielle Komponente (PDD, *dementia in Parkinson's*

disease) entwickeln. Aus Übersichtsarbeiten geht hervor, dass eine PDD jeden dritten bis vierten Parkinsonpatienten betrifft, sodass in der Summe 3-4 % aller Demenzen auf eine Parkinsonerkrankung zurückzuführen sind (Aarsland et al. 2005). Zusätzlich zu den kognitiven Beeinträchtigungen, stellen vegetative Begleitsymptome eine weitere große Gruppe an Komplikationen bei Fortschreiten eines iPS dar. Hierzu zählen unter anderem eine Obstipation, orthostatische Hypotension, Dranginkontinenz, Hypersalivation, Dysphagie, erektile Dysfunktion, Schlafstörung sowie Seborrhoe des Gesichts. Der optische Eindruck von letzterem in Kombination mit der Hypomimie schuf den Begriff des Salbengesichts (Cohn 1920).

1.1.9 Diagnostik des Parkinsonsyndroms

In der Diagnostik des idiopathischen Parkinsonsyndroms wird nach dem Schema der *UK Brain Bank* vorgegangen. Hierzu sind vor allem Anamnese und ausführliche klinisch-neurologische Untersuchung vonnöten. Eine zumindest einmalige bildgebende Diagnostik wird empfohlen, um wichtige Differentialdiagnosen auszuschließen. Im Besonderen müssen behandelbare Grunderkrankungen mit sekundärem Parkinsonismus sowie andere neurodegenerative Erkrankungen ausgeschlossen werden, bei denen ein parkinsonoides Syndrom auftreten kann. Neben den anderen beiden mit α -Synuklein-Aggregation assoziierten Erkrankungen, der MSA und der DLB, gehören hierzu vor allem die Corticobasale Degeneration (CBD) sowie die progressive supranukleäre Blickparese (PSP, Steele-Richardson-Olszewski-Syndrom (Steele et al. 1964)). Die Differenzierung zwischen idiopathischem Parkinsonsyndrom und obiger Gruppe der so genannten atypischen Parkinsonsyndrome bereitet zuweilen Schwierigkeiten. Letztlich wurde für jede dieser vier Erkrankungen ein Symptomkatalog erstellt, dessen jeweilige Anwendung eine zutreffende Diagnose mit relativer Sicherheit ermöglicht (Litvan et al. 1996; Boeve et al. 2003; McKeith 2006; Gilman et al. 2008). Fakultativ kann mit einem L-Dopa- bzw. Apomorphintest das Ansprechen der Erkrankung auf jene Medikamente untersucht und manche Differentialdiagnosen damit ausgeschlossen werden. Gleiches gilt für weitere bildgebende Verfahren wie den DAT-Scan oder den IBZM-SPECT sowie weitere Funktionstest. Für die initiale Erfassung und Verlaufsbeobachtung des individuellen Ausprägungsgrades existieren verschiedene Möglichkeiten. Dazu zählen unter anderem die Krankheitsstadien nach Hoehn und Yahr (1967), die heutzutage Bestandteil der UPDRS (einheitliche Bewertungsskala für die Parkinson-Krankheit, engl. *unified Parkinson's disease rating scale*) sind (Goetz et al. 2007). Für eine Übersicht über die individuellen Diagnosekriterien, mögliche Untersuchungsmethoden, die Therapie der einzelnen Erkrankungen, sowie auch die ausführliche Darstellung der Therapieprinzipien des idiopathischen Parkinsonsyndroms, wird auf die aktuelle Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie von 2016 verwie-

sen (DGN 2016). Eine Diagnosesicherung des Parkinsonsyndroms als idiopathischer Morbus Parkinson kann nur durch eine Autopsie erfolgen, durch die bei Erfüllung der entsprechenden neuropathologischen Kriterien diese Diagnose in Zusammenschau mit der klinischen Erscheinung postmortal verifiziert wird.

1.1.10 Generelle Muskelpathologie beim Morbus Parkinson

Bis heute existieren nur wenige veröffentlichte Arbeiten, die eine myopathologische Veränderung in Muskelgeweben von Parkinsonpatienten beschreiben. Zu den bisherigen Beobachtungen zählt eine selektive Typ-2-Faser-Atrophie bei teilweiser Hypertrophie von Typ-1-Muskelfasern, beschrieben in *Musculus biceps brachii* und *Musculus vastus lateralis* (Edström 1970a; 1970b). Elektronenmikroskopische Untersuchungen eben jener Muskeln zeigen einen myofibrillären Organisationsverlust im Sinne eines *Z-band-streamings* sowie mitochondriale Veränderungen unterschiedlicher Ausprägung (Verlust von innerer und/oder äußerer Membran) (Ahlqvist et al. 1975).

Weiterhin wurde eine Degeneration der Nervenfasern innerhalb der Muskelspindeln berichtet (Byrnes 1926). Manche Autoren sehen als Ursache hierfür eine Denervation des Spindelapparats (Swash und Fox 1974). Letztlich ist die Ätiologie dieser Veränderungen bisher nicht geklärt. In einer weiteren Arbeit stellten sich die diffusen Endigungen der intrafusalen γ -Nervenfasern histochemisch in der Acetylcholinesterasefärbung als vergrößert dar bei gleichzeitig atroph wirkenden Endigungen der anderen Fasertypen (Saito et al. 1978). Daraufhin wurde postuliert, dass eine Affektion des Spindelapparats mit einer Störung des polysynaptischen Reflexbogens einhergeht und in einer Hyperaktivität des betroffenen Muskels mündet. Somit lieferte dies einen Erklärungsansatz für die Rigidität des Muskels und die nachfolgende myopathische Schädigung.

In die gleiche Richtung argumentieren Edström et al. (1970b) in dem Erklärungsansatz ihrer Beobachtungen, dass neben der bereits angesprochenen Typ-2-Faser-Atrophie zudem zentrale Strukturdefekte innerhalb der Muskelfasern zu sehen sind. Sie beschreiben eine zentrale Aufhellungszone innerhalb der Fasern und benennen diese als *targetoid-Läsionen*. Zur Darstellung kommen diese Läsionen in der NADH- und SDH-Färbung, nicht jedoch in der ATPasen-Reaktion, dem Phosphorylase- und PAS-Nachweis oder der Fettfärbung.

1.2 Die Kamptokormie

Wenngleich die medizinische Forschung der letzten Jahrzehnte verschiedene Facetten des Morbus Parkinson beleuchtet hat, so sind einige Aspekte der Erkrankung und mit ihr verbundene Phänomene bis heute nicht abschließend untersucht und verstanden. Die Kamptokormie ist eine dieser Erscheinungen, die im Verlaufe eines iPS auftreten, jedoch auch selbst mannigfaltige andere Ursachen haben kann (Margraf et al. 2016). Hierbei kommt es zu einer bisher nicht vollständig erklärten motorisch bedingten Störung der aufrechten Körperhaltung. Es resultiert eine abnorme Beugung des Rumpfes im Sitzen und im Stehen, oft verbunden mit Rückenschmerzen und einem hohen Leidensdruck. Diese ist im Liegen reversibel. Abzugrenzen sind beispielsweise fixierte Fehlhaltungen wie eine Kyphose.

1.2.1 Kamptokormie im Rahmen anderer Erkrankungen

Anfang des 19. Jahrhunderts wurde diese pathologische Haltung zum ersten Mal beschrieben (Earle 1815; Brodie 1818). Der Begriff der Kamptokormie setzt sich zusammen aus den griechischen Wörtern *kamptos* für gebeugt und *kormos* für Stamm. Ebenfalls gebräuchliche Begriffe sind der englische Ausdruck des *bent spine syndrome* und im Französischen der *cyphose hystérique*. Die Bezeichnung des *Bent-spine-Syndroms* wird häufig synonym anstelle der Kamptokormie verwandt. Der französische Name für das Beschwerdebild enthüllt bereits, dass initial angenommen wurde, es handle sich vor allem um eine psychogene Erkrankung. Dies lag nahe, da die zwei französischen Neurologen, die den Begriff der Kamptokormie prägten, diese zuerst bei traumatisierten Soldaten im ersten Weltkrieg beschrieben (Souques und Rosanoff-Saloff 1914). Auch heutzutage finden sich Fallschilderungen mit psychosomatischer Genese, insgesamt scheint dies jedoch eher selten zu sein (Skidmore et al. 2007). Im Laufe der Zeit folgten weitere Beschreibungen von Soldaten mit vornüber gebeugter Haltung, die sich lediglich mithilfe von Gehstützen fortbewegen konnten. Ätiologisch wurden Traumata sowie abdominelle Prozesse, vornehmlich Infektionen wie Typhus und Malaria, angeführt (Hurst 1918). Zudem wurde ein mögliches Auftreten als paraneoplastisches Syndrom diskutiert (Zwecker et al. 1998).

Außerdem gibt eine Reihe neurologischer und neuromuskulärer Erkrankungen, die mit der Kamptokormie in Verbindung gebracht werden. Dazu zählen unter anderem die MSA (Reichel et al. 2001), Motoneuronenerkrankungen (Feriha et al. 2004), periphere Neuropathien (Terashima et al. 2009) sowie die Einschlusskörpermyositis (Hund et al. 1995) und fazioscapulohumerale Dystrophie (Kottlors et al. 2010). Des Weiteren wird eine segmentale muskuläre Dystonie der Bauchmuskulatur beschrieben. Manche Autoren sehen in

dieser Dystonie die primärere Form der Kamptokormie (Reichel et al. 2001). Es zeigte sich eine Assoziation der Kamptokormie mit der Einnahme verschiedener Medikamente, darunter Antiepileptika und Antipsychotika (Kiuru und Iivanainen 1987; Robert et al. 2010), interessanterweise jedoch auch Pramipexol, ein Dopaminagonist zur Therapie des Morbus Parkinson (Nakayama und Miwa 2012). Dass die Kamptokormie im Rahmen eines iPS auftreten kann, wurde 1999 erstmals wieder aufgegriffen. (Djaldetti et al. 1999). Vergleichbare Darstellungen von Patienten finden sich schon bei den ersten Beschreibungen der Parkinson'schen Erkrankung (Earle 1815; Parkinson 1817).

Die Ausprägung einer Kamptokormie-ähnlichen Symptomatik bei hyperthyreoter Stoffwechsellage wurde beschrieben (Loh et al. 2005), ebenso im Zuge einer axialen Myopathie des höheren Lebensalters. Bei axialen Myopathien handelt es sich um die gemeinsame Endstrecke verschiedener genetischer Defekte. Diese umfassen zum einen eine Mutation des Ryanodinrezeptors der Skelettmuskulatur (RYR1) (Løseth et al. 2013), zum anderen Defekte in mitochondrialen Genen (Sakiyama et al. 2011). Bei einer Konduktorin der X-chromosomalen Duchenne'schen Muskeldystrophie manifestierte sich ebenfalls eine Kamptokormie (Findlay et al. 2013). Außerdem konnte die Mutation des Calpain-3-Gens (CAPN3) mit der Erkrankung verknüpft werden, wenngleich sie vor allem eine Form der Gliedergürteldystrophie bedingt. Ist die Ursache für die Ausbildung des Beschwerdebildes genetisch determiniert, existiert zumindest theoretisch eine Möglichkeit der Vererbung. Eine familiäre Häufung ist bisher erst vereinzelt berichtet worden (Windpassinger et al. 2008; Sakiyama et al. 2011). In der Publikation von Windpassinger et al. ist ebenfalls ein weiterer Subtyp der Gliedergürteldystrophien innerhalb der Familie vererbt worden (Mutation des FHL-1-Gens).

Diese Übersicht stellt nur eine kleine Auswahl aus den mannigfaltigen Prozessen dar, die eine Kamptokormie mitbedingen können. Eine ausführlichere Auflistung leistet die Übersichtsarbeit von Margraf et al. (2016).

1.2.2 Prävalenz der Kamptokormie bei Morbus Parkinson

Unter all den beschriebenen Assoziationen, ist die von Kamptokormie und Morbus Parkinson eine der häufigsten (Margraf et al. 2016). Auch Parkinson (1817) beschreibt in seinem dritten Fallbericht bereits Symptome einer Kamptokormie. Da der Morbus Parkinson eine relativ hohe Prävalenz in der Gesellschaft hat, kommt auch der Kamptokormie eine deutliche Relevanz zu. Die Epidemiologie dieses Zusammenhangs wird jedoch noch sehr heterogen wiedergegeben. So geben verschiedene Autoren für die Prävalenz der Kamptokormie bei Morbus Parkinson Werte zwischen 3 % (23 von 700) (Lepoutre et al. 2006) und 17,6 % (27 von 153) (Abe et al. 2010) an. Weitere Zahlen belaufen sich auf 6,5 % (46

aus 705) (Song et al. 2014), 6,9 % (19 von 275) (Tiple et al. 2009), 9,5 % (138 von 1453) (Yoritaka et al. 2013) sowie 13 % (Ashour und Jankovic 2006). Das Auftreten einer Kamptokormie scheint dabei mit der Dauer des Verlaufs der Parkinsonerkrankung zu korrelieren. Bei längerem Krankheitsverlauf und längerer Beobachtungsperiode ist somit möglicherweise eine höhere Prävalenz zu verzeichnen (Seki et al. 2011; Margraf et al. 2016).

1.2.3 Klinische Beschreibung

Das Beschwerdebild der Kamptokormie ist durch eine ausgeprägte Vorbeugung des Rumpfes im Sitzen wie Stehen charakterisiert. Diagnosekriterium ist das Auftreten der Vorbeugung im Stehen oder Sitzen, die im Liegen vollständig verschwindet. Wichtig ist die Definition der Überschreitung eines bestimmten Vorbeugewinkels des Oberkörpers, welcher von einigen Autoren unterschiedlich angegeben wird. Als sinnvoll hat sich in unseren bisherigen Untersuchungen ein Winkel von $\geq 30^\circ$ gezeigt. Winkel unter 30° bereiten teilweise Schwierigkeiten bei der Abgrenzung von der generellen Fehlhaltung (*stooped posture*) eines Parkinsonpatienten. Als weiteres Kriterium zur Definition einer Kamptokormie bei Beugewinkeln unter 30° wird daher die subjektive Wahrnehmung eines unwillkürlichen Vorbeugens im Stehen postuliert (Margraf et al. 2017a).

Der maximale Beugewinkel kann 90° überschreiten. Wichtig in der Abgrenzung zu möglichen Differentialdiagnosen für eine derartige Körperhaltung, beispielsweise einer ausgeprägten Kyphose oder einer kongenitalen Muskeldystrophie, ist die vollständige Reversibilität im Liegen. Dieses Merkmal hat Brodie 1818 ebenfalls betont, als er von einer *functionally bent spine* gesprochen hat (Brodie 1818). Auch Hurst beschreibt diesen Aspekt bereits (Hurst 1918).

Während manche Autoren eine Häufung der Kamptokormie beim iPS vom akinetisch-rigidem Typ beschreiben (Margraf und Deuschl 2010), konnten andere Autoren keinen Einfluss des Subtyps der Parkinsonerkrankung auf die Auftretenswahrscheinlichkeit einer Kamptokormie feststellen (Lepoutre et al. 2006). Die Entwicklung des Beschwerdebildes vollzieht sich oft rasch, innerhalb von Wochen (Bloch et al. 2006), kann sich jedoch auch über mehr als ein Jahr hinziehen (Lepoutre et al. 2006). In der Regel liegt da die Manifestation des Morbus Parkinson bereits mehrere Jahre zurück (Bloch et al. 2006; Margraf et al. 2010). Allerdings kann die Kamptokormie dem iPS auch vorausgehen (Bouzgarou et al. 2007).

Die Kamptokormie bei Morbus Parkinson stellt für den Betroffenen meist die größte Beeinträchtigung seiner Lebensqualität dar. Zusätzlich zu den Symptomen der Grunderkrankung, kommt ein teils rapider Wegfall der aufrechten Beweglichkeit hinzu. Daraus resultieren geringere Aktivitätsmöglichkeiten und eine Einschränkung der sozialen Teilhabe, was

eine zusätzliche psychosoziale Belastung darstellt (Margraf und Deuschl 2010). Außerdem verursacht die Kamptokormie in der Regel lumbale Rückenschmerzen (Djaldetti R. et al. 2004; Shinjo et al. 2008; Dupeyron et al. 2010). Diese treten in bis zu 80 % der Fälle auf (Bloch et al. 2006) und sind häufig von erheblicher Intensität (Margraf et al. 2010; Wrede et al. 2012), können aber auch komplett fehlen.

Kamptokormie-ähnliche Muskelbeschwerden können sich als *bent knee syndrome* äußern (Djaldetti Ruth et al. 2004). Hierbei handelt es sich um eine übermäßige Flexion des Knies im Stand, die wiederum im Liegen komplett reversibel ist. Eine vollständige Extension im Kniegelenk ist dem Patienten im Liegen möglich. Außerdem tritt häufig eine moderate bis ausgeprägte Schwäche des Musculus gluteus maximus auf, welcher für die Hüftextension zuständig und damit am aufrechten Gang beteiligt ist (Bloch et al. 2006).

1.2.4 Weitere Haltungstörungen: Pisa- & *Dropped-head*-Syndrom

Neben der Kamptokormie zählen das Pisa- und das *Dropped-head*-Syndrom zu der Gruppe der axialen Haltungstörungen. Allen dreien ist eine Einschränkung der aufrechten Körperhaltung gemein. Beim *Dropped-head*-Syndrom ist allerdings weniger die thorakolumbale als die cervikale Muskulatur betroffen, was zu einer übermäßigen Vorbeugung des Kopfes führt. Das Pisa-Syndrom zeichnet sich durch eine abnorme Lateralflexion des Rumpfes aus. Manche Autoren bezeichnen hierbei eine Vorbeugung des Kopfes von mehr als 30° beim *Dropped-head*-Syndrom und eine Lateralflexion von mehr als 15° für das Pisa-Syndrom als jeweilig signifikant (Urban et al. 2012), bei allen Syndromen sind die jeweiligen Beugewinkel jedoch Gegenstand aktueller Diskussionen (Margraf et al. 2017a). Prinzipiell ähneln sich die drei Erkrankungen, was Ätiologie und Assoziation mit anderen Erkrankungen betrifft.

Das Pisa-Syndrom tritt ebenfalls im Rahmen von Morbus Parkinson, MSA und PSP auf (Sławek et al. 2006; Solla et al. 2012). Allerdings zeigt sich eine besonders starke Assoziation zur Einnahme von verschiedenen Medikamenten aus den Gruppen der Antidepressiva, Antipsychotika und Antidementiva (Panagiotis et al. 2012; Méndez Guerrero et al. 2013). Daraus folgern manche Autoren einen Zusammenhang zwischen Pisa-Syndrom und einer dopaminerg-cholinergen Dysbalance (Zannas et al. 2014). Außerdem ergibt sich hieraus eine akute Form des Pisa-Syndroms bei Medikamenteneinnahme (Praharaj und Arora 2007). Im Gegensatz zu den anderen beiden Störungsbildern, die selten vor dem 50. Lebensjahr auftreten (Umapathi et al. 2002), wird das Pisa-Syndrom häufiger bei jungen Erwachsenen beobachtet (Suzuki et al. 1990). Ähnlich der Kamptokormie entsteht eine Kombination aus muskulärer Hyperaktivität und Atrophie, nachweisbar in EMG und MRT (Di Matteo et al. 2011; Tassorelli et al. 2012). Daraus resultiert eine Muskelschwäche,

welche anders als bei der Kamptokormie jedoch die linke oder rechte Seite der paravertebralen Muskulatur betrifft. Des Weiteren wird auch beschrieben, dass eine muskuläre Hyperaktivität der kontralateralen Seite die Haltungsstörung auslösen beziehungsweise akzentuieren kann (Tinazzi et al. 2013).

Für das *Dropped-head-Syndrom* ähneln die Überlegungen zur Genese denen zur Kamptokormie. Initial wurde auch hier eine muskuläre Dysbalance zwischen vorderen und hinteren Nackenmuskeln diskutiert, mit Hyperaktivität der vorderen Muskelpartie (Yoshiyama et al. 1999) beziehungsweise einer Schwäche der Extensoren (Chaouat und Belange 1999). Mittlerweile konnte bildgebend ein Unterschied gezeigt werden zwischen dem Metabolismus in Extensoren und Flexoren des Halses von Patienten mit primärer Dystonie und Patienten mit Parkinson-bedingter Kopfhaltung (Revuelta et al. 2014). Wo bei den Kontrollpatienten mit primärer Dystonie ein gesteigerter Metabolismus der Flexoren auftrat, zeigten die Parkinsonpatienten hingegen einen Hypermetabolismus der Extensoren, was durch die Autoren der Studie als Kompensationsmechanismus interpretiert worden ist.

Es besteht eine häufige Assoziation mit Myasthenia gravis und ALS. Ein gleichzeitiges Auftreten von Kamptokormie und *Dropped-head-Syndrom* stellt eine Ausnahmen dar (Umapathi et al. 2002).

1.2.5 Diagnose

Die Diagnose einer Kamptokormie wird klinisch gestellt. Um das Vorliegen einer Kamptokormie in der klinischen Untersuchung erfassen zu können, haben Margraf und Deuschl (2010) Haupt- und Nebenkriterien formuliert, deren Vorliegen die Diagnose einer Kamptokormie im Rahmen eines iPS wahrscheinlicher machen.

Tabelle 1: Haupt- und Nebenkriterien für eine Kamptokormiediagnose bei iPS aus „Kamptokormie bei Morbus Parkinson“ (Margraf und Deuschl 2010)

Hauptkriterien
Störung der Körperhaltung mit ausgeprägter abnormer Vor- oder auch Seitvorneigung des Rumpfes mit thorakolumbalem Scheitelpunkt, die eine unabhängige Beschwerde darstellt
Auftreten beim Stehen und Gehen (ggf. bereits im Sitzen) bei vollständigem Sistieren der Rumpfhaltungsstörung im Liegen aufgrund fehlender Fixierung
Vorneigung von mindestens 30°
permanente Beschwerde über mindestens 3 Monate
Ausschluss anderer Ursachen (u. a. Verletzungsfolgen, Fraktur oder Infektion, psychogene Bewegungsstörung)
Nebenkriterien
häufig mit Rückenschmerzen assoziiert
i. d. R. Auftreten beim fortgeschrittenen idiopathischen Parkinson-Syndrom
Entwicklung langsam progredient, seltener akzentuiert rapide
in der Vorgeschichte häufig Rückenerkrankungen oder -operationen

Es ist zu betonen, dass eine Kamptokormie in den meisten Fällen nur ein sekundäres Phänomen darstellt und somit die Suche nach der primären Ursache Priorität hat. Hierbei steht die neurologisch-klinische Untersuchung im Vordergrund, die Hinweise für eine Myositis oder Paresen geben kann (Margraf et al. 2016). Für die Erfassung des Vorbeugewinkels schlagen die Autoren um Margraf et al. eine Messung nach drei Minuten aufrechtem Stehen vor, um willkürliche Haltungsbeeinflussungen seitens des Patienten und damit verbundener Unterschätzung des tatsächlichen Vorbeugewinkels zu vermeiden. Der in obiger Tabelle genannte *Cut-off-Wert* von 30° macht eine Kamptokormie wahrscheinlich. Allerdings sollte auch bei Beugewinkeln <30° mit jedoch subjektivem Vorwärtsfallen des Patienten im Stehen eine Kamptokormie angenommen werden (Margraf et al. 2017a). Es sollten initial auch breit gefächerte internistische Laborparameter, darunter Marker für entzündliche oder endokrinologische Prozesse, sowie Muskelenzyme bestimmt werden (Margraf et al. 2016).

Weiterhin kann ein EMG der paravertebralen Muskulatur die Diagnose einer Kamptokormie erhärten. In experimentellen EMG-Messungen konnte gezeigt werden, dass bei Kamptokormie-Patienten in vorgebeugter stehender Haltung die messbare Aktivität der paravertebralen Muskulatur deutlich höher war als in gesunden Patienten, die eine vergleichbare Körperposition einnahmen (Margraf et al. 2017b). In MRT-Untersuchung der axialen Muskulatur zeigten sich in Kamptokormie-Patienten in frühen Phasen der Erkrankung ödematöse Schwellungen der lumbalen paravertebralen Muskulatur, in späteren Stadien zeigte sich eine gehäuft dort eine fettige Degeneration (Margraf et al. 2015), so dass die Bildgebung die Diagnostik weiter ergänzen kann. Letztlich kann eine Muskelbiopsie entscheidende Hinweise zu der Morphologie des zugrundeliegenden Krankheitsprozesses liefern, besonders im Hinblick der Differenzierung von Myopathie und Myositis (Gdynia et al. 2009; Margraf und Deuschl 2010; Spuler et al. 2010; Wrede et al. 2012). Es wurde bereits versucht die Diagnosekriterien zu gruppieren, um im Verlauf der Diagnostik eine ätiologische Differenzierung zu ermöglichen.

Tabelle 2: Diagnostische Kriterien, die für eine entzündliche oder dystone Ätiologie einer Kamptokormie sprechen (Margraf und Deuschl 2010)

Paravertebrale Myositis
lokale Schmerzhaftigkeit der paravertebralen Muskulatur und lokale Hautrötung
passende unilaterale Befunde im EMG, Muskel-MRT und -biopsie
milde CK-Erhöhungen sind <u>kein</u> differenzialdiagnostisches Kriterium
Dystonie der Rückenmuskulatur
erfolgreiche <i>geste-antagonistique</i> -Manöver (u. a. Rückwärtslaufen)
Vorliegen von Fluktuationen im Beschwerdeausmaß, ggf. in Abhängigkeit der Einnahme der Parkinson-Medikation
Palpation dystoner Aktivität in der abdominellen Muskulatur im Stehen
dystones EMG-Muster des Rectus abdominis oder ggf. der tiefen Flexoren
deutliche Abhängigkeit des Beschwerdeausmaßes vom Grad der Erschöpfung

Neben diesen Kriterien zur Diagnosestellung einer Kamptokormie, existieren eine Reihe von Methoden zur Objektivierung des Krankheitsverlaufs. Eine Möglichkeit hierfür bietet der klinische Bewertungsbogen nach Margraf et al. 2010.

Tabelle 3: Auswertung klinischer Aspekte zur Verlaufsbeurteilung der Kamptokormie nach Margraf et al. (2010)

Aspekt	Codierung	Score
durchschnittlicher Beugewinkel	keine Beugung	0
	0-29°	1
	30-59°	2
	60-89°	3
	90° und mehr	4
Umstände, unter denen die Kamptokormie auftritt	keine Kamptokormie	0
	nach längeren Zeiten des Stehens oder Gehens	1
	nach 50 m Gehstrecke	2
	sofort nach dem Aufsetzen	3
	schon während des Sitzens	4
tägliche Präsenz der Kamptokormie	keine Kamptokormie	0
	nur vereinzelt	1
	nur am Abend / bei Erschöpfung / bei schwerer Fatigue	2
	mehrere Stunden pro Tag	3
	den ganzen Tag	4
Bestehen von Rückenschmerzen	visuelle Analogskala, 0 = keine, 10 = maximal	0-10
Kamptokormie-bedingte Einschränkung im Alltag	visuelle Analogskala, 0 = keine, 10 = maximal	0-10
Dauer der Kamptokormie	offene Frage	-
Veränderungen des Schweregrades im Verlauf	offene Frage	-
Benutzung von Gehhilfen	offene Frage	-
Einfluss der Medikation auf das Beschwerdebild	offene Frage	-

Der bei diesem Bogen erzielte Punktwert liegt zwischen 0 und 32. Ein höherer Wert bedeutet dabei eine gravierendere Symptomatik.

Des Weiteren ist eine grobe Schätzung des Schweregrades einer Kamptokormie auch durch die Erfassung des Abstands zwischen dem siebten Halswirbel des Patienten und der Wand, an die sich der Patient mit dem Rücken stellen soll, möglich. Zusätzlich müssen jedoch anderweitige Beeinträchtigungen mithilfe von UPDRS und EIFEL-Skala (franz. *Echelle d'Incapacité Fonctionnelle pour l'évaluation des lombalgies*) erfasst werden (Bloch et al. 2006).

1.3 Therapie der Kamptokormie

Eine Standardtherapie der Kamptokormie existiert nicht, was sich allein aus den verschiedenen Ätiologien ergibt. Je nach assoziierter Grunderkrankung sollte diese behandelt werden (Margraf et al. 2016).

1.3.1 Antiinflammatorische Therapie

So ist die erfolgreiche Behandlung eines kombinierten *Bent-spine-* und *Dropped-head-*Syndroms im Rahmen einer Entzündung der paravertebralen Muskulatur durch die Gabe von intravenösen Immunglobulinen beschrieben worden (Dominick et al. 2006). Zudem kann eine Therapie mit Kortison hilfreich sein, auch wenn primär keine Anzeichen für eine entzündliche Genese vorliegen (Hilliquin et al. 1992). Um die in Biopsien und Bildgebung beobachtete Degeneration und den Umbau der paravertebralen Muskulatur zu verhindern, sollten Therapieoptionen möglichst früh im Krankheitsverlauf eine Anwendung finden (Margraf und Deuschl 2010; Wrede et al. 2012; Margraf et al. 2016).

1.3.2 Einfluss einer L-DOPA-Therapie

Eine Kamptokormie im Kontext eines Morbus Parkinson wurde mehrfach versuchsweise mit einer L-Dopa-Therapie behandelt. Der Gedanke ist, auf diesem Wege eine theoretisch existierende, basalganglionär verursachte Dystonie zu beeinflussen. Jedoch zeigte dieser Therapieansatz in einigen Quellen lediglich in einem Viertel der Fälle eine Besserung der Symptomatik (Lepoutre et al. 2006), in anderen Versuchen ergab er keinen nennenswerten Effekt (Benatru et al. 2008). Manche Autoren berichten gar eine Verschlimmerung von *off-freezings* und körperlicher Erschöpfung (Djaldetti et al. 1999). Andererseits gibt es vereinzelte Beschreibung einer L-Dopa-responsiven Kamptokormie (Ho et al. 2007; Schulz-Schaeffer et al. 2015).

1.3.3 Lokalinjektionen in den Muskel

Der Einsatz lokaler Injektionen von Botulinum-Toxin zur Behandlung einer Reihe von Symptomen des Morbus Parkinson wurde erfolgreich getestet. Dazu zählen unter anderem die Dranginkontinenz (Ehren et al. 2007) und die Sialorrhoe (Lagalla et al. 2006). Außerdem können einzelne dystone Symptome auf diesem Wege gelindert werden (Aramideh et al. 1995). Aufgrund dieser Erfahrungen wurde versucht, die muskuläre Dysbalance bei der Kamptokormie ebenfalls mit Botulinum-Toxin zu beeinflussen. Es gibt Berichte über eine erfolgreiche Therapie mit Toxininjektion in den *Musculus rectus abdominis* (Azher und Jankovic 2005) und *Musculus obliquus externus abdominis* (Wijemanne und Jimenez-Shahed 2014). Therapieerfolge beim verwandten Pisa-Syndrom wurden

berichtet (Bonanni et al. 2007). Die Ergebnisse werden von der Beobachtung unterstützt, dass Lidocain-Injektionen in die Bauchmuskulatur ebenfalls zu einer Besserung des Beschwerdebilds führen (Furusawa et al. 2013). Die Infiltration des Musculus iliopsoas mit Botulinum-Toxin blieb jedoch ohne therapeutischen Effekt (von Coelln et al. 2008). Zudem konnten die Ergebnisse von Azher und Jankovic (2005) an anderer Stelle nicht reproduziert werden (Fietzek et al. 2013), sodass eine Botulinum-Toxin-Injektion zur Therapie axialer Haltungsstörungen derzeit noch kontrovers diskutiert wird. Eine Infusion von Apomorphin hat in klinischen Studien erste Erfolge verbucht (Katerina et al. 2014).

1.3.4 Tiefe Hirnstimulation als therapeutischer Ansatz?

Der therapeutische Effekt einer Tiefen Hirnstimulation (DBS) speziell auf die Symptome der Kamptokormie ist in der Vergangenheit in mehreren Arbeiten mit zumeist kleinen Patientenzahlen beschrieben worden. Die therapeutischen Erfolge waren dabei sehr unterschiedlich. Manche Autoren bemerken keinen positiven Effekt dieses Therapieverfahrens auf die Kamptokormie (Schäbitz et al. 2003; Azher und Jankovic 2005; Upadhyaya et al. 2010). Demgegenüber berichten einige Autoren, dass sowohl die bilaterale Stimulation des GPi (Fukaya et al. 2006) wie auch des STN (Hellmann et al. 2006; Yamada et al. 2006; Umemura et al. 2010) das Beschwerdebild verbessern können.

In der aktuellsten Studie zu diesem Thema mit der bisher größten Patientenzahl konnte in gut der Hälfte der Patienten ein positiver therapeutischer Effekt der DBS auf die Ausprägung der Kamptokormie nachgewiesen werden (Schulz-Schaeffer et al. 2015). In der weiteren Analyse der Ergebnisse konnte vor allem die Dauer der Kamptokormie bis zum Beginn der DBS als positiver Indikator für einen Therapieerfolg identifiziert werden. Diskutiert wird, ob die mit der Dauer der Kamptokormie einhergehenden myopathologischen Veränderungen und daraus resultierendem Funktionsverlust der paravertebralen Muskulatur, den ausbleibenden Therapieerfolg bei bereits länger bestehender Kamptokormie erklären (Schulz-Schaeffer et al. 2015).

1.3.5 Einsatz von supportiven Maßnahmen und Hilfsmitteln

Insbesondere im Falle einer myopathischen Genese der Kamptokormie stehen aktuell lediglich supportive Maßnahmen zur Verfügung. Diese umfassen eine adäquate körperliche Aktivität, Physiotherapie und spezielle Übungen (Lenoir et al. 2010), die Verwendung von Orthesen und Hilfsmitteln wie einem Gehstock, Rollator oder Gehwagen ist häufig notwendig (Finsterer und Strobl 2010). Diese sind teilweise ausreichend, um die Beschwerden des Patienten deutlich zu lindern (Shinjo et al. 2008). Im Verlauf sind Patienten häufig auf einen Rollstuhl angewiesen (Margraf und Deuschl 2010).

1.4 Pathophysiologie der Kamptokormie

Mittlerweile gibt es eine Vielzahl von Erkrankungen, die im Laufe der Zeit mit einer Kamptokormie einhergehen können (Margraf et al. 2016). In der Summe münden die Erkrankungen über ihre jeweiligen pathophysiologischen Mechanismen in einem Funktionsverlust der paravertebralen Muskulatur mit daraus resultierender Muskelschwäche.

1.4.1 Theorien zur Entstehung der muskulären Dysbalance

Alle für eine Kamptokormie potentiell ursächlichen Prozesse münden in einer muskulären Dysbalance der Rumpfmuskulatur oder einer Schwäche einzelner Muskelgruppen. Klinische und apparative Untersuchungen weisen hierbei in einzelnen Studien eine Tonuserhöhung der Bauchmuskulatur bei gleichzeitiger Schwäche des Erector spinae nach (Lepoutre et al. 2006). Daraus wird eine Störung der aufrechten Haltung mit übermäßigem Vorbeugen abgeleitet. Alternativ ist aber auch vorstellbar, dass die Schwäche des Erector spinae in einem vermehrten Tonus der übrigen Rumpfmuskulatur mündet, um eine Kompensation zu erreichen. Sowohl bei einer Dysbalance, wie auch bei einer Schwäche ist aber die Genese der Symptomatik noch nicht geklärt.

Bei den eher seltenen Ursachen der Kamptokormie, einer fokalen Myositis oder psychogenen Genese, herrscht hierbei größtenteils Konsens. Dies liegt vor allem darin begründet, dass für diese beiden Entitäten mit Immunsuppression respektive Psychotherapie wirksame Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung stehen (Duman et al. 2008; Kuo et al. 2009). Darüber hinaus stellt die Schwächung der Rückenmuskulatur durch entzündliche Prozesse einen plausiblen Erklärungsansatz dar. Eine ähnliche gelagerte Argumentation der muskulären Fehlfunktion im Rückenbereich begründet, warum eine Kamptokormie im Rahmen genetischer Muskelerkrankungen auftreten kann (Løseth et al. 2013).

Auf welche Weise sich eine Kamptokormie im Kontext des Morbus Parkinson entwickelt, ist demgegenüber noch nicht ausreichend geklärt. Die Vorstellung, dass beim Morbus Parkinson eine Myopathie als Ursache der Kamptokormie zugrunde liegt, fußt auf den Ergebnissen apparativer sowie neuropathologischer Untersuchungen. Einerseits erfolgt immer wieder die Darstellung einer pathologischen Veränderung des Erector spinae in CT wie MRT (Schäbitz et al. 2003; Jordan et al. 2011; Løseth et al. 2013; Margraf et al. 2015). Neben auffälligen Befunden in der bildgebenden Diagnostik berichten einige Autoren auch von hauptsächlich myopathischen Aktivitätsmustern im EMG (Askmark et al. 2001; Margraf et al. 2017b). Außerdem haben mittlerweile einige neuropathologische Studien deutliche myopathische Veränderungen der paravertebralen Muskulatur nachgewiesen (Delisle et al. 1993; Askmark et al. 2001; Gdynia et al. 2009; Laroche und Cintas

2010; Margraf et al. 2010; Spuler et al. 2010; Wrede et al. 2012). Etliche Aspekte lassen sich in den meisten Studien wiederfinden. Die Herausarbeitung diagnostisch auffälliger, einheitlich in allen Biopsien zu findender Veränderungen erfolgt bei Wrede et al. (2012).

1.4.2 Neuropathologische Befunde bei der Kamptokormie

Die ersten systematischen neuropathologischen Untersuchungen von Patienten mit Kamptokormie wurde Anfang der Neunziger Jahre an Gewebe paravertebraler Muskulatur durchgeführt (Delisle et al. 1993). Damals beschreiben die Autoren bereits eine deutliche endomysiale Fibrose sowie eine Typ-1-Faser-Dominanz bei Atrophie von Typ-2-Fasern. Der ausgeprägte fibröse Umbau der betroffenen Muskulatur wird als Merkmal der Kamptokormie in anderen Untersuchungen ebenfalls besonders hervorgehoben (Laroche et al. 1995; Laroche und Cintas 2010). Außerdem findet ein erhöhtes Vorkommen so genannter *Ragged-red*-Fasern regelmäßig Erwähnung. Da diese *Ragged-red*-Fasern im Allgemeinen als ein Indikator für eine mitochondriale Pathologie innerhalb der betroffenen Faser gelten, haben in der Folge andere Arbeiten ebenfalls das vorgefundene myopathische Bild teilweise in diese Richtung interpretiert. So teilen manche Autoren die nachgewiesenen Pathologien in drei Gruppen ein, die der nekrotisierenden, inflammatorischen und mitochondrialen Myopathien (Gdynia et al. 2009).

Allerdings konnte eine Mitochondriopathie mittlerweile als Ursache für die Kamptokormie ausgeschlossen werden. Zwar ließen sich bereits in früheren Untersuchungen mitochondriale Veränderungen elektronenmikroskopisch in zwei von sieben Proben nachweisen, allerdings bezweifelten bereits deren Beschreiber eine mitochondriale Genese der Myopathie (Askmark et al. 2001). In der Untersuchung von Wrede et al. (2012) konnte dann gezeigt werden, dass eine gewisse Anzahl an *Ragged-red*-Fasern paravertebral im Gegensatz zur Extremitätenmuskulatur physiologisch vorkommen, zudem sich Muskeln von Parkinsonpatienten von denen gesunder Individuen im Vorkommen von *Ragged-red*-Fasern nicht unterscheiden.

Weitere Arbeiten verfeinern die bis dato existierende Charakterisierung des myopathischen Bildes (Margraf et al. 2010; Spuler et al. 2010). Die beschriebenen Merkmale von endomysialer Fibrose und pathologischem Verhältnis der Fasertypen werden ergänzt um eine erhöhte Kalibervariation der Muskelfasern, ein vermehrtes Vorkommen interner Kerne, eine NADH-Defizienz mancher Muskelfasern und eine myofibrilläre Desorganisation unter dem Elektronenmikroskop (EM).

Eine Definition der myopathologischen Veränderungen, die die Kamptokormie im Rahmen des Morbus Parkinson charakterisiert, leistet die Arbeit von Wrede et al. (2012). Zusätzlich zur Typ-1-Faser-Prädominanz werden Mottenfraß-ähnliche Defekte in der Enzymver-

teilung von COX, SDH und NADH, begleitet von einer feingranulären Saure-Phosphatase-Reaktivität, beschrieben. Diese Defekte ließen sich ultrastrukturell weiter als myofibrilläres *Disarrangement* identifizieren. Daneben konnten etliche Kernsäcke, *whorled fibers* und eine beginnende fettige Degeneration mit Durchsetzung von Muskelbündeln mit Adipozyten, und eine Abwesenheit von Entzündungszeichen als Charakteristik des myopathischen Schädigungsbildes bei Kamptokormie identifiziert werden (Wrede et al. 2012).

Aus diesen Befunden der Muskelbiopsien von Parkinsonpatienten mit Kamptokormie konnten diagnostische Haupt- und Nebenkriterien erarbeitet werden (Wrede et al. 2012). Die dabei definierten Hauptkriterien sind in ihrer Komposition in der sonstigen neuropathologischen Muskeldiagnostik nur sehr selten zu finden. Die Nebenkriterien erfassen das Ausmaß des myopathologischen Aspekts.

Tabelle 4: Haupt- und Nebenkriterien zur myopathologische Diagnose einer Kamptokormie bei Parkinsonpatienten nach Wrede et al. (2012)

Hauptkriterium: Strukturdefekte innerhalb der Muskelfasern, die
negativ in den COX-, SDH- und NADH-Enzymfärbungen erscheinen
eine feingranuläre Reaktivität in der Saure-Phosphatase-Reaktion aufweisen
ein Z-Band- <i>Streaming</i> (stangenähnliche (<i>rod like</i>) Verdichtungen und Unterbrechung der regulären Querstreifung in der Elektronenmikroskopie) aufweisen
Nebenkriterien:
erhöhte Variation des Kaliberspektrums und Typ-1-Faser-Hypertrophie
Atrophie und Verlust von Typ-2-Fasern
gehäuftes Auftreten von <i>whorled fibres</i>
erhöhte Anzahl Interner Kerne
Auftreten einer endomysialen Fibrose
Auftreten von Kernsäcken

Spuler et al. (2010) stellen des Weiteren die Hypothese einer zugrunde liegenden Myofibrillären Myopathie (MFM) auf. Von Wrede et al. (2011) durchgeführte immunhistochemische Untersuchungen konnten die These einer myofibrillären Myopathie jedoch nicht stützen.

1.4.3 Propriozeptive Dysregulation als pathophysiologischer Mechanismus zur Entstehung der Kamptokormie?

Bisher blieb die Frage unbeantwortet, auf welchem Wege die muskuläre Dysbalance sowie die neuropathologischen Veränderungen im Laufe der Kamptokormie pathophysiologisch zu erklären sind. Die von Wrede et al. (2012) gezeigten myopathologischen Veränderungen umfassen unter anderem eine endomysiale Fibrose sowie fettige Degeneration, welche sicherlich als sekundär zu werten sind (Schulz-Schaeffer 2016).

Die zentralen SDH-Strukturdefekte bei mitochondrialer Depletion und zentraler Saure-Phosphatase-Reaktivität, sowie die myofibrilläre Desorganisation jedoch ähneln den Veränderungen, die zuvor in älteren Arbeiten im Rahmen von experimentellen Tenotomien beschrieben wurden (Shafiq et al. 1969; Karpati et al. 1972). Interessanterweise entstanden diese Defekte in den Studien jedoch nur bei tenotomierten Muskeln, deren Innervation intakt geblieben war, denervierte Muskeln entwickelten diese Veränderungen nicht (Karpati et al. 1972). Somit scheinen die Veränderungen lediglich dann aufzutreten, wenn zwar die Muskeleigenspannung aufgehoben, ansonsten der polysynaptische Reflexbogen zur Steuerung der Muskelspannung jedoch intakt geblieben ist (Schulz-Schaeffer 2016). Letztlich beschreibt diese Situation einen Verlust der propriozeptiven Tonusregulation des betroffenen Muskels sowie seiner Antagonisten.

Es konnte bereits gezeigt werden, dass im Rahmen des Morbus Parkinson die Propriozeption beeinträchtigt wird (Zia et al. 2000). Zudem konnte in einer Studie ein positiver Effekt der DBS speziell auf die Propriozeption bei Parkinson nachgewiesen werden (Maschke et al. 2005). Dass die Kamptokormie durch die DBS positiv beeinflusst werden kann, wurde bereits beschrieben (Schulz-Schaeffer et al. 2015).

Eine Beeinträchtigung der propriozeptiven Tonusregulation der paraspinalen Muskulatur und seiner Antagonisten könnte somit einen pathophysiologischen Erklärungsansatz bieten, auf welchem Wege im Rahmen des Morbus Parkinson und der Kamptokormie die muskuläre Dysbalance und die myopathologischen Veränderungen im Laufe der Erkrankung zustande kommen (Wrede et al. 2012; Schulz-Schaeffer et al. 2015; Schulz-Schaeffer 2016).

1.5 Zielsetzung dieser Arbeit

Bis heute ist der Pathomechanismus, der die häufige Assoziation von Kamptokormie und Morbus Parkinson bedingt, nicht verstanden. Die Hypothese ist, dass eine propriozeptive Dysregulation im Zusammenhang mit der Grunderkrankung Morbus Parkinson zum erhöhten Muskeltonus und sekundär zur Muskelschädigung führt. Fest steht, dass ein charakteristisches myopathisches Muster in der paravertebralen Muskulatur eines iPD-Kamptokormiepatienten zu finden ist. Um dessen Entstehung und Bedeutung für den Krankheitsprozess näher zu beleuchten, bedarf es weiterführender Untersuchungen.

Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit zunächst die paravertebrale Muskulatur von Parkinsonpatienten insgesamt, unabhängig von dem Vorliegen einer Kamptokormie, dahingehend untersucht, ob sich das beschriebene Muster ebenfalls bei diesen Patienten nachweisen lässt. Damit ließe sich klären, inwieweit dieses Läsionsmuster nicht nur cha-

rakteristisch, sondern auch spezifisch für die iPD-Kamptokormie ist, oder ob es sich gegebenenfalls um eine myopathologische Manifestation des Morbus Parkinson handelt.

Weiterhin wurde eine neuropathologische Beurteilung von drei weiteren Muskeln pro Patient durchgeführt, um der Frage nachzugehen, ob sich das Schädigungsmuster nur auf die paravertebrale Muskulatur beschränkt oder auch in anderen Muskelgruppen vorkommt. Außerdem erfolgte eine Untersuchung der Muskeln von Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen, um das Auftreten der beschriebenen Merkmale im Rahmen neurodegenerativer Erkrankungen generell zu beurteilen.

Abschließend wurde die in der vorangegangenen Biopsiestudie begonnene Suche nach α -Synukleinablagerungen und Proteinaggregaten in der peripheren Muskulatur mit besonderem Augenmerk auf Muskelspindeln, periphere Nervenanteile und neuromuskuläre Junctionszonen fortgesetzt um der Frage nachzugehen, inwieweit peripherer Proteinaggregationen in der Pathophysiologie des Morbus Parkinson eine Bedeutung zukommt.

2. Material und Methoden

2.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

In das Kollektiv der untersuchten Parkinsonpatienten wurden nur diejenigen Patienten eingeschlossen, bei denen nach klinischen Angaben ein Morbus Parkinson vorlag oder zumindest angenommen worden ist und gleichzeitig die neuropathologische Untersuchung ebenfalls die Diagnose eines Morbus Parkinson ergab. Ausgeschlossen wurden hingegen jene Patienten, bei denen entweder klinische oder neuropathologische Untersuchungen keinen Hinweis auf einen Morbus Parkinson erbringen konnten. Bei keinem der hier untersuchten Fälle wurde klinischerseits eine Kamptokormie an den Pathologen berichtet. Für die Gruppe der Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen war lediglich die neuropathologische Diagnose ausschlaggebend bei Abwesenheit einer Parkinson'schen Erkrankung.

Tabelle 5a: Übersicht über das Patientenkollektiv

Fall-Nr.	Diagnose	Muskel verfügbar				Besonderheiten
		para-spinalis	deltoid-deus	rectus abd.	quadri-ceps	
1	PD	C2	+	-	+	
2	PD	L2	+	+	-*	
3	PDD	+	+	+	+	
4	PD	+	+	+	+	rigider Typ
5	PD	+	+	+	+*	
6	PD	C7	+	+	+	
7	PDD	L2	+	+	+	passager DBS, Sondenentfernung, Sinistropropulsion
8	PD-CJD	+	+	+	+	posturale Instabilität, Fallneigung nach hinten rechts
9	PD	C7	+	+	+	
10	DLB	C7+L2	+	-	-	fragliche Vorneigung
11	DLB	+	+	+	-	Rumpfataxie
12	DLB	C7	+	+	+	linkslateraler Antecollis
13	PSP	C7	+	-	-	
14	FTLD	L2	+	+	+	
15	AD	C7	+	+	+	
16	FTD	C7	+	+	+	
17	ALS	L2	+	+	+	
18	Encephalitis	L2	+	+	+	

* Die für diese Arbeit relevanten M. paraspinalis, M. deltoideus, M. rectus abdominis und M. quadriceps femoris lagen leider nicht in Fällen vollständig vor, da das Autopsieschema des Teams der Neuropathologie erst in Laufe der Jahre erweitert worden ist. Bei Fall 2 und 5 wurden anstatt des M. quadriceps femoris der M. pectoralis beziehungsweise M. biceps humeri mit untersucht.

Tabelle 5b: Übersicht über das Patientenkollektiv

Fall-Nr.	Alter in Jahren	Geschlecht	Diagnose	Erkrankungsdauer in Jahren	Nebendiagnosen	Todesursache
1	78	m	PD	k.A.	Prostatakarzinom, Cholezystektomie, Hinterwandinfarkt, Mittellappenresektion, Blasenblutung	keine Angabe
2	75	m	PD	k.A.	arterielle Hypertonie, Aorteninsuffizienz, Vorhofflimmern, Halswirbelkörperfraktur	Bronchopneumonie
3	62	m	PDD	k.A.	Verdacht auf Tuberkulose	Pneumonie
4	87	m	PD	10	chronische Niereninsuffizienz, Bauchaortenaneurysma	Aspiration, mechanischer Ileus
5	72	m	PD	12	operiertes Bauchaortenaneurysma, operative Myokardrevascularisation, arterielle Hypertonie, Leistenherniotomie, Colitis ulcerosa, benigne Prostatahyperplasie	Hirnbrut bei Aneurysmaruptur
6	72	m	PD	21	Aortenklappenersatz bei Endokarditis, rezidivierendes Vorhofflattern, operierte cervikale Spinalkanalstenose, Hyperlipoproteinämie	akutes Subduralhämatom
7	73	w	PDD	24	Appendektomie, Hüft-TEP rechts, Knie-TEP links, Schulter-TEP beidseits	Sepsis
8	78	m	PD-CJD	10	Schlaf-Apnoe-Syndrom, arterielle Hypertonie, chronische Niereninsuffizienz, koronare Zweigefäßkrankung und Myokardinfarkt, Prostatakarzinom mit Radiatio	Bronchopneumonie
9	50	w	PD	k.A.	Schizophrenie, Psychose	septischer Schock, Peritonitis, Subileus
10	82	w	DLB	k.A.	arterielle Hypertonie, Depression	Pneumonie
11	59	w	DLB	7	Polyneuropathie bei Vitamin B12-Mangel, arterielle Hypertonie, Restless-Legs-Syndrom, REM-Schlaf-Verhaltensstörung, zerebrale Mikroangiopathie	Bronchopneumonie
12	76	w	DLB	k.A.	keine Angaben	Bronchopneumonie
13	75	w	PSP	k.A.	Apoplex, NSTEMI bei koronarer Herzerkrankung, erosive Gastritis, Carotisstenose, vaskuläre Enzephalopathie, chronische Niereninsuffizienz	Pneumonie
14	69	w	FTLD	k.A.	Vertebralis-Hypoplasie rechts, arterielle Hypertonie, chronische Niereninsuffizienz, Hyperurikämie, Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus	Bronchopneumonie
15	77	m	AD	k.A.	arterielle Hypertonie, chronisches Schmerzsyndrom, Papillotomie	Bronchopneumonie
16	66	m	FTD	k.A.	keine Angaben	Bronchopneumonie
17	66	m	ALS	k.A.	koronare Herzerkrankung, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus	ventilatorisches Versagen
18	25	m	Encephalitis	k.A.	keine Nebendiagnosen	dissoziierter Hirntod

2.2 Probengewinnung

2.2.1 Probenentnahme im Rahmen einer Autopsie

Die untersuchten Muskelproben wurden von Mitarbeitern des Schwerpunktes Prion- und Demenzforschung Göttingen im Rahmen von Autopsien entnommen. Es wurde versucht, die Postmortalzeit bis zur Aufarbeitung des Gewebes so gering wie möglich zu halten, um Autolyseprozesse zu minimieren. Entnommen wurden Proben der Musculi deltoideus, quadriceps femoris, rectus abdominis und paraspinalis. Die Muskeln sind dabei über den gängigen Leicheneröffnungsschnitt zugänglich. Nach Spaltung von Haut und Unterhautfettgewebe wurde unter Schonung angrenzender anatomischer Strukturen die jeweilige Muskelfaszie dargestellt. Bei der Materialgewinnung des Musculus paraspinalis wurden von Fall zu Fall teils cervical, teils lumbal Proben entnommen und untersucht, auch diese sind im Rahmen des üblichen Zugangsweges der Leicheneröffnung von ventral her darstellbar. Dabei erfolgt die Darstellung des Muskelgewebes unter Palpation nach Spaltung des Peritoneums parietale. In der Arbeit von Wrede et al. (2012) war kein signifikanter Unterschied zwischen cervicalen und lumbalen Proben des gleichen Individuums zu finden. Dementsprechend erwarten wir im Probenkollektiv keine relevante Beeinträchtigung der Untersuchungsergebnisse durch eine unterschiedliche Probenhöhe. Pro Patient und Muskel wurden jeweils mehrere Proben entnommen, welche im Anschluss auf unterschiedliche Weise behandelt und gelagert wurden. Auf diese Weise ließen sich Muskelproben gewinnen, die im Gegensatz zu einer Biospie in ihrem Querschnitt um einiges größer waren und statt einigen Dutzend bis hundert Muskelfasern teils bis zu 4000 Fasern beinhalteten.

2.2.2 Formalinfixierung und Paraffineinbettung

Zum einen erfolgte eine Fixation in 3,7 % gepuffertem Formaldehyd ohne Zusatz von Glutaraldehyd zur Vorbereitung einer Paraffineinbettung. Die Fixierungszeit richtet sich hierbei nach der Größe des zu fixierenden Objekts. Als Richtwert ist eine Durchdringung des Gewebes von 1 cm in 24 Stunden anzunehmen. Eine übermäßige Fixation ist zu vermeiden, da im Zuge der Formaldehydbehandlung Proteinstrukturen verändert werden und so für nachfolgende Nachweisverfahren verloren sein können. Im Anschluss an eine ausreichende Fixierung erfolgen der Zuschnitt der Proben und die Ausrichtung der entstandenen Schnittflächen innerhalb einer mit Fallnummer und Blocknummer beschrifteten Einbettkassette. Der Einbettautomat führt diese Kassetten nun durch eine aufsteigende Alkoholreihe (siehe Kapitel 2.3), und überführt die Proben am Ende vom Xylol in erwärmtes Paraffin. An der Ausgießstation werden die in der Kapsel in flüssigem Paraffin befind-

lichen Gewebeproben aus der Kapsel entnommen, in die Ausgießform überführt und nach Aufsetzen des Kapselbodens auf die Ausgießform mit Paraffin aufgefüllt, um dann auf der Kühlplatte fest zu werden. Aus der Ausgießform lassen sich die erkalteten Blöcke nach einigen Minuten leicht lösen und sind bei Raumtemperatur lagerfähig. Diese können mit einem Schlitten- oder Rotationsmikrotom geschnitten werden. Die übliche auf Glasobjektträgern oder Nitrozellulose (PET-Blot) verwendete Schnittdicke liegt bei 0,5 bis 3 μm , wofür die Blöcke vor dem Mikrotomschneiden auf der Kühlplatte zu kühlen sind. Diese, über ein kaltes wie warmes Wasserbecken geführten und damit gestreckten Paraffinschnitte, werden auf einen beschrifteten Objektträger (Fallnummer, Blocknummer, Färbung) aufgezogen und anschließend über Nacht bei 60 °C abgeschmolzen. Anschließend sind sie, wie auch die Paraffinblöcke, bei Raumtemperatur für Jahre lagerungsfähig. Dies ist ein großer Vorteil von paraffinierten Gewebeschnitten. Zudem erreicht die Fixierung eine relativ gute Stabilisierung zellulärer Strukturen und dadurch eine relativ gute morphologische Beurteilbarkeit. Die Schädigung des Gewebes durch physikalische und chemische Verfahren (z.B. im Rahmen von Färbeprozessen) ist deutlich geringer, als bei nativem Gewebe.

2.2.3 Gefriergewebe

Natives Gewebe würde bei Raumtemperatur unter physikalischen, chemischen wie biologischen Umwelteinflüssen einer Proteindegradation unterliegen. Cryogewebe ist natives Gewebe, welches deshalb mindestens auf -20 °C, regelhaft auf -80 °C heruntergekühlt wird. Der Vorteil dieser Lagerungsmethode ist der Erhalt der Proteinstrukturen im Gewebe, da hierbei keine Fixierung notwendig ist. Während der Bearbeitung der Gewebeprobe ist deshalb darauf zu achten, dass die Arbeitsfläche keine Rückstände von Fixationsflüssigkeiten vorheriger Arbeitsabläufe aufweist. Das zugeschnittene Gewebe wird am Boden eines Probenröhrchens auf gewünschte Weise ausgerichtet, und anschließend mit Gefriermedium (bspw. Tissue-Tek®) bedeckt, welches später den Sockel des Gewebeblocks bildet. Das Einfrieren wird mithilfe von flüssigem Stickstoff durchgeführt (-196 °C), in dessen Behältnis ein Metallgefäß mittig aufgehängt wird. In diesem Metallgefäß wiederum befindet sich Methylbutan. Das Methylbutan selbst sollte vor dem Gefrierprozess in dem Stickstoff bereits soweit abkühlen, dass es am Gefäßrand fest zu werden beginnt. Dann ist das Temperaturoptimum nahe -150 °C erreicht und das Methylbutan dringt als flüchtiger Stoff nicht in die Probe selbst ein. Das Röhrchen mit der Gewebeprobe wird nun in dem Methylbutan heruntergekühlt, da ein direktes Einfrieren in dem Stickstoff das Gewebe schädigen könnte. Nach 45 Sekunden bis einer Minute in dem Methylbutan ist die Probe erkaltet und direkt in ein Gefrierfach zu überführen.

Die Anfertigung von Gefrierschnitten erfolgt an einem Gefrier-Rotationsmikrotom. Es werden 7-8 µm dicke Schnitte angefertigt, die auf zimmerwarme beschriftete Objektträger aufgezogen werden. Bei Bedarf können die Schnitte auch auf angefeuchtete (Wasser) Nitrozellulosemembranen aufgezogen werden. Bei Raumtemperatur werden die Schnitte für etwa 20 min getrocknet und dann direkt für Färbungen gemäß der später benannten Protokolle eingesetzt oder in abgeschlossenen Behältern tiefgefroren und gelagert.

2.2.4 Fixierung in Glutaraldehyd und Kunstharzeinbettung

Die dritte Gewebeprobe wurde mit Glutaraldehyd (3 % in PBS) fixiert, um anschließend in Araldit-Kunstharz gegossen zu werden. Vor der Einbettung in das Kunstharz erfolgt ebenfalls eine alkoholische Dehydrierung, eine Gewebekontrastierung über Osmiumtetroxid und Bleizitrat und die Überführung in das Kunstharz über Propylenoxid. Eine Fixierung mit Glutaraldehyd ist schnell und aggressiv, liefert eine gute Fixation bei jedoch starker Proteinvernetzung. Außerdem ist Glutaraldehyd nur zu geringem Eindringen in Gewebe fähig, weshalb nur kleine Proben derart behandelt werden können. Ziel der harten Fixierung ist eine möglichst gute Trennschärfe anatomischer Feinstrukturen, beispielsweise für elektronenmikroskopische Untersuchungen. Das Kunstharz ermöglicht zum einen eine Lagerung des Materials für Jahrzehnte, zum anderen ist es härter als Paraffin und somit dünner schneidbar. Diese Behandlungsmethode ist Grundlage für Semidünnschnitt und elektronenmikroskopische Untersuchungen, wobei letztere im Zuge dieser Arbeit nicht durchgeführt wurden.

2.2.5 Rückstellprobe

Eine vierte Muskelprobe wurde völlig unbehandelt tiefgefroren und diente als Rückstellprobe. Falls durchgeführte Untersuchungen die Notwendigkeit einer biochemischen Analyse wie PCR oder Western-Blot ergeben hätten, wäre dieses Material, ohne Fixierung und andere chemische Zusätze, am besten dazu geeignet gewesen. Da in dieser Arbeit keine biochemischen Analysen durchgeführt wurden, ist auf dieses Gewebe nicht zurückgegriffen worden.

2.3 Enzymhistochemische Färbungen

Bei allen hier verwendeten Geweben handelt es sich um Gefrierschnitte zuvor nativ eingefrorener Muskeln. Für die histochemische Enzymdarstellung ist die Verwendung nativen Gewebes unerlässlich, da die Zielenzyme, wie alle Proteine, bei möglichen Vorbehandlungen strukturell verändert oder gar zerstört würden. Die Anwendung enzymhistochemischer Färbemethoden an Schnitten vorbehandelter Proben ist somit nur eingeschränkt oder gar nicht möglich. Außerdem ist die Morphologie von Muskelgewebe lichtmikroskopisch an Cryogewebe besser beurteilbar als an Paraffinschnitten.

Eingesetzt werden für nachfolgenden Färbungen Gefrierschnitte (Beschreibung siehe Punkt 2.1.3) die 20 min bei Raumtemperatur getrocknet wurden. Am Ende der Färbereaktion steht das Eindeckeln der Proben. Dabei erfolgt je nach Farbreagenz entweder eine wasserbasierte Eindeckelung (bspw. mittels Aqua Mount®) oder eine hydrophobe, Xylol-basierte Eindeckelung (hier verwendet: Depex). Prinzipiell ist es möglich, mithilfe einer auf- beziehungsweise absteigenden Alkoholreihe die gefärbten Gewebe von einem Medium in das andere zu überführen.

Das zu diesem Zweck und während einzelner Färbeverfahren verwendete System gliedert sich wie folgt:

Tabelle 6: Gliederung der auf- beziehungsweise absteigenden Alkoholreihe zur Überführung von Gewebeschnitten in wasserbasierte oder hydrophobe Reaktionsmedien:

Substanz	Inkubationsdauer
Aqua dest.	5 min
Isopropanol 50 %	5 min
Isopropanol 70 %	5 min
Isopropanol 90 %	5 min
Isopropanol 100 %	5 min
Isopropanol 100 %	5 min
Isoxylol	1 min
Xylol	10 min
Xylol	10 min

Nachfolgend finden sich die Arbeitsanweisung für die angewendeten Färbungen und in einer zweiten Übersicht die Zusammensetzungen der eingesetzten Basislösungen.

Tabelle 7a: Durchführung der enzymhistochemischen Färbungen

Arbeitsschritt	Dauer
Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)	
Übersichtsfärbung	
Färben in Mayers Hämalaun	60 Sekunden
Spülen unter Leitungswasser	60 Sekunden
Inkubation in Eosin 1 %	30 Sekunden
Spülen in dest. Wasser	kurz
Überführung in aufsteigender Alkoholreihe	
Eindeckeln in hydrophobem Medium	
Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG)	
Bindegewebsfärbung	
Fixation in Bakers Formol	10 Minuten
Spülen mit jeweils frischem Leitungswasser	kurz, vier- bis fünfmal
Färben in Resorcin	10 Minuten
Spülen in Isopropanol 90 %	kurz
Spülen in Isopropanol 70 %	kurz
Färben in Weigerts Eisenhämatoxylin (Mischung aus Lösung A und Lösung B im Verhältnis 1:1)	5 Minuten
Spülen in dest. Wasser	kurz
Färben in Hämalaun	6 Minuten
Spülen in dest. Wasser	kurz
Differenzieren in 1 % HCl-Alkohol	kurz
Bläuen unter Leitungswasser	10 Minuten
Färben in Pikrofuchsin	5 Minuten
Überführung in aufsteigender Alkoholreihe ab 90 % Isopropanol	
Eindeckeln in hydrophobem Medium	
Periodic-acid-Schiff-Reaktion (PAS)	
Färbung für Glykogen und Mukopolysaccharide	
Fixation in Bakers Formol	10 Minuten
Spülen mit jeweils frischem Leitungswasser	kurz, vier- bis fünfmal
Inkubation in 1 % Perjodsäure	5 Minuten
Spülen unter Leitungswasser, dann in dest. Wasser	je 5 Minuten
Reaktion in Schiff'schem Reagenz	20 Minuten
Spülen in Leitungswasser	5 Minuten
Gegenfärbung in Mayers Hämalaun	2 Minuten
Spülen mit dest. Wasser	kurz, zwei- bis dreimal
Differenzieren in 1 % HCl-Alkohol	kurz
Bläuen unter Leitungswasser	10 Minuten
Überführung in aufsteigender Alkoholreihe	
Eindeckeln in hydrophobem Medium	
Oil-Red-O-Färbung (ORO)	
Fettfärbung	
ORO-Gebrauchslösung frisch ansetzen und filtrieren, Gefriergewebsschnitte an der Luft trocknen lassen	
Fixation in Bakers Formol	10 Minuten
Spülen mit jeweils frischem Leitungswasser	kurz, vier- bis fünfmal
Färben in der ORO-Gebrauchslösung	10 Minuten
Differenzieren in 60 % Isopropanol	kurz
Auswaschen in Leitungswasser	kurz
Gegenfärbung in Mayers Hämalaun	5 Minuten
Bläuen unter Leitungswasser	15 Minuten
Spülen in dest. Wasser	kurz
Eindeckeln in wasserbasiertem Medium	
Trichrom-Färbung (modifiziert nach Gomori)	
Darstellung von Mitochondrien, zytoplasmatischen Körperchen, einiger Proteineinschlüsse und Vakuolen	
Färben in Mayers Hämalaun	3 Minuten
Bläuen unter Leitungswasser	10 Minuten
Spülen mit Ampuwa-Wasser	kurz, zweimal
Färben mit Gomori's Trichrom Mixtur	10 Minuten
Spülen mit Ampuwa-Wasser	kurz, einmal
Überführung in aufsteigender Alkoholreihe	
Eindeckeln in hydrophobem Medium	

Tabelle 7b: Durchführung der enzymhistochemischen Färbungen

Arbeitsschritt	Dauer
Myoadenylatdeaminase-Färbung (MAD)	
Nachweis der MAD-Enzymaktivität	
Inkubation in MAD-Färbelösung bei Raumtemperatur	180 Minuten
Spülen in Kaliumchlorid-Natriumcitrat-Lösung pH 6,0	kurz, dreimal
Eindeckeln in wasserbasiertem Medium	
Cytochrom-C-Oxidase-Färbung (COX)	
Nachweis des Atmungskettenenzym, Verteilung der Mitochondrien	
Inkubation in COX-Färbelösung bei 37 °C	120 Minuten
Waschen in Aqua dest.	kurz, dreimal
Überführung in aufsteigender Alkoholreihe	
Eindeckeln in hydrophobem Medium	
Succinatdehydrogenase-Färbung (SDH)	
Nachweis des Atmungskettenenzym, Verteilung der Mitochondrien	
Inkubation in SDH-Färbelösung bei 37 °C	90 Minuten
Waschen in Aqua dest.	kurz, einmal
Eindeckeln in wasserbasiertem Medium	
Kombinationsfärbung von COX und SDH (COXSDH)	
Inkubation in COX-Färbelösung bei 37 °C	2 Stunden
Waschen in Aqua dest.	kurz, dreimal
Inkubation in SDH-Färbelösung bei 37 °C	90 Minuten
Waschen in Aqua dest.	kurz, dreimal
Eindeckeln in wasserbasiertem Medium	
Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Dehydrogenase-Färbung (NADH)	
Fasertypisierung, Reaktion des sarkoplasmatischen Retikulums, Nachweis struktureller Defekte	
Inkubation in NADH-Färbelösung bei 37 °C	90 Minuten
Waschen in Aqua dest.	kurz, dreimal
Eindeckeln in wasserbasiertem Medium	
Menadion-linked α-Glycerophosphat-Dehydrogenase-Färbung (MAG)	
Fasertypisierung, Nachweis von Reduktionskörperchen (engl. <i>reducing bodies</i>)	
Inkubation in MAG-Färbelösung bei 37 °C	90 Minuten
Waschen in Aqua dest.	kurz, dreimal
Eindeckeln in wasserbasiertem Medium	
Saure-Phosphatase-Färbung (SP)	
lysosomales Enzym, Nachweis von Lysosomen, Makrophagen, Zerstörung saurer Zellkompartimente	
Inkubation in SP-Färbelösung bei 37 °C	60 Minuten
Waschen in Aqua dest.	kurz, dreimal
Gegenfärbung in Methylgrün	maximal 30 Sekunden
Waschen in Aqua dest.	kurz
Überführung in aufsteigender Alkoholreihe	
Eindeckeln in hydrophobem Medium	
Unspezifische-Esterase-Färbung (UE)	
Markierung akut denervierter Muskelfasern sowie von Endplatten und Makrophagen	
Inkubation in UE-Färbelösung bei 37 °C	60 Minuten
Spülen unter Leitungswasser	10 bis 20 Minuten
Schnitte lufttrocknen	
Benetzen mit Xylol und in hydrophobem Medium eindeckeln	

Bei der histochemischen Färbung der ATPase werden pro Muskelprobe drei Schnitte in je einer von drei Lösungen mit den definierten pH-Werten 4,4 sowie 4,7 und 10,4 inkubiert. Hieraus resultieren unterschiedliche Färbeverhalten, da die Reaktion pH-abhängig ist. Auf eine genaue pH-Wert-Einstellung bei Herstellung der Inkubations- und Waschlösungen ist zu achten. Da der pH-Wert dieser Lösungen im zeitlichen Verlauf variieren kann, sollte die Reaktion nach dem Ansetzen zügig durchgeführt werden.

Tabelle 8: Durchführung der pH-abhängigen ATPasen-Färbung

Arbeitsschritt	Dauer
Adenosintriphosphatase-Färbung (ATPase)	
Fasertypisierung, Identifikation von Strukturdefekten	
Reaktion bei pH 4,4	
Inkubation in der Vorinkubationslösung pH 4,4 bei Raumtemperatur	5 Minuten
Inkubation in der Waschlösung bei Raumtemperatur	5 Minuten
Inkubation in der ATPasen-Färbelösung bei 37 °C	45 Minuten
Reaktion bei pH 4,7	
Inkubation in der Vorinkubationslösung pH 4,7 bei Raumtemperatur	5 Minuten
Inkubation in der Waschlösung bei Raumtemperatur	5 Minuten
Inkubation in der ATPasen-Färbelösung bei 37 °C	45 Minuten
Reaktion bei pH 10,4	
Inkubation in der Vorinkubationslösung pH 10,4 bei Raumtemperatur	10 Minuten
Inkubation in der ATPasen-Färbelösung bei 37 °C	25 Minuten
gemeinsame Behandlung im Anschluss	
Waschen in 1 % Calciumchlorid	kurz, dreimal
Inkubation in 2 % Cobaltchlorid	3 Minuten
Waschen in Aqua dest.	kurz, dreimal
Entwicklung in 1 % Ammoniumsulfid	1 Minute
Wässern unter Leitungswasser	5 Minuten
Benetzen mit Xylol, Eindeckeln in hydrophobem Medium	

Tabelle 9: Übersicht über die Basislösungen der Enzymhistochemie

Lösung	Zusammensetzung / Arbeitsanweisung	
1 % HCl-Alkohol	25 mL HCl 25 % + 750 mL Aqua dest. + 1750 mL Isopropanol 100 %	
ATPasen	Lösung A	40 mL 0,1 M Natriumbarbiturat + 24 mL 2 % Calciumchlorid + 160 mL Aqua bidest.
	Lösung B	33,8 mL 0,2 M Natriumacetat + 41,2 mL 0,2 M Essigsäure
	Inkubationslösung	100 mL Lösung A + 0,2 g ATP, eingestellt auf pH 9,4
	Waschlösung	80 mL Lösung A, eingestellt auf pH 9,4
	Vorinkubationslösung pH 10,4	30 mL Lösung A, eingestellt auf pH 10,4
	Vorinkubationslösung pH 4,7	30 mL Lösung B, eingestellt auf pH 4,7
	Vorinkubationslösung pH 4,4	30 mL Lösung B, eingestellt auf pH 4,4
azotinierte Pararosanilin-Lösung	1 g Pararosanilin + 20 mL Aqua bidest. + 5 mL HCl 37 % erwärmen bis sich das Pararosanilin löst, nach dem Abkühlen filtrieren und kalt aufbewahren	
Bakers Formol	100 mL Formol 37 % + 270 mL Aqua bidest. + 3,2 g Calciumchloriddihydrat	
Catalase-Lösung	10 µL Catalase + 50 mL 50mM Phosphatpuffer pH 7,4	
COX-Färbelösung	10 mg Diaminobenzidin + 1,5 g Sucrose + 20 mg Cytochrom C in 18 mL 50 mM Phosphatpuffer pH 7,4 lösen	
	2 mL Catalase-Lösung hinzugeben	
Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung	28,4 g auf 100 mL Aqua bidest	
Eosin 1 %	1 g Eosin G auf 100 mL Isopropanol 70 %, lösen und filtrieren	
	Ansäuern mit 4 Tropfen Eisessig	
Gomori's Trichrom Mixtur pH 3,4	12 g Chromotrop R2 + 6 g Fast Green + 12 g Wolphramatophosphorsäure + 10 mL Eisessig in 1000mL Aqua bidest.	
Gomori's Tris-HCl-Puffer pH 7,4	6,06 g Trishydroxymethylaminomethan + 3,4 mL HCl 25 % auf 1000 mL Aqua bidest.	
Kaliumchlorid-Natriumcitrat-Lösung pH 6,0	11,2 g Kaliumchlorid + 0,441 g Natriumcitrat auf 1000 mL Aqua bidest.	
MAD-Färbelösung pH 6,1	12 mg Adenosin-5-monophosphat + 300 µL NBT-Lösung (1 g NBT auf 10 mL Dimethylformamid 70%) in 27 mL Aqua bidest lösen	
	tropfenweise 2,1 mL 3 M Kaliumchloridlösung hinzufügen	
	15 mg Dithiothreitol auf 900 µL Aqua bidest. hinzugeben	
MAG-Färbelösung pH 7,52	30 mL Gomori's Tris-HCl-Puffer pH 7,4 + 300 µL NBT-Lösung + 90 mg Glycerin-1-phosphatdinatriumsalz + in 2 mL Aceton gelöste 12 mg Menadione	
Methylgrün-Lösung	0,2 g Methylgrün in 20 mL Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung	
NADH-Färbelösung pH 7,4	12 mg NADH + 300 µL NBT-Lösung + 30 mL Gomori's Tris-HCl-Puffer	
NBT-Lösung	1 g NBT + 10 mL Dimethylformamid 70%	

Lösung	Zusammensetzung / Arbeitsanweisung
ORO-Stammlösung	0,5 g Oil-Red + 100 mL Isopropanol 100%, Herstellung einen Tag vor Färbung
ORO-Gebrauchslösung	12 mL ORO-Stammlösung + 8 mL Aqua dest.
Pikrofuchsin	100 mL wässriges Säurefuchsin 1 % + 1000 mL Pikrinsäure 1,2 %
SDH-Färbelösung pH 7,5	15 mL 0,2 M Natriumsuccinat-Lösung + 15 mL 0,2 M Phosphatpuffer pH 7,4 + 300 µL NBT-Lösung
SP-Färbelösung pH 5,0	Lösung 1: 36 mL Aqua bidest. + 15 mL Veronal-Acetat-Puffer-Gebrauchslösung
	Lösung 2: 2,4 mL azotinierte Pararosanilin-Lösung + 2,4 mL Natriumnitrit 4%
	Lösung 3: 3 mL N-N-Dimethylformamid + 30 mg Naphtol-AS-Bisphosphat
	Lösung 2 und 3 nacheinander unter Rühren in Lösung 1 geben, filtrieren
UE-Färbelösung	Lösung 1: 10 mg Alpha-Naphtylacetat + 2 mL Aceton
	Lösung 2: 0,8 mL azotinierte Pararosanilin-Lösung + 0,8 mL Natriumnitrit 4%
	Lösung 3: 20 mL Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung
	unter rühren Lösung 2 zu Lösung 3, dann Lösung 1 dazugeben
Veronal-Acetatpuffer-Gebrauchslösung	20 mL Veronal-Acetatpuffer-Stammlösung + 32 mL 0,1 N Salzsäure + 38 mL Aqua bidest.
Veronal-Acetatpuffer-Stammlösung	14,714 g Natriumbarbiturat + 9,714 g Natriumacetat auf 500 mL Aqua bidest

2.4 Verwendete Materialien

Tabelle 10: Verwendete Substanzen

Chemikalie	Bestell-NR.	Hersteller
3-Amino-9-Ethylcarbazol	A5754-10G	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
5-Brom-4-chlor-3-indoxylphosphat	11585002001	F. Hoffmann-La Roche AG, Basel, Schweiz
Aceton	1.00013.6025	Merck KgaA, Darmstadt
Adenosin-5-monophosphat	10883	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Adenosintri-phosphat	14615322	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
Alpha-Naphtylacetat	30040	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Ammoniumsulfid-Lösung	801221	Merck KgaA, Darmstadt
Ampuwa-Wasser	2001290	Fresenius Kabi., Bad Homburg
Brij® 35 solution 30 %	B4184-100mL	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Calciumchloriddihydrat	21098	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Calciumchloriddihydrat	1.02382.0500	Merck KgaA, Darmstadt
Catalase	C30	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Chromotrop R2	27140	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Citronensäure-monohydrat	1.00244.0500	Merck KgaA, Darmstadt
Cobaltchlorid	2539	Merck KgaA, Darmstadt
Cytochrom C	C2506	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Diaminobenzidin	D5905	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Dinatriumhydrogenphosphat	6580	Merck KgaA, Darmstadt
Dinatriumhydrogenphosphat	1.06586.0500	Merck KgaA, Darmstadt
Dimethylformamid 70%	D158550-1L	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Dithiothreitol	20710.02	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Eisessig	1.00063.1000	Merck KgaA, Darmstadt
Eosin G	1.15935.0100	Merck KgaA, Darmstadt
Ethylendiamintetraacetat	03609	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Extravidin-Peroxidase	E2886	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Fast Green	21295	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Formaldehyde solution min. 37 %	1.0399.1000	Merck KgaA, Darmstadt
Glutaraldehyd	1.04239.1000	Merck KgaA, Darmstadt
Glycerin-1-phosphat-di-Natriumsalz	50010	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Glycerol	A2926.1000	Appllichem GmbH, Darmstadt
Guanidiniumthiocyanat	0380-500G	VWR International GmbH, Wien, Österreich
Salzsäure	1.09057.1000	Merck KgaA, Darmstadt
Salzsäure 25 %	1.00312.2500	Merck KgaA, Darmstadt
Salzsäure 30 %	A3190,2500	Appllichem GmbH, Darmstadt
Salzsäure 37 %	1.00317.1000	Merck KgaA, Darmstadt

Chemikalie	Bestell-NR.	Hersteller
Isopropanol	2002986	Bicosa Cosmetic GmbH, Haan
Kaliumchlorid	1.04936.0500	Merck KgaA, Darmstadt
Kaliumhydrogenphosphat	4873	Merck KgaA, Darmstadt
Levamisol	27750	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
L-Lysin	L5501	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Magnesiumchlorid-hexahydrat	M2670-500G	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Menadione	M-5625	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Methylbutan	M-32631	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Methylgrün	1.15944.0025	Merck KgaA, Darmstadt
Meyers Hämalalaun	1.09249.0500	Merck KgaA, Darmstadt
Naphtol-AS-bisphosphonat	N2125-16	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Natriumacetat-trihydrat	1.06267.1000	Merck KgaA, Darmstadt
Natriumbarbiturat	6318	Merck KgaA, Darmstadt
Natriumchlorid	1.06404.1000	Merck KgaA, Darmstadt
Natriumcitrat	1.06448.0500	Merck KgaA, Darmstadt
Natriumdihydrogenphosphat	6346	Merck KgaA, Darmstadt
Natriumhydroxid Plätzchen	A1551,1000	Applichem GmbH, Darmstadt
Natriumnitrit	6544	Merck KgaA, Darmstadt
Natriumperjodat	6597	Merck KgaA, Darmstadt
Natriumsuccinat	14972	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Natronlauge	1.09137.1000	Merck KgaA, Darmstadt
Neufuchsin	22,931-8	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Dehydrogenase	30312	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT)	N6876-1G	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
N,N-Dimethylformamid	40255	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Oil-Red	5280	Merck KgaA, Darmstadt
Paraformaldehyd	441244	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Pararosanilin	P7632	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Phosphate buffered saline	A0965,9050	Applichem GmbH, Darmstadt
Perjodsäure	1.00524.0100	Merck KgaA, Darmstadt
Pikrinsäure 1 %	36011	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Proteinase K	P6556	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Resorcin-Fuchsin n. Weigert Fertiglösung	2 E 030	Waldeck GmbH & Co. KG, Münster
Säurefuchsin	7629	Merck KgaA, Darmstadt
Schiff'sches Reagenz	3952016-500	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Sucrose	9378	Sigma-Aldrich Co. LLC, St.Louis, USA
Trishydroxymethylaminomethan	8365	Merck KgaA, Darmstadt
Tris PUFFERAN	4855.2	Carl Roth GmbH&Co. KG, Karlsruhe
Tropix® I-Block™	T2015	Life Technologies GmbH, Darmstadt
Tween® 20	9127.2	Carl Roth GmbH&Co. KG, Karlsruhe
Wasserstoffperoxid	A1134,1000	Applichem GmbH, Darmstadt
Weigerts Lösung A Hämatoxylin	1.15973./1	Merck KgaA, Darmstadt
Weigerts Lösung B Eisen-III-chlorid-Lösung	1.15973./2	Merck KgaA, Darmstadt
Wolframatophosphorsäure	583	Merck KgaA, Darmstadt
Xylol	8118	Baker Petrolite GmbH, Weilburg

Tabelle 11: Verwendete Antikörper

Antikörper	Bestell-Nr.	Hersteller
anti-human α -synuclein mab 10D2, 1mg	0102004703	AJ Roboscreen GmbH, Leipzig
polyclonal goat anti-mouse AP-gekoppelt, 2mL	D0486	DAKO AG, Wiesentheid
polyclonal sheep anti-mouse Ig biotinyliert	RPN1001	Amersham Bioscience, Freiburg

Tabelle 12: Verwendete Materialien und Geräte

Objekt	Hersteller	Modell / Bestell-NR
Auflichtmikroskop	Olympus Deutschland GmbH, Hamburg	SZPT
Auflichtmikroskop	Olympus Deutschland GmbH, Hamburg	SZX 12
Ausgießstation	Medite GmbH, Burgdorf	TES Valida
Aqua bidest.-Anlage	SG Wasseraufbereitung & Regenerierstation GmbH, Barsbüttel	Ultra Clear Basic 2001-B
Aqua Mount	Merck KGaA, Darmstadt	Aquatex® 1.085
Computer	Heim-PC	
Computer	Dell GmbH, Frankfurt am Main	Optiplex 780
Deckgläschen	Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig	diverse Größen
Depex	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg	18243.01
Einbettautomat	Thermo Scientific GmbH, Bremen	Excelsior ES
Einbettkassetten	KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth	2017-10
Feinwaage	Sartorius AG, Göttingen	LA230S
feuchte Kammern	Eigenbau, Plastik, ca. 30x10x4 cm mit Zwischenstegen ca. alle 5 cm, mit Wasser zu befüllen und dunkel verschließbar	
Fotoeinheit	Olympus Deutschland GmbH, Hamburg	U-CMAD3, DP71
Fotosoftware	Olympus Deutschland GmbH, Hamburg	cellSens Dimension 1.7.1
Gefriermikrotom	Reichert-Jung, Wien, Österreich	2800 Frigocut
Gefrierschrank	Liebherr International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß	GP 1366 Premium
Gefrierschrank	Liebherr International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß	GSN 2436 Premium NoFrost
Glaswaren	diverse	
Grafiksoftware	GraphPad Software, La Jolla, California, USA	GraphPadPrism7
Kühlplatte	Medite GmbH, Burgdorf	COP 30 cooling plate
Kühlschrank	Liebherr International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß	KIE 2340 Premium
Literatursoftware	Roy Rosenzweig Center for History and new Media	Zotero Firefox plugin
Magnetrührer	IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen	IKA-MAG® RH basic
Magnetrührer	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach	Heidolph MR Hei-Standard
Microsoft Office	Microsoft Corporation	14.0.7162.5000 32-Bit
Mikroskop	Olympus Deutschland GmbH, Hamburg	BX41
Mikroskop mit Fotoeinheit	Olympus Deutschland GmbH, Hamburg	BX40, BX-51
Mikrotomklingen	FEATHER® Safety Razor Co. Ltd., Osaka, Japan	A35
Mikrowelle	Panasonic Corporation, Osaka, Japan	NN-E201WM
Nitrocellulose-Membranen	Bio-Rad, Hercules, California USA	1620150, Porengröße 45 µm
Objektträger	Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig	Superfrost Ultra Plus®
PET-Blot Boxen	Eigenbau, Plastik, ca. 13x8x7 cm, dunkel verschließbar	
pH-Meter	Sartorius AG, Göttingen	PB11
Pipetten	Eppendorf AG, Hamburg	diverse Modelle
Plattformschüttler	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach	Heidolph Duomax 1030
Saugvlies	Kimberly-Clark Health Care, Koblenz	WYPALL X70 (kc-8387)
Schlittenmikrotom	Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch	Leica SM 2000R
Schüttler	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach	Heidolph Reax top
Tabellensoftware	Microsoft Corp. Redmond, USA	Microsoft Excel 2010
Textsoftware	Microsoft Corp. Redmond, USA	Microsoft Word 2010
Tissue freezing	R. Langenbrinck Labor- & Medizintechnik, Emmendingen	04-0100
Tissue-loc™ cassettes	Thermo Scientific GmbH, Bremen	103160
Waage	Sartorius AG, Göttingen	LA230S
Wärmeschrank	Thermo Fisher Scientific GmbH, Bremen	Heraeus Function Line Brutschrank
Wärmeschrank	Thermo Fisher Scientific GmbH, Bremen	Heraeus Incubator
Wärmeschrank	Thermo Fisher Scientific GmbH, Bremen	Heratherm Oven

2.5 Immunhistochemie

Neben der enzymhistochemischen Untersuchung der gewonnenen Muskelproben und dem Ableiten etwaiger pathologischer Muster mithilfe dieser Methoden, steht die Suche nach α -Synuklein in der Muskulatur im Zentrum dieser Arbeit. Eine Möglichkeit der Detektion dieses Proteins besteht im immunhistochemischen Nachweis von Epitopen des Proteins im Gewebe durch spezifische Antikörper. Prinzip dieser Untersuchungstechnik ist das Markieren und Anfärben von Epitopen eines Proteins mithilfe eines an diese spezifisch bindenden Antikörpers. Dieser an die Zielstruktur gebundene Antikörper wird in unserem System dadurch visualisiert, dass ein zweiter, gegen die Spezies in der der erste Antikörper gewonnen wurde gerichteter Antikörper eingesetzt wird. An diesen zweiten Antikörper ist entweder ein Enzym (alkalische Phosphatase) oder Biotin gebunden. Das Biotin wird über ein Protein (Streptavidin) seinerseits gebunden, welches an ein Enzym (Meerrettichperoxidase) gekoppelt ist. Mit dem jeweiligen Enzym wird ein passender Farbstoff am Ort der Bindung des Antikörperkomplexes im Gewebe umgesetzt und abgelagert (NBT-BCIP beim PET-Blot; Neufuchsin oder AEC in der IHC). Es erfolgte der Einsatz eines Antikörpers zur direkten Detektion von α -Synuklein. Bei der Etablierung und Verifizierung der Methode wurden verschiedene Fixierungsmethoden und Vorbehandlungen sowohl an Cryo- wie Paraffingewebe, jeweils mit Neufuchsin- wie AEC-Färbesystem, getestet. Die getesteten Fixierungsmethoden umfassten das Kochen in 4 %igem Paraformaldehyd oder die Inkubation in Eisacetone (-20 °C). Als Vorbehandlung zur Epitopfreilegung wurde jeweils das Kochen in Tris-EDTA-Puffer pH 9,0 und in 10 mM Citratpuffer pH 6,0 getestet. Ziel war eine Schärfung des Signals bei gleichzeitiger Verringerung des Hintergrunds. Letztlich ist die Untersuchung an in Citratpuffer gekochtem Paraffingewebe und einer Färbung mittels Biotin-gekoppelter Peroxidase und AEC-Chromogen erfolgt.

Zum einen wurden die dargestellten Antikörpersignale durch Negativkontrollen überprüft. Dabei wurden Versuchsreihen mit Gewebeschnitten von Proben getestet, die initial Signale aufgewiesen haben und in der Negativkontrolle nicht mit dem Primärantikörper beschickt worden sind. In diesen Versuchsreihen konnten die Färbesignale nicht reproduziert werden. Damit ist gezeigt worden, dass eine zufällige Bindung des Sekundärantikörpers an unspezifische Gewebeeptopen nicht für die immunhistochemischen Signale verantwortlich ist. Zum anderen wurde für eine Positivkontrolle eine definitiv α -Synukleinpositive Probe aus der Hirnsubstanz eines verstorbenen Parkinson-Patienten mitgeschickt, um das entwickelte Versuchsprotokoll abschließend zu verifizieren.

2.5.1 Immunhistochemie Rezeptsammlung

Tabelle 13: Übersicht über die Basislösungen der Immunhistochemie

Lösung	Zusammensetzung / Arbeitsanweisung
AEC-Gebrauchslösung	4 mL AEC-Stammlösung + 56 mL 0,1 M Acetatpuffer pH 5,2 zweifach filtrieren, die gelbe Lösung wird klar, Zugabe von H ₂ O ₂ 20 µL 30 %
AEC-Stammlösung	0,4 g 3-Amino-9-Ethylcarbazol in 100 mL N-N-Dimethylformamid lösen, dunkel und kühl aufbewahren
Casein 0,2 %	2 g I-Block™ in 1000 mL PBS geben und unter Rühren für 30 min auf ca. 50 °C erhitzen, das Gemisch darf nicht kochen, Flocken müssen sich vollständig lösen nach Abkühlung auf Raumtemperatur Zugabe von 1 mL Tween® 20
Citratpuffer 10 mM pH 6,0 zur Epitopfreilegung	2,1 g Citratmonohydrat in 1000 mL Aqua bidest. gelöst
Neufuchsin-Chromogen	Lösung 1: 25 mg Levamisol in 50 mL TBS pH 8,8 + 45 mL Aqua bidest. lösen
	Lösung 2: 14 mg Naphtol-AS-bisphosphonat in 300 µL N-N-Dimethylformamid lösen
	Lösung 3: 10 mg Natriumnitrit in 250 µL Aqua dest. lösen, 100 µL Neufuchsin-Stammlösung dazugeben
	Lösung 2 zu Lösung 1 unter Rühren dazugeben, auf pH 8,9 einstellen. Lösung 3 unter Rühren hinzufügen und 2 min reagieren lassen, die trübe Lösung zweimalig filtrieren. Das Endprodukt ist blass-gelblich und klar.
Neufuchsin-Stammlösung	5 g Neufuchsin lösen in 30 mL HCl 30 % + 100 mL Aqua bidest.
PFA 4 % pH 7,3 zur Gewebefixierung	40 g Paraformaldehyd in 500 mL Wasser lösen, unter Rühren auf ca. 65 °C erhitzen
	Klärung mit 1 M Natronlauge, Zugabe von 100 mL PBS-Stammlösung mit Aqua bidest. Auf 1000 mL auffüllen, bei +4 °C haltbar
<i>Phosphate buffered saline</i> (PBS)	9,6 g PBS buffer in 1000 mL Aqua dest. lösen
PBST	9,6 g PBS buffer in 1000 mL Aqua dest. lösen + 5 mL 100 % Tween® 20
Tris-EDTA-Puffer pH 9,0 zur Epitopfreilegung	1,21 g Trishydroxymethylaminomethan + 0,372 g EDTA, gelöst in 1000 mL Aqua bidest.
<i>Tris buffered saline</i> (TBS)	10 mM TrisHCl + 100 mM NaCl, pH 7,8
TBST	10 mM TrisHCl + 100 mM NaCl + 5 mL 100 % Tween® 20, pH 7,8

2.5.2 Fixationsmethoden und Vorbehandlungen

Zur einmaligen Kontrolle bereits vorbestehender Protokolle und potentieller Erarbeitung von Verfahrensmodifikationen mit besserem Darstellungsergebnis bzw. erhöhter Sensitivität wie Spezifität, wurden in diesen Untersuchungen initial verschiedene Fixationsmethoden, Vorbehandlungen, unterschiedliche Ausgangsgewebe sowie Sekundärantikörper in Kombination getestet. Für die Immunhistochemie standen sowohl Cryoschnitte als auch mit Paraffin fixierte Schnitte zur Verfügung. Eine Immunhistochemie ist prinzipiell mit beiden Gewebearten möglich. Jedoch existieren für manche Antikörper lediglich funktionierende Protokolle für eine der beiden Gewebeaufbereitungen.

Während Gefrierschnitte nach dem Trocknen an der Luft und Erwärmen auf Raumtemperatur gleich einer weiteren Behandlung zugeführt werden können, müssen Paraffinschnitte zunächst entparaffiniert werden. Hierzu werden die Objektträger durch eine absteigende Alkoholreihe hindurchgeführt. Begonnen wird hierbei dreimal mit 100 %igem Xylol für je 10 min, gefolgt von Isoxylol, zweifach Isopropanol 100 % sowie Isopropanol 90, 70, 50 und 25 % für je 5 min. Nach fünf Minuten Spülung in PBST-Puffer ist der Gewebeschnitt als rehydriert anzusehen. Anschließend kann das entparaffinierte Gewebe unmittelbar

dem nächsten Verfahrensschritt unterzogen werden. Das Cryogewebe kann bei Bedarf vor Beginn des eigentlichen Färbeprozesses einer Fixierung unterzogen werden. Eine der eingesetzten Möglichkeiten zur Gewebefixierung ist die Vorbehandlung mit Eisacetone bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 20 min. Die Acteonfixierung führt zu einer Stabilisierung der zellulären Strukturen und damit zu einer verbesserten Histomorphologie. Der Erhalt antigener Strukturen ist zumeist gegeben. Die Fixation mittels PFA wurde ebenfalls durchgeführt, bei der die Schnitte 60 min in PFA 4 % inkubiert werden. Anschließend jeweiliges Waschen in TBS für 30 min. Auch hierbei ist ein morphologisch deutlich besserer Gewebserhalt das Ziel. Die Maskierung von Antigenstrukturen ist geringer als bei längerer Fixierung in Formaldehydlösung, aber eher zu finden als nach Acetonfixierung.

Die notwendigen Fixierungen führen in ihrem Prozess zu Konformationsänderungen von Proteinen oder ihrer Quervernetzung untereinander, sodass im Gewebe vorliegende Epitope eventuell verborgen werden. Folglich kann es zu Abschwächung bis Ausbleiben der Bindung von eingesetzten Antikörpern mit zwar vorliegenden, aber unerreichbaren Epitopen kommen. Aufgrund dieser Problematik der Maskierung von Epitopen durch Fixierungsverfahren, wird im Anschluss an das Entparaffinieren bzw. Fixieren fakultativ eine Epitopfreilegung, ein so genanntes *retrieval* durchgeführt. Bei einigen Verfahren werden die Objektträger in einer Pufferlösung erhitzt, in Zuge dessen sich entstandene Quervernetzung wieder lösen lassen und potentiell vorhandene Epitope wieder durch Antikörper detektiert werden können. Als Pufferlösung wurde zum einen Tris-EDTA-Puffer pH 9,0 eingesetzt. Dabei werden die Proben in einer komplett mit der Flüssigkeit gefüllten Küvette in der Mikrowelle 3 min auf 800 W, und weitere vier Male je 3 min mit 700 W erhitzt. Dabei ist darauf zu achten, nach jedem Durchgang die verdampfte Flüssigkeit durch Zugabe weiterer Pufferlösung zu ersetzen, da unbenetztes Gewebe während des Kochens zerstört würde. Anschließend werden die Schnitte umgehend mehrfach mit Aqua dest. gespült und dadurch behutsam abgekühlt. Zuletzt wird dreimal 5 min mit TBS gewaschen. Anstelle von Tris-EDTA kann Citratpuffer pH 6,0 verwendet werden, der Ablauf ist dabei identisch.

Der nächste Abschnitt des Protokolls dient der spezifischen sowie unspezifischen Blockierung störender Epitope und Gewebsenzyme. Ziel dessen ist es, den Hintergrund der später resultierenden immunhistochemischen Färbung zu reduzieren. Als Hintergrund bezeichnet man den Anteil an der schließlich sichtbaren Farbreaktion, der auf unspezifischen Antikörperbindungen mit anderen Epitopen als der Zielstruktur, sowie Substratumsatz durch physiologisch im Gewebe vorkommenden Peroxidasen oder alkalische Phosphatasen (AP) mit daraus folgender Farbentwicklung beruht. Die durchzuführenden Arbeitsschritte hängen also unter anderem davon ab, welches Enzym-Chromogen-System

an den verwendeten Sekundärantikörper gekoppelt ist und welche Gewebsenzyme somit zuvor auszuschalten sind. In dieser Arbeit wurden sowohl ein AP-gekoppelter Sekundärantikörper mit Neufuchsin als Chromogen, sowie ein biotinylierter Antikörper mit Peroxidase-AEC-System verwendet. Zur Vermeidung unspezifischer Antikörperbindungen wurde generell bei der IHC eine Blockierung für 20 min mit Casein 0,2 % durchgeführt, anschließend werden die Schnitte dreimal in TBS gewaschen. Die Blockierung endogener Gewebsenzyme erfolgt bei Neufuchsinfärbung (endogene alkalische Phosphatase) durch Zugabe von Levamisol zur Chromogenlösung. Die Blockierung endogener Peroxidasen (AEC-Färbesystem) erfolgt durch eine 15 minütige Inkubation des Gewebsschnitts mit 1 %iger Wasserstoffperoxidlösung und nachfolgend dreimaligem kurzem Spülen mit TBS. Anschließend werden nacheinander die Antikörper eingesetzt.

2.5.3 Detektion von α -Synuklein

Als Primärantikörper wurde der *anti-human α -synuclein monoclonal-antibody* 10D2 der AJ Roboscreen GmbH Leipzig verwendet. Es handelt sich um einen aus der Maus stammenden IgG-Antikörper, gerichtet gegen menschliches α -Synuklein. In der Verdünnung von 1:500 in TBS wird dieser auf die Objektträger aufgetragen, sodass das darauf befindliche Gewebe komplett benetzt ist. In einer feuchten Kammer erfolgt die Reaktion bei Raumtemperatur für mindestens 90 min, eine Inkubation über Nacht ist möglich.

Nach dreimal spülen mit TBS wird mit dem Sekundärantikörper in gleicher Weise verfahren. Allerdings ist eine Inkubationszeit von 60 min ausreichend. Der Sekundärantikörper richtet sich gegen die Spezies, aus der der benutzte Primärantikörper stammt. Verwendet wurden daher der polyklonale AP-gekoppelte *Anti-mouse*-Antikörper aus der Ziege der DAKO AG Wiesentheid, oder der polyklonale biotinylierte *Anti-mouse*-Antikörper aus dem Schaf der Firma Amersham Bioscience Freiburg. Ersterer liegt in Verdünnung 1:1000 in TBS vor, letzterer wird zunächst im Verhältnis 1:2 mit Glycerol aliquotiert, um dann mit TBS verdünnt in einer Endkonzentration von 1:200 in TBS verwendet zu werden. Nach Abschluss der Inkubation wird erneut dreimal mit TBS gespült.

Die mit AP-gekoppeltem Sekundärantikörper inkubierten Schnitte werden nun 15-25 min mit Neufuchsin-Chromogen entwickelt. Dabei spaltet die alkalische Phosphatase eine Phosphatgruppe des Neufuchsins ab, die vorher farblose Substanz wird dadurch rot-rosa. Der Prozess ist mikroskopisch zu überwachen. Mit längerer Entwicklungszeit entsteht zunehmend mehr Hintergrund. Bei zufriedenstellendem Reaktionsfortschritt werden die Proben dreimal mit TBS sowie einmal mit Aqua bidest. gespült. Nun erfolgt eine Gegenfärbung mit Hämalaun für ca. 13 Sekunden, eine zu starke Anfärbung ist zu vermeiden. Nach 10 min Bläuen unter Leitungswasser wird in wässrigem Medium eingedeckelt.

Wird stattdessen eine Inkubation mit biotinyliertem Sekundärantikörper durchgeführt, folgt eine weitere Reaktion in feuchter Kammer mit Extravidin-HRP (1 µL Extravidin auf 999 µL TBS) für 60 min. Hierbei handelt es sich um eine Peroxidase aus Meerrettich, die an Extravidin gekoppelt ist. Extravidin wiederum bindet an Biotin, sodass mithilfe dieser Verbindung eine Kopplung zwischen Sekundärantikörper und Peroxidase erreicht wird. Der Vorteil dieser zusätzlichen Verschachtelung liegt in der Verstärkung diskreter Signale, da Biotin mehrere Moleküle Extravidin binden kann. Somit können mehrere Peroxidasen pro identifiziertem Epitop lokal Substrat umsetzen, was zu einer Signalanhebung führt. Anschließend wird dreimal mit TBS gespült. Schließlich werden die Schnitte 5-10 min in der AEC-Gebrauchslösung entwickelt, wobei auch dieser Prozess mikroskopisch zu bewerten ist. Hierbei dient das in der AEC-Gebrauchslösung enthaltene Wasserstoffperoxid als Substrat, die bei der Spaltung frei werdenden Protonen oxidieren das zuvor farblose AEC, sodass eine rostrote Färbung entsteht. Abschließend wird erneut dreimal mit TBS und einmal mit Aqua bidest. gespült, ebenfalls mit Hämalaun gegengefärbt, für 10 min unter Leitungswasser gebläut und mit einem wasserbasierten Medium eingedeckelt.

2.6 PET und Histo-Blot

Im Zuge dieser Arbeit sind auch PET- sowie Histo-Blot zur Anwendung gekommen. Die Stärken der enzym- und immunhistochemischen Verfahren liegen in ihrer guten morphologischen Abbildung der Gewebestruktur. Eventuell vorhandene Schädigungsmuster sind leichter zu identifizieren und Pathologien in Bezug auf den Zellverband gut zu lokalisieren. Andererseits ist die Sensitivität beider Methoden limitiert, da subtile Veränderungen häufig nur schwer von dem umgebenden Gewebe abgrenzbar sind. Die Unterscheidung von physiologischen und pathologischen Proteinanfärbungen ist in der konventionellen IHC nicht immer sicher zu treffen, da vor allem im Bereich der Proteinaggregaterkrankungen viele Zielstrukturen auch physiologischerweise vorkommen. Der Wert des PET- bzw. Histo-Blot liegt darin, eben jene diagnostische Lücke zu schließen. Das Prinzip dieser von Schulz-Schaeffer et al. (2000) entwickelten Methoden besteht darin, auf Nitrocellulose-Membranen gezogene Gewebeschnitte mithilfe einer Proteinase soweit zu verdauen, sodass am Ende fast ausschließlich aggregierte Proteinkomplexe zurückbleiben, welche dann mittels Antikörpern ähnlich der Immunhistochemie markiert und gefärbt werden. Da als Signal lediglich der Farbnachweis des jeweils detektierten Proteins vor der blassen Kontur des Gewebsschnittes erfolgt, erhöht sich die Sensitivität für subtile Signalanhebungen. Da physiologische Proteine verdaut werden, sind Signale hier sehr viel wahrscheinlicher Ausdruck pathologischer Veränderungen. Demgegenüber fällt die Zuordnung von Signalen zu histologischen Strukturen bei diesen Methoden jedoch sehr viel schwerer als in der konventionellen Immunhistochemie, da keine Gegenfärbung der zellulären

Strukturen erfolgen kann. Der Unterschied zwischen PET-Blot und Histo-Blot liegt im Ausgangsmaterial, da der PET-Blot auf Paraffinmaterial, der Histo-Blot auf Gefriermaterial zurückgreift. Dementsprechend bietet der PET-Blot die höhere Detailauflösung gegenüber dem Histo-Blot. PET- und Histo-Blot stellen eine sinnvolle Ergänzung zu Enzym- wie Immunhistochemie dar.

2.6.1 Rezeptsammlung PET-Blot

Einige der Rezepte, die auch in der Immunhistochemie Verwendung finden wurden dort schon gelistet und werden hier nicht erneut erwähnt.

Tabelle 14: Übersicht über die Basislösungen für den PET-Blot

Lösung	Zusammensetzung / Arbeitsanweisung
Lysin-Pufferlösung pH 7,4	7,3 g L-Lysin in 250 mL Aqua dest. gelöst, Zugabe von 250 mL Soerensen-Puffer
Natrium-Tris-Magnesium-Puffer (NTM)	100 mM Tris-HCl-Lösung pH 9,5 + 100 mM NaCl-Lösung + 50 mM MgCl ₂ -Lösung
PK-Verdaupuffer pH 7,8	10 mM Tris-HCl-Lösung + 100 mM NaCl-Lösung + 1,5 mL Brij 30 % + 50 mM CaCl ₂ -Lösung + 50 mM MgCl ₂ -Lösung
PLP 2 % zur Fixation	10 mL 8 % Paraformaldehyd + 30 mL Lysin-Pufferlösung + 0,085 g Natriumperjodat
Reaktionslösung für Blotverfahren (Volumen für eine Box)	20 mL NTM + 90 µL NBT-Lösung (75 mg NBT + 1 mL DMFA 75 %) + 66 µL BCIP-Lösung (50 mg BCIP + 1 mL DMFA 100%)
Soerensenpuffer 0,2 M pH 7,4	Lösung A: 14,2 g Dinatriumhydrogenphosphat auf 1000 mL Aqua bidest.
	Lösung B: 13,8 g Natriumdihydrogenphosphat auf 1000 mL Aqua bidest.
	Zugabe von Lösung B zu Lösung A im Verhältnis 1:2, pH-Einstellung durch weiteren Zugabe von Lösung A

2.6.2 Protokoll PET-Blot

Zunächst werden die Membranen auf gleiche Weise wie die Schnitte in der Immunhistochemie entparaffiniert. Nachdem sie über Nacht unter Zellstoff gepresst und getrocknet worden sind, wird der Proteinkinase-K-Verdau durchgeführt. Hierzu werden die Proben auf einem auf dem Boden einer PET-Blot-Box liegenden Fleece gleichmäßig verteilt. Nun werden pro Box ca. 15 mL PK-Verdaupuffer (65 µL Proteinase K pro 15 mL Verdaupuffer) hineingegeben und für 30 min bei 55 °C inkubiert. Anschließend wird so viel von der Flüssigkeit abgekippt, dass das Vlies und die Membranen gerade noch benetzt sind. Es folgt die weitere Inkubation bei 55 °C über Nacht. Da das feuchte Fließ während dieser Zeit die Benetzung der Membranen mit Verdaupuffer aufrechterhält, ist der lückenlose Kontakt zwischen ihnen essentiell um einen gleichmäßigen Proteinverdau zu gewährleisten.

Im Anschluss werden die Membranen in der Box auf einem Plattformschüttler dreimal 5 min mit TBST gespült. Nach einer Proteindenaturierung für 15 min mit 4 M Guanidiniumthiocyanat, wird erneut dreimal je 5 min mit TBST gewaschen. Zudem ist auch bei dieser

Methode ein Casein-Block notwendig. Hierzu werden für 45 min pro Box ca. 20 mL 0,2 % Casein hinzugegeben.

Nach dem Abgießen des Caseins werden die Boxen jetzt mit dem Primärantikörper in Verdünnung 1:5000 (2 µL alliquotiert Antikörper in 10 mL TBST pro Box) beschickt. Hierbei wird ebenfalls der Antikörper 10D2 aus der Maus zur Detektion von menschlichem α -Synuklein, wie in der Immunhistochemie, verwendet. Die Inkubationszeit beträgt 90 min, danach wird fünfmal 10 min mit TBST gewaschen. Anschließend erfolgt der Einsatz des ebenfalls schon in der Immunhistochemie verwendeten AP-gekoppelten Anti-Maus-Antikörpers aus dem Schaf. Dieser liegt in der Verdünnung 1:500 vor (20 µL in 10 mL TBST pro Box) und wird für 60 min inkubiert. Erneut fünfmal waschen mit TBST für 10 min sowie zweimal mit ca. 20 mL NTM pro Box für je 5 min.

Schließlich können die Membranen in der Färbelösung NBT/BCIP entwickelt werden (schwarzblaues Reaktionsprodukt). Die Dauer des Prozesses ist variabel, die Intensität der Anfärbung ist mikroskopisch zu kontrollieren. Als Richtwert gelten ca. 25 min. Bei zufriedenstellendem Entwicklungsgrad wird die Reaktion durch Verwerfen der Färbelösung und Waschen in PBS für 15 min gestoppt. Schlussendlich werden die Proben für mindestens 30 min mit Aqua bidest. unter Zusatz von etwas 0,5 M EDTA pH 8,0 gespült, bevor sie wiederum mit Zellstoff gepresst und getrocknet werden. Die Lagerung erfolgt ähnlich Briefmarken separiert in Kunststoffhüllen unter Lichtabschluss.

2.6.3 Unterschied zwischen PET- und Histo-Blot

Wie bereits oben angeführt sind PET-Blot und Histo-Blot verwandte Techniken, die systembedingte Vor- und Nachteile aufweisen. Um ihre Eignung unter der hier bestehenden Fragestellung eines sicheren Nachweises pathologischer Ablagerungen von Synuklein beurteilen zu können, wurden sie gegeneinander getestet. Der *paraffin-embedded-tissue*-Blot basiert auf formalinfixiertem Gewebe, welches in Paraffin eingebettet und dessen Schnitte auf Nitrocellulose-Membranen aufgezogen wurden. Hierbei kommt der gleiche Sachverhalt zum Tragen, welcher bereits im Kapitel Immunhistochemie behandelt wurde: Im Zuge dieser Behandlung werden möglicherweise Epitope maskiert. Signalstärke und -anzahl werden dadurch wohlmöglich verringert. Der Histo-Blot basiert auf Gefriergewebe, welches nativ auf Nitrocellulose-Membranen aufgezogen wird. Jedoch benötigt diese Methode einen weiteren Fixierungsschritt, bevor mit dem PK-Verdau begonnen werden kann. Die dabei angewendete Fixationsart und -stärke beeinflusst direkt den Grad der Gewebeabtragung im PK-Verdau.

Zum einen wurde mit einer Fixierung mithilfe einer absteigenden Alkoholreihe, beginnend bei Isopropanol 100 %, experimentiert. Hierzu werden die Membranen an der Luft auf

Raumtemperatur erwärmt, durch die Alkoholreihe geführt, anschließend 5 min in PBST gespült sowie über Nacht in Zellstoff gepresst und getrocknet.

Außerdem wurde die Möglichkeit der Gewebefixierung mittels PFA 4 % geprüft. Nachdem die Membranen erwärmt und in Wasser getaucht worden sind, werden sie 90 min in PFA 4 % inkubiert. Anschließend werden sie 30 min unter Leitungswasser gewässert, 5 min in PBST gespült und ebenfalls über Nacht getrocknet.

Als dritte Variante wurde PLP 2 % zur Fixation herangezogen. Der Ablauf gleicht dem der PFA-Fixierung, nur dass statt PFA mit PLP inkubiert wird.

Im Anschluss an die Trocknung der fixierten Membranen wird vor Beginn des PK-Verdaus zur sicheren Durchfeuchtung des Gewebes und der Membranen nochmals für 15-30 min mit TBST gewaschen, ab da ist das Protokoll des Histo-Blots mit dem des PET-Blots identisch.

3. Darstellung der Ergebnisse

Das neuropathologisch untersuchte Patientenkollektiv von 17 Individuen wurde in dieser Arbeit in drei Gruppen unterteilt. Zum einen wurden die Untersuchungsergebnisse einer Gruppe von neun Parkinsonpatienten dargestellt. Zweitens wurden Proben von drei Patienten, die zu Lebzeiten von einer Demenz mit Lewy-Körperchen (DLB) betroffen waren, untersucht. Außerdem wurde eine dritte Gruppe von fünf Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen untersucht, die mit anderen Proteinaggregaten als α -Synukleinaggregaten assoziiert sind. Darunter fanden sich eine Alzheimer-Demenz, eine progressive supranukleäre Blickparese (PSP), eine Amyotrophe Lateralsklerose und zweimal eine frontotemporale Demenz.

Einerseits wurden alle Muskelproben einer breiten in der üblichen neuropathologischen Routine vorkommenden enzymhistochemischen Untersuchung unterzogen. Hierbei wurden die Muskeln und Muskelgruppen intra- und interindividuell verglichen, insbesondere in Hinblick auf die Kamptokormie-Haupt- und Nebenkriterien von Wrede et al. (2012).

Prinzipiell sollten pro Patient die Untersuchung der vier Probenregionen Musculus erector spinae (paraspinalis), M. deltoideus, M. quadriceps femoris und des M. rectus abdominis erfolgen. Jedoch war dieses Panel nicht bei allen Fällen komplett vorhanden. Dies lag vor allem darin begründet, dass erst im Laufe der Zeit die Beprobung von Rectus abdominis und Quadriceps femoris in das Probenentnahmeschema bei neuropathologischen Wissenschaftsautopsien integriert worden ist.

Für die in dieser Arbeit zentralen enzymhistochemischen Untersuchungen an Cryogewebe lagen Proben von Musculus paraspinalis wie deltoideus in allen 17 Fällen vor. Der Musculus rectus abdominis fehlte je bei einem Patienten aus jeder der drei Gruppen. Bei zwei Parkinsonpatienten, zwei der drei Fälle von DLB und der Person mit PSP fehlte außerdem der Musculus quadriceps femoris. Paraffingewebe für die weiterführenden immunhistochemischen und Blot-Verfahren zur Suche nach α -Synuklein stand nur in 16 der 17 Fälle zur Verfügung, einer der drei DLB-Patienten konnte somit nicht weiterführend untersucht werden. Ansonsten deckt sich die Verfügbarkeit von Cryo- und Paraffingewebe.

3.1 Enzymhistochemie

3.1.1 Generelle Aspekte der Auswertung

3.1.1.1 Probenqualität

Pro Muskel stand je ein Probenblock zur Verfügung. Aufgrund des größeren Umfangs der einzelnen Gewebeproben im Vergleich zu Biopsiematerial ließ sich jede Probe sehr umfangreich beurteilen. Das Gewebe war generell in gutem Zustand. Lediglich in einem Fall wies ein Muskel eine Autolyse auf, weshalb die meisten Enzymreaktionen dort etwas schwächer ausfielen als gewöhnlich. Die Querausrichtung der Fasern zur Schnittebene war in den meisten Fällen gut gelungen. Nur in einem Fall wurde die Beurteilung einzelner Parameter aufgrund eines hohen Anteils längs getroffener Fasern beeinträchtigt. Die vereinzelte Bildung von Artefakten konnte durch den großen Umfang des Gewebeanschnitts gut kompensiert werden. Nichtsdestotrotz haben manche Färbeverfahren bei einzelnen Muskelproben auch nach mehrfacher Wiederholung nicht zu einem beurteilungsfähigen Ergebnis geführt. Daher kann die Gesamtzahl auswertbarer Schnitte bei einzelnen Aspekten variieren. Dies betrifft vor allem die COX, aber teils auch SDH und damit COX-SDH-Kombinationsfärbung. Dabei scheint ein COX und SDH-Mangel insbesondere den Muskeln von Parkinsonpatienten eigen zu sein.

3.1.1.2 Angabe von Prozentwerten im Rahmen der Auswertung

Die Untersuchungsergebnisse werden im Folgenden sowohl tabellarisch wie in einem Fließtext beschrieben. Hierbei werden die Ergebnisse häufig als Prozentwert ausgedrückt. Die meisten Angaben sind geschätzt und in ihrer Häufigkeit in 5%-Schritten angegeben.

Lediglich bei der Auswertung der HE-Färbungen wurde eine semiquantitative Auswertung gewählt. Es wurde der prozentuale Anteil betroffener Fasern angegeben, gerundet auf einen Prozent. Hierzu wurde computergestützt mithilfe einer Fotosoftware in zehn repräsentativen Gesichtsfeldern bei 200-facher Vergrößerung die durchschnittliche Faseranzahl bestimmt, und in eben diesen Gesichtsfeldern die Anzahl beispielsweise an Kernsäcken. Hieraus wurde dann der prozentuale Anteil bestimmt.

Insgesamt wurde sich für eine relative Angabe von Häufigkeiten entschieden, da eine Reihe von Faktoren wie beispielsweise Alter, Trainingszustand und Geschlecht den durchschnittlichen Faserdurchmesser eines Individuums bestimmen und somit absolute Werte interindividuell nicht direkt vergleichbar sind.

Manche Gewebemerkmale kommen in geringem Umfang auch physiologisch vor, beispielsweise finden sich interne Kerne auch bei gesunden Individuen in bis zu 5 % der

Muskelfasern. Daher wurde in manchen Fällen ein Wert von <5 % angegeben, sofern eine Häufung im physiologischen Rahmen lag.

Bei anderen Aspekten wiederum ist das Vorhandensein weniger positiver Fasern bereits pathologisch, beispielsweise *Ragged-red*-Fasern in einer Häufigkeit von einem Prozent der Fasern. Diese niedrigeren Prozentzahlen wurden dann auch entsprechend angegeben. Allerdings waren die untersuchten Muskelquerschnitte mit einem Umfang von bis zu 4000 Fasern derart groß, dass in manchen Proben einzelne auffällige Fasern sporadisch nachweisbar waren. Dies wurde jedoch als noch nicht signifikant vermehrt gewertet.

3.1.1.3 Interpretation der qualitativen Angaben

Eine häufige Angabe ist der Gehalt beispielsweise an intrazellulärem Fett in der ORO- oder an Muccopolysacchariden in der PAS-Färbung. Hierbei wurde die Farbreaktion als gering, normal/durchschnittlich und hoch beschrieben. Eine zu starke, somit pathologische Farbreaktion, wurde als „vermehrt“ bezeichnet.

In der ORO- und EvG-Färbung wurde zum einen jeweils mit beschrieben, ob perimysiale Fett- beziehungsweise Bindegewebszüge durch die Probe mit erfasst wurden. Des Weiteren erfolgte eine Beurteilung, inwieweit sich Binde- oder Fettgewebe endomysial darstellen ließen. Der Grad der Veränderung wurde mit Skalenwerten zwischen 0 und 4 beschrieben. Physiologischerweise kommen weder Fett noch Bindegewebe innerhalb eines Faszikels vor. War dies der Fall, wurde dies mit 0 bezeichnet. Wenn von den Bindegewebssepten aus zarte Bindegewebsstraßen in die Faszikel hinein darstellbar waren, wurde eine 1 vergeben. War diese Tendenz bereits deutlicher ausgeprägt, eine 2. Bei einer 3 waren dicke Bindegewebsstränge innerhalb der Faszikel nachweisbar mit beginnender Umbauung einzelner Muskelfasern. Grad 4 wurde vergeben, wenn die meisten Fasern in einem Faszikel vollständig von dicken Bindegewebssträngen umbaut worden sind.

Analog hierzu wurde hinsichtlich des fettigen Umbaus in der ORO-Färbung eine 1 vergeben, wenn sich einzelne Adipozyten zwischen den Faszikeln im Bindegewebe darstellen ließen. Eine 2 wurde vergeben, wenn einzelne Adipozyten innerhalb eines Faszikels nachweisbar waren, eine 3 wurde bei bereits häufigem fettigem Umbau des Faszikels vergeben. War ein Faszikel nahezu vollständig fettig umgebaut, wurde dies durch eine 4 beschrieben.

3.1.1.4 Läsionen und Einschlüsse

Zentrale Einschlüsse in den Muskelfasern wurden für die PAS- und MAD-Färbung mit erfasst, jedoch in dieser Arbeit nicht gesondert diskutiert. Zentrale Strukturläsionen in Muskelfasern wurden im Rahmen der Fragestellung vor allem bei der SDH- und NADH-

Färbung gesucht und beschrieben. Hierbei wurden zentrale Unregelmäßigkeiten in Fasern erst als echte Läsionen gezählt, wenn sie scharfe, wie ausgestanzte Defekte aufgewiesen haben. Die Läsionen ließen sich prinzipiell sowohl in der NADH- wie SDH-Färbung nachweisen und deckten sich häufig. Allerdings waren sie in der SDH-Reaktion häufiger anzutreffen. Dies scheint am ehesten technisch bedingt zu sein, oft fiel die NADH-Reaktion recht stark aus und erschwerte die Beurteilung. Andererseits kam es aufgrund der bereits erwähnten geringen SDH-Reaktivität oftmals auch zu einer eingeschränkten Beurteilbarkeit der SDH-Färbung. Insgesamt wurden für die Bewertung der Haupt- und Nebenkriterien von Wrede et al. (2012) beide Färbungen komplementär bewertet.

3.1.2 Enzymhistochemische Veränderungen der Parkinsonpatienten

In der Gruppe der neun Parkinsonpatienten gab es zwei Individuen, Nummer 2 und 7, die in allen beprobten Muskeln eine schwere myopathische Veränderung aufwiesen. Myopathische Schädigungsmuster in mäßiger (Nummer 3,4 und 5) wie schwerer Form (Nummer 1 und 6) traten in den anderen sieben Patienten ansonsten lediglich im M. paraspinalis auf. Die anderen Muskeln dieser Patienten, sowie die von Patienten 8 und 9, wiesen nur geringe myopathische oder unspezifische Veränderungen auf oder waren gar gänzlich unauffällig, Veränderungen wie bei neurogener Schädigung waren nur im M. paraspinalis von Patient 4 erkennbar (vgl. Tabelle 15a). In den Patienten 2 und 7 zeigten sich aufgrund der starken myopathischen Veränderungen deutlich erhöhte Anteile von atrophen Fasern und somit insgesamt erhöhter Kalibervariation im Vergleich zu dem Rest des Kollektivs. Insbesondere der M. quadriceps von Patient 7 war hier durch eine Atrophie nahezu aller Fasern gekennzeichnet. Passend hierzu zeigten sich vor allem vermehrte Kernsäcke in diesen beiden Fällen. Interne Kerne waren insgesamt eher selten vermehrt nachweisbar. Hier traten in geringem Maße nur Patient 3 und 6 in Erscheinung. *Whorled fibres* als Bestandteil der Kamptokormie-Nebenkriterien von Wrede et al. (2012) waren nur sporadisch in einzelnen Proben nachweisbar (vgl. Tabelle 15a). Eine endomysiale Fibrose, ein weiteres Nebenkriterium von Wrede et al. (2012), ließ sich in allen neun Patienten in allen vier Muskelgruppen in allen unterschiedlichen Skalenstufen nachweisen. Hervorzuheben waren hierbei erneut Patient Nummer 7, der im Zuge seiner schwersten atrophischen myopathischen Schädigung den stärksten Grad einer generalisierte Fibrose, sprich eine bindegewebige Ummantelung nahezu aller Muskelfasern innerhalb eines Faszikels, in allen Muskelproben, aufwies. Zum anderen zeigte ansonsten der Patient 6 einen starken fibrotischen Umbau in seinen schwer myopathisch veränderten M. paraspinalis. Zwar waren die anderen Muskeln von Patient 6 auch beginnend fibrotisch umgebaut, jedoch ansonsten wenig bis nicht geschädigt und unauffällig. Andererseits zeigte Patient 2 wiederum in allen Proben trotz schwerer Myopathie nur eine mäßige Fibrose (vgl. Tabelle 15a).

Tabelle 15a: Ergebnisse von HE und EvG-Färbung bei den Parkinsonpatienten

Fall-Nr.	Muskel	Beurteilung	HE-Färbung					EvG-Färbung	
			KV	KS	AF	IK	WF	endomysial	perimysial
1 PD	M. paraspinalis C2	schwer myopath., Fibrose, Zeichen einer Mitochondriopathie	10 %	1 %	10 %	<5 %	0	2	ja
	M. deltoideus	milde myopathisch, keine Zeichen einer Mitochondriopathie	25 %	3 %	35 %	<5 %	0	1 bis 2	ja
	M. quadriceps	milde myopathisch, keine Zeichen einer Mitochondriopathie	10 %	1 %	10 %	<5 %	0	0	ja
2 PD	M. paraspinalis L2	deutliche Typ-2-Faser-Atrophie und starke Fettspeicherung	50 %	10 %	55 %	9 %	eine	2	ja
	M. deltoideus	etliche Nekrosen+Makrophagen, nekrotisierende Myopathie?	>50 %	10 %	40 %	<5 %	0	3	ja
	M. rectus abdominis	schwer myopath., starke Typ-2-Faser-Atrophie+Fettspeicherung	50 %	2 %	50 %	<5 %	0	2	ja
3 PD	M. pectoralis	schwer myopath., starke Typ-2-Faser-Atrophie+Fettspeicherung	50 %	2 %	40 %	<5 %	eine	2	ja
	M. paraspinalis	leicht/mäßig myopathisch, fettig degeneriert	25 %	2 %	40 %	11 %	0	2	ja
	M. deltoideus	fokal leicht fibrotisch, sonst unauffällig	10 %	2 %	10 %	5 %	0	3	ja
4 PD	M. rectus abdominis	unauffällig	20 %	<1 %	20 %	9 %	0	2	ja
	M. quadriceps	geringgradig unspezifisch verändert	10 %	<1 %	10 %	10 %	0	0 bis 1	ja
	M. paraspinalis	mäßig neurogen und myopathisch verändert	25 %	<1 %	15 %	<5 %	0	1	ja
5 PD	M. deltoideus	gering unspezifisch verändert	10 %	<1 %	5 %	<5 %	0	2	ja
	M. rectus abdominis	milde myopathisch verändert	10 %	<1 %	10 %	<5 %	0	1	ja
	M. quadriceps	gering unspezifisch verändert	5 %	<1 %	5 %	<5 %	0	0	nein
6 PD	M. paraspinalis C7	mäßig myopathisch, fibrosiert, fettig degeneriert	20 %	3 %	5 %	<5 %	eine	3	ja
	M. deltoideus	etwas Atrophie, ansonsten unauffällig	<5 %	<1 %	3 %	<5 %	0	1	nein
	M. rectus abdominis	unauffällig	10 %	n. b.	10 %	<5 %	0	0	nein
7 PD	M. biceps	gering unspezifisch verändert	25 %	<1 %	25 %	6 %	0	1	nein
	M. paraspinalis L2	schwer myopathisch, atroph und fettig degeneriert	20 %	<1 %	10 %	6 %	0	4	ja
	M. deltoideus	vermehrt COX-defizient, sonst unauffällig	10 %	<1 %	10 %	6 %	0	2	ja
8 PD	M. rectus abdominis	unauffällig	10 %	<1 %	10 %	11 %	0	2	ja
	M. quadriceps	unauffällig	5 %	<1 %	3 %	12 %	0	1	ja
	M. paraspinalis	schwer myopathisch, fettig degeneriert, atroph und fibrotisch	>50 %	5 %	55 %	10 %	0	4	ja
9 PD	M. deltoideus	schwer myopathisch, fettig degeneriert, hochgradig atroph	20 %	4 %	15 %	<5 %	0	4	ja
	M. rectus abdominis	schwer myopathisch, fettig degeneriert	20 %	3 %	10 %	<5 %	0	2	ja
	M. quadriceps	schwer myopathisch, fettig degeneriert, hochgradig atroph	100 %	7 %	100 %	<5 %	0	4	ja
8 PD	M. paraspinalis	Typ-2-Faseratrophie, vermehrte Fettspeicherung	25 %	0	30 %	<5 %	0	3	ja
	M. deltoideus	vermehrte Fettspeicherung	30 %	0	25 %	<5 %	0	1 bis 2	nein
	M. rectus abdominis	Typ-2-Faseratrophie, vermehrte Fettspeicherung	10 %	<1 %	5 %	<5 %	0	1	ja
9 PD	M. quadriceps	Typ-2-Faseratrophie, vermehrte Fettspeicherung	50 %	<1 %	45 %	<5 %	0	2	ja
	M. paraspinalis C7	gering unspezifisch verändert, vermehrte Fettspeicherung	10 %	<<1 %	15 %	<5 %	0	1	ja
	M. deltoideus	gering unspezifisch verändert, vermehrte Fettspeicherung	<5 %	<1 %	3 %	<5 %	0	1	nein
9 PD	M. rectus abdominis	gering unspezifisch verändert, vermehrte Fettspeicherung	5 %	<<1 %	10 %	<5 %	0	0	nein
	M. quadriceps	gering unspezifisch verändert, vermehrte Fettspeicherung	<5 %	0	3 %	<5 %	0	0	nein

Tabelle 15b: Ergebnisse von PAS-, ORO-, MAD- und Trichrom-Färbung bei den Parkinsonpatienten

Fall-Nr.	Muskel	PAS-Färbung		ORO-Färbung			Trichrom-Färbung			MAD-Färbung	
		Gehalt	Einschlüsse	Gehalt	endomysial	perimysial	ragged-red	subsarkolemmal	rinnmed vacuoles	Gehalt	Einschlüsse
1 PD	M. paraspinalis C2	normal	nein	normal	3	ja	einzelne	ca. 50 %	0	gering	nein
	M. deltoideus	normal	einzelne	gering	1	ja	einzelne	0	0	normal	ja
	M. quadriceps	normal	nein	normal	1	ja	einzelne	0	0	normal	ja
2 PD	M. paraspinalis L2	normal	nein	vermehrt	3	ja	einzelne	0	0	normal	ja
	M. deltoideus	gering	nein	vermehrt	2	ja	einzelne	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	normal	nein	vermehrt	1	nein	einzelne	0	0	normal	nein
3 PD	M. pectoralis	normal	nein	vermehrt	2	ja	einzelne	0	0	normal	nein
	M. paraspinalis	normal	nein	normal	4	ja	0	0	eine	normal	ja
	M. deltoideus	normal	einzelne	normal	1	ja	0	0	0	normal	nein
4 PD	M. rectus abdominis	gering	nein	normal	2	ja	einzelne	0	0	normal	ja
	M. quadriceps	hoch	nein	normal	1	ja	0	0	0	normal	nein
	M. paraspinalis	gering	nein	normal	2	ja	einzelne	einzelne	0	normal	nein
5 PD	M. deltoideus	gering	nein	normal	1	nein	einzelne	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	gering	nein	gering	2	ja	0	einzelne	0	normal	ja
	M. quadriceps	gering	nein	normal	2	nein	0	0	0	normal	nein
6 PD	M. paraspinalis C7	normal	nein	normal	3	ja	einzelne	einzelne	0	normal	ja
	M. deltoideus	hoch	nein	normal	1	nein	eine	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	normal	nein	gering	1	nein	0	0	0	normal	nein
7 PD	M. biceps	normal	nein	gering	1	nein	0	0	0	normal	nein
	M. paraspinalis L2	gering	nein	gering	3	ja	einzelne	0	0	normal	ja
	M. deltoideus	gering	nein	normal	1	nein	einzelne	einzelne	0	normal	nein
8 PD	M. rectus abdominis	gering	nein	normal	2	nein	einzelne	0	0	normal	nein
	M. quadriceps	normal	nein	normal	1	nein	0	0	0	normal	nein
	M. paraspinalis	gering	nein	normal	4	ja	einzelne	0	0	normal	nein
9 PD	M. deltoideus	hoch	nein	gering	4	ja	einzelne	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	normal	nein	normal	4	ja	0	0	0	normal	nein
	M. quadriceps	normal	nein	gering	4	ja	0	0	0	normal	nein
8 PD	M. paraspinalis	normal	nein	vermehrt	0	nein	2 %	0	0	gering	ja
	M. deltoideus	normal	nein	vermehrt	0	ja	0	0	0	gering	nein
	M. rectus abdominis	normal	nein	vermehrt	0	ja	einzelne	0	0	gering	ja
9 PD	M. quadriceps	normal	nein	vermehrt	0	nein	0	0	0	normal	nein
	M. paraspinalis C7	normal	nein	vermehrt	0	ja	0	0	0	gering	nein
	M. deltoideus	normal	nein	vermehrt	0	nein	0	0	0	normal	nein
9 PD	M. rectus abdominis	normal	nein	vermehrt	0	nein	einzelne	0	0	normal	ja
	M. quadriceps	normal	nein	vermehrt	0	nein	0	0	0	normal	nein
	M. paraspinalis	normal	nein	vermehrt	0	ja	0	0	0	gering	nein

Die PAS-, MAD- und MAG-Färbung sind Bestandteil der neuropathologischen Routinediagnostik und wurden hier daher mit untersucht. Die PAS-Färbung hat dabei in keiner Probe eine erwähnenswerte Auffälligkeit gezeigt. In der MAD-Färbung zeigte sich allseits eine gute Reaktivität, Substrat-Präzipitationen bzw. Einschlüsse innerhalb der Fasern waren dabei regelhaft zu beobachten, ohne dass diesen eine besondere Bedeutung beimessen worden ist. In der MAG-Färbung sind keine Strukturläsionen innerhalb von Muskelfasern identifizierbar gewesen, bis auf in dem M. rectus abdominis von Patient 2, wobei diese möglicherweise eher artefaktbedingt oder der generellen schweren Myopathie geschuldet waren. Hervorzuheben war allerdings ein häufiges Auftreten von targetoiden Einschlüssen in der MAG-Färbung in dem M. paraspinalis von Fall 5, ähnlich wie bei einer MFM. Die Einschlüsse traten häufig in diesem Muskel auf, jedoch in keinem anderen Muskel des Patienten (vgl. Tabelle 15b und 15c).

In der ORO-Färbung wurde eine Auswertung vorgenommen hinsichtlich einerseits intrazellulärer Fettspeicherung und andererseits endomysialem fettigem Gewebeumbau, letzteres wurde, wie im vorherigen Kapitel dargelegt, in Skalenabstufungen beschrieben. Hinsichtlich der intrazellulären Fettspeicherung stachen Patient 2, 8 und 9 hervor. Wo die anderen sechs Patienten nur eine geringe bis normale intrazelluläre Fettspeicherung zeigten, war dies in allen vier Muskelproben bei den drei Individuen über das physiologische Maß hinaus vermehrt. Demgegenüber zeigte Fall 2 im Rahmen seiner schweren myopathischen Schädigung zwar auch einen mittelgradigen fettigen Gewebeumbau, Patient 8 und 9 hingegen waren ausgesprochen gering unspezifisch verändert und in keiner Weise fettig umgebaut. Ein endgradig fettiger Parenchymbau fand sich im Rahmen der schweren atrophischen Myopathie in allen Muskeln von Fall 7 sowie dem M. paraspinalis von Patient 3. Auffällig fettig degeneriert jedoch noch nicht endgradig zeigten sich zudem die Mm. paraspinales von Fall 5 und 6 (vgl. Tabelle 15b).

Die Trichrom-Färbung detektiert Veränderungen in Muskelfasern, wie sie bei Mitochondriopathien üblicherweise vorkommen. Hierzu zählen die *Ragged-red*-Fasern, welche in der Trichrom-Färbung mit subsarkolemmalen rötlichen Farbsignalen aufleuchten. Solche Signale zeigten sich sporadisch in einzelnen Fasern vieler Muskelproben. Wie bereits im vorherigen Kapitel beschrieben, wurden einzelne Fasern bei sehr großem Probenquerschnitt als noch nicht pathologisch gewertet, der Form halber aber tabellarisch erfasst. Der M. paraspinalis von Patient 8 stach jedoch hervor, da bei diesem Muskel die *Ragged-red*-Fasern bis zu 2 % der Gesamtfaserzahl ausmachten. Andere Merkmale die für eine Mitochondriopathie sprechen, wie eine Häufung von COX-defizienten Fasern, NADH-Strukturläsionen oder Einschlüssen in der MAG-Färbung, zeigten sich in diesem Muskel wiederum nicht. Ein weiterer auffälliger Muskel war der M. paraspinalis von Patient 1. Dieser bot in der Hälfte seiner Fasern eine subsarkolemmale rötliche Signalanhebung (vgl.

Tabelle 15b) und zudem 2 % COX-defiziente Fasern, was insgesamt dem Schädigungsmuster wie bei einer Mitochondriopathie ähnelte. Gleichzeitig waren die anderen beiden Muskeln dieses Patienten hinsichtlich vermehrter *Ragged-red*-Fasern oder einer subsarkomalen Signalanhebung gänzlich unauffällig. Rimmed-vacuoles in signifikanter Zahl waren nicht darstellbar (vgl. Tabelle 15b).

Die COX-Färbung sowie die COX-SDH-Kombinationsfärbung waren generell die am schwierigsten beurteilbaren Färbungen aufgrund einer häufigen COX-Depletion des Muskelgewebes. Zum einen neigen Patienten mit Morbus Parkinson vermutlich prinzipiell zu einem COX- wie auch SDH-Mangel, zum anderen scheint die COX ein Enzym zu sein, welches postmortal relativ früh degradiert. Daher war eine Auswertung nicht in allen Fällen vollständig möglich. In der COX-SDH-Kombinationsfärbung waren insbesondere die COX-defizienten Muskelfasern von Interesse. Einzelne auffällige Fasern waren häufig anzutreffen. Signifikant erhöht war die Zahl der COX-defizienten Fasern in sechs Muskelproben, wovon viermal der M. paraspinalis betroffen war (vgl. Tabelle 15c). Im Besonderen auffällig war hier der M. paraspinalis von Patient 6, welcher mit 8 % die meisten COX-defizienten Fasern und zugleich mit die meisten Fasern mit SDH-Strukturläsionen aufwies.

Die SDH- und NADH-Färbungen liefern eine Aussage hinsichtlich eines der Kamptokormie-Hauptkriterien von Wrede et al. (2012), der zentralen Strukturläsionen. Auffällig war ein klarer Unterschied in der Verteilung der Läsionen zwischen den einzelnen Muskeln innerhalb eines Individuums. Der M. paraspinalis war bei fünf von neun Patienten in variabler Ausprägung betroffen, der M. rectus abdominis dreimal, der M. quadriceps ebenfalls dreimal jedoch nur in sehr geringem Maße, und der M. deltoideus in keinem der Fälle. Zum anderen war auffällig, dass sich innerhalb einer Muskelprobe die Läsionen oft fokal gehäuft haben. Manche Areale zeigten dabei allenfalls sporadische oder keine Läsionen, andere Bereiche dafür in manchen Fällen in jeder zweiten Faser (vgl. Tabelle 15c).

Bei dem M. paraspinalis von Patient 6 zeigte sich eine deutliche Diskrepanz zwischen der Anzahl an Strukturläsionen in der SDH- und der NADH-Färbung. Hierbei zeigten sich in nahezu der Hälfte der Fasern in der SDH-Reaktion zentrale Strukturdefekte, jedoch in der NADH-Färbung lediglich in ca. 10 % der Fasern. Wie bereits dargelegt wurde dies am ehesten technisch bedingt erklärt, insgesamt wurde für die Auswertung der Kamptokormie-Hauptkriterien beide Resultate mit einbezogen, letztlich das Ergebnis der SDH-Reaktion jedoch etwas stärker gewichtet. Der M. quadriceps von Patient 1 wies in 50 % der Fasern in der NADH-Färbung glaubhafte Strukturläsionen auf, jedoch weder SDH-Läsionen noch Streamings. Ob die Läsionen in der NADH somit relevant waren, blieb fraglich.

Tabelle 15c: Ergebnisse von COX-, SDH-, COXSDH-, NADH- und MAG-Färbung bei den Parkinsonpatienten

Fall-Nr.	Muskel	COXSDH-Färbung			COXFärbung Läsionen	SDH-Färbung Läsionen	NADH-Färbung		MAG-Färbung	
		COX-defizient	SDH-defizient	Läsionen			Läsionen	Verhältnis Typ-1:Typ-2	Läsionen	NADH-Reziprozität
1 PD	M. paraspinalis C2	2 %	n.b.	ca. 25 %	25 %	5 %	5 zu 1	0	ja	
	M. deltoideus	n.b.	n.b.	0	0	0	2 zu 1	0	ja	
	M. quadriceps	n.b.	n.b.	0	0	ca. 50 %	2 zu 1	0	ja	
2 PD	M. paraspinalis L2	n.b.	n.b.	0	0	0	2 zu 1	0	ja	
	M. deltoideus	0	einzelne	0	0	0	n.b.	0	n.b.	
	M. rectus abdominis	n.b.	n.b.	0	2 %	1 %	n.b.	einzelne	nein	
3 PD	M. pectoralis	n.b.	n.b.	einzelne	einzelne	1 %	n.b.	0	nein	
	M. paraspinalis	2 %	n.b.	einzelne	fokal bis 10 %	5 %	n.b.	0	nein	
	M. deltoideus	0	0	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
4 PD	M. rectus abdominis	2 %	n.b.	0	fokal 5 %	einzelne	1 zu 1	0	ja	
	M. quadriceps	einzelne	0	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
	M. paraspinalis	einzelne	n.b.	1 %	1 %	n.b.	1 zu 1	0	ja	
5 PD	M. deltoideus	einzelne	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
	M. rectus abdominis	einzelne	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
	M. rectus abdominis	einzelne	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	n.b.	
6 PD	M. quadriceps	0	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
	M. paraspinalis C7	2 %	n.b.	fokal 25 %	10 %*	10 %*	3 zu 1	0**	nein	
	M. deltoideus	0	0	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
7 PD	M. rectus abdominis	n.b.	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	nein	
	M. rectus abdominis	n.b.	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	nein	
	M. biceps	n.b.	n.b.	0	0	0	n.b.	0	nein	
8 PD	M. paraspinalis L2	8 %	n.b.	fokal 50 %	50 %	10 %	n.b.	0	nein	
	M. deltoideus	2 %	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
	M. rectus abdominis	einzelne	n.b.	0	0	0	n.b.	0	nein	
9 PD	M. quadriceps	n.b.	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
	M. paraspinalis	einzelne	n.b.	0	0	0	n.b.	0	nein	
	M. deltoideus	einzelne	n.b.	0	0	0	n.b.	0	nein	
8 PD	M. deltoideus	0	n.b.	einzelne	0	0	n.b.	0	nein	
	M. rectus abdominis	einzelne	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	ja	
	M. quadriceps	0	n.b.	0	0	0	n.b.	0	nein	
9 PD	M. paraspinalis C7	einzelne	n.b.	0	n.b.	0	1 zu 1	0	ja	
	M. deltoideus	0	n.b.	einzelne	n.b.	0	2 zu 1	0	ja	
	M. rectus abdominis	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	nein	
9 PD	M. rectus abdominis	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	nein	
	M. quadriceps	0	n.b.	0	0	1 %	2 zu 1	0	ja	
	M. quadriceps	0	n.b.	0	0	0	2 zu 1	0	ja	

n.b. nicht beurteilbar

* fokal bis 50 %

** Einschlusskörper in Muskelfasern
nachweisbar

In der Saure-Phosphatase-Färbung wurde das zweite Kamptokormie-Hauptkriterium von Wrede et al. (2012) untersucht, das „Streaming“. Dieser Ausdruck beschreibt eine feine, rötliche, sandsturmartige Färbung im Inneren der Muskelfaser, deren Bedeutung bisher nicht geklärt ist. Dieses Streaming trat analog zu den SDH-/NADH-Strukturdefekten vor allem im M. paraspinalis auf, darüber hinaus im M. rectus abdominis und lediglich einmal im M. quadriceps, erneut nicht im M. deltoideus. In dem betroffenen M. quadriceps von Patient 7 war die feingranulär-rötliche Signalanhebung allerdings eher ringförmig peripher in den Muskelfasern angeordnet und nicht zentral, sodass anzuzweifeln war, ob es sich um ein echtes Streaming handelte.

Auch hier fand sich oft eine fokale Häufung innerhalb der einzelnen Muskelproben. Der Anteil an betroffenen Fasern hinsichtlich Streaming und Strukturläsionen deckte sich nicht vollständig. Hierbei waren zwei Fälle insofern von besonderem Interesse. Patient Nummer 8 zeigte bei guter Beurteilbarkeit weder Strukturdefekte in SDH- noch NADH-Färbung. Allerdings waren in M. paraspinalis und M. rectus abdominis Streamings in relevanter Zahl nachweisbar. Demgegenüber war kein Streaming in den schwer myopathischen Muskeln von Patient 2 darstellbar, jedoch eine geringe Zahl an Strukturdefekten in M. rectus abdominis und M. quadriceps femoris (vgl. Tabellen 15c und 15d).

Bei der Beurteilung der Saure-Phosphatase-Reaktion war Fall 2 darüber hinaus noch ungewöhnlich, da er als einziger eine vermehrte Zahl an Makrophagen und pathologische Anzahl an Fasernekrosen aufwies, was insgesamt das Bild einer möglichen nekrotisierenden Myopathie ergab.

Die Färbung der Muskel-ATPasen dient vor allem zur Unterscheidung von Typ-1- und Typ-2-Muskelfasern und damit zur Detektion einer selektiven Typ-1- oder Typ-2-Faser-Atrophie, letzteres auch ein Kamptokormie-Nebenkriterium von Wrede et al. (2012). Auch die ATPasen-Reaktion ergab nicht immer zufriedenstellende Färbeergebnisse, sodass die Auswertung teilweise unterbleiben musste. Auch konnte durch einen hohen Anteil atrophischer Fasern die Auswertung erschwert werden. Patient Nummer 7 zeigte eine Atrophie aller Fasern unabhängig des Fasertyps. Eine auffällige Atrophie vor allem nur von Typ-2-Fasern zeigten lediglich Nummer 2 und 8 (vgl. Tabelle 15d).

Für die Auswertung der Unspezifische-Esterase-Färbung war nicht in jedem Fall eine gefärbte Probe vorhanden. Wo vorhanden war diese bei jeder Probe unauffällig, es wurden keine akut denervierten Fasern durch die Reaktion markiert. Daher wurde aus Formatierungsgründen die Färbung nicht mit in die Tabelle übernommen.

Tabelle 15d: Ergebnisse von Saure-Phosphatase- und ATPasen-Färbung bei den Parkinsonpatienten

Fall-Nr.	Muskel	Saure-Phosphatase-Färbung				ATPasen-Färbung					
		Streamings	Gehalt	Makro- phagen	Nekrosen	Typisier- barkeit	Läsionen	Verhältnis Typ-1:Typ-2	Gruppierung	Faseratrophie Typ-1	Typ-2
1 PD	M. paraspinalis C2	5 %	normal	gering	einzelne	ja	0	5 zu 1	ja	5 %	50 %
	M. deltoideus	0	gering	gering	0	ja	0	2 zu 1	ja	10 %	>50 %
	M. quadriceps	0	gering	gering	einzelne	ja	0	2 zu 1	ja	<5 %	25 %
2 PD	M. paraspinalis L2	0	gering	hoch	einzelne	ja	0	2 zu 1	nein	10 %	75 %
	M. deltoideus	0	gering	vermehrt	1 %	ja	0	1 zu 1	n.b.	50 %	50 %
	M. rectus abdominis	0	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	ja	25 %	>75 %
	M. pectoralis	0	gering	vermehrt	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	25 %	75 %
	M. paraspinalis	10 %, fokal 15 %	gering	gering	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	50 %
3 PD	M. deltoideus	0	gering	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	10 %
	M. rectus abdominis	fokal bis 5 %	gering	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	20 %	20 %
	M. quadriceps	0	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	10 %
	M. paraspinalis	einzelne, fokal 5 %	gering	gering	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	15 %	10 %
	M. deltoideus	0	gering	gering	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	20 %
4 PD	M. rectus abdominis	0	gering	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	10 %
	M. quadriceps	0	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	ja	<5 %	<5 %
	M. paraspinalis C7	15 %, fokal 50 %	hoch	normal	einzelne	ja	0	3 zu 1	ja	5 %	n.b.
	M. deltoideus	0	normal	gering	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	<5 %
	M. rectus abdominis	0	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	n.b.
5 PD	M. biceps	0	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	25 %	25 %
	M. paraspinalis L2	10 %	gering	normal	einzelne	ja	0	3 zu 1	ja	<5 %	50 %
	M. deltoideus	0	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	ja	<5 %	20 %
	M. rectus abdominis	0	gering	normal	einzelne	ja	0	3 zu 1	ja	5 %	25 %
	M. quadriceps	0	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	ja	<5 %	<5 %
6 PD	M. paraspinalis	0	gering	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	50 %	50 %
	M. deltoideus	0	normal	normal	0	nein	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	M. rectus abdominis	5 %	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	50 %
	M. quadriceps	1 %	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	n.b.	n.b.
	M. paraspinalis	2 bis 5 %	normal	hoch	0	ja	0	3 zu 2	ja	<5 %	>50 %
7 PD	M. deltoideus	0	normal	normal	0	ja	0	2 zu 1	ja	<5 %	>50 %
	M. rectus abdominis	2 %	normal	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	10 %
	M. quadriceps	0	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	>50 %
	M. paraspinalis C7	0	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	10 %
	M. deltoideus	0	normal	normal	0	ja	0	2 zu 1	ja	<5 %	<5 %
8 PD	M. rectus abdominis	0	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	<5 %
	M. quadriceps	0	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	<5 %
	M. paraspinalis	0	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	10 %
	M. deltoideus	0	normal	normal	0	ja	0	2 zu 1	ja	<5 %	<5 %
	M. rectus abdominis	0	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	20 %
9 PD	M. quadriceps	0	normal	normal	0	ja	0	2 zu 1	ja	<5 %	<5 %
	M. paraspinalis	0	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	<5 %
	M. deltoideus	0	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	<5 %
	M. rectus abdominis	0	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	<5 %
	M. quadriceps	0	normal	normal	0	ja	0	2 zu 1	ja	<5 %	<5 %

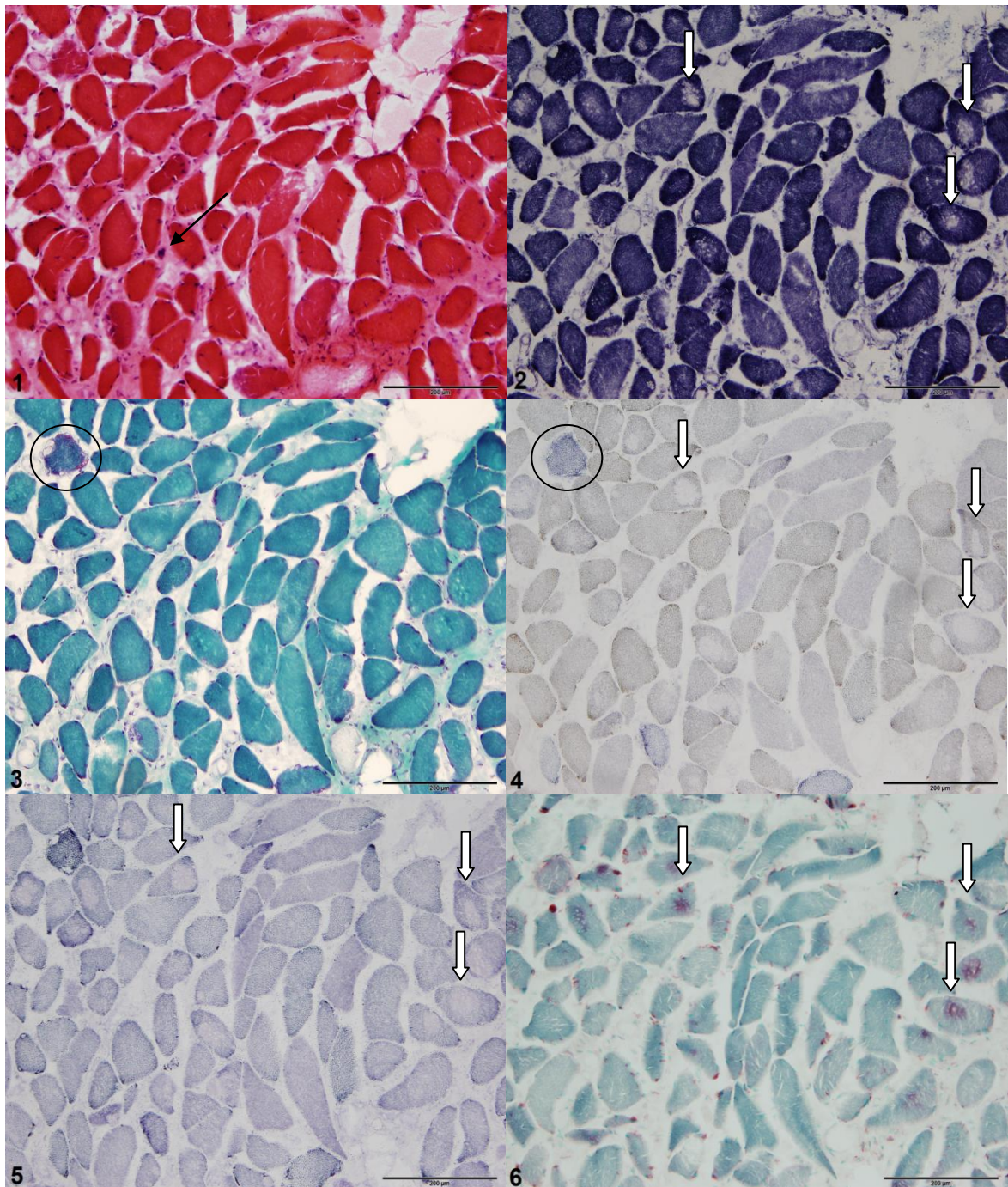


Abbildung 2: Musculus erector spinae in HE-, NADH-, Trichrom-, COX/SDH-, SDH- und SP-Färbung

In der HE-Färbung (1) erkennt man quergeschnittene quergestreifte Skelettmuskulatur mit erhöhter Kalibervariation und einzelnen Kernsäcken (Pfeil). In der Trichromfärbung (3) findet sich eine fuchsinophil gezeichnete Faser (Kreis), die auch COX-defizient (Kreis) erscheint (4). Zentrale Strukturdefekte (breite Pfeile 2, 4, 5) lassen sich in etlichen Fasern erkennen und korrespondieren mit der vermehrten feingranulären Reaktivität der Saure-Phosphatase (breite Pfeile 6).

3.1.3 Enzymhistochemische Veränderungen der Patienten mit DLB und anderen neurodegenerativen Erkrankungen

In dieser Gruppe von acht Individuen waren zwei Fälle von besonderer Auffälligkeit. Zum einen fiel der Patient 17 mit für seine ALS typischen Befunden in all seinen Muskeln auf. Es zeigte sich eine hochgradige felderförmige Atrophie mit kompensatorischer Hypertrophie und sekundärer schwerer Myopathie, ausgeprägter Fibrose und fettigem Gewebeumbau. Des Weiteren zeigte Patient 14 mit der FTLD in allen vier Muskeln gefäßassoziierte entzündliche Infiltrationen, die an eine Myositis DD Vaskulitis denken ließen und insgesamt in ein mäßig ausgeprägtes Schädigungsmuster mündeten. Die Muskeln zeigten Veränderungen wie bei Schädigung sowohl myopathischer als auch neurogener Genese. Muskelveränderungen wie bei einer neurogenen Schädigung fanden sich in dieser Gruppe insgesamt etwas häufiger als in der Parkinsongruppe (vgl. Tabelle 16a). Ein schwer myopathisches Bild bot ansonsten lediglich der M. paraspinalis von Fall 12, ansonsten waren die übrigen Muskeln meist nur gering unspezifisch oder myopathisch verändert.

Eine deutliche Kalibervariation zeigte sich vor allem in den bereits angesprochenen Patienten 14 und 17. Die anderen Patienten waren auch in gewissem Maß von einer Kalibervariation betroffen, hierbei etwas stärker die Patienten mit der DLB. Kernsäcke und interne Kerne waren deutlich häufiger anzutreffen als in der Parkinsongruppe, bedingt dadurch dass Muskeln mit einem relevanten Anteil an atrophen Fasern häufiger waren als in dem andren Patientenkollektiv (vgl. Tabellen 15a und 16a). *Whorled fibres* waren in der Muskulatur dieser acht Patienten nicht nachweisbar.

In der EvG-Färbung war erneut der ALS-Patient Nummer 17 im Besonderen auffällig, zeigte er doch einen endgradigen fibrotischen Umbau in fast allen Muskelproben. Einen vergleichbaren Gewebeumbau zeigten in dieser Patientengruppe ebenfalls der M. paraspinalis von Patienten 12 mit DLB und 13 mit einer PSP. Die anderen Muskeln waren ebenfalls mindestens mäßig fibrosiert, kaum eine Muskelprobe war nur mit einem Skalenwert von 1 zu bewerten, kein Muskel war gänzlich ohne Fibrosezeichen (vgl. Tabelle 16a).

Zwar war die Größe des gesamten Patientenkollektivs zu gering für statistisch valide Aussagen. Insgesamt zeigte diese Patientengruppe (Skalen-Mittelwert 2,5) tendenziell jedoch einen etwas höheren Grad an endomysialer Fibrose als die Parkinsongruppe (Skalen-Mittelwert 2,1).

Tabelle 16a: Ergebnisse von HE- und EvG-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen

Fall-Nr.	Muskel	Burtteilung	HE-Färbung						EvG-Färbung	
			KV	KS	AF	IK	WF	endomysial	perimysial	
10 DLB	M. paraspinalis C7+L2	milde myopathisch/unspezifisch verändert	25 %	4 %	50 %	5 %	0	1	nein	
	M. deltoideus	gering unspezifisch	25 %	3 %	35 %	<5 %	0	1 bis 2	ja	
11 DLB	M. paraspinalis L2	augenfällige Typ-2-Faser-Atrophie	20 %	<1 %	20 %	<5 %	0	2	ja	
	M. deltoideus	augenfällige Typ-2-Faser-Atrophie	25 %	<1 %	35 %	<5 %	0	2	ja	
	M. rectus abdominis	gering unspezifisch verändert	10 %	<1 %	15 %	<5 %	0	2	ja	
12 DLB	M. paraspinalis C7	schwer myopathisch verändert mit deutlicher Fibrose	50 %	1 %	35 %	9 %	0	4	ja	
	M. deltoideus	mäßig myopathisch verändert	40 %	<1 %	15 %	6 %	0	2	nein	
	M. rectus abdominis	mäßig myopathisch verändert	10 %	1 %	5 %	13 %	0	2	ja	
	M. quadriceps	gering unspezifisch verändert	15 %	<1 %	10 %	12 %	0	1	nein	
13 PSP	M. paraspinalis C7	einzelne Faszikel fibrotisch-atroph, sonst unspezifisch	25 %	1 %	20 %	5 %	0	4	ja	
	M. deltoideus	neurogene Veränderungen	10 %	<1 %	30 %	<5 %	0	0 bis 1	ja	
14 FTLD	M. paraspinalis L2	felderförmige Atrophie, Gefäß-assoz. Infiltrat, Myositis	50 %	2 %	45 %	7 %	0	3	nein	
	M. deltoideus	deutliche Gefäß-assoz. entzündliche Infiltration	20 %	<1 %	25 %	<5 %	0	2	nein	
	M. rectus abdominis	neurogene+myopathische Schädigung, perivask. Infiltrate	25 %	3 %	20 %	8 %	0	1	ja	
	M. biceps	neurogene Schädigung, Myositis DD Vaskulitis	25 %	3 %	20 %	<5 %	0	2	nein	
15 AD	M. paraspinalis C7	gering myopathisch verändert	10 %	<1 %	10 %	<5 %	0	2	ja	
	M. deltoideus	gering myopathisch verändert	5 %	<1 %	5 %	19 %	0	2	ja	
	M. rectus abdominis	gering unspezifisch verändert	5 %	<1 %	5 %	13 %	0	3	nein	
	M. quadriceps	gering myopathisch und neurogen verändert	10 %	<1 %	5 %	17 %	0	2	ja	
16 FTD	M. paraspinalis C7	gering unspezifisch verändert	10 %	2 %	10 %	<5 %	0	2	ja	
	M. deltoideus	mäßige neurogene Atrophie	10 %	1 %	15 %	13 %	0	3	nein	
	M. rectus abdominis	teils neurogen, teils mäßig myopathisch, fokale Fibrose	20 %	4 %	25 %	8 %	0	3	ja	
	M. quadriceps	gering unspezifisch verändert	5 %	1 %	5 %	7 %	0	1	nein	
17 ALS	M. paraspinalis L2	felderförmige Atrophie, sekundär schwer myopathisch	>50 %	4 %	35 %	6 %	0	4	ja	
	M. deltoideus	große Gruppen atropher Fasern, sekundäre Hypertrophie	20 %	9 %	35 %	16 %	0	4	ja	
	M. rectus abdominis	hochgradige Atrophie, felderförmige Hypertrophie	>50 %	34 %	85 %	<5 %	0	4	ja	
	M. quadriceps	Gewebeumbau mit felderförmiger Atrophie	20 %	7 %	25 %	24 %	0	3	ja	

Tabelle 16b: Ergebnisse von PAS-, ORO, Trichrom und MAD-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen

Fall-Nr.	Muskel	PAS-Färbung		ORO-Färbung		Trichromfärbung			MAD-Färbung		
		Gehalt	Einschlüsse	Gehalt	endomysial	perimysial	ragged-red	subsarkolemma	rinnmed vacuoles	Gehalt	Einschlüsse
10 DLB	M. paraspinalis C7+L2	gering	0	gering	1 bis 2	ja	einzelne	0	0	normal	ja
	M. deltoideus	gering	0	gering	1	nein	einzelne	0	0	normal	nein
11 DLB	M. paraspinalis L2	normal	0	gering	3	ja	einzelne	0	0	hoch	nein
	M. deltoideus	hoch	0	gering	2 bis 3	ja	0	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	normal	0	gering	3	ja	0	0	0	normal	nein
12 DLB	M. paraspinalis C7	gering	0	hoch	2	nein	0	0	0	normal	ja
	M. deltoideus	gering	0	hoch	3	ja	einzelne	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	gering	0	hoch	3	nein	0	0	0	normal	nein
	M. quadriceps	gering	0	hoch	2	nein	0	0	0	gering	nein
13 PSP	M. paraspinalis C7	normal	0	gering	2	ja	einzelne	0	0	hoch	nein
	M. deltoideus	normal	0	gering	1	nein	0	0	0	normal	nein
14 FTLD	M. paraspinalis L2	gering	0	normal	2	ja	einzelne	0	0	gering	nein
	M. deltoideus	normal	0	gering	2	ja	0	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	gering	0	gering	3	nein	0	0	0	gering	nein
	M. biceps	gering	0	gering	2	nein	0	0	0	normal	ja
15 AD	M. paraspinalis C7	normal	0	normal	2	ja	einzelne	0	0	normal	nein
	M. deltoideus	normal	0	normal	3	ja	0	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	gering	0	normal	3	ja	0	0	0	hoch	nein
	M. quadriceps	gering	0	normal	2	ja	0	0	0	normal	nein
16 FTD	M. paraspinalis C7	gering	0	gering	2	nein	einzelne	0	0	normal	nein
	M. deltoideus	normal	0	normal	1	ja	0	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	normal	0	gering	3	ja	0	0	0	normal	nein
	M. quadriceps	normal	0	normal	1	nein	0	0	0	normal	nein
17 ALS	M. paraspinalis L2	gering	0	hoch	4	ja	0	0	einzelne	gering	ja
	M. deltoideus	gering	0	hoch	3	ja	0	0	0	normal	nein
	M. rectus abdominis	gering	0	teils hoch	4	ja	0	0	0	normal	nein
	M. quadriceps	normal	0	normal	4	ja	0	0	0	normal	nein

Analog zu der Parkinsongruppe waren bei den Patienten mit DLB oder anderen neurodegenerativen Erkrankungen in der PAS-Färbung ebenfalls keine nennenswerten Auffälligkeiten im Sinne unphysiologisch vermehrter Reaktivität oder PAS-positiver Einschlüsse zu sehen. Auch zeigten sich in dieser Gruppe ebenso in einigen Muskelproben MAD-positive Einschlüsse bzw. Substratpräzipitate, die MAG-Färbung war hinsichtlich Strukturläsionen in Muskelfasern oder targetoiden Einschlüssen durchweg unauffällig (vgl. Tabellen 16b und 16c).

In der ORO-Färbung zeigte sich hinsichtlich der intrazellulären Fettspeicherung in Patient Nummer 12 sowie auch im ALS-Patienten Nummer 17 eine starke, jedoch noch nicht übermäßige Fettspeicherung in den Fasern quasi jedes Muskels. Ein endgradiger fettiger Umbau fand sich lediglich bei Patient 17, dort jedoch in fast der gesamten Muskulatur. Es zeigten alle Fälle dieser Patientengruppe in den meisten ihren Muskeln einen mindestens mäßig bis fortgeschrittenen fettigen Gewebeumbau, nur einzelne Muskeln wiesen kaum eine fettige Degeneration auf. Anders als in der Parkinsongruppe gab es keine Probe, die hinsichtlich der Fettspeicherung vollständig unauffällig war (vgl. Tabelle 16b). In diesem Aspekt ergab sich ähnlich wie bei der endomysialen Fibrose die Tendenz, dass die Parkinsongruppe weniger stark betroffen war (Skalen-Mittelwert über alle Muskelgruppen 1,5) als die Gruppe der Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen (Skalen-Mittelwert über alle Muskelgruppen 2,4). Sowohl die stärkere Tendenz zur Fibrose wie zum fettigen Gewebeumbau war vermutlich der in dieser Gruppe häufigeren neurogenen Schädigung und dadurch bedingter Faseratrophie geschuldet.

In der Trichrom-Färbung waren wie auch in der Parkinsongruppe einzelne sporadische *Ragged-red*-Fasern anzutreffen, vornehmlich im M. paraspinalis. Eine subsarkolemmale Signalanhebung oder signifikante Zahlen von *rimmed vacuoles* waren nicht nachweisbar, es ergaben sich keine Hinweise für eine Mitochondriopathie (vgl. Tabelle 16b).

Die COX-Färbung gelang in dieser Patientengruppe bedauerlicherweise nicht in allen Fällen und war ansonsten auch sehr schwach ausgeprägt. In der COX-SDH-Kombinationsfärbung war eine Auswertung hinsichtlich COX-defizienter Fasern nichtsdestotrotz häufig möglich und zeigte ähnlich den Ergebnissen in der Parkinsongruppe einzelne COX-defiziente Fasern in den meisten Muskelproben. Nur im M. rectus abdominis und im M. deltoideus von Patient 15 sowie der Bauchmuskulatur von Patient 16 war mit je ca. 1 % der Fasern eine leicht vermehrte Anzahl an COX-defizienten Muskelfasern nachweisbar (vgl. Tabelle 16c).

In der SDH- und NADH-Färbung zeigten Patienten 12 bis 17 zentrale Strukturläsionen in den Muskelfasern, vor allem jeweils im M. paraspinalis. Hierbei war im Fall 14 auffällig, dass insbesondere dort nur die atrophischen Fasern von den Strukturdefekten betroffen ge-

wesen waren, nicht die hypertrophierten Muskelfasern, und nur in der SDH-Färbung. Dieser Patient zeigte in keinem weiteren Muskel Strukturläsionen. Die Auffälligkeiten wurden von denen einer Kamptokormie unterschieden. Demgegenüber wurden die sehr häufigen Strukturläsionen in Fall 17 erfasst und mit einem Vermerk aufgeführt, da dieser Patient zum einen in allen seinen Muskeln Strukturdefekte in großer Zahl aufwies (vgl. Tabellen 16c und 17b), zum anderen ebenfalls Streamings in der Saure-Phosphatase-Färbung zeigte.

Das Streaming war in dieser Gruppe ähnlich verteilt wie in der Parkinsongruppe. Beiden Gruppen gemein war, dass auch in der zweiten Patientengruppe der M. paraspinalis häufige Streamings zeigte. Lediglich Patient 14 war hinsichtlich Streamings durchweg negativ zu bewerten. Auch hier wurden einzelne sporadische Streamings in der Auswertung der Kamptokormie-Kriterien als negativ eingestuft. Auffällig war allerdings, dass hier drei Mm. deltoidei und ein M. quadriceps Streamings in relevanter Zahl aufwiesen, wohingegen die Extremitätenmuskulatur in der Parkinsongruppe gänzlich frei von Streamings war (vgl. Tabellen 15c und 16c).

Eine vermehrte Anzahl an gefärbten Makrophagen zeigte sich in je einer Muskelprobe von zwei Patienten. Einer der Muskeln war der M. paraspinalis der Nummer 15, welche ebenfalls die perivaskulären entzündlichen Infiltrate aufwies. Eine auffällig erhöhte Anzahl an Muskelfasernekrosen war in dieser Gruppe nicht zu beobachten.

Die ATPasen-Reaktion gelang in den meisten Fällen zufriedenstellend, somit war eine Fasertypisierung möglich. Eine augenfällige Atrophie vornehmlich der Typ-2-Fasern zeigten Patient 11 und 13 sowie der M. paraspinalis von Fall 14. Die Atrophie im Fall 17 betraf im Rahmen der ALS beide Fasertypen (vgl. Tabelle 16d).

Auch hier wurde bei der tabellarischen Darstellung der Ergebnisse aus Formatierungsgründen die Ergebnisse der Unspezifische-Esterase-Färbung nicht mit in die Tabelle übernommen, die diese sofern vorhanden, durchweg unauffällig waren.

Tabelle 16c: Ergebnisse von COX-, SDH-, COX-SDH-Kombinations-Färbung, NADH- und MAG-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen

Fall-Nr.	Muskel	COXSDH-Färbung			COX-Färbung		SDH-Färbung		NADH-Färbung		MAG-Färbung	
		COX-defizient	SDH-defizient	Läsionen	Läsionen	Läsionen	Läsionen	Läsionen	Verhältnis Typ-1 : Ty-2	Läsionen	NADH-Reziprozität	
10 DLB	M. paraspinalis C7+L2	n.b.	n.b.	0	0	0	1 %	2 zu 1	0	ja		
	M. deltoideus	einzelne	0	0	eine	0	3 zu 1	0	ja			
11 DLB	M. paraspinalis L2	einzelne	n.b.	0	einzelne	0	1 zu 1	0	nein			
	M. deltoideus	einzelne	n.b.	0	0	0	1 zu 1	0	nein			
	M. rectus abdominis	einzelne	n.b.	einzelne	0	einzelne	0	1 zu 1	ja			
12 DLB	M. paraspinalis C7	einzelne	n.b.	0	n.b.	10 %	10 %	3 zu 2	0	nein		
	M. deltoideus	einzelne	n.b.	0	n.b.	5 %	5 %	1 zu 1	0	nein		
	M. rectus abdominis	einzelne	n.b.	0	0	7 %	1 %	3 zu 2	0	nein		
	M. quadriceps	einzelne	n.b.	0	0	0	0	1 zu 1	0	nein		
13 PSP	M. paraspinalis C7	n.b.	n.b.	0	n.b.	bis 10 %	bis 10 %	3 zu 1	0	nein		
	M. deltoideus	n.b.	n.b.	0	n.b.	n.b.	0	3 zu 2	n.b.	nein		
14 FTLD	M. paraspinalis L2	einzelne	n.b.	0	0	20 % atropher Fasern	0	1 zu 1	0	ja		
	M. deltoideus	einzelne	n.b.	0	0	0	0	1 zu 1	0	nein		
	M. rectus abdominis	einzelne	n.b.	0	0	0	0	1 zu 1	0	nein		
	M. biceps	0	n.b.	0	0	einzelne	0	1 zu 1	0	nein		
15 AD	M. paraspinalis C7	einzelne	n.b.	0	0	fokal bis 20 %	0	1 zu 1	0	ja		
	M. deltoideus	1 %	n.b.	1 %	1 %	5 %	0	1 zu 1	0	ja		
	M. rectus abdominis	1 %	n.b.	1 %	5 %	5 %	5 %	2 zu 1	0	ja		
	M. quadriceps	einzelne	n.b.	0	0	1 %	einzelne	1 zu 1	0	ja		
16 FTD	M. paraspinalis C7	einzelne	n.b.	0	0	2 %	0	1 zu 1	0	ja		
	M. deltoideus	einzelne	n.b.	0	0	einzelne	0	1 zu 1	0	ja		
	M. rectus abdominis	1 %	n.b.	0	0	einzelne	0	1 zu 1	0	nein		
	M. quadriceps	einzelne	n.b.	0	0	0	0	1 zu 1	0	ja		
17 ALS	M. paraspinalis L2	einzelne	n.b.	5 %	einzelne	50 %	0	n.b.	0	nein		
	M. deltoideus	einzelne	n.b.	0	0	50 %	0	1 zu 1	0	nein		
	M. rectus abdominis	0	n.b.	0	0	80 %	einzelne	1 zu 1	0	ja		
	M. quadriceps	0	n.b.	0	0	faszikulär 80 %	0	1 zu 1	0	nein		

Tabelle 16d: Ergebnisse von Saure-Phosphatase- und ATPasen-Färbung bei den Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen

Fall-Nr.	Muskel	Sauer-Phosphatase-Färbung					ATPasen-Färbung				
		Streaming	Gehalt	Makro- phagen	Nekrosen	Typisier- barkeit	Läsionen	Verhältnis Typ-1 : Ty-2	Gruppierung	Faseratrophie Typ-1	Faseratrophie Typ-2
10 DLB	M. paraspinalis C7+L2	5 %	normal	normal	einzelne	ja	0	2 zu 1	nein	25 %	25 %
	M. deltoideus	0	gering	normal	0	ja	0	3 zu 1	ja	<5 %	50 %
11 DLB	M. paraspinalis L2	1 %	gering	gering	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	5 %	50 %
	M. deltoideus	0	gering	gering	0	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	50 %
	M. rectus abdominis	0	gering	gering	0	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	10 %
12 DLB	M. paraspinalis C7	20 %	gering	gering	0	ja	0	3 zu 2	ja	25 %	>50 %
	M. deltoideus	5 %	gering	gering	0	ja	0	1 zu 1	ja	<5 %	25 %
	M. rectus abdominis	1 %	gering	gering	0	ja	0	3 zu 2	ja	<5 %	10 %
	M. quadriceps	0	gering	gering	0	ja	0	1 zu 1	ja	10 %	10 %
13 PSP	M. paraspinalis C7	5 %	gering	normal	0	ja	0	3 zu 1	ja	10 %	>80 %
	M. deltoideus	0	gering	gering	0	ja	0	3 zu 2	ja	10 %	>80 %
14 FTLD	M. paraspinalis L2	0	gering	vermehrt	einzelne	nein	0	n.b.	ja	5 %	>90 %
	M. deltoideus	0	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	ja	20 %	20 %
	M. rectus abdominis	eine Faser	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	20 %	20 %
	M. biceps	0	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	nein	25 %	25 %
15 AD	M. paraspinalis C7	20 %	normal	gering	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	10 %
	M. deltoideus	5 % fokal	normal	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	10 %
	M. rectus abdominis	8 %	gering	gering	einzelne	ja	0	2 zu 1	ja	5 %	5 %
	M. quadriceps	5 %	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	<5 %	5 %
16 FTD	M. paraspinalis C7	5 %	normal	normal	0	ja	0	1 zu 1	nein	10 %	10 %
	M. deltoideus	einzelne faszikulär	normal	vermehrt	0	ja	0	1 zu 1	ja	10 %	10 %
	M. rectus abdominis	1 %	gering	normal	0	ja	0	1 zu 1	ja	20 %	50 %
	M. quadriceps	einzelne	gering	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	ja	5 %	5 %
17 ALS	M. paraspinalis L2	10 %	gering	normal	einzelne	nein	0	n.b.	ja	n.b.	n.b.
	M. deltoideus	einzelne	gering	normal	einzelne	ja	0	1 zu 1	nein	30 %	30 %
	M. rectus abdominis	2 %	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	nein	>50 %	>50 %
	M. quadriceps	0	gering	hoch	0	ja	0	1 zu 1	nein	25 %	25 %

3.1.4 Auswertung hinsichtlich der Kamptokormie Haupt- und Nebenkriterien von Wrede et al. (2012)

In diesem Kapitel wurden die Ergebnisse nochmals strikt hinsichtlich der Erfüllung der Kamptokormie Haupt- und Nebenkriterien von Wrede et al. (2012) aufgearbeitet. Da wie bereits beschrieben in dieser Arbeit keine elektronenmikroskopischen Aufarbeitungen zur Verfügung standen, konnte ein Z-Band-*streaming* in dieser Arbeit nicht untersucht werden. An dieser Stelle sei nochmals erwähnt, dass die beiden Patientenkollektive einen Morbus Parkinson oder eine andere neurodegenerative Erkrankung aufgewiesen haben ohne offensichtliche Symptome einer Kamptokormie. Ob eine Rückenmuskelschwäche zu Lebzeiten jedoch vorlag, wurde nicht gesondert klinisch erfasst beziehungsweise ausgeschlossen. Prinzipiell könnten auch Erkrankungen wie eine PSP mit einer Rückenmuskelschwäche einhergehen.

Beide von Wrede et al. (2012) postulierten spezifischen Hauptkriterien für eine Kamptokormie, zentrale Strukturläsionen und Streamings, wurden bis auf Patient 14 mit einer FTLD jedoch in variabler Ausprägung bei allen Patienten mindestens in einem Muskel nachgewiesen. Die Patienten 3 bis 7 der Parkinsongruppe sowie Fall 12, 13, 15 und 16 in der zweiten Kohorte wiesen sowohl Läsionen wie Streamings in etwa gleicher Ausprägung und Verteilung auf. In den anderen Patienten boten manche Muskeln meist in nur geringer Zahl entweder Läsionen oder Streamings, ohne dass korrespondierend die jeweils andere Veränderung ebenfalls nachgewiesen wurde (vgl. Tabelle 17a und 17b).

Der ALS-Patient Nummer 17 stellte auch hier wiederum eine Besonderheit dar. Auf der einen Seite bot er in hoher Zahl in allen Muskeln die gesuchten Strukturdefekte. Andererseits kamen Streamings nur im M. paraspinalis und M. rectus abdominis vor, die Extremitätenmuskulatur war hier nicht betroffen.

Hinsichtlich der Kamptokormie-Nebenkriterien ergab sich kein erkennbares Muster. Vielmehr schien die generelle myopathische oder neurogene Schädigung eines Muskels darüber zu bestimmen, ob vermehrt Kernsäcke, eine ausgeprägte endomysiale Fibrose oder eine ausgeprägte Typ-2-Faser-Atrophie mit erhöhter Kalibervariation im Muskel auffällig wurden. Eine Häufung von Strukturläsionen und/oder Streamings konnte nicht mit einem erhöhten Vorkommen von Merkmalen der Kamptokormie-Nebenkriterien korreliert werden. Obwohl teils häufige Strukturdefekte und Streamings zu beobachten waren, konnten unter anderem quasi keine *whorled fibres* trotz verhältnismäßig sehr großer Gewebeschnitte nachgewiesen werden. Andererseits wies der M. paraspinalis von Patient 2 beispielsweise eine überdurchschnittlich hohe Zahl an internen Kernen und Kernsäcken sowie eine deutliche Typ-2-Faser-Atrophie mit hoher Kalibervariation auf, ohne dass zentrale Strukturdefekte oder Streamings nachweisbar waren (vgl. Tabellen 17a und 17b).

Tabelle 17a: Übersicht über das Vorhandensein der Kamptokormie Haupt- und Nebenkriterien von Wrede et al. (2012) in den einzelnen Muskelproben der Parkinsonpatienten

Fall-Nr.	Muskel	Hauptkriterien*		Nebenkriterien					
		SD	SP	KV	IK	EF	KS	WF	FA
1	M. erector spinae	+++	++	0	-	00	+	-	000
	M. deltoideus	-	-	00	-	0	+	-	0000
	M. quadriceps	(++++) ^Y	-	0	-	-	+	-	00
2	M. erector spinae	-	-	000	+++	00	+++	(+)	0000
	M. deltoideus	-	-	0000	-	000	+++	-	000
	M. rectus abd.	+	-	000	-	00	+	-	0000
	M. pectoralis	+	-	000	-	00	+	(+)	0000
3	M. erector spinae ^X	++ ^I	+++	00	+++	00	+	-	000
	M. deltoideus	-	-	0	++	000	+	-	0
	M. rectus abd.	+ ^I	+ ^I	00	+++	00	-	-	00
	M. quadriceps	-	-	0	+++	0	-	-	0
4	M. erector spinae ^{AX}	+	+ ^I	00	-	0	-	-	0
	M. deltoideus	-	-	0	-	00	-	-	00
	M. rectus abd.	-	-	0	-	0	-	-	0
	M. quadriceps	-	-	(0)	-	-	-	-	-
5	M. erector spinae ^X	+++	++++	00	-	000	+	(+)	n.b.
	M. deltoideus	-	-	-	-	0	-	-	-
	M. rectus abd.	-	-	0	-	-	n.b.	-	n.b.
	M. biceps	-	-	00	++	0	-	-	00
6	M. erector spinae ^X	++++ ^Z	+++	00	++	0000	-	-	000
	M. deltoideus	-	-	0	++	00	-	-	00
	M. rectus abd.	-	-	0	+++	00	-	-	00
	M. quadriceps	-	-	(0)	+++	0	-	-	-
7	M. erector spinae	-	-	0000	+++	0000	++	-	000
	M. deltoideus	-	-	00	-	0000	++	-	n.b.
	M. rectus abd.	++	++	00	-	00	+	-	000
	M. quadriceps	-	+ ^R	0000	-	0000	++	-	0
8	M. erector spinae	-	++	00	-	000	-	-	0000
	M. deltoideus	-	-	00	-	00	-	-	0000
	M. rectus abd.	-	+	0	-	0	-	-	0
	M. quadriceps	-	-	000	-	00	-	-	0000
9	M. erector spinae	-	-	0	-	0	-	-	0
	M. deltoideus	-	-	-	-	0	-	-	-
	M. rectus abd.	-	-	(0)	-	-	-	-	00
	M. quadriceps	+	-	-	-	-	-	-	-

SD: zentrale NADH/SDH/COX-negative Strukturdefekte

SP: zentrale feingranuläre Reaktivität in der Saure-Phosphatase-Färbung

KV: vermehrte Kalibervariation

IT: vermehrte interne Kerne

EF: endomysiale Fibrose

KS: Kernsäcke

WF: *whorled fibres*

FA: Typ-2-Faser-Atrophie

A viele Artefakte, schlechte Beurteilbarkeit

B in atrophien, nicht wie sonst in hypertrophen Fasern, nur Defekte in der SDH

F fokale Häufung

R ringförmig periphere Läsionen, anders als sonst

X viele COX-Defizienzen

Y fragliche Läsionen, nur in der NADH

Z Diskrepanz zwischen echten NADH- und SDH-Läsionen

3.1.5 Die Rumpfmuskulatur scheint stärker betroffen als die Extremitätenmuskulatur

Wenn Extremfälle wie Patient 7 und 17 außer Acht gelassen werden, die in allen ihren Muskeln schwere generelle Veränderungen gezeigt haben, so zeichnet sich in den übrigen 15 Fällen ein deutliches Muster ab.

Betrachtet man die zentralen Strukturdefekte in SDH- und NADH-Färbung, so ist der M. paraspinalis in 9 von 15 Fällen betroffen, in diesen neun Fällen im Durchschnitt 20 % der Fasern. Der M. rectus abdominis bot lediglich in 4 von 12 Proben zentrale Läsionen, in diesen vier Fällen allerdings auch in durchschnittlich 15 % der Fasern. Die Extremitätenmuskulatur zeigte dort ein anderes Bild. Der M. deltoideus wies in nur 2 von 15 Fällen Strukturdefekte auf, diese auch nur in jeweils ca. 5 % der Fasern. Der M. quadriceps lag in neun Fällen vor und bot in nur zwei Fällen in je nur 1 % der Fasern glaubhafte Strukturdefekte. Der Fall Nummer 1 wies in seinem M. quadriceps in der NADH-Färbung in 50 % der Fasern zwar Defekte auf, die SDH-Färbung war jedoch unauffällig und Streamings waren nicht nachweisbar. Somit war die Relevanz dieser gehäuften NADH-Defekte fraglich.

Der M. paraspinalis schien häufiger von einem fibrotischen Umbau betroffen zu sein (Skalen-Mittelwert über beide Patientengruppen 2,8) als die Extremitätenmuskulatur (Skalen-Mittelwert über beide Gruppen von M. deltoideus und M. quadriceps zusammen 1,9). Der M. rectus abdominis war in der Parkinsongruppe insgesamt geringer betroffen als die Extremitätenmuskulatur (Skalen-Mittelwert 1,3) jedoch in der zweiten Patientengruppe durchschnittlich stärker (Skalen-Mittelwert 2,5).

Auch in der ORO-Färbung zeigte sich hinsichtlich fettiger Degeneration der stärkste Gewebeumbau beim M. paraspinalis (Skalen-Mittelwert über beide Patientengruppen 2,4 versus 1,6 für M. deltoideus und M. quadriceps zusammen). Auch hier war der M. rectus abdominis weniger stark betroffen in der Parkinsongruppe (Skalen-Mittelwert 1,3) als in der zweiten Patientengruppe (Skalen-Mittelwert 3,2) wo er den im Durchschnitt am stärksten betroffenen Muskel darstellt.

Hinsichtlich der Streamings zeichnete sich eine ähnliche Verteilung ab. Mit Abstand am häufigsten und schwersten betroffen war erneut der M. paraspinalis, welcher in 12 von 15 Proben Streaming zeigte in durchschnittlich 12 % der Fasern. Der M. rectus abdominis war erneut am zweithäufigsten auffällig mit 5 von 12 positiven Muskelproben, in denen um die 3 % der Fasern durchschnittlich Streamings aufwiesen. Von 15 Mm. deltoidei waren erneut nur zwei Muskeln positiv mit je 5 % ihrer Fasern. Von den neun Mm. quadriceps zeigte nur einer Streamings in ebenfalls 5 % seiner Fasern.

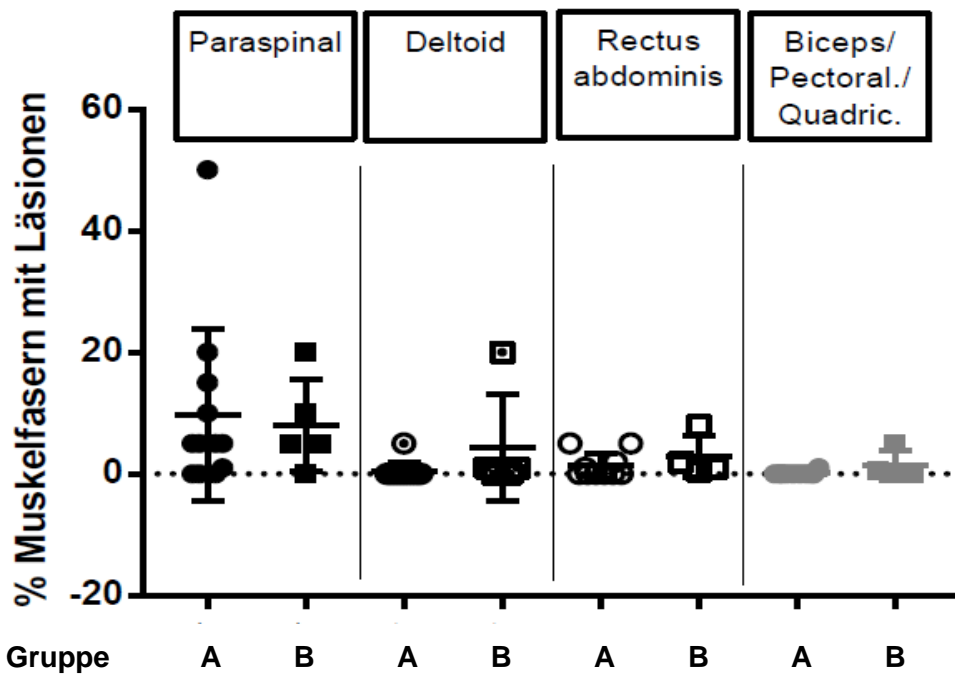


Abbildung 4: Die Häufigkeit von Streamings in der SP-Färbung von Rumpf- und Extremitätenmuskulatur von Patienten bei neurodegenerativer Erkrankung mit (Gruppe A) und ohne (Gruppe B) α -Synuklein-Aggregation

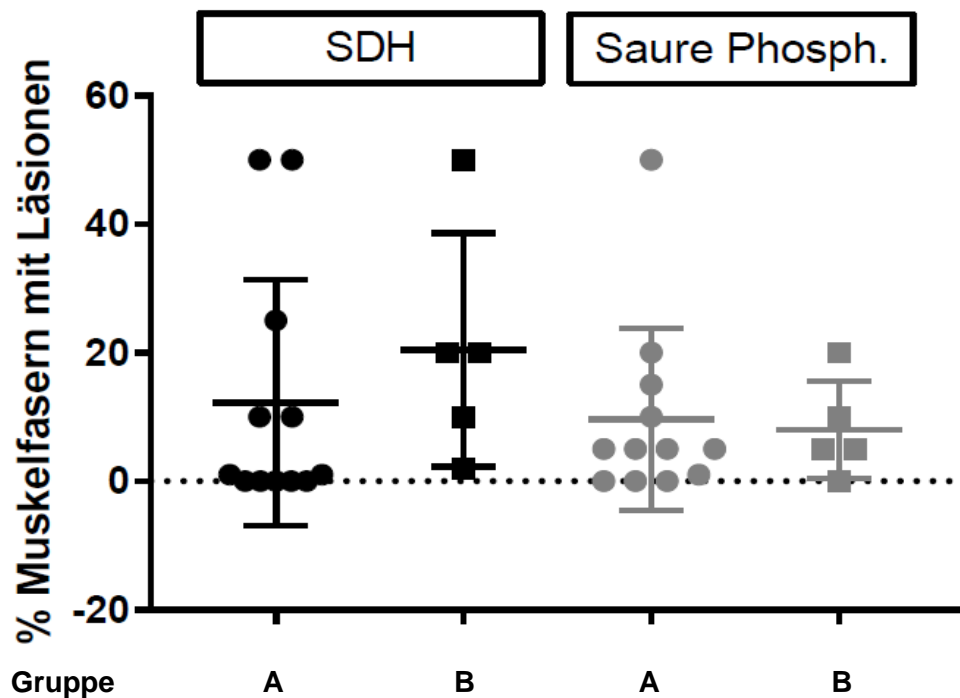


Abbildung 5: Vergrößerte Darstellung der Häufigkeit von zentralen Strukturdefekten und Streamings in der SDH- und SP-Färbung in den Mm. paraspinalis von Patienten bei neurodegenerativer Erkrankung mit (Gruppe A) und ohne (Gruppe B) α -Synuklein-Aggregation

3.2 Immunhistochemische Detektion von α -Synuklein

Während die Enzymhistochemie der Frage nachgeht, inwieweit das von Wrede et al. (2012) postulierte myopathologische Schädigungsmuster der Kamptokormie auch generell bei Parkinson und anderen neurodegenerativen Erkrankungen zu finden ist, beschäftigten sich die immunhistochemischen Untersuchungen und Blot-Verfahren mit der Frage, ob eine synaptische Mikroaggregationen von α -Synuklein nicht nur im zentralen Nervensystem, sondern auch in der Muskulatur zu finden ist. Es wurde der Versuch unternommen, α -Synuklein und seine aggregierten Formen in der peripheren Muskulatur der Patienten nachzuweisen und gegebenenfalls zu lokalisieren. Aus diesen Einblicken wäre möglicherweise eine Erklärung für die myopathischen Veränderungen in der Muskulatur ableitbar.

Die Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Gewebeschnitte erfasst zunächst, welche Strukturen überhaupt eine Immunreaktivität zeigen. Theoretisch könnten sowohl Muskelfasern, angetroffene Gefäße, periphere Nervenanschnitte oder einzelne Axone eine positive Reaktivität zeigen. Weiterhin werden die Reaktionsmuster vor allem der peripheren Nerven und der Muskelfasern analysiert. In den Muskelfasern wären vor allem subsarkolemmal gelegene Signalanhebungen, eventuell im Bereich motorischer Endplatten, von Interesse und von zentral innerhalb der Faser gelegenen Signalen abzugrenzen. Bei der Beurteilung von Färbesignalen in peripheren Nerven wird neben einer groben Quantifizierung ebenfalls eine morphologische Beschreibung durchgeführt sowie die Verteilung zwischen Axonen und Myelinscheiden betrachtet.

Für diese Untersuchung stand Probenmaterial von allen neun Parkinsonpatienten und fünf Individuen mit neurodegenerativen Erkrankungen zur Verfügung, welche auch enzymhistochemisch untersucht worden sind. Von den drei Patienten mit DLB war jedoch nur von zweien Untersuchungsmaterial verfügbar. Als Referenz für die Beurteilung der Färbeergebnisse wurde entsprechendes Autopsiegewebe eines Patienten im Alter von 20 Jahren mit infektiöser Enzephalitis eingesetzt. Die Idee war dabei, dass ein junger Erwachsener mutmaßlich eine physiologische Expression von alpha-Synuklein zeigt, aber noch keine alters- oder erkrankungsassoziierten Ablagerungen aufweist.

3.2.1 Detektion von α -Synuklein in der Gruppe der Parkinsonpatienten

Keine der 35 untersuchten Muskelproben zeigte eine Reaktivität des Antikörpers 10D2 innerhalb von Gefäßwänden. Innerhalb der einzelnen Muskelfasern weisen die meisten Proben ebenso keine Signale auf. Lediglich in insgesamt drei Gewebeproben von zwei Patienten zeigten sich sporadische granuläre Signale zentral innerhalb einzelner Muskelfasern, eine subsarkolemmale Immunreaktivität war generell nicht nachweisbar.

Demgegenüber zeigten alle Fälle in mindestens zwei ihrer Proben eine Reaktivität innerhalb der mitangeschnittenen peripheren Nerven. Das Reaktionsmuster bestand aus einem granulären periaxonalen Saum, welcher sich häufig fein verteilt darstellt, jedoch auch in manchen Proben vergrößert, teils mit konfluierendem Aspekt und bis in die Myelinscheide ausgebreitet vorzufinden war. Das Spektrum an Signalverteilungen und Reaktionsintensität innerhalb eines Schnittes, sowie auch verglichen zwischen den Fällen und zwischen den Muskeln innerhalb eines Falles, war sehr groß. Beispielsweise wurde in einer Muskelprobe nur ein einziger Nerv mit einem zart granulären Muster angetroffen, restliche in diesem Schnitt vorhandene Nerven färbten sich nicht an. Demgegenüber zeigten andere Proben in nahezu all ihren Anschnitten peripherer Nerven ausgeprägte Signalanhebungen. Keine Muskelgruppe stach dabei durch eine besonders hohe oder niedrige Anzahl oder Intensität der Signale hervor. Bei fünf Patienten färbten sich in allen vier beprobten Muskeln periphere Nervenanteile an. Unter den sechs Muskelproben, die gänzlich negativ ausfallen, fanden sich dreimal der Musculus deltoideus, zweimal der Musculus quadriceps und einmal der Musculus rectus abdominis. Morphologisch schien diese Verteilung einer Anfärbung beispielsweise des Axolemmes zu entsprechen.

In 12 Proben wurde mindestens je eine Muskelspindel mit angeschnitten, in zwei dieser Spindeln fanden sich Färbesignale.

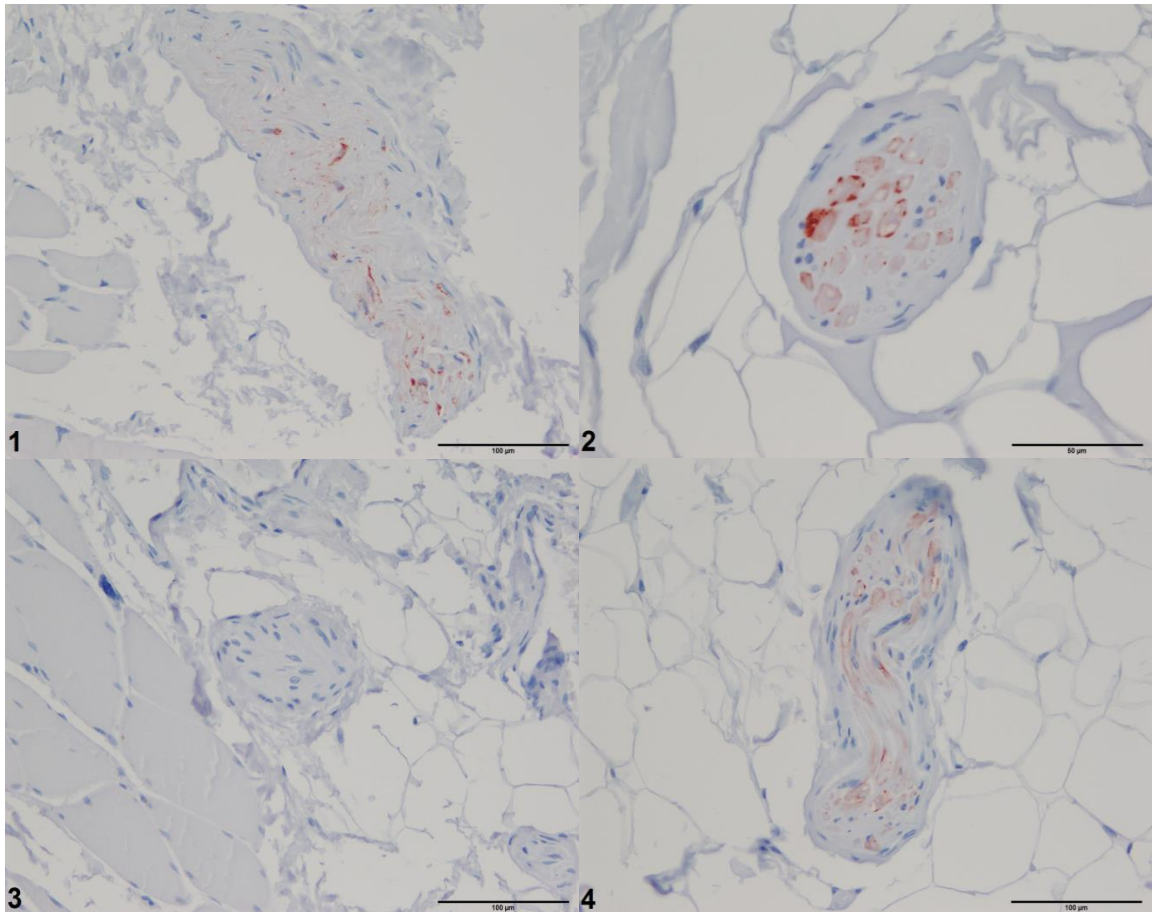


Abbildung 6: Immunhistochemie zur Detektion von α -Synuklein mittels des Antikörpers 10D2, rostrote Signale in peripheren Nervenanschnitten im Musculus erector spinae (1), Musculus deltoideus (2), Musculus rectus abdominis (3) und Musculus quadriceps femoris (4) eines Parkinsonpatienten

3.2.2 Detektion von α -Synuklein in der Gruppe von Patienten mit DLB und anderen neurodegenerativen Erkrankungen

Analog zu den Gewebeproben der Parkinsonpatienten zeigen die Gewebeschnitte dieser Gruppe keinerlei Signalanhebung in Gefäßwänden. Ebenfalls fand sich keine Reaktivität innerhalb von Muskelfasern, weder zentral noch subsarkolemmal. Lediglich in einer Probe war sporadisch zentral innerhalb von Muskelfasern eine zarte granuläre Färbung zu sehen.

In dieser Gruppe wiesen alle sieben Patienten ebenfalls in ihren angeschnittenen peripheren Nerven eine feine periaxonale Reaktivität auf. Nur bei einem DLB-Patienten zeigte sich eine der Muskelproben vollständig negativ. Die Signalanhebungen traten ebenso wie bei den Parkinsonpatienten in variabler Intensität auf. Insgesamt waren die Proben dieser Gruppe jedoch tendenziell weniger stark und in anteilig weniger Nerven betroffen als die

Muskeln der Parkinsongruppe. In diesen Muskelproben wurden keine positiven Muskelspindeln angetroffen.

3.2.3 Detektion von α -Synuklein bei einem Patienten ohne neurodegenerative Erkrankung

Von den vier Muskelproben des jungen Mannes zeigte keine eine Reaktivität in Gefäßwänden oder Muskelfasern. Jedoch fand sich in allen vier Gewebsschnitten eine schwache bis moderate, einzeln bis zu 50% aller peripheren Nerven betreffende Signalanhebung im Sinne der in den anderen Kollektiven angetroffenen periaxonalen, feingranulären Färbesignale.

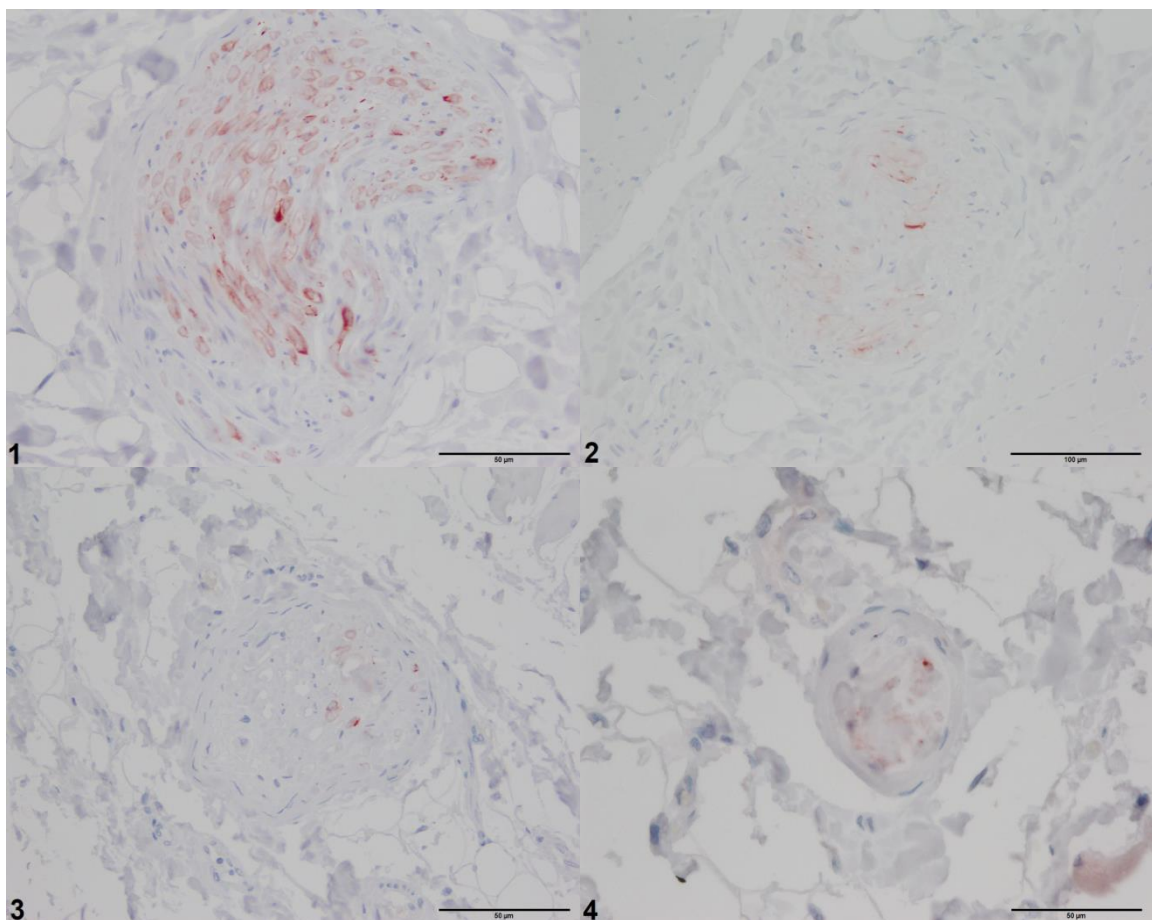


Abbildung 7: Immunhistochemie zur Detektion von α -Synuklein mittels des Antikörpers 10D2, rostrote Signale in peripheren Nervenanschnitten im Musculus erector spinae (1), Musculus deltoideus (2), Musculus rectus abdominis (3) und Musculus quadriceps femoris (4) des jungen Patienten ohne neurodegenerative Erkrankung

Tabelle 18a: Übersicht über die α -Synuklein-Reaktivität der Parkinsonpatienten in der Immunhistochemie mit dem Antikörper 10D2

Patient	Probe	+Gefäß	+Muskel	+Nerven	Intensität	+Spindeln
1	M. erector spinae	-	ja	++++	++++	-
	M. deltoideus	-	-	+++++	+++++	-
	M. quadriceps	-	-	-	-	-
2	M. erector spinae	-	-	+	+	-
	M. deltoideus	-	ja	+++	++	eine
	M. rectus abd.	-	-	+++	++	-
	M. pectoralis	-	ja	+++	+	-
3	M. erector spinae	-	-	++++	++	-
	M. deltoideus	-	-	-	-	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+	-
	M. quadriceps	-	-	+	+	-
4	M. erector spinae	-	-	++++	+	-
	M. deltoideus	-	-	+++++	+	-
	M. rectus abd.	-	-	++	+	-
	M. quadriceps	-	-	++++	++	-
5	M. erector spinae	-	-	+++++	++	-
	M. deltoideus	-	-	+++	+++	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+	-
	M. quadriceps	-	-	+	++	-
6	M. erector spinae	-	-	+	+	-
	M. deltoideus	-	-	++	++	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+++++	-
	M. quadriceps	-	-	+	+	-
7	M. erector spinae	-	-	+++	++	-
	M. deltoideus	-	-	++++	++	eine
	M. rectus abd.	-	-	++++	++++	-
	M. quadriceps	-	-	++	+	-
8	M. erector spinae	-	-	++	+	-
	M. deltoideus	-	-	-	-	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+	-
	M. quadriceps	-	-	-	-	-
9	M. erector spinae	-	-	++++	+++	-
	M. deltoideus	-	-	-	-	-
	M. rectus abd.	-	-	-	-	-
	M. quadriceps	-	-	++	+++	-

Legende:

-	negativ / keine	+	einzelne / schwach
++	einige (ca. 25 %), schwach bis moderat	+++	ca. 50 % / moderat
++++	viele (ca. 75 %), moderat bis stark	+++++	alle / stark

Tabelle 18b: Übersicht über die α -Synuklein-Reaktivität der zweiten Patientengruppe in der Immunhistochemie mit dem Antikörper 10D2

Patient	Probe	+Gefäß	+Muskel	+Nerven	Intensität	+Spindeln
10 DLB	keine Proben verfügbar					
11 DLB	M. deltoideus	-	-	-	-	-
	M. rectus abd.	-	ja	+	+	-
12 DLB	M. erector spinae	-	-	++++	+++	-
	M. deltoideus	-	-	++	+	-
	M. rectus abd.	-	-	++	+	-
13 PSP	M. quadriceps	-	-	+	+	-
	M. erector spinae	-	-	+	++	-
	M. deltoideus	-	-	+	+	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+	-
14 FTLD	M. quadriceps	-	-	+	+	-
	M. erector spinae	-	-	++	+	-
	M. deltoideus	-	-	++	+	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+	-
15 AD	M. quadriceps	-	-	+	+	-
	M. erector spinae	-	-	++	+	-
	M. deltoideus	-	-	+	+	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+	-
16 FTD	M. quadriceps	-	-	-	-	-
	M. erector spinae	-	-	++	+	-
	M. deltoideus	-	-	+++	+	-
	M. rectus abd.	-	-	++	+	-
17 ALS	M. quadriceps	-	-	-	-	-
	M. erector spinae	-	-	++	+	-
	M. deltoideus	-	-	++++	+++	-
	M. rectus abd.	-	-	+	+	-
18 Encephalitis	M. quadriceps	-	-	+	+	-
	M. erector spinae	-	-	+++	++	-
	M. deltoideus	-	-	+	+	-
	M. rectus abd.	-	-	++	+	-

Legende:

-	negativ / keine	+	einzelne / schwach
++	einige (ca. 25 %), schwach bis moderat	+++	ca. 50 % / moderat
++++	viele (ca. 75 %), moderat bis stark	+++++	alle / stark

3.3 Identifizierung von α -Synuklein-Aggregaten mittels PET-Blot

Die PET-Blot-Membranen wurden unter einem Auflichtmikroskop betrachtet. Bei der Beurteilung ist nach blaugrauen Signalen zu suchen, die sich deutlich von dem meist nur noch schemenhaft erkennbaren verdauten Hintergrundgewebe abheben. Es erfolgt eine Korrelation mit einem HE-gefärbten Vergleichsschnitt, um eine anatomische Zuordnung der gefärbten Struktur zu erreichen. In dieser Arbeit sind mithilfe des finalen Protokolls 59 PET-Blots durchgeführt worden. Bevor besagtes Protokoll zum Einsatz gekommen ist, wurde mit Kombinationen verschiedener Ausgangsgewebe, Fixations- und Antigen-

Demaskierungsverfahren experimentiert. Mitgeführte Positivkontrollen haben erfolgreiche Reaktionsvorgänge zeigen können. In den 59 untersuchten Muskelproben der hier untersuchten Patienten ließ sich in keiner der Proben ein spezifisches Signal einer anatomischen Struktur zuordnen. Insbesondere wurde auch auf feine Ablagerungen im Bereich von Axonen, Schwannzellen und Muskelfasern geachtet.

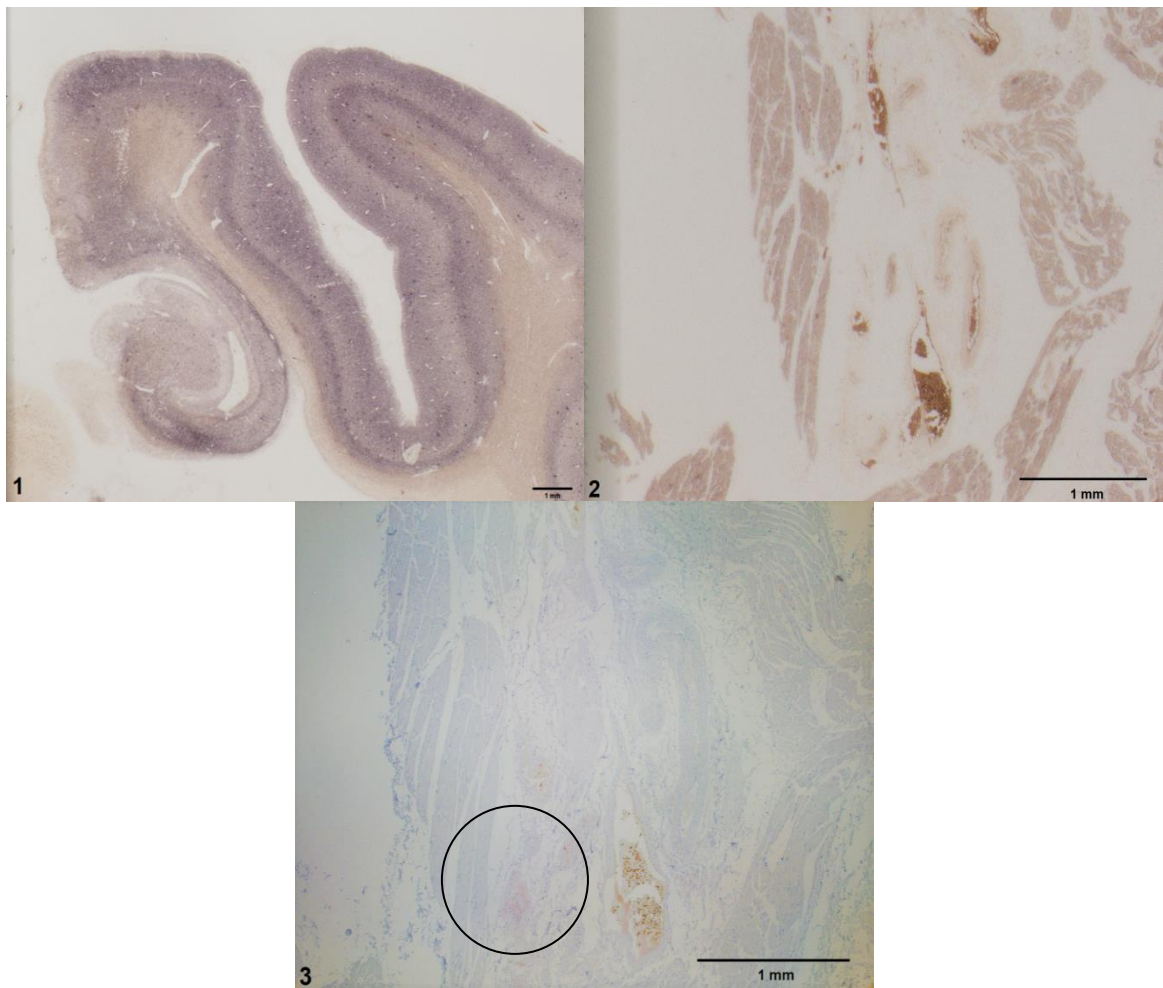


Abbildung 8: Abbildung einer PET-Blot-positiv-Kontrolle mit blaugrauer Färbung von Lewy-Körperchen in Hirngewebe (1). Daneben Darstellung eines Areals einer Muskelprobe im PET-Blot ohne Signalanreicherung (2). In der IHC mit Antikörpern gegen α -Synuklein (3) findet sich eine zarte granuläre Signalanhebung eines Nervs (Kreis).

4. Diskussion

In den letzten Jahren sind mehrere neuropathologische Arbeiten veröffentlicht worden, die sich mit der Beschreibung histopathologischer Veränderung der Muskulatur bei Parkinsonpatienten mit Kamptokormie befasst haben. Dabei haben die einzelnen Arbeitsgruppen eine Bandbreite von Veränderungen beobachtet und sind daher zu abweichenden Interpretationen gelangt. Zuletzt hat die Arbeit von Wrede et al. (2012) ein für die Kamptokormie spezifisches myopathisches Läsionsmuster definiert. Aus diesem Läsionsmuster heraus wurde ein für die Erkrankung spezifisches Setting von Haupt- und Nebenkriterien zur histopathologischen Diagnose einer Kamptokormie postuliert, welches bereits in der Einleitung aufgezeigt wurde.

Eine der zentralen Fragen dieser Arbeit ist, ob das von Wrede et al. (2012) beschriebene Läsionsmuster bei Kamptokormie spezifisch für diese Erkrankung ist, oder ob die zugrundeliegende neurodegenerative Erkrankung des Patienten ebenfalls dieses myopathische Muster verursachen kann. Einschränkend muss gesagt sein, dass bei der Auswahl der Patienten für diese Studie das Vorliegen einer Kamptokormie nicht explizit ausgeschlossen worden ist, allerdings wurde eine Kamptokormie zum Zeitpunkt der Autopsie nicht berichtet. Somit wurden neun Parkinsonpatienten ohne diagnostizierte Kamptokormie, drei Personen mit DLB und fünf Individuen mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen postmortem neuropathologisch untersucht.

4.1 Die Vorteile und Limitationen des untersuchten Probenmaterials

Mit der hier vorgelegten Untersuchung sollte der Frage nachgegangen werden, ob sich eine generelle Muskelpathologie in Folge einer Parkinsonerkrankung nachweisen lässt. Dafür erscheint die Verwendung einer systematischen Auswahl von Muskeln eines Individuums sinnvoll. Dies ist mittels Biopsien nicht zu realisieren, da diese immer eine ableitbare Behandlungskonsequenz als Voraussetzung haben sollten. Dementsprechend musste diese Untersuchungsreihe an Autopsiematerial geplant werden.

Die Verwendung von Autopsiegewebe birgt das Risiko von Artefakten gegenüber Biopsiegewebe. Etliche Autoren konnten zeigen, dass die Verwendung von Autopsiegewebe in einem begrenzten Zeitrahmen problemlos möglich ist. Die hier gefundenen Veränderungen sind darüber hinaus bereits in der Studie von Wrede et al. (2012) benannt worden und somit keine postmortale Veränderung. Wenn auch von vornherein sehr wahrscheinlich, erbringen die Ergebnisse dieser Arbeit den direkten Nachweis, dass die Läsionen ebenso gut postmortal nachweisbar sind.

Ein weiterer Vorteil von Untersuchungen an Autopsiematerial ist, dass aufgrund des deutlich größeren Probenumfangs eine bessere Chance besteht, ebenfalls periphere Nerven,

Muskelspindeln und stochastisch eine gewisse Anzahl an motorischen Endplatten mitbeurteilen zu können. Ähnlich der Überlegung, dass die Muskelspindeln pathomechanistisch an der Kamptokormieentstehung beteiligt sein könnten, sind periphere Nerven und ihre Endigungen ebenso von Interesse. Wie bereits über die Muskelspindeln berichtet, zeigen sich enzymhistochemisch allerdings keine richtungsweisenden Auffälligkeiten bei mitangeschnittenen Nerven. Da sich in der Suche nach spezifischen Aggregaten von α -Synuklein keine pathologischen Ablagerungen nachweisen ließen, erfolgte keine weitere Suche und Darstellung der Endplatten beispielsweise mittels Antikörpern gegen Acetylcholinesterase oder weiterer immunhistochemischer Nachweise.

Als Nachteil bei postmortal entnommenem Muskelgewebe zeigten sich die teilweise nicht mehr vollständig durchführbaren enzymhistochemischen Reaktionen. So fällt die Cytochrom-C-Oxidase-Reaktion relativ rasch komplett negativ aus bei zunehmender Postmortalzeit, später zudem die ATPasen-Reaktion und die Färbung der Succinat-Dehydrogenase. Aufgrund dessen war die Anfärbung der COX und kombinierten COX/SDH auch nicht durchgehend möglich. Dies hat die Identifikation der gesuchten Läsionsmuster jedoch in keiner Probe nachhaltig beeinträchtigt.

Zusätzlich nachteilig im Vergleich zur Verwendung von Biopsiematerial ist, dass vor der Entnahme einer Biopsie ein stärker betroffenes Areal mittels einer Bildgebung ausgewählt wird (Wrede et al. 2012). Somit ist gewährleistet, dass innerhalb der Probe etwaige Veränderungen im Rahmen der neurologischen Grunderkrankung / der Kamptokormie mit höherer Wahrscheinlichkeit und in deutlicherer Ausprägung nachgewiesen werden können. Dies wäre eine mögliche Erklärung dafür, dass manche Biopsieproben stärker betroffen erscheinen als die Autopsieproben. So konnten in dem Probenkollektiv dieser Arbeit nur sporadische *whorled fibres* identifiziert werden, welche in der Biopsiestudie von Wrede et al. (2012) zwar selten aber immerhin regelhaft beobachtet wurden.

Die Autopsien erfolgten ohne explizite klinische Angabe einer Kamptokormie. Über eine relative Muskelschwäche der Rückenmuskulatur kann keine Aussage getroffen werden. Vielmehr lag das Augenmerk auf einer standardisierten Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Proben. Auf diesem Wege und ohne vorherige Bildgebung ist jedoch denkbar, dass zufällig vergleichsweise gesunde Muskelabschnitte beprobt wurden und stärker betroffene Areale durch die Probeentnahmestellen nicht ausreichend repräsentiert wurden. Andererseits ist zu bedenken, dass der Zeitpunkt einer Biopsie zumeist am Anfang einer klinischen Manifestation einer Kamptokormie und somit tendenziell eher in früheren Stadien einer Parkinson'schen Erkrankung liegt. Demgegenüber erfolgt die Entnahme des Autopsiematerials erst nach häufig langjähriger, weit fortgeschrittener Parkinsonerkrankung und damit bereits starker histomorphologischer Alteration des beprobten Gewebes

durch die Erkrankung. Oft sind zu diesem Zeitpunkt krankheitsbedingte Veränderungen besonders deutlich, aber teilweise auch schon nicht mehr umfassend beurteilbar.

4.2 Existiert eine zeitliche Abfolge in der Entstehung der Läsionen?

In der Auswertung des Probenkollektivs zeigten von Streamings und zentralen Strukturdefekten betroffene Muskeln meistens in ähnlichen Anteilen ihrer Fasern beide Veränderungen. Allerdings bedeutete dies nicht, dass somit jede Faser mit einem Strukturdefekt auch ein Streaming aufwies, und umgekehrt. Öfters gab es Fasern, die nur eine der beiden Veränderungen aufwiesen. Darüber hinaus gab es auch Muskeln wie beispielsweise M. paraspinalis von Fall 8, welcher Streamings aufwies ohne relevante Zahl an Strukturdefekten. Außerdem ist bisher unklar, warum manche Proben häufige Veränderungen aufweisen, und wiederum andere nur sehr wenige.

Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass es sich in der Entstehung der Läsionsmuster gegebenenfalls um einen kontinuierlichen Prozess handelt. Im Zuge der myopathischen Transformation könnte die Saure-Phosphatase-Reaktion einen Abbau der von Spuler et al. (2010) und Wrede et al. (2012) licht- und elektronenmikroskopisch beobachteten myofibrillären Desorganisation und gestörten Binnenarchitektur, im Speziellen die Zerstörung des sarkotubulären Apparates, bedeuten. Somit würde die granuläre Reaktivität in der SP-Färbung Ausdruck eines fortschreitenden zentralen Strukturverlusts einer Faser sein, der schließlich in den in den Enzymfärbungen darstellbaren *targetoid*-Läsionen mündet. Dass der zentrale Strukturabbau in bis zu 50 % der Fasern eines Muskels am Ende dessen Funktion beeinträchtigt, ist gut vorstellbar.

Jedoch konnte bisher nicht identifiziert werden, welches biochemische Korrelat in der Saure-Phosphatase-Reaktion diese feingranuläre Reaktivität hervorruft. Elektronenmikroskopische und immunhistochemische Untersuchungen auf lysosomale Marker LAMP1 und Cathepsin D ergaben keinen Hinweis darauf, dass ein gesteigerter lysosomaler Abbau für die vermehrte Enzymaktivität verantwortlich ist (Wrede et al. 2012). Letztlich könnte in einer eingehenden Untersuchung der Läsionsstruktur möglicherweise der Schlüssel zum Verständnis des dahinter liegenden Auslösemechanismus der Kamptokormie liegen.

4.3 Warum ist die Rumpfmuskulatur stärker betroffen?

Eine weitere Fragestellung dieser Studie befasst sich damit, inwiefern sich das Kamptokormie-Läsionsmuster auch in anderen Muskeln außer in dem *Musculus erector spinae* nachweisen lässt.

Vorweg sei gesagt, dass die oft angetroffene fokale Häufung von Strukturdefekten und Streamings zum einen darauf zurückzuführen sein kann, dass sich einzelne Faszikel eines Muskels in unterschiedlich fortgeschrittenen Stadien des pathophysiologischen Prozesses befinden. Alternativ könnten im Zuge der Beprobung benachbarte Muskeln in dem Querschnitt mit erfasst worden und daher Areale zu unterschiedlichen Muskeln gehören und unterschiedlich stark betroffen sein.

Außer in dem *Musculus erector spinae* ist ebenso in der Bauchmuskulatur, vertreten durch den *Musculus rectus abdominis*, nach den typischen myopathischen Veränderungen gesucht worden. Der *Musculus erector spinae* ist Teil der Rumpfstrecker und mitverantwortlich für die aufrechte Körperhaltung. Die Bauchmuskulatur ist funktionell der Antagonist der Rumpfstrecker, da ihre Kontraktion zu einer Vor- beziehungsweise Seitwärtsneigung des Rumpfes führt. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass von den vier hier untersuchten Muskeln der *Musculus erector spinae* und der *Musculus rectus abdominis* die beiden deutlich stärker betroffenen Muskeln sind im Hinblick auf Kalibervariation, zentraler Strukturdefekte, Auftreten von feingranulärer Zeichnungsvermehrung in der Saure-Phosphatase-Reaktion, Fibrosierung und fettiger Durchsetzung. Dieses Resultat ist aus mehreren Gründen interessant.

Zum einen ist die Bauchmuskulatur zusammen mit den Rückenstreckern Teil der Rumpfmuskulatur und somit abzugrenzen gegenüber der in dieser Arbeit ebenfalls untersuchten Extremitätenmuskeln *Musculi deltoideus* und *quadriceps femoris*. Der *Musculus deltoideus* als klassischer Biospiemuskel zeigte sich auch in diesem Kollektiv in fast allen Fällen nahezu nicht verändert. Es wiesen lediglich zwei Patienten aus der zweiten Patientengruppe mit anderer neurodegenerativer Erkrankung als Parkinson Strukturläsionen und Streamings in ihrem *M. deltoideus* auf. Innerhalb der Parkinsongruppe war kein einziger *M. deltoideus* betroffen. Daher ist fraglich, ob die gesehenen Läsionen im *M. deltoideus* von Patienten 12 und 15 denen in den anderen Fällen gleich zu setzen sind oder eventuell einer anderen Ätiologie unterliegen.

Ähnliches gilt für den *Musculus quadriceps femoris*, der im Rahmen des *Bent-knee-Syndroms* von Funktionsstörungen betroffen sein kann und daher ebenfalls in dieser Studie mituntersucht wurde. Auch er zeigte nur in einzelnen Proben das typische Läsionsmuster, die allermeisten Muskelproben sind dahingehend unauffällig. Somit scheint die

Rumpfmuskulatur stärker, oder eventuell auch früher von myopathologischen Veränderungen betroffen zu sein als die Extremitätenmuskulatur.

Des Weiteren existieren Theorien über eine Dystonie der Bauchmuskulatur, welche das klinische Erscheinungsbild einer Kamptokormie verursacht (Azher und Jankovic 2005; Lepoutre et al. 2006). Eigentlich sollten sich in diesem Fall etwaige histomorphologische Veränderungen von Rumpfbeugern und -streckern deutlich voneinander unterscheiden, da sich die Muskelgruppen in jenem Kontext diametral zueinander verhalten. Die Auswertung dieses Patientenkollektivs legt jedoch nahe, dass beide Muskelgruppen sowohl qualitativ wie quantitativ im selben Maße betroffen sind. Zudem erscheinen die Läsionen mit Zerstörung der Binnenarchitektur und Unordnung kontraktile Elemente eher in einem Funktionsverlust betroffener Fasern zu münden. Die Aufrechterhaltung eines langfristig gesteigerten Muskeltonus scheint unwahrscheinlich.

4.4 Gegenüberstellung mit den Ergebnissen vorheriger Arbeitsgruppen

Vorhergehende Arbeiten haben verschiedene Ursachen für die Kamptokormie angeführt, so beschreiben Gdynia et al. (2009) inflammatorische Veränderungen, vermehrte Fasernekrosen und Zeichen mitochondrialer Schädigung als Ursache einer Myopathie innerhalb der Skelettmuskulatur. Patient Nummer 14 mit der FTLD zeigte in all seinen Muskeln schwere myopathische Veränderungen und gefäßassoziierte entzündliche Infiltrate, die an eine Myositis oder Vaskulitis denken ließen. Andererseits bot just dieser Fall als einziger in keinem seiner Muskeln glaubhafte Strukturläsionen oder Streamings. Eine immunhistochemische Untersuchung zur Feststellung einer Aufregulation des MHC-I-Komplexes auf Muskelfasern wurde allerdings nicht durchgeführt.

Abgesehen von sporadisch vorhandenen Fasernekrosen ist keine Muskelprobe von ausgedehnten Nekrosearealen betroffen gewesen. Eine Ischämie ist daher wenig wahrscheinlich. Eher wäre die Frage eine nekrotisierende Myopathie oder eine Rhabdomyolyse zu nennen. Hier war nur im M. deltoideus von Patient 2 ein Bild wie bei einer nekrotisierenden Myopathie anzutreffen, ansonsten konnten ausgedehnte Nekrosen ausgeschlossen werden.

Die in der Literatur immer wieder zu findende Einordnung der Kamptokormie als Mitochondriopathie basiert in erster Linie auf dem Nachweis von *Ragged-red*-Fasern. Auch in den hier untersuchten Muskelproben traten in allen drei Patientengruppen sporadisch *Ragged-red*-Fasern auf, ihr Anteil an der Gesamtfaserzahl lag meistens bei weit unter einem Prozent. Lediglich die Patienten 1 und 8 waren unter diesem Aspekt auffällig. Patient 8 zeigte eine erhöhte Zahl an *Ragged-red*-Fasern in seinem M. paraspinalis, jedoch

keine anderen Charakteristika einer Mitochondriopathie in diesem oder einem seiner anderen Muskeln, ebenso keine Strukturläsionen. Patient 1 bot in seinem M. paraspinalis eine sehr häufige subsarkolemmale Signalanhebung, was in Kombination mit ebenfalls auffällig vermehrten COX-defizienten Fasern durchaus in Richtung einer Mitochondriopathie denken ließ. Andererseits waren die anderen beiden Muskeln hinsichtlich beider Aspekte vollständig unauffällig, obwohl zur gleichen Zeit dem Patienten entnommen.

Dies wirft die Frage auf, ob eine Mitochondriopathie lediglich in einem Muskel lokal auftreten kann, oder ob diese Veränderungen zwar denen einer Mitochondriopathie ähneln, aber einer anderen Ätiologie entspringen. Insgesamt ist das Vorkommen an *Ragged-red*-Fasern innerhalb dieses Patientenkollektivs vergleichbar mit der Anzahl gesehener Fasern in der nicht-neurologisch erkrankten Kontrollgruppe der Arbeit von Wrede et al (2012). Jene Arbeit hatte gezeigt, dass die Mitochondriendichte in der Rückenmuskulatur höher ist als in den Extremitätenmuskeln und *Ragged-red*-Fasern im Rückenmuskel physiologisch häufiger anzutreffen sind als in der Extremitätenmuskulatur. Abschließend sei gesagt, dass bereits rein quantitativ das Vorkommen einzelner *Ragged-red*-Fasern die Ausbildung gehäufte Strukturdefekte und Streamings nicht erklären kann.

4.5 Propriozeptive Dysregulation als Mechanismus der Läsionsentstehung

Verglichen mit den zuvor benannten Studien konnten tatsächlich auch in beiden Gruppen dieser Arbeit feingranuläre Zeichnungsvermehrungen in der Saure-Phosphatase-Reaktion und zentrale Strukturdefekte in den NADH- und SDH-Enzymfärbungen dargestellt werden. Diese Veränderungen können also nicht als für die Kamptokormie spezifisch betrachtet werden. Da Patienten ohne neurodegenerative Erkrankung diese Läsionen jedoch nicht respektive in nur sehr geringer Anzahl aufweisen (Wrede et al. 2012), scheint aber die Degeneration neuronaler Strukturen auf bisher ungeklärte Weise an der Entstehung dieser Myopathie beteiligt zu sein. Daraus folgt auch, dass dieses Bild einer Myopathie durchaus auch einer sekundären Myopathie entsprechen kann.

In diesem Zusammenhang steht die Idee der propriozeptiven Dysregulation als Ursache für die Kamptokormie beim Morbus Parkinson. Gedanklicher Hintergrund ist hierbei die Steuerung der Willkürmotorik durch polysynaptische Reflexbögen. Als Afferenzen gelangen dabei Informationen der Muskel- und Sehnenorgane (Tonus, Position) in das ZNS. Die Verschaltung afferenter Bahnen erfolgt dann insbesondere unter Einbeziehung von Kleinhirn(-kern-gebieten) und Basalganglien. Damit erfolgt eine Integration der Willküraspekte (Bewegungsentwurf), der Bewegungsmuster und der propriozeptiven Informationen. Über efferente Bahnen erfolgt dann die Weitergabe der Informationen an den Muskel, wobei periphere Nerven und neuromuskuläre Junctionszonen eine wichtige Rolle spielen

(Schomburg 1990). Die Interpretation des Bildes als mögliche Folge einer propriozeptiven Dysregulation entstand aufgrund der Literatursuche nach vergleichbaren histomorphologischen Befunden. Dabei wurde ein vergleichbares Bild vorrangig in Studien zur Muskelsteuerung mit experimenteller Tenotomie beschrieben (Engel et al. 1966; Shafiq et al. 1969; Karpati et al. 1972). In diesem Modell entsteht aufgrund der Tenotomie eine plötzliche Tonusabnahme des betroffenen Muskels und somit ein gestörtes propriozeptives Feedback, woraufhin dieser sich nachfolgend reflektorisch maximal kontrahiert. Nachfolgend entsteht das beschriebene Läsionsmuster innerhalb der Muskelfasern dieses Muskels. Voraussetzung hierfür ist allerdings, dass der polysynaptische Reflexbogen hierbei intakt bleibt, da nach experimenteller Denervation oder Chordotomie die Entstehung der zentralen Strukturdefekte nicht zu beobachten war (Karpati et al. 1972).

Theoretisch könnte ebenso durch eine Mitaffektion der Muskelspindeln im Rahmen einer neurodegenerativen Erkrankung die reflektorische Autoregulation der Motorik im Muskel gestört werden. Hinweise dafür liefern histochemische Untersuchungen, die eine Affektion der synaptischen Endigungen im Spindelapparat darstellen konnten (Saito et al. 1978). Die Autoren interpretierten eine Ausweitung der diffusen synaptischen Endigung der γ -Fasern bei gleichzeitiger Degeneration der Endigungen von Nervenfasern anderen Typs als Indiz für eine durch den Spindelapparat induzierte Tonuserhöhung der Muskulatur. In ähnliche Richtung argumentierten ebenso Edström et al. (1970b), welche die zentrale Strukturdefekte in *Musculi biceps brachii* und *vastus lateralis* von Parkinsonpatienten beschrieben. Da im Vergleich zu Biopsien bei Autopsien mehr Material gewonnen werden kann, konnten eine gewisse Zahl von Muskelspindeln in dieser Arbeit mitbeurteilt werden. Dabei ergaben sich sowohl enzym- wie immunhistochemisch jedoch keine wegweisenden Befunde, sodass eine generelle Veränderung von intrafusalen Strukturen nicht nachgewiesen werden konnte. Insbesondere konnte keine pathologischen Ablagerungen von alpha-Synuklein nachgewiesen werden.

Dass im Rahmen des Morbus Parkinson die Ursache für eine propriozeptive Dysregulation innerhalb der Muskulatur liegt, ist somit eher unwahrscheinlich. Zum einen ist naturgemäß eine Affektion der propriozeptiven Steuerung durch den Morbus Parkinson innerhalb zentralnervöser Strukturen (Basalganglien, Kleinhirn) denkbar. Eine Störung des afferenten Teils des polysynaptischen Reflexbogens auf Ebene des Rückenmarks wäre ebenso plausibel, da ein ähnliches myopathologisches Bild auch bei schwerwiegenden chirurgischen Eingriffen/deutlichen Traumata im Bereich des Rückens (Delisle et al. 1993; Zimmermann et al. 2015), Bandscheibenherniationen mit Kompression des Spinalkanals (Mattila et al. 1986) und generell mit zunehmendem Alter (Wharton et al. 1996) und damit einhergehender knöcherner Degeneration des Achsenskeletts (Schulz-Schaeffer 2016) einhergeht.

Es bleibt die Frage offen, warum die Rumpfmuskulatur deutlich stärker von den Strukturdefekten betroffen erscheint als die Extremitätenmuskulatur. Möglicherweise liegt die Ursache darin begründet, dass die axiale Muskulatur vor allem dauerhafte Haltearbeit verrichtet, wohingegen die Extremitäten weniger andauernde, dafür kurzfristige höhere Kontraktionskraft erbringen müssen. Die Unterschiedliche myopathische Affektion der Muskeln könnte darauf hinweisen, dass kontinuierliche Belastung die Muskelschädigung vorantreibt. Insbesondere die Eigenregulation des Muskeltonus über den polysynaptischen Reflexbogen zum Rückenmark ist zur Wahrung einer aufrechten Körperhaltung umso wichtiger als für einen Beugemuskel der Extremität. Somit könnte eine Affektion eben dieses Steuerungsmechanismus auf bisher nicht erklärte Weise zum hier beschriebenen Schädigungsmuster führen, insbesondere in der Rumpfmuskulatur.

Hierzu passt eine weitere Auffälligkeit, dass vorherige Arbeitsgruppen das gesehene Läsionsmuster vornehmlich innerhalb von Typ-1-Fasern beschrieben haben (Wrede et al. 2012). Tatsächlich ist der Gehalt an Typ-1-Fasern in der Rumpfmuskulatur (M. erector spinae: ca. 60 % (Sulemana und Suchenwirth 1972; Thorstensson und Carlson 1987)) höher als in der Extremitätenmuskulatur. Zur Diskussion steht daher, ob der Anteil an betroffenen Typ-1-Fasern deshalb höher ist, weil in den Musculi erector spinae und rectus femoris anteilig mehr Typ-1-Fasern vorkommen als im Musculus deltoideus (Anteil an Typ-1-Fasern ca. 55 % (Gollnick et al. 1972)) oder im Musculus quadriceps femoris (Anteil an Typ-1-Fasern ca. 40-50 % in untrainierten Individuen (Gollnick et al. 1972; Howald 1982)). Allerdings kommen die Streamings im Mittel ca. viereinhalb Mal häufiger im Musculus erector spinae als im Musculus deltoideus bei nur 5 % mehr Typ-1-Fasern vor. Die Divergenz des Faseranteils ist somit zu gering, um eine prädominante Betroffenheit von Typ-1-Fasern rein über ihren höheren Anteil an der Gesamtzahl an Muskelfasern zu erklären.

Vielmehr scheinen die zentralen Strukturdefekte vor allem in hypertrophierten Fasern aufzutreten (Wrede et al. 2012). Möglicherweise könnte eine Affektion der propriozeptiven Steuerung zu einem Untergang von Typ-2-Fasern führen und kompensatorisch eine Hypertrophie von Typ-1-Fasern induzieren. Der Versuch einer Kompensation kann mit einer erhöhten oder zumindest veränderten intrazellulären Proteinsynthese einhergehen (Langer et al. 2018), was wiederum langfristig in eine Zerstörung der intrazellulären Ordnungsstruktur und damit zentralen Strukturdefekten, schlussendlich einem muskulären Funktionsverlust, münden könnte. Dies wirft ebenfalls die Frage auf, inwieweit eine Faserhypertrophie somit zentral gesteuert wird.

Angemerkt sei hier, dass die zentralen Defekte in der Muskulatur des ALS-Patienten ebenfalls in hypertrophen Fasern vorkommen und den anderen Defekten ähneln, jedoch

etwas anders erscheinen und in nochmals deutlich größerer Anzahl an Fasern vorkommen. Insgesamt scheinen ähnliche pathophysiologische Mechanismen zu existieren, die in ähnlichen muskulären Schädigungsmustern münden. Somit können gegebenenfalls verschiedene Krankheiten über ähnliche pathophysiologische Mechanismen mit oder ohne Streaming schlussendlich ähnliche Strukturdefekte hervorrufen.

4.6 Gibt es einen Hinweis auf eine periphere α -Synuklein-Pathologie?

In Zuge dieser Arbeit wurde der Versuch unternommen, in immunhistochemischen Verfahren mit gegen α -Synuklein gerichteten Antikörpern das Vorhandensein von α -Synuklein in der peripheren Muskulatur nachzuweisen. Braak et al. (2003) haben Anfang des Jahrtausends postuliert, dass die Levy-Körper-Pathologie des Morbus Parkinson im ZNS einem rostrokranielen Gradienten folgt und sich progressiv interneuronal ausbreitet. Somit wäre es denkbar, dass vom ZNS ausgehend über die peripheren Nerven eine pathologische Distribution und Akkumulation, vielleicht sogar Aggregation von α -Synuklein erfolgt. Die Immunhistochemischen Untersuchungen dieser Studie liefern das bereits beschriebene, distinkte und reproduzierbare Signal innerhalb der Nervenfasern. Es wurden zwei verschiedene Färbesysteme getestet und beide lieferten vergleichbare Ergebnisse. Dieser immunhistochemische Nachweis von α -Synuklein besagt zunächst lediglich, dass das Protein an Ort des Nachweises in ausreichender Menge exprimiert wird, um in diesen Verfahren detektiert zu werden. Theoretisch würden solche Nachweise für α -Synuklein auch sehr gut zu der Vorstellung einer α -Synukleinaggregation in peripheren Nerven passen.

Allerdings zeigen alle Fälle dieser Studie derartige Signalverteilungen, ebenfalls jene Patienten mit einer nicht- α -Synuklein-assoziierten Erkrankung. Um in dieser Situation eine Differenzierung zwischen physiologischem und pathologisch aggregiertem α -Synuklein zu erreichen, wurde zusätzlich jeder der vier Muskeln eines sehr jung an einer Encephalitis verstorbenen Patienten gefärbt, welche ebenfalls ein derartiges Signalverteilungsmuster zeigt. Folglich ist mit großer Sicherheit anzunehmen, dass es sich bei den Immunfärbesignalen auf α -Synuklein innerhalb der peripheren Nerven lediglich um sehr beständige Anfärbungen, am ehesten von physiologischen α -Synukleinvorkommen, handelt. Möglicherweise kommt es zwischen den Lagen der Myelinscheiden von Nerven zu unspezifischen Präzipitationen der Antikörperlösung, die derartige Hintergrundsignale hervorrufen.

Bisher wurde Skelettmuskulatur nicht morphologisch mittels Anti- α -Synuklein-Antikörpern untersucht, jedoch existieren Studien an Darmbiopsien, die ein vergleichbares Signal (Anfärbung von Nervenzellen, Ganglien und Makrophagen in der Submucosa) berichtet haben (Sprenger et al. 2015). Dort wurden teilweise ebenfalls unspezifische Reaktionsmuster der Antikörper auf intestinale Strukturen beobachtet (Aldecoa et al. 2015). Ebenso gibt

es Veröffentlichungen über immunhistochemische beziehungsweise Immunfluoreszenz-Untersuchungen an Hautbiopsien von Parkinson- und MSA-Patienten, in denen innerhalb der dermalen Nervenfasern α -Synukleinablagerungen über Antikörper entdeckt worden sind (Doppler et al. 2015). Andere Arbeitsgruppen finden wiederum bei immunhistochemischen Untersuchungen vergleichbarer Proben gar keine Signalanhebungen (Zange et al. 2015). An der divergenten Interpretation der Ergebnisse der entsprechenden Studien wird klar, dass der isolierte immunhistochemische Nachweis von α -Synuklein zum Nachweis einer Pathologie nicht ausreicht. Eine Unterscheidung pathologisch aggregierter Proteine von dem physiologisch (variabel exprimierten) Protein ist unabdingbar. Um diesem Aspekt Rechnung zu tragen, wurde der nachfolgend beschriebene Weg gewählt.

4.7 Ist die Parkinsonerkrankung assoziiert mit peripherer α -Synukleinaggregation?

Ob im Rahmen der Parkinsonerkrankung eine Aggregation von zytoplasmatischen Proteinen im peripheren Nervensystem oder in der Muskulatur vorliegt, wurde bisher nicht untersucht. Denkbar wäre, dass pathologische Ablagerungen in peripheren Nerven oder neuromuskulären Junctionszonen eine gestörte Innervation beziehungsweise Störung der neuromuskulären Steuerung verursachen.

Des weiteren beschreiben Spuler et al. (2010) in ihren histomorphologischen Untersuchungen an Muskelproben von Kamptokormiepatienten amorphe Substanzmassen und eine myofibrilläre Desorganisation in den zentralen NADH-Strukturdefekten von Muskelfasern. Diese reagierten in der Immunhistochemie mit Antikörpern gegen Desmin und Dystrophin zwar positiv, wurden hinsichtlich einer tatsächlichen Proteinaggregation mit einem geeigneten Verfahren jedoch nicht untersucht. Leider ließen sich die beschriebenen zentralen Proteinansammlungen in dieser Arbeit nicht nachweisen und untersuchen.

In dieser Arbeit wurden im PET-Blot neben den Muskelfasern selbst auch viele periphere Nervenanschnitte mit untersucht. Bereits die negativen Ergebnisse in der Immunhistochemie machten ein positives PET-Blot-Ergebnis sehr unwahrscheinlich. Durch die allseits negativen Resultate bei regelrecht gefärbten Positivkontrollen ist eine α -Synukleinaggregation innerhalb der Skelettmuskulatur in dieser Arbeit nicht nachgewiesen und prinzipiell unwahrscheinlich. Obgleich somit eine Aggregation von α -Synuklein sowohl im Muskel wie im peripheren Nervensystem unwahrscheinlich ist, erfolgte in dieser Arbeit keine PET-Blot-Untersuchung mit Antikörpern gegen andere Proteinstrukturen. Sollten in zukünftigen Arbeiten zentrale NADH-Strukturdefekte in Kombination mit amorphen Proteinmassen innerhalb von Muskelfasern auftreten, wäre eine PET-Blot-Untersuchung beispielsweise auf Desmin und Dystrophin wünschenswert, um eine tatsächliche Proteinaggregation nachweisen oder ausschließen zu können.

5. Zusammenfassung

Es existiert ein wiederkehrendes Muster an myopathologischen Veränderungen innerhalb der paravertebralen Muskulatur von Patienten mit Kamptokormie. Wrede et al. (2012) definierten daraufhin Haupt- und Nebenkriterien für die histopathologische Diagnose einer Kamptokormie. Diese beinhalten als Hauptkriterien zentrale Strukturdefekte in Muskelfasern, welche in den COX-, SDH- und NADH-Enzymfärbungen negativ erscheinen, dafür eine feingranuläre Reaktivität in der Saure-Phosphatase-Reaktion aufweisen und in der Elektronenmikroskopie eine myofibrilläre Desorganisation zeigen. Die Nebenkriterien umfassen eine erhöhte Kalibervariation der Muskelfasern, eine Typ-2-Faser-Atrophie, das Auftreten von *whorled fibres*, eine erhöhte Anzahl interner Kerne und Kernsäcke sowie eine gesteigerte endomysiale Fibrose.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob dieses Schädigungsmuster spezifisch für die Kamptokormie ist oder eine Veränderung, die generell im Rahmen des Morbus Parkinson auftritt unabhängig vom Vorliegen einer Kamptokormie. Hierzu wurden die paravertebralen Muskeln von neun Parkinsonpatienten ohne klinische Hinweise auf eine Kamptokormie, drei Patienten mit einer Lewy-Body-Demenz und fünf Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen enzymhistochemisch untersucht. Dabei zeigte sich, dass sowohl Parkinsonpatienten ohne klinische Zeichen einer Kamptokormie wie auch Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen diese Muskelveränderungen zeigen. Die Veränderungen können somit weder als Kamptokormie- noch als Parkinson-spezifisch betrachtet werden.

Bisherige Arbeiten konzentrierten sich in ihren Untersuchungen vor allem auf die paravertebrale Muskulatur. In dieser Untersuchung wurden neben dem Musculus erector spinae auch der Musculus deltoideus als typische Kontrollprobe, der Musculus rectus abdominis als weiterer Rumpfmuskel und Antagonist des Musculus erector spinae, sowie der Musculus quadriceps femoris untersucht. Letzterer wurde aufgrund seiner möglichen Rolle in der Pathophysiologie des *Bent-knee*-Syndroms, einer mit der Kamptokormie verwandten neurologischen Störung, ausgewählt. Es zeigte sich, dass vor allem der Musculus erector spinae sowie der Musculus rectus abdominis von den myopathologischen Veränderungen betroffen sind. Warum die Rumpfmuskulatur stärker betroffen ist als die beiden Extremitätenmuskeln, könnte durch die unterschiedliche Beanspruchung (kontinuierliche Haltearbeit versus kurze, starke Belastung) erklärt werden.

Die Ausprägung und Häufigkeit der myopathologischen Veränderungen variiert zum Teil stark von Muskelprobe zu Muskelprobe, was möglicherweise auf eine zeitliche Abfolge im Schädigungsprozess hindeutet.

In den immunhistochemischen Untersuchungen dieser Arbeit zeigten sich feingranuläre Signalanhebungen vor allem in peripheren Nerven aller drei Patientenkollektive. Allerdings konnten diese Signale auch in den Nerven eines jungen Patienten ohne neurodegenerative Erkrankung reproduziert werden. Dies zeigt, dass das Vorliegen von positiver Reaktivität auf Anti- α -Synuklein-Antikörper in Gewebe nicht als Manifestation einer Pathologie gewertet werden darf, zumal α -Synuklein physiologischerweise insbesondere in Nervengewebe vorkommt.

Mithilfe von PET-Blot-Untersuchung konnte eine α -Synukleinaggregation in Muskel- oder Nervengewebe nicht nachgewiesen werden, eine periphere α -Synukleinaggregation ist unwahrscheinlich. Gleichwohl sollte bei Nachweis von Proteinansammlungen eine PET-Blot-Untersuchung mit Antikörpern gegen andere Proteinstrukturen wiederholt werden.

6. Literaturverzeichnis

- Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, Lolk A, Nielsen H, Kragh-Sørensen P (2001): Risk of dementia in Parkinson's disease: a community-based, prospective study. *Neurology* 56, 730–736
- Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, Lolk A (2003): Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease: an 8-year prospective study. *Arch Neurol* 60, 387–392
- Aarsland D, Zaccai J, Brayne C (2005): A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 20, 1255–1263
- Abe K, Uchida Y, Notani M (2010): Camptocormia in Parkinson's disease. *Park Dis* 2010
- Ahlqvist G, Landin S, Wroblewski R (1975): Ultrastructure of skeletal muscle in patients with Parkinson's disease and upper motor lesions. *Lab Investig J Tech Methods Pathol* 32, 673–679
- Aldecoa I, Navarro-Otano J, Stefanova N, Sprenger FS, Seppi K, Poewe W, Cuatrecasas M, Valdeoriola F, Gelpi E, Tolosa E (2015): Alpha-synuclein immunoreactivity patterns in the enteric nervous system. *Neurosci Lett* 602, 145–149
- Al-Wandi A, Ninkina N, Millership S, Williamson SJM, Jones PA, Buchman VL (2010): Absence of alpha-synuclein affects dopamine metabolism and synaptic markers in the striatum of aging mice. *Neurobiol Aging* 31, 796–804
- Anden NE, Carlsson A, Dahlstroem A, Fuxe K, Hillarp NA, Larsson K (1964): Demonstration and mapping out of nigro-neostriatal dopamine Neurons. *Life Sci* 3, 523–530
- Aramideh M, Ongerboer de Visser BW, Brans JW, Koelman JH, Speelman JD (1995): Pretarsal application of botulinum toxin for treatment of blepharospasm. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 59, 309–311
- Ashour R, Jankovic J (2006): Joint and skeletal deformities in Parkinson's disease, multiple system atrophy, and progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* 21, 1856–1863
- Askmark H, Eeg-Olofsson K, Johansson A, Nilsson P, Olsson Y, Aquilonius S (2001): Parkinsonism and neck extensor myopathy: a new syndrome or coincidental findings? *Arch Neurol* 58, 232–237
- Azher SN, Jankovic J (2005): Camptocormia: pathogenesis, classification, and response to therapy. *Neurology* 65, 355–359
- Baba M, Nakajo S, Tu PH, Tomita T, Nakaya K, Lee VM, Trojanowski JQ, Iwatsubo T (1998): Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Am J Pathol* 152, 879–884
- Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White III CL, Akiyama H, Caviness JN, Shill HA, Sabbagh MN, Walker DG (2010): Multi-organ distribution of phosphorylated α -synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta Neuropathol (Berl)* 119, 689–702

- Benatru I, Vaugoyeau M, Azulay JP (2008): Postural disorders in Parkinson's disease. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol* 38, 459–465
- Bertler A, Rosengren E (1959a): Occurrence and distribution of catechol amines in brain. *Acta Physiol Scand* 47, 350–361
- Bertler A, Rosengren E (1959b): Occurrence and distribution of dopamine in brain and other tissues. *Experientia* 15, 10–11
- Blaschko H (1957): Metabolism and storage of biogenic amines. *Experientia* 13, 9–13
- Bloch F, Houeto JL, Tezenas du Montcel S, Bonneville F, Etchepare F, Welter ML, Rivaud-Pechoux S, Hahn-Barma V, Maisonobe T, Behar C et al. (2006): Parkinson's disease with camptocormia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77, 1223–1228
- Boeve BF, Lang AE, Litvan I (2003): Corticobasal degeneration and its relationship to progressive supranuclear palsy and frontotemporal dementia. *Ann Neurol* 54, 15–19
- Bonanni L, Thomas A, Varanese S, Scorrano V, Onofri M (2007): Botulinum toxin treatment of lateral axial dystonia in Parkinsonism. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 22, 2097–2103
- Bouzgarou E, Dupeyron A, Castelnovo G, Boudousq V, Collombier L, Labauge P, Péliissier J (2007): Camptocormia disclosing Parkinson's disease. *Ann Réadapt Médecine Phys Rev Sci Société Fr Rééduc Fonct Réadapt Médecine Phys* 50, 55–59
- Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm-Clement J, Sandmann-Keil D, Rüb U (2002): Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J Neurol* 249, 1–5
- Braak H, Tredici KD, Rüb U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E (2003): Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 24, 197–211
- Braak H, Ghebremedhin E, Rüb U, Bratzke H, Tredici K (2004): Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res* 318, 121–134
- Braak H, Bohl JR, Müller CM, Rüb U, de Vos RAI, Del Tredici K (2006): Stanley Fahn Lecture 2005: The staging procedure for the inclusion body pathology associated with sporadic Parkinson's disease reconsidered. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 21, 2042–2051
- Brissaud É: Anatomie du cerveau de l'homme : morphologie des hémisphères cérébraux, ou cerveau proprement dit. Masson, Paris 1893
- Brodie B: Pathological and surgical observation on the diseases of the joints. Longman, London 1818
- Budrys V (2005): Parkinson's disease before Parkinson, Vilnius 1814. *J R Soc Med* 98, 178–179
- Burke RE, Dauer WT, Vonsattel JPG (2008): A critical evaluation of the Braak staging scheme for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 64, 485–491

- Byrnes CM (1926): A contribution to the pathology of paralysis agitans. *Arch Neurol Psychiatry* 15, 407
- Cabin DE, Shimazu K, Murphy D, Cole NB, Gottschalk W, McIlwain KL, Orrison B, Chen A, Ellis CE, Paylor R et al. (2002): Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 22, 8797–8807
- Carlsson A, Waldeck B (1958): A fluorimetric method for the determination of dopamine (3-hydroxytyramine). *Acta Physiol Scand* 44, 293–298
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T (1957): 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-Hydroxytryptophan as Reserpine Antagonists. *Nature* 180, 1200–1200
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T, Waldeck B (1958): On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science* 127, 471
- Carlsson A, Falck B, Hillarp NA, Torp A (1962): Histochemical localization at the cellular level of hypothalamic noradrenaline. *Acta Physiol Scand* 54, 385–386
- Chaouat D, Belange G (1999): Dropped head syndrome. Three case-reports. *Rev Rhum Engl Ed* 66, 430–433
- Chartier-Harlin M-C, Kachergus J, Roumier C, Mouroux V, Douay X, Lincoln S, Leveque C, Larvor L, Andrieux J, Hulihan M et al. (2004): Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet Lond Engl* 364, 1167–1169
- Chen L, Feany MB (2005): α -Synuclein phosphorylation controls neurotoxicity and inclusion formation in a *Drosophila* model of Parkinson disease. *Nat Neurosci* 8, 657–663
- Cheng HC, Ulane CM, Burke RE (2010): Clinical progression in Parkinson disease and the neurobiology of axons. *Ann Neurol* 67, 715–725
- Cohn T (1920): Encephalitis ohne Lethargie während der Grippeepidemie. *Neurologisches Centralblatt* 8, 260–264
- Cole MH, Rippey J, Naughton GA, Silburn PA (2016): Use of a short-form balance confidence scale to predict future recurrent falls in people with Parkinson disease. *Arch Phys Med Rehabil* 97, 152–156
- Crowther RA, Jakes R, Spillantini MG, Goedert M (1998): Synthetic filaments assembled from C-terminally truncated alpha-synuclein. *FEBS Lett* 436, 309–312
- Cummings JL (1992): Depression and Parkinson's disease: a review. *Am J Psychiatry* 149, 443–454
- Dahlstroem A, Fuxe K (1964): Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol Scand Suppl* 232, 1-55

- Del Tredici K, Hawkes CH, Ghebremedhin E, Braak H (2010): Lewy pathology in the submandibular gland of individuals with incidental Lewy body disease and sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 119, 703–713
- Delisle MB, Laroche M, Dupont H, Rochaix P, Rumeau JL (1993): Morphological analyses of paraspinal muscles: comparison of progressive lumbar kyphosis (camptocormia) and narrowing of lumbar canal by disc protrusions. *Neuromuscul Disord NMD* 3, 579–582
- DGN (2016): Idiopathisches Parkinson-Syndrom. S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie. <https://dgn.org/leitlinien/030-010-idiopathisches-parkinson-syndrom>; abgerufen am 25.10.2018
- Di Matteo A, Fasano A, Squintani G, Ricciardi L, Bovi T, Fiaschi A, Barone P, Tinazzi M (2011): Lateral trunk flexion in Parkinson's disease: EMG features disclose two different underlying pathophysiological mechanisms. *J Neurol* 258, 740–745
- Dickson DW, Fujishiro H, DelleDonne A, Menke J, Ahmed Z, Klos KJ, Josephs KA, Frigerio R, Burnett M, Parisi JE et al. (2008): Evidence that incidental Lewy body disease is pre-symptomatic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 115, 437–444
- Djaldetti R, Mosberg-Galili R, Sroka H, Merims D, Melamed E (1999): Camptocormia (bent spine) in patients with Parkinson's disease - characterization and possible pathogenesis of an unusual phenomenon. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 14, 443–447
- Djaldetti R, Hellmann M, Melamed E (2004): Bent knees and tiptoeing: late manifestations of end-stage Parkinson's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 19, 1325–1328
- Djaldetti R, Shifrin A, Rogowski Z, Sprecher E, Melamed E, Yarnitsky D (2004): Quantitative measurement of pain sensation in patients with Parkinson disease. *Neurology* 62, 2171–2175
- Dominick J, Sheean G, Schleimer J, Wixom C (2006): Response of the dropped head/bent spine syndrome to treatment with intravenous immunoglobulin. *Muscle Nerve* 33, 824–826
- Doppler K, Weis J, Karl K, Ebert S, Ebentheuer J, Trenkwalder C, Klebe S, Volkmann J, Sommer C (2015): Distinctive distribution of phospho-alpha-synuclein in dermal nerves in multiple system atrophy. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 30, 1688–1692
- Duman I, Baklaci K, Tan AK, Kalyon TA (2008): Unusual case of camptocormia triggered by lumbar-disc herniation. *Clin Rheumatol* 27, 525–527
- Dupeyron A, Stober N, Gelis A, Castelnovo G, Labauge P, Pélissier J (2010): Painful camptocormia: the relevance of shaking your patient's hand. *Eur Spine J Off Publ Eur Spine Soc Eur Spinal Deform Soc Eur Sect Cerv Spine Res Soc* 19, S87-90
- Earle H (1815): Reply to the review of Mr Bayton's essay on the cure of crooked spine. *Edinb Med Surg J* 11, 35–51

- Ebadi M, Srinivasan SK, Baxi MD (1996): Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 48, 1–19
- Edström L (1970a): Selective atrophy of red muscle fibres in the quadriceps in long-standing knee-joint dysfunction. Injuries to the anterior cruciate ligament. *J Neurol Sci* 11, 551–558
- Edström L (1970b): Selective changes in the sizes of red and white muscle fibres in upper motor lesions and Parkinsonism. *J Neurol Sci* 11, 537–550
- Ehren I, Volz D, Farrelly E, Berglund L, Brundin L, Hultling C, Lafolie P (2007): Efficacy and impact of botulinum toxin A on quality of life in patients with neurogenic detrusor overactivity: a randomised, placebo-controlled, double-blind study. *Scand J Urol Nephrol* 41, 335–340
- Ehringer H, Hornykiewicz O (1960): Verteilung von Noradrenalin und Dopamin (3-Hydroxytyramin) im Gehirn des Menschen und ihr Verhalten bei Erkrankungen des extrapyramidalen Systems. *Klin Wochenschr* 38, 1236–1239
- Engel WK, Brooke MH, Nelson PG (1966): Histochemical studies of denervated or tenotomized cat muscle: illustrating difficulties in relating experimental animal conditions to human neuromuscular diseases. *Ann N Y Acad Sci* 138, 160–185
- Espay AJ, Fasano A, van Nuenen BFL, Payne MM, Snijders AH, Bloem BR (2012): „On“ state freezing of gait in Parkinson disease: a paradoxical levodopa-induced complication. *Neurology* 78, 454–457
- Falck B, Torp A (1962): New evidence for the localization of noradrenalin in the adrenergic nerve terminals. *Med Exp Int J Exp Med* 6, 169–172
- Farrer M, Kachergus J, Forno L, Lincoln S, Wang DS, Hulihan M, Maraganore D, Gwinn-Hardy K, Wszolek Z, Dickson D et al. (2004): Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications. *Ann Neurol* 55, 174–179
- Feriha O, Aytul M, Hasan M (2004): A case of camptocormia (bent spine) secondary to early motor neuron disease. *Behav Neurol* 15, 51–54
- Fietzek UM, Messner M, Ceballos-Baumann A (2013): Therapy options with botulinum toxin for patients with Parkinson's disease. *Nervenheilkunde* 32, 949–953
- Findlay AR, Lewis S, Sahenk Z, Flanigan KM (2013): Camptocormia as a late presentation in a manifesting carrier of duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 47, 124–127
- Finsterer J, Strobl W (2010): Presentation, Etiology, Diagnosis, and Management of Camptocormia. *Eur Neurol* 64, 1–8
- Foix C, Niculescu I: Les noyaux gris centraux et la région Mésencéphalo-sous-optique., Suivi d'un apéndice sur l'anatomie pathologique de la maladie de Parkinson. In: Masson et Cie (Hrsg.): *Anatomie cérébrale*. Masson, Paris 1925, 508–538

- Fuchs J, Nilsson C, Kachergus J, Munz M, Larsson EM, Schüle B, Langston JW, Middleton FA, Ross OA, Hulihan M et al. (2007): Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication. *Neurology* 68, 916–922
- Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, Kawashima A, Masliah E, Goldberg MS, Shen J, Takio K, Iwatsubo T (2002): alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol* 4, 160–164
- Fukaya C, Otaka T, Obuchi T, Kano T, Nagaoka T, Kobayashi K, Oshima H, Yamamoto T, Katayama Y (2006): Pallidal high-frequency deep brain stimulation for camptocormia: an experience of three cases. *Acta Neurochir Suppl* 99, 25–28
- Furusawa Y, Mukai Y, Kawazoe T, Sano T, Nakamura H, Sakamoto C, Iwata Y, Wakita M, Nakata Y, Kamiya K et al. (2013): Long-term effect of repeated lidocaine injections into the external oblique for upper camptocormia in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 19, 350–354
- Gdynia HJ, Sperfeld AD, Unrath A, Ludolph AC, Sabolek M, Storch A, Kassubek J (2009): Histopathological analysis of skeletal muscle in patients with Parkinson's disease and „dropped head"/"bent spine“ syndrome. *Parkinsonism Relat Disord* 15, 633–639
- Gibb WR, Lees AJ (1988): The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 51, 745–752
- Giladi N, Kao R, Fahn S (1997): Freezing phenomenon in patients with parkinsonian syndromes. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 12, 302–305
- Gilman S, Wenning GK, Low PA, Brooks DJ, Mathias CJ, Trojanowski JQ, Wood NW, Colosimo C, Dürr A, Fowler CJ et al. (2008): Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology* 71, 670–676
- Goedert M, Spillantini MG (1998): Lewy body diseases and multiple system atrophy as alpha-synucleinopathies. *Mol Psychiatry* 3, 462–465
- Goetz CG, Stebbins GT (1993): Risk factors for nursing home placement in advanced Parkinson's disease. *Neurology* 43, 2227–2229
- Goetz CG, Fahn S, Martinez-Martin P, Poewe W, Sampaio C, Stebbins GT, Stern MB, Tilley BC, Dodel R, Dubois B et al. (2007): Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 22, 41–47
- Goldman JE, Yen SH, Chiu FC, Peress NS (1983): Lewy bodies of Parkinson's disease contain neurofilament antigens. *Science* 221, 1082–1084
- Gollnick PD, Armstrong RB, Saubert CW, Piehl K, Saltin B (1972): Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *J Appl Physiol* 33, 312–319
- Gowers WR: A manual of diseases of the nervous system. Band 2; J. & A. Churchill, London 1886, 591

- Halliday G, Hely M, Reid W, Morris J (2008): The progression of pathology in longitudinally followed patients with Parkinson's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 115, 409–415
- Hassler R (1938): Zur Pathologie der paralysis agitans und des postencephalitschen Parkinsonismus. *J Psychol Neurol* 48, 387–476
- Hawe A, Sutter M, Jiskoot W (2008): Extrinsic fluorescent dyes as tools for protein characterization. *Pharm Res* 25, 1487–1499
- Hedrich K, Eskelson C, Wilmot B, Marder K, Harris J, Garrels J, Meija-Santana H, Vieregge P, Jacobs H, Bressman SB et al. (2004): Distribution, type, and origin of Parkin mutations: review and case studies. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 19, 1146–1157
- Hellmann MA, Djaldetti R, Israel Z, Melamed E (2006): Effect of deep brain subthalamic stimulation on camptocormia and postural abnormalities in idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 21, 2008–2010
- Hilliquin P, Menkès CJ, Laoussadi S, Job-Deslandre C, Serratrice G (1992): Camptocormie du sujet âgé. Une nouvelle entité par atteinte des muscles paravertébraux? *Rev Rhum Mal Ostéo-Articul* 59, 169–175
- Ho B, Prakash R, Morgan JC, Sethi KD (2007): A case of levodopa-responsive camptocormia associated with advanced Parkinson's disease. *Nat Clin Pract Neurol* 3, 526–530
- Hoehn MM, Yahr MD (1967): Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 17, 427–442
- Höglinger GU, Alvarez-Fischer D, Arias-Carrión O, Djufri M, Windolph A, Keber U, Borta A, Ries V, Schwarting RKW, Scheller D et al. (2015): A new dopaminergic nigro-olfactory projection. *Acta Neuropathol (Berl)* 130, 333–348
- Holtz P, Balzer H, Westermann E, Wezler E (1957): Beeinflussung der Epivannarkose durch Reserpin, Iproniazid und biogene Amine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Für Exp Pathol Pharmacol* 231, 333–348
- Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Satoh K, Sano K, Atarashi R, Nishida N (2014): Increased expression of p62/SQSTM1 in prion diseases and its association with pathogenic prion protein. *Sci Rep* 4, 4504
- Horn FL: Motorische Systeme. In: Schmidt RF, Lang F (Hrsg.): *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie (Springer-Lehrbuch)*. 30. Auflage; Springer Medizin, Heidelberg 2007, 143–183
- Hornykiewicz O (1963): Die topische Lokalisation und das Verhalten von Noradrenalin und Dopamin (3-Hydroxytyramin) in der Substantia nigra des normalen und Parkinsonkranken Menschen. *Wien Klin Wochenschr* 75, 309–312
- Howald H (1982): Training-induced morphological and functional changes in skeletal muscle. *Int J Sports Med* 3, 1–12

- Hughes AJ, Daniel SE, Blankson S, Lees AJ (1993): A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. *Arch Neurol* 50, 140–148
- Hund E, Heckl R, Goebel HH, Meinck HM (1995): Inclusion body myositis presenting with isolated erector spinae paresis. *Neurology* 45, 993–994
- Hurst AF (1918): The bent back of soldiers. *Br Med J* 2, 621–624
- Jakobson Mo S, Linder J, Forsgren L, Holmberg H, Larsson A, Riklund K (2013): Pre- and postsynaptic dopamine SPECT in idiopathic Parkinsonian diseases: a follow-up study. *BioMed Res Int* 2013, 143532
- Jellinger KA (2004): Lewy body-related alpha-synucleinopathy in the aged human brain. *J Neural Transm Vienna Austria* 1996 111, 1219–1235
- Jellinger KA (2009): A critical evaluation of current staging of α -synuclein pathology in Lewy body disorders. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* 1792, 730–740
- Jo E, Darabie AA, Han K, Tandon A, Fraser PE, McLaurin J (2004): alpha-Synuclein-synaptosomal membrane interactions: implications for fibrillogenesis. *Eur J Biochem FEBS* 271, 3180–3189
- Jordan B, Eger K, Koesling S, Zierz S (2011): Camptocormia phenotype of FSHD: a clinical and MRI study on six patients. *J Neurol* 258, 866–873
- Karpati G, Carpenter S, Eisen AA (1972): Experimental core-like lesions and nemaline rods. A correlative morphological and physiological study. *Arch Neurol* 27, 237–251
- Kasten M, Chade A, Tanner CM (2007): Epidemiology of Parkinson's disease. *Handb Clin Neurol* 83, 129–151
- Katerina M, Michaela K, Miroslav V, Sandra K, Petr K (2014): Treatment of camptocormia with continuous subcutaneous infusions of apomorphine: 1-year prospective pilot study. *J Neural Transm Vienna Austria* 1996 122, 835–839
- Kiuru S, Iivanainen M (1987): Camptocormia, a new side effect of sodium valproate. *Epilepsy Res* 1, 254–257
- Klein C, Schlossmacher MG (2006): The genetics of Parkinson disease: implications for neurological care. *Nat Clin Pract Neurol* 2, 136–146
- Kottlors M, Kress W, Meng G, Glocker FX (2010): Facioscapulohumeral muscular dystrophy presenting with isolated axial myopathy and bent spine syndrome. *Muscle Nerve* 42, 273–275
- Kramer ML, Schulz-Schaeffer WJ (2007): Presynaptic alpha-synuclein aggregates, not Lewy bodies, cause neurodegeneration in dementia with Lewy bodies. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 27, 1405–1410
- Kuo S-H, Vullaganti M, Jimenez-Shahed J, Kwan JY (2009): Camptocormia as a presentation of generalized inflammatory myopathy. *Muscle Nerve* 40, 1059–1063

- Kuznetsov IA, Kuznetsov AV (2016): What can trigger the onset of Parkinson's disease - A modeling study based on a compartmental model of α -synuclein transport and aggregation in neurons. *Math Biosci* 278, 22-29
- Kuzuhara S, Mori H, Izumiyama N, Yoshimura M, Ihara Y (1988): Lewy bodies are ubiquitinated. A light and electron microscopic immunocytochemical study. *Acta Neuropathol (Berl)* 75, 345-353
- Lagalla G, Millevolte M, Capecci M, Provinciali L, Ceravolo MG (2006): Botulinum toxin type A for drooling in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 21, 704-707
- Langer HT, Senden JMG, Gijzen AP, Kempa S, van Loon LJC, Spuler S (2018): Muscle atrophy due to nerve damage is accompanied by elevated myofibrillar protein synthesis rates. *Front Physiol* 9, 1220
- Laroche M, Cintas P (2010): Bent spine syndrome (camptocormia): a retrospective study of 63 patients. *Jt Bone Spine Rev Rhum* 77, 593-596
- Laroche M, Delisle MB, Aziza R, Lagarrigue J, Mazieres B (1995): Is camptocormia a primary muscular disease? *Spine* 20, 1011-1016
- Larsen KE, Schmitz Y, Troyer MD, Mosharov E, Dietrich P, Quazi AZ, Savalle M, Nemani V, Chaudhry FA, Edwards RH et al. (2006): Alpha-synuclein overexpression in PC12 and chromaffin cells impairs catecholamine release by interfering with a late step in exocytosis. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 26, 11915-11922
- Leenders KL, Salmon EP, Tyrrell P, Perani D, Brooks DJ, Sager H, Jones T, Marsden CD, Frackowiak RS (1990): The nigrostriatal dopaminergic system assessed in vivo by positron emission tomography in healthy volunteer subjects and patients with Parkinson's disease. *Arch Neurol* 47, 1290-1298
- Lenoir T, Guedj N, Boulu P, Guigui P, Benoist M (2010): Camptocormia: the bent spine syndrome, an update. *Eur Spine J Off Publ Eur Spine Soc Eur Spinal Deform Soc Eur Sect Cerv Spine Res Soc* 19, 1229-1237
- Lepoutre AC, Devos D, Blanchard-Dauphin A, Pardessus V, Maurage CA, Ferriby D, Hurtevent JF, Cotten A, Destée A, Defebvre L (2006): A specific clinical pattern of camptocormia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77, 1229-1234
- Lesage S, Brice A (2009): Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. *Hum Mol Genet* 18, R48-59
- Lewy FH: Paralysis agitans. In: Lewandowsky M (Hrsg.): *Handbuch der Neurologie*. Band 3; Springer, Berlin 1912, 920-33
- Lewy FH (1913): Zur Pathologischen Anatomie der Paralysis agitans. *Dtsch Z Für Nervenheilkd* 50, 50-55
- Lindholm B, Hagell P, Hansson O, Nilsson MH (2015): Prediction of falls and/or near falls in people with mild Parkinson's disease. *PloS One* 10, e0117018

- Lindvall O, Björklund A (1974): The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta Physiol Scand Suppl* 412, 1–48
- Litvan I, Agid Y, Calne D, Campbell G, Dubois B, Duvoisin RC, Goetz CG, Golbe LI, Grafman J, Growdon JH et al. (1996): Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop. *Neurology* 47, 1–9
- Liu Y, Zhou Q, Tang M, Fu N, Shao W, Zhang S, Yin Y, Zeng R, Wang X, Hu G et al. (2015): Upregulation of alphaB-crystallin expression in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 36, 1686–1691
- Loh LM, Hum AYM, Teoh HL, Lim ECH (2005): Graves' disease associated with spasmodic truncal flexion. *Parkinsonism Relat Disord* 11, 117–119
- Lohmann E, Periquet M, Bonifati V, Wood NW, De Michele G, Bonnet AM, Fraix V, Broussolle E, Horstink MWIM, Vidailhet M et al. (2003): How much phenotypic variation can be attributed to parkin genotype? *Ann Neurol* 54, 176–185
- Løseth S, Voermans NC, Torbergesen T, Lillis S, Jonsrud C, Lindal S, Kamsteeg EJ, Lamens M, Broman M, Dekomien G et al. (2013): A novel late-onset axial myopathy associated with mutations in the skeletal muscle ryanodine receptor (RYR1) gene. *J Neurol* 260, 1504–1510
- Lowe J, Blanchard A, Morrell K, Lennox G, Reynolds L, Billett M, Landon M, Mayer RJ (1988): Ubiquitin is a common factor in intermediate filament inclusion bodies of diverse type in man, including those of Parkinson's disease, Pick's disease, and Alzheimer's disease, as well as Rosenthal fibres in cerebellar astrocytomas, cytoplasmic bodies in muscle, and mallory bodies in alcoholic liver disease. *J Pathol* 155, 9–15
- Margraf N, Deuschl G (2010): Kamptokormie bei Morbus Parkinson. *Aktuelle Neurol* 37, 319–326
- Margraf NG, Wrede A, Rohr A, Schulz-Schaeffer WJ, Raethjen J, Eymess A, Volkmann J, Mehdorn MH, Jansen O, Deuschl G (2010): Camptocormia in idiopathic Parkinson's disease: A focal myopathy of the paravertebral muscles. *Mov Disord* 25, 542–551
- Margraf NG, Rohr A, Granert O, Hampel J, Drews A, Deuschl G (2015): MRI of lumbar trunk muscles in patients with Parkinson's disease and camptocormia. *J Neurol* 262, 1655–1664
- Margraf NG, Wrede A, Deuschl G, Schulz-Schaeffer WJ (2016): Pathophysiological Concepts and Treatment of Camptocormia. *J Park Dis* 6, 485–501
- Margraf NG, Granert O, Hampel J, Wrede A, Schulz-Schaeffer WJ, Deuschl G (2017a): Clinical Definition of Camptocormia in Parkinson's Disease. *Mov Disord Clin Pract* 4, 349–357

- Margraf NG, Rogalski M, Deuschl G, Kuhtz-Buschbeck JP (2017b): Trunk muscle activation pattern in parkinsonian camptocormia as revealed with surface electromyography. *Parkinsonism Relat Disord* 44, 44–50
- Marsden CD, Obeso JA (1994): The functions of the basal ganglia and the paradox of stereotaxic surgery in Parkinson's disease. *Brain J Neurol* 117, 877–897
- Maschke M, Tuite PJ, Pickett K, Wächter T, Konczak J (2005): The effect of subthalamic nucleus stimulation on kinaesthesia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76, 569–571
- Mattila M, Hurme M, Alaranta H, Paljärvi L, Kalimo H, Falck B, Lehto M, Einola S, Järvinen M (1986): The multifidus muscle in patients with lumbar disc herniation. A histochemical and morphometric analysis of intraoperative biopsies. *Spine* 11, 732–738
- McKeith IG (2006): Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the Consortium on DLB International Workshop. *J Alzheimers Dis JAD* 9, 417–423
- McNaught KS, Olanow CW, Halliwell B, Isacson O, Jenner P (2001): Failure of the ubiquitin-proteasome system in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 2, 589–594
- Mehler-Wex C, Riederer P, Gerlach M (2006): Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of Parkinson's disease, schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder. *Neurotox Res* 10, 167–179
- Méndez Guerrero A, Llamas S, Murcia FJ, Ruíz J (2013): Acute Pisa syndrome after administration of a single dose of mirtazapine. *Clin Neuropharmacol* 36, 133–134
- Montagu KA (1957): Catechol compounds in rat tissues and in brains of different animals. *Nature* 180, 244–245
- Müller A, Reichmann H, Livermore A, Hummel T (2002): Olfactory function in idiopathic Parkinson's disease (IPD): results from cross-sectional studies in IPD patients and long-term follow-up of de-novo IPD patients. *J Neural Transm Vienna Austria* 1996 109, 805–811
- Murrell JR, Koller D, Foroud T, Goedert M, Spillantini MG, Edenberg HJ, Farlow MR, Ghetti B (1997): Familial multiple-system tauopathy with presenile dementia is localized to chromosome 17. *Am J Hum Genet* 61, 1131–1138
- Nakayama Y, Miwa H (2012): Drug-induced camptocormia: a lesson regarding vascular Parkinsonism. *Intern Med Tokyo Jpn* 51, 2843–2844
- Narabayashi H (1995): The neural mechanisms and progressive nature of symptoms of Parkinson's disease - based on clinical, neurophysiological and morphological studies. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 10, 63–75
- Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Benitez-Temino B, Blesa FJ, Guridi J, Marin C, Rodríguez M (2008): Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 23, S548–559

- Oliveira SA, Li Y-J, Nouredine MA, Zuchner S, Qin X, Pericak-Vance MA, Vance JM (2005): Identification of risk and age-at-onset genes on chromosome 1p in Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 77, 252–264
- Panagiotis I, Pantelis M, George B, Dimitris K (2012): Acute Pisa syndrome after administration of a single dose of donepezil. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 24, E26
- Park M-A, Moore SC, Müller SP, McQuaid SJ, Kijewski MF (2013): Performance of a high-sensitivity dedicated cardiac SPECT scanner for striatal uptake quantification in the brain based on analysis of projection data. *Med Phys* 40, 042504
- Parkinson J (1817): *An essay on the shaking palsy*. Whittingham and Rowland for Sherwood, Neely, and Jones, 1817, 88
- Parkkinen L, Kauppinen T, Pirttilä T, Autere JM, Alafuzoff I (2005): Alpha-synuclein pathology does not predict extrapyramidal symptoms or dementia. *Ann Neurol* 57, 82–91
- Parkkinen L, Pirttilä T, Alafuzoff I (2008): Applicability of current staging/categorization of α -synuclein pathology and their clinical relevance. *Acta Neuropathol (Berl)* 115, 399–407
- Playfer JR, Hindle JV: *Parkinson's disease in the older patient*. 2. Auflage; Radcliffe, Oxford 2008
- Pouclet H, Lebouvier T, Coron E, Bruley des Varannes S, Rouaud T, Roy M, Neunlist M, Derkinderen P (2012): A comparison between rectal and colonic biopsies to detect Lewy pathology in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 45, 305–309
- Praharaj SK, Arora M (2007): Pisa syndrome: acute and tardive forms. *South Med J* 100, 853–854
- Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, Priyadarshi SS (2001): Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environ Res* 86, 122–127
- Reichel G, Kirchhöfer U, Stenner A (2001): Kamptokormia - eine segmentale Dystonie. Vorschlag einer neuen Definition für eine alte Krankheit. *Nervenarzt* 72, 281–285
- Revuelta GJ, Montilla J, Benatar M, Freeman A, Wichmann T, Jinnah HA, DeLong MR, Factor SA (2014): An 18F-FDG PET study of cervical muscle in parkinsonian anterocollis. *J Neurol Sci* 340, 174–177
- Rinne JO, Laihinen A, Någren K, Bergman J, Solin O, Haaparanta M, Ruotsalainen U, Rinne UK (1990): PET demonstrates different behaviour of striatal dopamine D-1 and D-2 receptors in early Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 27, 494–499
- Robert F, Koenig M, Robert A, Boyer S, Cathébras P, Camdessanché JP (2010): Acute camptocormia induced by olanzapine: a case report. *J Med Case Reports* 4, 192
- Robertson LT, Horak FB, Anderson VC, Burchiel KJ, Hammerstad JP (2001): Assessments of axial motor control during deep brain stimulation in parkinsonian patients. *Neurosurgery* 48, 544–551

- Rocchi L, Chiari L, Horak FB (2002): Effects of deep brain stimulation and levodopa on postural sway in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73, 267–274
- Saito M, Tomonaga M, Narabayashi H (1978): Histochemical study of the muscle spindles in parkinsonism, motor neuron disease and myasthenia. An examination of the pathological fusimotor endings by the acetylcholinesterase technic. *J Neurol* 219, 261–271
- Sakiyama Y, Okamoto Y, Higuchi I, Inamori Y, Sangatsuda Y, Michizono K, Watanabe O, Hatakeyama H, Goto Y, Arimura K et al. (2011): A new phenotype of mitochondrial disease characterized by familial late-onset predominant axial myopathy and encephalopathy. *Acta Neuropathol (Berl)* 121, 775–783
- Sandmann-Keil D, Braak H (2005): Zur postmortalen Diagnose des idiopathischen Morbus Parkinson - Springer. *Der Pathologe* 26, 214–220
- Sano I, Gamo T, Kakimoto Y, Taniguchi K, Takesada M, Nishinuma K (1959): Distribution of catechol compounds in human brain. *Biochim Biophys Acta* 32, 586–587
- Schäbitz WR, Glatz K, Schuhan C, Sommer C, Berger C, Schwaninger M, Hartmann M, Hilmar Goebel H, Meinck HM (2003): Severe forward flexion of the trunk in Parkinson's disease: Focal myopathy of the paraspinal muscles mimicking camptocormia. *Mov Disord* 18, 408–414
- Schmidt ML, Murray J, Lee VM, Hill WD, Wertkin A, Trojanowski JQ (1991): Epitope map of neurofilament protein domains in cortical and peripheral nervous system Lewy bodies. *Am J Pathol* 139, 53–65
- Schomburg ED (1990): Spinal sensorimotor systems and their supraspinal control. *Neurosci Res* 7, 265–340
- Schulz-Schaeffer WJ (2010): The synaptic pathology of alpha-synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol (Berl)* 120, 131–143
- Schulz-Schaeffer WJ (2016): Camptocormia in Parkinson's Disease: A muscle disease due to dysregulated proprioceptive polysynaptic reflex arch. *Front Aging Neurosci* 8, 128
- Schulz-Schaeffer WJ, Tschöke S, Kranefuss N, Dröse W, Hause-Reitner D, Giese A, Groschup MH, Kretschmar HA (2000): The paraffin-embedded tissue blot detects PrP(Sc) early in the incubation time in prion diseases. *Am J Pathol* 156, 51–56
- Schulz-Schaeffer WJ, Margraf NG, Munser S, Wrede A, Buhmann C, Deuschl G, Oehlwein C (2015): Effect of neurostimulation on camptocormia in Parkinson's disease depends on symptom duration: DBS effect on Camptocormia. *Mov Disord* 30, 368–372
- Schwarz J: Parkinson-Syndrom: Grundlagen, Diagnostik und Therapie. Kohlhammer, Stuttgart 2007

- Seki M, Takahashi K, Koto A, Mihara B, Morita Y, Isozumi K, Ohta K, Muramatsu K, Gotoh J, Yamaguchi K et al. (2011): Camptocormia in Japanese patients with Parkinson's disease: A multicenter study. *Mov Disord* 26, 2567–2571
- Shafiq SA, Gorycki MA, Asiedu SA, Milhorat AT (1969): Tenotomy. Effect on the fine structure of the soleus of the rat. *Arch Neurol* 20, 625–633
- Shimura H, Schlossmacher MG, Hattori N, Frosch MP, Trockenbacher A, Schneider R, Mizuno Y, Kosik KS, Selkoe DJ (2001): Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science* 293, 263–269
- Shinjo SK, Torres SCR, Radu AS (2008): Camptocormia: a rare axial myopathy disease. *Clin São Paulo Braz* 63, 416–417
- Sidhu A, Wersinger C, Vernier P (2004): Does alpha-synuclein modulate dopaminergic synaptic content and tone at the synapse? *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 18, 637–647
- Siebert H, Kahle PJ, Kramer ML, Isik T, Schlüter OM, Schulz-Schaeffer WJ, Brück W (2010): Over-expression of alpha-synuclein in the nervous system enhances axonal degeneration after peripheral nerve lesion in a transgenic mouse strain. *J Neurochem* 114, 1007–1018
- Skidmore F, Anderson K, Fram D, Weiner W (2007): Psychogenic camptocormia. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 22, 1974–1975
- Sławek J, Derejko M, Lass P, Dubaniewicz M (2006): Camptocormia or Pisa syndrome in multiple system atrophy. *Clin Neurol Neurosurg* 108, 699–704
- Smaldone G, Diana D, Pollegioni L, Di Gaetano S, Fattorusso R, Pedone E (2015): Insight into conformational modification of alpha-synuclein in the presence of neuronal whole cells and of their isolated membranes. *FEBS Lett* 589, 798–804
- Solla P, Cannas A, Costantino E, Orofino G, Lavra L, Marrosu F (2012): Pisa syndrome in a patient with progressive supranuclear palsy. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas* 19, 922–923
- Song W, Guo X, Chen K, Huang R, Zhao B, Cao B, Chen Y, Shang HF (2014): Camptocormia in Chinese patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 337, 173–175
- Soper JH, Kehm V, Burd CG, Bankaitis VA, Lee VM-Y (2011): Aggregation of α -synuclein in *S. cerevisiae* is associated with defects in endosomal trafficking and phospholipid biosynthesis. *J Mol Neurosci MN* 43, 391–405
- Souques A, Rosanoff-Saloff M (1914): La camptocormie; incurvation du tronc, consecutive aux traumatismes du dos et des lombes; considérations morphologiques. *Rev Neurol* 28, 937–939
- Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M (1997): Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388, 839–840

- Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M (1998): α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proc Natl Acad Sci* 95, 6469–6473
- Sprenger FS, Stefanova N, Gelpi E, Seppi K, Navarro-Otano J, Offner F, Vilas D, Valldeoriola F, Pont-Sunyer C, Aldecoa I et al. (2015): Enteric nervous system α -synuclein immunoreactivity in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neurology* 85, 1761–1768
- Spuler S, Krug H, Klein C, Medialdea IC, Jakob W, Ebersbach G, Gruber D, Hoffmann K-T, Trottenberg T, Kupsch A (2010): Myopathy causing camptocormia in idiopathic Parkinson's disease: a multidisciplinary approach. *Mov Disord* 25, 552–559
- Steele JC, Richardson JC, Olszewski J (1964): Progressive supranuclear palsy. A heterogeneous degeneration involving the brain stem, basal ganglia and cerebellum with vertical gaze and pseudobulbar palsy, nuchal dystonia and dementia. *Arch Neurol* 10, 333–359
- Sulemana CA, Suchenwirth R (1972): Topische Unterschiede in der enzymhistologischen Zusammensetzung der Skelettmuskulatur. Untersuchungen an 5 Skelettmuskeln von Verstorbenen ohne neuromuskuläre Erkrankungen. *J Neurol Sci* 16, 433–444
- Suzuki T, Koizumi J, Moroji T, Sakuma K, Hori M, Hori T (1990): Clinical characteristics of the Pisa syndrome. *Acta Psychiatr Scand* 82, 454–457
- Swash M, Fox KP (1974): The pathology of the human muscle spindle: effect of denervation. *J Neurol Sci* 22, 1–24
- Tanaka Y, Engelender S, Igarashi S, Rao RK, Wanner T, Tanzi RE, Sawa A, Dawson V, Dawson TM, Ross CA (2001): Inducible expression of mutant alpha-synuclein decreases proteasome activity and increases sensitivity to mitochondria-dependent apoptosis. *Hum Mol Genet* 10, 919–926
- Tanner CM, Chen B, Wang W, Peng M, Liu Z, Liang X, Kao LC, Gilley DW, Goetz CG, Schoenberg BS (1989): Environmental factors and Parkinson's disease: a case-control study in China. *Neurology* 39, 660–664
- Tassorelli C, Furnari A, Buscone S, Alfonsi E, Pacchetti C, Zangaglia R, Pichiecchio A, Bastianello S, Lozza A, Allena M et al. (2012): Pisa syndrome in Parkinson's disease: clinical, electromyographic, and radiological characterization. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 27, 227–235
- Terashima M, Kataoka H, Sugie K, Horikawa H, Ueno S (2009): Coexistence of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and camptocormia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80, 1296–1297
- Thorstensson A, Carlson H (1987): Fibre types in human lumbar back muscles. *Acta Physiol Scand* 131, 195–202
- Tinazzi M, Juergenson I, Squintani G, Vattedi G, Montemezzi S, Censi D, Barone P, Bovi T, Fasano A (2013): Pisa syndrome in Parkinson's disease: an electrophysiological and imaging study. *J Neurol* 260, 2138–2148

- Tiple D, Fabbrini G, Colosimo C, Ottaviani D, Camerota F, Defazio G, Berardelli A (2009): Camptocormia in Parkinson disease: an epidemiological and clinical study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80, 145–148
- Tompkins MM, Hill WD (1997): Contribution of somal Lewy bodies to neuronal death. *Brain Res* 775, 24–29
- Trétiakoff C: Contribution a l'Etude de L'Anatomie pathologique du locus niger de soemmering avec quelques déductions relatives à la pathogénie des troubles du tonus musculaire et de la maladie de Parkinson. Med. Diss. Paris 1919
- Umapathi T, Chaudhry V, Cornblath D, Drachman D, Griffin J, Kuncl R (2002): Head drop and camptocormia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73, 1–7
- Umemura A, Oka Y, Ohkita K, Yamawaki T, Yamada K (2010): Effect of subthalamic deep brain stimulation on postural abnormality in Parkinson disease. *J Neurosurg* 112, 1283–1288
- Upadhyaya CD, Starr PA, Mummaneni PV (2010): Spinal deformity and Parkinson disease: a treatment algorithm. *Neurosurg Focus* 28, E5
- Urban PP, Geber C, Thömke F: *Klinisch-neurologische Untersuchungstechniken*. Thieme, Stuttgart 2012
- Volpicelli-Daley LA, Gamble KL, Schultheiss CE, Riddle DM, West AB, Lee VM-Y (2014): Formation of α -synuclein Lewy neurite-like aggregates in axons impedes the transport of distinct endosomes. *Mol Biol Cell* 25, 4010–4023
- von Coelln R, Raible A, Gasser T, Asmus F (2008): Ultrasound-guided injection of the iliopsoas muscle with botulinum toxin in camptocormia. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 23, 889–892
- Wakabayashi K, Takahashi H, Takeda S, Ohama E, Ikuta F (1988): Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses. *Acta Neuropathol (Berl)* 76, 217–221
- Wakabayashi K, Tanji K, Mori F, Takahashi H (2007): The Lewy body in Parkinson's disease: molecules implicated in the formation and degradation of alpha-synuclein aggregates. *Neuropathol Off J Jpn Soc Neuropathol* 27, 494–506
- Wan OW, Shin E, Mattsson B, Caudal D, Svenningsson P, Björklund A (2016): α -Synuclein induced toxicity in brain stem serotonin neurons mediated by an AAV vector driven by the tryptophan hydroxylase promoter. *Sci Rep* 6, 26285
- Weil-Malherbe H, Bone AD (1957): Intracellular distribution of catecholamines in the brain. *Nature* 180, 1050–1051
- Wharton SB, Chan KK, Pickard JD, Anderson JR (1996): Paravertebral muscles in disease of the cervical spine. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 61, 461–465
- Wijemanne S, Jimenez-Shahed J (2014): Improvement in dystonic camptocormia following botulinum toxin injection to the external oblique muscle. *Parkinsonism Relat Disord* 20, 1106–1107

- Windpassinger C, Schoser B, Straub V, Hochmeister S, Noor A, Lohberger B, Farra N, Petek E, Schwarzbraun T, Ofner L et al. (2008): An X-linked myopathy with postural muscle atrophy and generalized hypertrophy, termed XMPMA, is caused by mutations in FHL1. *Am J Hum Genet* 82, 88–99
- Wolman L, Roy S (1969): The substantia nigra in Parkinsonism. *J Clin Pathol* 22, 507–508
- Wrede A: Charakterisierung der myopathologischen Veränderungen bei der Kamptokormie des Morbus Parkinson. *Med. Diss. Göttingen* 2011
- Wrede A, Margraf NG, Goebel HH, Deuschl G, Schulz-Schaeffer WJ (2012): Myofibrillar disorganization characterizes myopathy of camptocormia in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 123, 419–432
- Xu L, Zheng J, Margittai M, Nussinov R, Ma B (2016): How does hyperphosphorylation promote tau aggregation and modulate filament structure and stability? *ACS Chem Neurosci* 7, 565–575
- Yamada K, Goto S, Matsuzaki K, Tamura T, Murase N, Shimazu H, Nagahiro S, Kuratsu J, Kaji R (2006): Alleviation of camptocormia by bilateral subthalamic nucleus stimulation in a patient with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 12, 372–375
- Yoritaka A, Shimo Y, Takanashi M, Fukae J, Hatano T, Nakahara T, Miyamoto N, Urabe T, Mori H, Hattori N (2013): Motor and non-motor symptoms of 1453 patients with Parkinson's disease: prevalence and risks. *Parkinsonism Relat Disord* 19, 725–731
- Yoshida M (2014): Astrocytic inclusions in progressive supranuclear palsy and cortico-basal degeneration. *Neuropathol Off J Jpn Soc Neuropathol* 34, 555–570
- Yoshiyama Y, Takama J, Hattori T (1999): The dropped head sign in parkinsonism. *J Neurol Sci* 167, 22–25
- Zange L, Noack C, Hahn K, Stenzel W, Lipp A (2015): Phosphorylated α -synuclein in skin nerve fibres differentiates Parkinson's disease from multiple system atrophy. *Brain J Neurol* 138, 2310–2321
- Zannas AS, Okuno Y, Doraiswamy PM (2014): Cholinesterase inhibitors and Pisa syndrome: a pharmacovigilance study. *Pharmacotherapy* 34, 272–278
- Zhu M, Fink AL (2003): Lipid binding inhibits α -synuclein fibril formation. *J Biol Chem* 278, 16873–16877
- Zia S, Cody F, O'Boyle D (2000): Joint position sense is impaired by Parkinson's disease. *Ann Neurol* 47, 218–228
- Zimmermann C, Kalepu R, Ponfick M, Reichel H, Cakir B, Zierz S, Gdynia H-J, Kassubek J, Ludolph AC, Rosenbohm A (2015): Histological characterization and biochemical analysis of paraspinal muscles in neuromuscularly healthy subjects. *Muscle Nerve* 52, 45–54
- Zwecker M, Iancu I, Zeilig G, Ohry A (1998): Camptocormia: a case of possible paraneoplastic aetiology. *Clin Rehabil* 12, 157–160

