

Aus der Medizinischen Kernklinik und Poliklinik des
Universitätskrankenhauses Eppendorf
Universität Hamburg
Direktor: Prof. Dr. H. Greten

**Untersuchung der Plasmaoxidierbarkeit und des Antioxidantienstatus im
Blutplasma von Patienten mit Morbus Parkinson:
ein Beitrag zur Frage des
oxidativen Streß in der Pathogenese des Morbus Parkinson**

Dissertation

zur Erlangung eines Grades des Doktors der Medizin

dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Sinje Sperber
aus Hamburg

Hamburg, 2000

Angenommen von dem Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 24.07. 2001

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Dekan: Prof. Dr. H. D. Jüde

Referent: Prof. Dr. rer. nat. Dr. hc. U. Beisiegel

Korreferent:.. Prof. Dr. rer. nat. Dr. hc. U. Beisiegel

1 Einleitung	6
1.1 Morbus Parkinson: Idiopathisches Parkinson Syndrom	6
1.1.1 Definition	6
1.1.2 Epidemiologie	6
1.1.3 Ätiopathogenese.....	7
1.1.3.1 Genetik	8
1.1.3.2 Umwelteinflüsse und exogene Toxine	8
1.1.3.3 Oxidativer Streß und endogene Toxine	9
1.1.4 Struktur und Aufbau der Regelkreise der Basalganglien und deren pathologische Veränderungen beim Morbus Parkinson.....	10
1.1.4.1 Funktionelle Organisation der Basalganglien.....	11
1.1.4.2 Neuropathologische Veränderungen.....	11
1.1.5 Symptomatologie	12
1.1.5.1 Motorische Symptome	12
1.1.5.2 Nicht-Motorische Symptome	13
1.1.6 Diagnostik und Differentialdiagnose	13
1.1.6.1 Klinische Diagnostik	14
1.1.6.2 Apparative Diagnostik	15
1.1.7 Therapie des Morbus Parkinson.....	16
1.1.7.1 Pharmakotherapie	16
1.1.7.2 Nicht-Medikamentöse Therapie	18
1.2 Oxidation, Freie Radikale, oxidativer Streß, Antioxidantien	19
1.2.1 Freie Radikale	19
1.2.1.1 Chemie der Sauerstoffradikale	20
1.2.1.2 Übergangsmetallionen.....	21
1.2.2 Oxidativer Streß	21
1.2.3 Lipoproteinperoxidation.....	22
1.2.4 Antioxidantien: Schutz vor Oxidationsprozessen.....	22
1.2.4.1 Intrazelluläre antioxidative Abwehr	22
1.2.4.2 Extrazelluläre antioxidative Abwehr	23
1.2.5 Hydrophile Antioxidantien.....	24

1.2.5.1 Ascorbinsäure	24
1.2.5.2 Sulfhydrylgruppen / Schwefelwasserstoffgruppen.....	25
1.2.5.3 Bilirubin.....	25
1.2.5.4 Urat	25
1.2.6 Lipophile Antioxidantien	26
1.2.6.1 α -Tocopherol	26
1.2.6.2 Carotinoide	27
1.2.6.3 Ubichinon und Ubichinol.....	27
1.3 Oxidation und Neurodegeneration bei Morbus Parkinson.....	28
1.3.1 MPTP: ein Beispiel für ein Parkinson-Syndrom auslösendes Toxin	28
1.3.2 GSH-Verringerung.....	29
1.3.3 Mitochondriale Komplex-1- Inhibition.....	29
1.3.4 Freies Eisen.....	30
1.3.5 Überaktive Mikroglia	30
1.3.6 Dopaminstoffwechsel.....	31
1.3.7 Proteinveränderungen und Proteosomenfunktion.....	31
1.3.8 Hypothesen über das Zusammenwirken der prooxidativen Stoffwechseleränderungen bei Morbus Parkinson	32
2 Problemstellung	34
3 Material und Methoden	35
3.1 Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterial	35
3.1.1 Geräte	35
3.1.2 Chemikalien und Verbrauchsmaterial.....	35
3.1.3 Gewinnung und Verarbeitung des Materials.....	36
3.2 Charakteristika der Parkinsonpatienten und der Kontrollgruppe	36
3.3 Bestimmung der Plasmalipide	37
3.4 Bestimmung der Apolipoprotein-E Genotypen	37

3.5 Bestimmung der hydrophilen Antioxidantien im Plasma	37
3.5.1 Bestimmung von Ascorbinsäure	37
3.5.2 Bestimmung von Sulfhydrylgruppen.....	38
3.5.3 Bestimmung von Bilirubin	38
3.5.4 Bestimmung von Urat	39
3.6 Bestimmung der lipophilen Antioxidantien im Plasma	39
3.7 Messung der Plasmaoxidierbarkeit des Plasmas	40
3.8 Auswertung und Statistik	41
4 Ergebnisse	42
4.1 Charakteristika der untersuchten Kollektive	42
4.1.1 Charakteristika der Parkinsonpatienten.....	42
4.1.2 Charakteristika des Kontrollkollektivs.....	43
4.2 Plasmalipidstatus und Apo-E-Genotypisierung	44
4.2.1 Gesamtcholesterin und Triglyceride	45
4.2.2 LDL,VLDL und HDL	46
4.2.3 Apo-E-Genotypen	47
4.3 Hydrophile Antioxidantien im Plasma	47
4.3.1 Ascorbinsäure/Vitamin C im Plasma	48
4.3.2 Sulfhydrylgruppen (SH-Gruppen) im Plasma.....	49
4.3.3 Bilirubin im Plasma.....	50
4.3.4 Urat/Harnsäure im Plasma	51
4.4 Lipophile Antioxidantien im Plasma	52
4.4.1 α -Tocopherolkonzentration in Relation zur Gesamtlipidkonzentration.....	53
4.4.2 α -Carotin in Relation zur Gesamtlipidkonzentration.....	54
4.4.3 β -Carotin in Relation zur Gesamtlipidkonzentration.....	56
4.4.4 Ubichinol (QH ₂ 10) in Relation zur Gesamtlipidkonzentration.....	57

4.4.5 Ubichinon (Q10) in Relation zur Gesamtlipidkonzentration	58
4.4.6 Summe aus Ubichinon und Ubichinol in Relation zur Gesamtlipidkonzentration.....	59
4.4.7 Prozentualer Anteil des Ubichinols an der Coenzym Q10-Gesamtubichinonkonzentration.....	59
4.5 Messung der Plasmaoxidierbarkeit: Autooxidation und induzierte Plasmaoxidation.....	60
4.6 Korrelationen.....	61
4.6.1 Korrelationen mit dem Alter	62
4.6.2 Korrelationen mit den Lipiden.....	63
4.6.3 Korrelationen der Antioxidantien untereinander.....	64
4.6.4 Korrelationen mit der Plasmaoxidierbarkeit	66
5 Diskussion	67
5.1 Charakteristika der Untersuchungsgruppen.....	67
5.1.1 Alter.....	67
5.1.2 Krankheitsverlauf und Medikation.....	67
5.1.3 Andere Einflußfaktoren.....	68
5.1.4 Ernährung versus Krankheit	68
5.2 Plasmalipidstatus	68
5.3 Apo-E-Genotypen.....	69
5.4 Hydrophile Antioxidantien im Plasma	70
5.4.1 Ascorbinsäure	70
5.4.2 Sulfhydrylgruppen	70
5.4.3 Bilirubin	71
5.4.4 Urat.....	71

5.5 Lipophile Antioxidantien im Plasma	72
5.5.1 α -Tocopherol.....	72
5.5.2 Carotinoide.....	73
5.5.3 Ubichinol und Ubichinon.....	73
5.6 Zusammenfassung der hydrophilen und lipophilen Antioxidantien....	74
5.7 Plasmaoxidierbarkeit	75
5.8 Konzentrationen von Oxidationsparametern im Plasma versus Liquor cerebrospinalis	76
5.9 Antioxidantientherapie	77
5.10 Schlußfolgerungen.....	77
6 Zusammenfassung	79
7 Literatur- und Abkürzungsverzeichnis.....	80
7.1 Abkürzungsverzeichnis	80
7.2 Literaturverzeichnis	81
Anhang	

1 Einleitung

1.1 Morbus Parkinson: Idiopathisches Parkinson-Syndrom

1.1.1 Definition

Das Parkinson-Syndrom ist benannt nach dem britischen Arzt James Parkinson (1755-1824), der 1817 erstmals in ‚An Essay on the Shaking Palsy‘ die charakteristischen Symptome der Krankheit zusammenfaßte. Diese als ‚Schüttellähmung‘ beschriebene Erkrankung des Zentralen Nervensystems ist durch eine fortschreitende Degeneration eines für die Bewegungskoordination entscheidenden Hirnbereiches gekennzeichnet. Durch das im Verlauf der Erkrankung zunehmende Defizit des Neurotransmitters Dopamin in der Substantia nigra, pars compacta (SNc) des Mittelhirnes kommt es zu der typischen Symptomtrias aus Rigor (Steifheit), Tremor (Zittern) und Akinese (Bewegungsarmut/ -starre) der willkürlichen Muskulatur. Die Dopaminverarmung in den nigrostriatalen Bahnen führt zu einem Dopaminmangel insbesondere im Striatum des Menschen, was als ursächlich für extrapyramidalmotorische Erkrankungen erstmals durch Ehringer und Hornykiewicz 1960 beschrieben wurde [Ehringer H et al. 1960] und als biochemisches Korrelat der Akinese angesehen wird. Parkinson-Syndrome werden unterschieden in das ca. 80-90% betragende idiopathische Parkinson-Syndrom (Parkinson-Krankheit oder Morbus Parkinson, früher Paralysis agitans - im weiteren auch MP abgekürzt -), welches auf den Dopaminmangel in der SNc zurückzuführen ist und dessen Genese multifaktoriell und in Einzelheiten nicht geklärt ist - Umweltfaktoren scheinen ätiologisch eine Rolle zu spielen und für einen kleinen Teil sind genetische Faktoren bekannt [Gasser et al. 1994]-, und die sogenannten atypischen Parkinson-Syndrome bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen (z.B. Multi-Systematrophie, Progressive Supranucleäre Blickparese), die zusätzliche klinische Aspekte aufweisen und deshalb auch als Parkinson-Plus-Syndrome bezeichnet werden. Darüber hinaus gibt es die sekundären Parkinson-Syndrome, die auch symptomatische Parkinson-Syndrome genannt werden und zum Beispiel bei cerebraler Mikroangiopathie oder Hydrocephalus vorkommen [Masuhr K und Neumann M 1998, Schneider E und Baas H 1997].

1.1.2 Epidemiologie

Die Parkinsonkrankheit ist eine der häufigsten Erkrankungen des Zentralen Nervensystems und auch die häufigste neurodegenerative Erkrankung, deren Ursache im wesentlichen bis heute nicht geklärt ist. Bei einer Prävalenz von 200/100000 Einwohnern, sind in Deutschland gegenwärtig ca. 250 000 Menschen an Morbus Parkinson erkrankt [Masuhr K und Neumann M 1998]. Die Prävalenz scheint in Nordeuropa und Nordamerika am höchsten und in Südeuropa, Afrika und Asien am niedrigsten zu sein [Zhang ZX et al. 1993], wobei voneinander abweichende

Erhebungsmethoden und eine uneinheitliche Differenzierung zwischen der idiopathischen Form und dem Parkinson-Syndrom anderer Genese an der Vergleichbarkeit der verschiedenen epidemiologischen Studien zweifeln lassen [Schneider E 1997]. Bei der Geschlechterverteilung des idiopathischen Parkinson-Syndroms zeigt sich eine Überzahl an männlichen gegenüber weiblichen Erkrankten. Die Parkinson-Krankheit ist eine Erkrankung des Seniums; sie tritt vorrangig nach dem 60. Lebensjahr auf. Es gibt aber durchaus Fälle von Erstmanifestationen im dritten und vierten Lebensjahrzehnt. Aufgrund der zunehmenden Lebenserwartung ist in Zukunft mit einer steigenden Zahl von Erkrankungen zu rechnen.

1.1.3 Ätiopathogenese

Das sekundäre oder symptomatische Parkinson-Syndrom kann durch verschiedene Primärerkrankungen ausgelöst werden. So können zum Beispiel die vermutlich viral bedingte Encephalitis lethargica, schwere hypoxische und traumatische Hirnschädigungen aber auch Hirntumoren, Hydrocephalus oder Hirninfarkte im Bereich der Stammganglien Auslöser eines Parkinson-Syndroms sein. Es ist aber nach wie vor ungeklärt, wodurch die idiopathische Form des Parkinson-Syndroms, der Morbus Parkinson (MP), ausgelöst wird -abgesehen von den genetischen Formen (1-2%). Zwar gibt es viele Hinweise für verschiedene metabolische Störungen, die als Hypothese für das Fortschreiten der Erkrankung dienen können, doch die Existenz eines für die Erkrankung ursächlichen Auslösers konnte bisher nicht nachgewiesen werden. Neben der Hypothese, daß ein vorzeitiger Alterungsprozeß Auslöser des MPs sein könnte, haben Forschungsergebnisse der letzten Jahre nahegelegt, daß vor allem umweltbedingte Faktoren bei der Entstehung des Morbus Parkinson eine Rolle spielen [Olanow CW et al. 1999]. Denkbar ist, daß es durch den Einfluß eines langfristig einwirkenden exogenen (Umweltgifte) oder endogenen Toxins zu einem progredienten Abbau der Neuronen führt [Schneider E et al. 1997]. Als zentraler Baustein dieser Theorie wird aber das Auftreten von oxidativem Streß durch die vermehrte Bildung und verminderte Abwehr von freien Radikalen gewertet. Diese Hypothese wird durch eine Vielzahl von Studien über lokale metabolische Veränderungen unterstützt, die auf das Vorkommen von oxidativem Streß in der Substantia nigra pars compacta hinweisen. In Kapitel 1.3 werden die einzelnen Beobachtungen vorgestellt.

Eine Hypothese für die Entwicklung des Zellverlustes ist der natürliche Alterungsprozeß des Menschen. Auch unter physiologischen Bedingungen kommt es zu einer langsamen Reduktion von dopaminergen Neuronen (etwa 4% pro Jahrzehnt des Erwachsenenlebens), ohne daß es zum Ausbruch eines Parkinson-Syndroms käme.

Erst bei einem größeren Dopaminverlust soll die typische Symptomatik auftreten. Da es in der Regel nicht innerhalb der Lebenszeit eines Menschen zu einer derartigen Reduktion kommen würde, ist zu vermuten, daß der physiologische Abbauprozess beim Morbus Parkinson beschleunigt stattfindet [Albin RL et al. 1989]. Da aber die Inzidenz - bei durchschnittlichem Beginn im

sechsten Lebensjahrzehnt- bis zum 75. - 80. Lebensjahr zwar stetig ansteigt, danach aber wieder absinkt, scheidet eine vorzeitige Alterung als alleinige Krankheitsursache aus. Allerdings könnte eine primäre Minderausstattung mit diesen Nervenzellen als ursächlich für den Ausbruch der Krankheit angenommen werden (ohne daß es dafür wissenschaftliche Belege gäbe).

1.1.3.1 Genetik

In letzter Zeit mehren sich die Hinweise auf eine genetische Ursache bei einem Teil der Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom, dennoch ist die Bedeutung genetischer Anlagen und auch die Existenz eines gemeinsamen Ursprungs zwischen der sporadischen und der familiären Form des idiopathischen Parkinson-Syndroms noch nicht sicher geklärt [Gasser T et al. 1994]. Untersuchungen von Stammbäumen haben einen Hinweis auf einen möglichen Defekt auf Chromosom 4 mit autosomal dominantem Erbgang aufgezeigt, und bei Parkinsonpatienten mit vollständiger Familienanamnese und komplett rekonstruierbaren Stammbäumen traten in bis zu 50% der Fälle weitere Krankheitsereignisse innerhalb der Familie auf [Mizuno et al.1999]. Ein Hinweis für subklinische Störungen haben F-Fluorodopa-PET-Scan-Untersuchungen mit vermindertem striatalen Fluorodopa-Uptake bei klinisch nicht manifest erkrankten Zwillingen von Parkinsonpatienten und bei Familien mit erheblichem Parkinsonismus gezeigt [Burn DJ et al.1992]. Allerdings weichen die Fälle von familiär aufgetretenem Parkinson-Syndrom erheblich voneinander ab, so daß ein Zusammenhang nicht zweifelsfrei belegt werden kann. Gegen die Existenz einer genetischen Disposition spricht hingegen, daß Untersuchungen an eineiigen Zwillingen nur eine niedrige Übereinstimmung für das Auftreten des Parkinson-Syndroms ergeben haben und familiäre Häufungen insgesamt selten beobachtet wurden [Vierregge P 1994, Payami H et al. 1995]. Eine genetische Disposition wird auch hinsichtlich des Bestehens mitochondrialer Anomalien als Erklärung für den bei MP beobachteten Komplex-I-Mangel der Atmungskette diskutiert [Olanow CW et al.1998]. Ebenso unterstützt die Beobachtung einer α -Synuclein-Mutation (Ala53Thr und Ala30Pro-Substitution) [Polymeropoulos MH et al. 1997, Krüger R et al. 1998] in den Lewy-Körperchen (siehe 1.1.4.2) von Parkinson-Patienten die Hypothese von genetisch bedingten Veränderungen in der Zusammensetzung und Struktur von Proteinen bei Morbus Parkinson [Spillantini MG 1997].

1.1.3.2 Umwelteinflüsse und exogene Toxine

Bisher wurden keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen Umwelteinflüssen und der Entstehung von MP gefunden [Tanner CM et al. 1990]. Es gibt aber Beobachtungen, die unterschiedliche Expositionsbedingungen mit einem größeren Risiko für eine Erkrankung an MP in Verbindung bringen [Seidler A et al.1996]. Dabei hat die zufällige Entdeckung des Neurotoxins 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), das bei einem ‚Drogenunfall‘ 1982 bei mehreren Menschen ein schweres Parkinson-Syndrom auslöste, die Existenz eines Toxins als Auslöser des

MP nahegelegt. Das MPTP dient seit seiner Entdeckung als ein Modell für die Entstehungsmechanismen von MP. Aufgrund seiner Eigenschaft als chemische, mit Insektiziden verwandte Substanz, wurden zum Beispiel verschiedene Untersuchungen zu der Erkrankungshäufigkeit und dem Aufenthalt in agrarischer Umgebung gemacht. Doch wurden bisher weder eine Substanz noch entsprechende Expositionsbedingungen gefunden, die das Auftreten der Parkinson-Krankheit in der gegebenen Häufigkeit hinreichend hätten erklären können.

1.1.3.3 Oxidativer Streß und endogene Toxine

Verschiedene endogene Toxine wie Tetrahydroisoquinoline und Derivate der β -Carboline, die über einen ähnlichen Mechanismus wie MPTP neurotoxisch wirken können, wurden gefunden, jedoch reichten die Konzentrationen und die Verteilung dieser Substanzen nicht zu einer Erklärung des MP aus [Koller W et al. 1991]. Allerdings konnte durch die Forschung über MPTP und dessen pathogener Wirkungsweise in menschlichen Gehirnzellen -der Zerstörung der Neurone über die Bildung von Radikalen- ein weiteres pathogenetisch relevantes Kapitel aufgeschlagen werden: die Bedeutung von oxidativem Streß und freien Radikalen für die Entstehung des MP. Es gibt Hinweise, daß bereits unter gesunden Bedingungen die Substantia nigra einem hohen Maß an oxidativem Streß ausgesetzt ist [Riederer P et al. 1989]. Gleichzeitig belegen eine große Zahl von Untersuchungen, daß bei Parkinson-Patienten das komplexe System aus Produktion und Abwehr von Radikalen gestört ist. Zum einen sind die physiologischen Detoxikationsmechanismen auf verschiedenen Ebenen gestört, zum anderen ist offenbar die Produktion von freien Radikalen über das physiologische Maß erhöht. Post-Mortem-Studien an Parkinson-Patienten zeigen eine signifikante Anreicherung oxidiertes Lipide und Proteine, eine Erhöhung der Lipidperoxidation [Dexter et al. 1994], eine Verringerung von Antioxidantien sowie eine Erhöhung prooxidativer Stoffe wie freies Eisen (Fe^{2+} , Fe^{3+}). Darüberhinaus wird der Dopaminstoffwechsel selber einer Beteiligung an der Radikalproduktion beschuldigt, und es wird einer gesteigerten Glutamat-vermittelten Überaktivität eine pathogenetische Bedeutung zugeschrieben. Möglicherweise sind dies die Gründe, weshalb an Morbus Parkinson Erkrankte nicht dazu in der Lage sind, die (auch im gesunden Hirn) anfallenden toxischen Radikale zu metabolisieren und zu neutralisieren. Als Folge kommt es über oxidative Schädigungen verschiedener Moleküle, vor allem durch eine vermehrte Lipidperoxidation, zu einer neuronalen Zellschädigung in der Substantia nigra [Jenner P et al. 1992]. In Kapitel 1.3 werden die einzelnen metabolischen Störungen und deren Interaktion ausführlich behandelt.

1.1.4 Struktur und Aufbau der Regelkreise der Basalganglien und deren pathologische Veränderungen beim Morbus Parkinson

1.1.4.1 Funktionelle Organisation der Basalganglien

Zu den Basalganglien gehört unter anderem die Substantia nigra mit ihrer pars compacta (SNc) und der pars reticularis (SNr). Die SNc bekommt ihren Namen durch die Anreicherung von Neuromelanin, einem Abbauprodukt des Neurotransmitters (Überträgerstoff) Dopamin, der in nigralen Nervenzellen produziert wird. Das Dopamin ist ein zentraler Überträgerstoff des extrapyramidal-motorischen Systems, das primär über die Basalganglien (Stammganglien) koordiniert wird. Aus der SNc werden durch Dopamin über die Einbindung in einen Regelkreis Signale zu höheren Bewegungszentren der Großhirnrinde (Cortex cerebri) übermittelt, die wesentlich an der Kontrolle von willkürlichen Bewegungsabläufen beteiligt ist. Im Striatum, welches als eines der Basalganglien und höher geschaltetes Koordinationszentrum mit der SNc durch hemmende und aktivierende Nervenbahnen in Verbindung steht, herrscht unter physiologischen Bedingungen ein Gleichgewicht des dopaminergen und des antagonistisch wirkenden cholinergen Systems. Die vom Striatum ausgehende Rückkopplung zwischen cholinergen Neuronen mit den dopaminergen der SNc bewirkt durch die beim MP verringerte Dopaminausschüttung eine Überstimulation der Acetylcholin produzierenden Zellen, womit auch die positive Wirkung von Acetylcholinantagonisten in der Therapie des MP erklärt ist. Neben Acetylcholin und Dopamin wirken in diesen Neuronenkreisen der Basalganglien vor allem die Transmitter Glutamat und die γ -Aminobuttersäure (GABA). In Abb. 1.1 werden die Funktionskreisläufe der Basalganglien graphisch dargestellt und in der Legende detailliert erklärt.

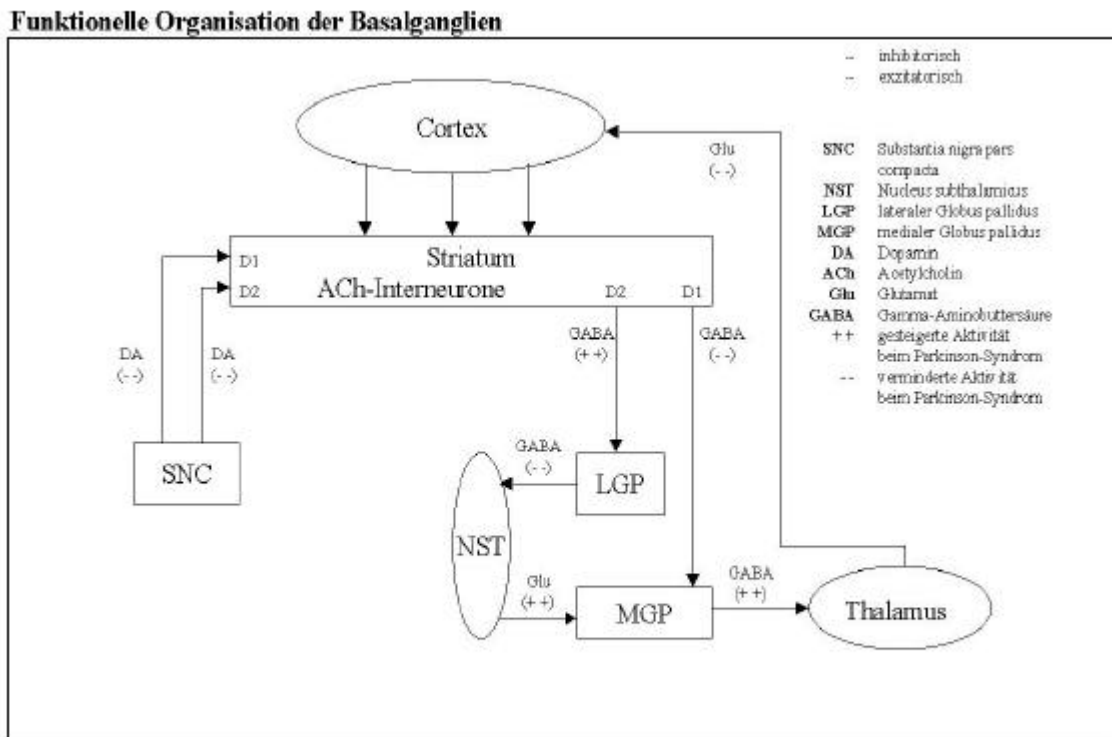


Abb. 1.1 Funktionelle Organisation der Basalganglien nach Schneider und Baas [Schneider E und Baas H 1997]. Aus der SNc ziehen inhibitorische (blockierende) und exzitatorische (an-/erregende) dopaminerge Projektionsbahnen zum Striatum, wo sie mit cholinergen (Transmitter: Acetylcholin) Interneuronen kommunizieren, die über direkte GABAerge (Transmitter: γ -Aminobuttersäure) Neurone inhibierend (via D1-Rezeptoren) und über indirekte Projektionen (via D2-Rezeptoren) über einen großen Regelkreis anregend auf das Pallidum wirken. Die indirekten Projektionen führen via inhibitorischer GABAerger Neurone über den lateralen Globus pallidus und Nucleus subthalamicus, wo eine Umschaltung auf exzitatorische glutamerge Projektionsbahnen erfolgt, zum medialen Pallidum. Vom medialen Globus pallidus führen inhibitorische GABAerge Projektionen zum Thalamus, wo sich via exzitatorischer glutamerge Neurone über den Cortex zurück zum Striatum der Regelkreis schließt [Braak H und Braak E 1995, Youdim MBH und Riederer P 1997].

1.1.4.2 Neuropathologische Veränderungen

Der Morbus Parkinson ist pathomorphologisch gekennzeichnet durch den progredienten Verlust melaninhaltiger Neurone in der Pars compacta der Substantia nigra (SNc). Dieser Zellverlust führt zu einer Depigmentierung und Substanzminderung dieser Hirnregion, am stärksten ausgeprägt in den ventrolateralen Anteilen der SNc [Gibb WRG 1991]. Es finden sich jedoch auch in anderen Hirnregionen wie dem Locus coeruleus (Blauer Kern), dem Nucleus basalis meynert, den dorsalen Raphekernen (Nahtkerne) und der entorhinalen Rinde degenerative Veränderungen. Durch das Ungleichgewicht der in ihnen wirksamen Neurotransmitter (v.a. Dopamin, Serotonin und

Acetylcholin) erklären sich die vegetativen und psychischen Symptome der Erkrankung.

Der aus dem Zelluntergang der dopaminproduzierenden Zellen der SNc folgende Dopaminmangel führt zu einem Ungleichgewicht der Neurotransmitter in den Regelkreisen der extrapyramidalmotorischen Funktion und konsekutiv zu Störungen der willkürliche Bewegungskoordination. Letzten Endes kommt es durch das nigrostriatale dopaminerge Funktionsdefizit zu einer Reduktion inhibitorischer Zuflüsse zum medialen Pallidum. Die konsekutive Aktivitätssteigerung inhibitorischer pallidothalamischer Projektionen bewirkt eine verminderte Aktivität glutamerger cortikostriataler Projektionen, was schließlich die Ursache für die akinetische Bewegungsstörung und die Entstehung des Rigors zu sein scheint (siehe auch Abb.1) [Schneider E und Baas H 1997].

Die zweite pathomorphologische Auffälligkeit bei Parkinson-Patienten ist das Auftreten von Lewy-Körperchen. Dabei handelt es sich um eosinophile endozytoplasmatische Einschlusskörperchen mit homogen verdichtetem Kernareal, die bei den Patienten ebenso vorwiegend in der Substantia nigra, aber auch in den oben genannten anderen Hirnregionen auftreten. Lewy-Körperchen stellen jedoch keinen für das idiopathische Parkinson-Syndrom streng spezifischen Befund dar, da sie auch bei 10% aller über 60-jährigen Gesunden sowie bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen nachweisbar sind. Bei der IncidentaLewy-Body-Disease (ILBD) handelt es sich um eine eigene Krankheitsidentität, die als präklinische Form der Parkinson-Krankheit angesehen wird [Jenner P et al. 1992].

1.1.5 Symptomatologie

Das Parkinson-Syndrom ist neben der führenden extrapyramidal-motorischen Symptomatik häufig auch durch Störungen des Affektes und des Vegetativums gekennzeichnet. Die vordergründig meist zuerst in Erscheinung tretenden motorischen Störungen werden durch die Kardinalsymptome Rigor (Steifheit), Tremor (Zittern) und Akinese (Bewegungsarmut bzw. -starre) beschrieben. Die nicht-motorischen Beschwerden wie gastrointestinale, psychische, vegetative und sensible Störungen treten bereits früh in der Krankheitsentwicklung auf, werden aber häufig wegen der geringen Spezifität mißgedeutet. Üblicherweise treten alle Symptome zunächst leicht auf, und führen dann mit progredienter Verschlechterung oft nach fünf bis zehn Jahren bis zum Stadium der Behinderung.

1.1.5.1 Motorische Symptome

Das Auftreten der Symptomtrias Rigor, Tremor und Akinese gilt als pathognomonisch für das Parkinson-Syndrom, wobei nicht alle Kardinalsymptome bestehen müssen (z.B. akinetischer Typ, tremordominanter Typ). Die Symptome treten häufig zeitig versetzt mit meist einseitigem Beginn von Tremor und Rigor, dem sogenannten Hemi-Parkinson auf. Der Tremor ist in der Regel ein Ruhetremor -häufiger auch ein Haltetremor und nur selten ein Intentionstremor-, mit einer

Frequenz von 4 bis 6 Hz, der durch gezielte Bewegungen meist verringert und durch emotionale Anspannung oftmals verstärkt wird. Das rhythmischen Zittern der Hand (Tremor manus), das wegen der charakteristischen Bewegung auch Pillendreherphänomen genannt wird, tritt typischerweise als erstes Symptom auf. Aber auch ein Kiefertremor („Rabbit-Phänomen“) oder ein Kopftremor (Tremor capitis) kann als erstes motorisches Symptom beobachtet werden. Der Rigor bezeichnet einen permanent erhöhten Muskeltonus. Das passive Bewegen der Extremitäten ist typischerweise nur gegen hohen, gleichbleibenden Widerstand möglich („wächserner Widerstand“). Aber auch das ruckartige Nachlassen („Zahnradphänomen“) des Widerstandes -infolge einer Störung der reziproken Innervation- ist kennzeichnend. Der Rigor macht sich vorrangig durch eine gebundene Haltung, Ungeschicklichkeit und Muskelschmerzen bemerkbar. Die Akinese beschreibt eine zunehmende Bewegungsarmut oder gar -starre die sich im Verlauf der Erkrankung durch eine Verlangsamung und Versteifung von Bewegungen zeigt und durch die nachlassende Mimik als sogenanntes Maskengesicht imponiert. Typisch ist auch das regelrechte ‚Einfrieren‘ einer Haltung, in der der Parkinson-Patient reglos verharrt. Zu den akinetischen Störungen gehören auch Sprachstörungen, wie die Hemmung der Initiation, eine schwache Phonation oder monotone Artikulation (Dysarthrophonie) und die Mikrographie. Lang anhaltende Bewegungsblockaden, die akinetischen Krisen, sind lebensbedrohliche Zustände, die im Spätstadium der Erkrankung zum Tode führen können. Im Verlauf der Erkrankung treten zunehmende Startschwierigkeiten bei der Durchführung von Bewegungen auf und Spontanbewegungen, Koordination und Gleichgewichtsreaktionen nehmen ab. Das typische Bild des Parkinson-Patienten besteht in einem nach vorne übergebeugten, schlurfenden, kleinschrittigen Gang ohne Mitschwingen der Arme, mit leichter Beugehaltung und Innenrotation der Extremitäten.

1.1.5.2 Nicht-Motorische Symptome

Die psychischen Symptome sind vor allem durch Veränderungen der Affektlage gekennzeichnet, die typischerweise mit Entschlußlosigkeit und chronischen Depressionen einhergeht und im Spätstadium einen geistigem Verfall zur Folge haben können. Für die vegetative Symptomatik sind Seborrhö, Hypersalivation, Thermoregulationsstörungen, Schlafstörungen, orthostatische Hypotonie, Atemstörungen, Libidoverlust und Miktionsstörungen neben gastrointestinalen Beschwerden wie Magenentleerungsstörungen und Obstipation typisch.

1.1.6 Diagnostik und Differentialdiagnose

Die Diagnose des Morbus Parkinson orientiert sich in erster Linie an der Klinik. Die klinisch-diagnostischen Richtlinien sind durch die weit verbreitete und akzeptierte UK Brain-Bank (Tabelle 1.1) standardisiert worden [Cruz SFF et al. 1995, Ward CD and Gibb WR 1990]. Grundlage der Kriterien ist vor allem eine präzise definitorische Trennung zwischen Parkinson-Syndrom und Parkinson-Krankheit (Synonym: idiopathisches Parkinson-Syndrom/ Morbus Parkinson), trotz

derer nur eine 80%ige Übereinstimmung zwischen der klinischen Diagnose und dem neuropathologischen Befund eines idiopathischen Parkinson-Syndrom erreicht werden kann [Hughes AJ 1992]. Bisher stehen für die Diagnose des MP keine spezifischen apparativen Tests zur Verfügung; es werden aber gegenwärtig verschiedene Verfahren hinsichtlich einer klinischen Anwendung getestet. Die Verlaufsbeobachtung und Stadieneinteilung erfolgt üblicherweise mit Rating-Skalen, z.B. die nach Hoehn und Yahr [Yahr MD et al. 1969], durch die eine kostengünstige und zügige Beurteilung der Krankheitsschwere und der Medikamentenwirkung möglich ist.

1.1.6.1 Klinische Diagnostik

Für die klinische Diagnose sind die Frühsymptome wegweisend. Neben der motorischen Trias aus dem Leitsymptom ‚Tremor der Hände‘-typischerweise mit unilateralem Beginn-, Rigor und Akinese sind sensible und vegetative Störungen häufig schon in der Frühphase vorhanden, insbesondere gastrointestinale Funktionsstörungen, Hitzeintoleranz, Schlafstörungen und rheumähnliche Gelenkschmerzen und -steifigkeit [Deuschl G et al. 1994b]. Zeichen eines depressiven Syndroms können ebenfalls zu einem frühen Zeitpunkt auftreten. Wegen der geringen Spezifität der nicht-motorischen Beschwerden findet vor der Stellung der Verdachtsdiagnose oftmals eine breite interdisziplinäre Abklärung statt. Zu den typischen Fehldiagnosen zählen vor allem Erkrankungen aus dem rheumatischen und orthopädischen Fachgebiet und auch für den Alterungsprozeß übliche Erkrankungen wie zerebrale Durchblutungsstörungen, Angina Pectoris und die ‚Altersdepression‘ und ‚Alterssteifigkeit‘.

Von der Parkinson-Krankheit muß differentialdiagnostisch ein Parkinson-Syndrom anderer Genese abgegrenzt werden. Tabelle 1.1 zeigt die Kriterien in Anlehnung an die UK-Brain-Bank auf [Schneider E und Baas H 1997]. Das klinische Erscheinungsbild ist meist ähnlich, aber durch weitere, auch apparative Diagnostik zu differenzieren. Die symptomatischen Parkinson-Syndrome werden unterteilt in neurodegenerative Erkrankungen mit Beteiligung der Basalganglien (BG) (z.B. Multi-Systematrophie Typ-P und Typ C, Progressive supranucleäre Blickparese), nicht neurodegenerative Läsionen der BG (Hirnfarkte/-blutungen, Morbus Wilson), ZNS-Erkrankungen ohne spezifische Beteiligung der BG, die ‚Pseudo-Parkinson-Syndrome‘ (Subkortikale arteriosklerotische Enzephalopathie, AIDS-Enzephalopathie) sowie pharmakogene (Neuroleptika, Kalziumantagonisten) oder metabolisch (hepatische Enzephalopathie, Hyperparathyreoidismus) induzierte Enzephalopathien [Yahr MD et al. 1969]. Wichtig ist auch die Abgrenzung des motorischen Leitsymptoms ‚Tremor‘ zum essentiellen Tremor, für den meistens eine positive Familienanamnese besteht. Durch das Vorliegen eines eindeutigen Ruhetremors ist dafür die diagnostische Zuordnung zum MP erleichtert, da er bei den nicht-idiopathischen Formen selten ist [Deuschl G et al. 1994a]. Differentialdiagnostisch wird auch das Ansprechen auf eine Testgabe von L-Dopa oder Apomorphin eingesetzt.

a) Diagnose eines Parkinson-Syndroms	b) Diagnose einer Parkinson-Krankheit	c) Ausschluß einer Parkinson-Krankheit
bei Bradykinese und mindestens einem der drei folgenden Symptome: Rigor 4-6 Hz Ruhetremor Haltungsinstabilität	Bei Erfüllung von mehr als drei der folgenden zusätzlichen Kriterien: Einseitiger Beginn Persistierende Asymmetrie Ruhetremor Progredienter Verlauf Gutes Ansprechen auf L-Dopa Positive L-Dopa-Wirkung länger als 5 Jahre Klinischer Verlauf länger als 10 Jahre L-Dopa-induzierte Chorea	Auftreten von mehr als einem der folgenden Kriterien: Wiederholte zerebrale Ischämien Wiederholte Kopftraumata Wiederholte Enzephalitiden Zerebrales Neoplasma Schubförmige Symptomzunahme Okulogyre Krisen Initiale Neuroleptikaeinnahme Familiäre Häufung größer als 1 Dauerhafte Remission Strikte Einseitigkeit länger als 3 Jahre Supranukleäre Blickparese Zerebelläre Symptomatik Frühzeitige schwere autonome Dysfunktion Frühzeitige schwere Demenz Pyramidenbahnzeichen Fehlende L-Dopa-Response in der Frühphase

Tabelle 1.1 Dreiteilige Kriterienliste für die klinische Parkinson-Diagnostik, durch die in a) das Parkinson-Syndrom, in b) der Morbus Parkinson und in c) alle Ausschlußkriterien für einen MP definiert sind.

1.1.6.2 Apparative Diagnostik

Durch die in der neurologischen Diagnostik häufig angewandten apparativen Methoden der Computertomographie (CT) und der Magnetresonanztomographie ist die Neurodegeneration der Substantia nigra nicht nachweisbar. Eine apparative Diagnostik kommt daher vorrangig zur Differentialdiagnose symptomatischer Parkinson-Syndrome zum Einsatz (z.B. Mikroangiopathie, Hirntumoren). Es gibt aber verschiedene Methoden, die gegenwärtig hinsichtlich einer klinischen Anwendung in der Diagnostik des MP erforscht werden und teilweise in größeren Kliniken bereits zum Einsatz kommen. In der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) kann beispielsweise mit dem radioaktiv markierten 18 F-Fluorodopa eine Degeneration der präsynaptischen Neuronenanteile und eine Abnahme der Dopaminspeicherkapazität bei unverändertem postsynaptischen Rezeptorbindungsverhalten mit Racloprid [Brooks DJ et al. 1990] nachgewiesen werden. Ebenfalls in der Erprobung sind Single-Photonen-Emissions-Tomographie(SPECT)-Verfahren. Mit dem radioaktiv markierten [123J]-IBZM (Iodobenzamid) kann eine Differenzierung zwischen idiopathischer Parkinsonkrankheit und einigen Formen des Parkinson-Syndroms anderer Genese durch das unterschiedliche D2-Rezeptor-Bindungsverhalten erfolgen. Dagegen lassen sich mit Hilfe der [123J]-beta-CIT(2-beta-carbomethoxy-3-beta-[4-iodophenyl]tropan) die Konzentrationen neuronaler Transporter für Serotonin und Dopamin in vivo quantitativ erfassen. Da bei Parkinson-Patienten eine Minderanreicherung und bei einseitig ausgeprägter Symptomatik auch eine Seitendifferenz dieser Transporter beobachtet wurde, könnte dieses Verfahren für eine frühe Diagnosestellung hilfreich sein [Innis RB 1994].

1.1.7 Therapie des Morbus Parkinson

Die Therapie des Morbus Parkinson erfolgt zu einem frühestmöglichen Zeitpunkt der Erkrankung, weil sie neben der Symptomreduktion auch nachweislich lebensverlängernd wirkt [Diamond SG et al. 1987]. Die Behandlung des MP bedarf immer einer kombinierten Therapie, die neben der zentralen Pharmakotherapie auch Physiotherapie und psychosoziale Betreuung und seltener auch operative Verfahren einschließt.

1.1.7.1 Pharmakotherapie

Für die Pharmakotherapie stehen primär sechs Stoffklassen zur Verfügung: L-Dopa, Dopamin-Antagonisten, MAO-B-Hemmern, Amantadin, Anticholinergika und COMT-Hemmer [Glaß J 1997, Koller WC et al. 1995b]. Sie werden bei bestimmten Indikationen durch weitere Medikamente ergänzt wie zum Beispiel β -Blocker bei essentiellm Tremor oder Neuroleptika bei zusätzlichen psychopathologischen Befunden. Zusätzlich werden zunehmend neuroprotektiv wirkende Substanzen, allen voran Selegelin, und Vitamine eingesetzt.

Das L-Dopa (linksdrehende Form von Dihydroxyphenylalanin) wird seit den sechziger Jahren als potentes zentrales Parkinson-Medikament eingesetzt. Es ist nach wie vor das Basisedikament, der ‚Goldstandard‘ der Parkinson-Therapie. L-Dopa erhöht die Konzentration von Dopamin an den Rezeptoren D1-D5, von denen D1 und D2 am wichtigsten sind, und führt damit zur Verbesserung der nigrostriatalen Erregungsübertragung. Im physiologischen Dopaminstoffwechsel entsteht L-Dopa aus der Aminosäure Tyrosin und reagiert durch die Katalyse des Enzyms Decarboxylase zu Dopamin. Die exogene Zufuhr des beim Morbus Parkinson verringerten Dopamins muß über seine Vorstufe L-Dopa erfolgen, da Dopamin selbst nicht bluthirnschrankengängig ist. Außerhalb des ZNS existiert ebenfalls eine Decarboxylaseform, so daß L-Dopa heutzutage immer mit einem nicht-liquorgängigen Decarboxylasehemmer verabreicht wird, damit keine unerwünschte peripher-neurologische Dopaminwirkung auftritt. Durch die zusätzliche Gabe von COMT-Hemmern (Catechol-O-Methyltransferase) wird zum einen die Bioverfügbarkeit verbessert und zum anderen die Wirkungsfluktuationen positiv beeinflusst. Eine Monotherapie mit L-Dopa begünstigt allerdings die Entstehung von Spätsyndromen, zum Beispiel das On-Off-Phänomen - das sind unvorhersehbare Episoden bewegungsloser Starre im Wechsel mit normaler Bewegungsfähigkeit, die durch die unphysiologische rhythmische Stimulation durch L-Dopa ausgelöst werden -, sowie Dyskinesien, Psychosen, Schwindel oder Übelkeit. Zusätzlich wird bei einer Langzeittherapie nach 4 bis 5 Jahren das Dopamin schneller abgebaut und der Organismus wird unempfindlicher gegen die Substanz. Heutzutage werden deshalb frühzeitig Kombinationstherapien, länger wirksame Depotpräparate und ausgereifte, individuelle Therapieschemata nach dem Motto ‚low and slow‘ eingesetzt. Wegen einer Konkurrenz des L-Dopa mit aromatischen Aminosäuren um ein gemeinsames, saturierbares Transportsystem bei der Aufnahme im oberen Dünndarm muß die

Verabreichung von L-Dopa zur Optimierung von Wirkdauer und Gesamtdosis mit der Menge der Eiweißaufnahme abgestimmt und getrennt von eiweißhaltiger Nahrung eingenommen werden [Juncos JL et al. 1987].

Medikamente der Gruppe der Dopaminagonisten (DA) wie Dihydroergocryptin, Bromocriptin, Cabergolin, Lisurid und Pergolid gehören den Ergoliderivaten an. Sie haben eine dem Dopamin entsprechende Wirkung, aber eine höhere Affinität zu den Dopaminrezeptoren als Dopamin selbst. Durch den Einsatz von DA lassen sich die Dyskinesien, ein unwillkürlicher Wechsel der motorischen Kontrollfähigkeit, weitgehend vermeiden. Sie bewirken auch eine Verstärkung der L-Dopa-Wirkung und eine Reduktion der Fluktuationen (Off-Phasen), haben aber ein stärkeres NW-Potential, vor allem mit gastrointestinalen Beschwerden und hypotone Kreislaufstörungen.

Die Monoaminoxidase-B-Hemmer (MAO-B-Hemmer) sind seit 1975 nach Einführung des Selegelin (L-Deprenyl) Bestandteil der Parkinson-Therapie. Dopamin wird in dopaminergen Neuronen und Astrozyten mittels des Enzyms Monoaminoxidase abgebaut. Selegelin hemmt den Untertyp MAO-B selektiv und erhöht damit die Dopaminkonzentration im Corpus striatum. Zusätzlich hat Selegelin möglicherweise eine neuroprotektive Wirkung, was bereits in mehreren großen Studien (DATATOP- und Sindepar-Studie) gezeigt werden konnte [DATATOP 1989, Olanow CW et al. 1995].

Anticholinergika wurden bereits 1867 als Belladonnaextrakte (Tollkirsche) zur Besserung der ‚Schüttellähmung‘ eingesetzt. Das Wirkprinzip ist durch die Hemmung der Aktivität von Acetylcholin durch Alkaloide (Atropin und Scopolamin) zu erklären, was in den cholinergen Interneuronen im Striatum bei Parkinson-Patienten einen positiven Effekt hat. Die heutzutage synthetischen Anticholinergika wie Benztropin, Biperidin, Bornaprin, Metixen, Procyclidin und Trihexyphenidyl können Parkinson-Symptome verringern. Sie werden vor allem bei anderweitig nicht beherrschbaren Symptomen wie Tremor und Speichelfluß eingesetzt. Bei Älteren werden sie wegen möglicher kognitiver und psychogener NW nur verhalten eingesetzt.

Amantadine sind in der Wirkungsstärke mit den Anticholinergika vergleichbar. Die zu beobachtende Verbesserung der Akinese erklärt sich durch die -bislang postulierte- Blockade glutamerger Rezeptoren im Bereich des medialen Pallidums, woraus über verschiedene Regelkreise letztendlich eine Aktivitätssteigerung cortikostriataler glutamerger Projektionen erfolgt. Durch die gute parenterale Verfügbarkeit kommt Amantadin vor allem bei akinetischen Krisen und bei Versagen einer oralen Applikation anderer Medikamente zum Einsatz. Apomorphin kann subcutan und intravenös verabreicht werden und ist eine Alternative zu Amantadin bei akinetischen Krisen, die aber wegen seines emetischen Effektes mit einem Antiemetikum kombiniert werden muß.

1.1.7.2 Nicht-medikamentöse Therapie

Physiotherapie, Psychotherapie und soziale Betreuung sind für die Lebensqualität des Parkinson-Patienten von großer Bedeutung. Die körperliche Behinderung, die wachsende Selbstunsicherheit und die häufig krankheitsbedingte und zusätzlich reaktive depressive Grundstimmung haben oftmals einen sozialen Rückzug zur Folge. Verschiedene Psychotherapien, Selbsthilfegruppen, Ergotherapie und gründliche medizinische Aufklärung dienen der Bewältigung der Krankheit und der Integration in das soziale Umfeld. Passive und aktive physikalische Maßnahmen haben zum Ziel, falsche Kompensationsmuster abzubauen und physiologische Bewegungsabläufe zu bahnen. Sie dienen aber auch einer Verbesserung des vitalen Selbsterlebens und der sozialen Kontakte. Allerdings müssen gleichförmige Übungen und Überanstrengung wegen des erhöhten Dopaminverbrauchs möglichst vermieden werden. Die aktive Physiotherapie umfaßt rhythmische Gymnastik, Gleichgewichts- und Koordinationsübungen, Schwung- und Lockerungsbewegungen, Reaktionsspiele, Atemgymnastik und auch mimische und logopädische Übungen. Bei den passiven Maßnahmen kommen Massagen, Wärmeanwendungen, passives Bewegen von Gelenken, Ultraschall und milde Hydrotherapie zur Anwendung [Glaß J 1997].

Neurochirurgische Maßnahmen stehen am Ende konservativer Behandlungsmöglichkeiten. Sie werden vor allem bei therapieresistentem Tremor und Rigor und bei schweren Dyskinesien eingesetzt. Hauptsächlich kommen stereotaktische Operationen zur Anwendung, bei denen beispielsweise durch das Einsetzen von Elektroden eine Neuronenstimulation bestimmter motorischer Regelkreise im Gehirn (sogenannte ‚deep brain stimulation‘) erfolgt. Die Ausschaltung bestimmter Zielregionen im ZNS mittels Thermoablation wird heute nicht mehr angewandt. Die bisher nur klinisch-experimentelle Transplantation von humanem embryonalen Mittelhirngewebe zeigt zwar hoffnungsvolle Resultate, sie ist aber unter anderem aufgrund der ethischen Vorbehalte weit von einer klinischen Anwendung entfernt.

1.2 Oxidation, freie Radikale, oxidativer Streß, Antioxidantien

Sauerstoff ist für das menschliche Leben und das aller aeroben Organismen lebensnotwendig. Durch die vollständige Oxidation von Nahrungsstoffen haben sich die Möglichkeiten biologischer Energieversorgung soweit verbessert, daß höhere Lebensformen entstehen konnten. Für anaerobe Lebewesen ist die in der Atmosphäre unseres Planeten herrschende Sauerstoffkonzentration hochgiftig, sie leben nur in sauerstofffreien Räumen, wie dem Verdauungstrakt des Menschen.

Sauerstoff ist ein eher träge reagierendes Agens. Allerdings vermag Sauerstoff mit fast jedem organischen und anorganischen Stoff (menschliches Gewebe, aber auch Gummi, Farbe, Plastik usw.) zu reagieren, indem er dessen Moleküle oxidiert. Bei normalen Temperaturen laufen diese Reaktionen sehr langsam ab, wie die Jahrzehnte währende Oxidation von Kupfer an Kirchtürmen zeigt. Bei hohen Temperaturen oder in Anwesenheit eines Katalysators, wie es in Form von Enzymen in biologischen Systemen der Fall ist, laufen sie sehr viel schneller ab; ein Beispiel ist das Verbrennen von Kohlenwasserstoff-Brennstoffen in Motoren.

Wegen dieser ‚Omnipotenz‘ des Sauerstoffs als Oxidans ist seine Bedeutung für aerobe Lebewesen paradox: obschon auf der einen Seite überlebensnotwendig, ist er auf der anderen Seite auch giftig. Die Toxizität des Sauerstoffs wird durch hochreaktive Substanzen, die Sauerstoffradikale, bewirkt. Diese können zentrale Strukturen des menschlichen Stoffwechsels, wie Lipide, Proteine und auch das genetische Erbgut, die DNS (Desoxyribonucleinsäure), angreifen. Damit aerobe Lebewesen überhaupt existieren können, bedürfen diese Strukturen eines komplexen Schutzsystems vor der schädlichen Wirkung des Sauerstoffs.

1.2.1 Freie Radikale

Jedes eigenständig existierende Ion, das eine oder mehrere ungepaarte Elektronen auf seinen Elektronenbahnen - den Orbitiden - besitzt, ist ein Radikal. Radikale sind aufgrund dieser instabilen Elektronenkonstellation allgemein sehr reaktionsfreudig, was ihr Schädigungspotential gegenüber organischen Molekülen bewirkt. Auch Sauerstoff ist ein Radikal, da er zwei ungepaarte Elektronen besitzt. Er ist jedoch aufgrund einer speziellen Elektronenanordnung eher wenig reaktionsfreudig. Die Reaktivität von Radikalen ist unterschiedlich groß, jedoch grundsätzlich höher als die der Nicht-Radikale. Bei der Reaktion zweier Radikale miteinander werden diese durch Vereinigung der freien Elektronen zu einem energetisch stabilen Elektronenpaar auf einem Orbit neutralisiert. Da die meisten Moleküle auf ihren Orbitiden Elektronenpaare tragen, treffen Radikale überwiegend auf Nicht-Radikale. Die Folge ist eine Redox-Kettenreaktion, die nur durch das Aufeinandertreffen zweier Radikale beendet werden kann. Vor allem durch die Gegenwart von freiem Eisen, freiem Kupfer und Sauerstoffradikalen können in vivo solche Redox-Kettenreaktionen ausgelöst werden, an deren Ende schließlich das hochgradig aggressive OH^\bullet entstehen kann [Gutteridge JMC and Halliwell B 1994].

1.2.1.1 Chemie der Sauerstoffradikale

Die wichtigsten Sauerstoffradikale sind Superoxid ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet -}$) und das Hydroxyl-Ion. Sie entstehen durch die Reduktion von Sauerstoff durch enzymatische und nichtenzymatische Mechanismen im Sauerstoffmetabolismus. Daneben haben Wasserstoffperoxid, UV-Strahlung, Stickoxide und vor allem die Übergangsmetallionen eine Bedeutung im Metabolismus der Sauerstoffradikale.

Superoxid ($O_2^{\bullet -}$) ist ein Sauerstoffatom mit einem zusätzlichem Elektron, das in Wasser als leichtes Oxidans wirkt, wie bei der Oxidation von Ascorbat, bei der Hydrogenperoxid (H_2O_2) entsteht. Häufiger wirkt es in wässriger Lösung als Reduktans, z.B. bei der Reaktion von dreiwertigem Eisen zu zweiwertigem Eisen und Sauerstoff. In organischen Lösungen ist Superoxid sehr reaktiv und damit gefährlicher. Es entsteht als Zufallsprodukt in den mitochondrialen Redoxsystemen oder bei Autooxidationsvorgängen.

Das Hydroxyl-Ion (OH^{\bullet}) ist das reaktivste und gefährlichste aller Sauerstoffradikale. Es entsteht aus H_2O_2 und zweiwertigem Eisen in der Fenton-Reaktion (s.u.). Sein sehr großes Schädigungspotential gegenüber biologischen Systemen erfolgt aus der Tatsache, daß es alle biologischen Moleküle attackieren kann. Es existiert nie für längere Zeit, weil es unmittelbar nachdem es entstanden ist mit einem benachbarten Molekül reagiert.

Hydrogenperoxid (H_2O_2) kann aus zwei Hydroxylmolekülen oder aus einem Superoxidmolekül und Wasser entstehen ($O_2^{\bullet -} + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$). Es ist selbst kein Radikal und wenig reaktionsfreudig, kann aber mit einem weiteren Elektron zu dem hochgefährlichen Hydroxyl-Ion reagieren. Die physiologischen Entstehungsmechanismen umfassen beispielsweise die Dismutation von Superoxid und die Reaktionen bestimmter Oxidaseenzyme. Hydrogenperoxid wird schnell aufgenommen und kann leicht Membranen durchdringen. Durch seine eher mäßig aggressive Wirkung auf organisches Material hat es eine Bedeutung als Bleich- und als Desinfektionsmittel.

Nitrogendioxid (NO_2) ist ein starkes Oxidans und Nitritoxid (NO^{\bullet}) ist ein schwaches Reduktans. Beide Stoffe werden vielfach von weißen Blutkörperchen im menschlichen Körper gebildet um der Abtötung fremder Organismen zu dienen. In den gefäßständigen Zellen wird NO^{\bullet} produziert, um die Gefäßmuskulatur zu relaxieren (EDRF: endothelial-derived-relaxing-factor). NO^{\bullet} ist somit ein endogener blutdrucksenkender Wirkstoff, der den pharmakologisch genutzten organischen Nitriten wie Nitroglyzerin in seiner Wirkung und Funktion entspricht.

Ozon (O_3) besitzt keine ungepaarten Elektronen und ist somit kein freies Radikal. In der Stratosphäre bietet O_3 Schutz vor UV-Strahlung, auf Erdniveau ist es aber toxisch, indem es direkt z.B. Fette und Proteine oxidiert, es löst aber keine Radikalkettenreaktionen aus. Für den Menschen spürbar wird die Toxizität durch die Reizung von Augen, Schleimhäuten und Lunge.

1.2.1.2 Übergangsmetallionen

Übergangsmetallionen sind Metallionen mit variablen Valenzen (M^{n+}), durch die sie in verschiedenen Oxidationszuständen vorliegen können. Quantitativ sind es vor allem Eisen und Kupfer, die im menschlichen Stoffwechsel an verschiedenen Redoxreaktionen als zentrale Chelatbildner von Enzymen, beispielsweise dem Hämoglobin, beteiligt sind. Durch ihre hohe Reaktionsfreudigkeit in der ungebundenen, freien Form sind sie aggressive Oxidierer, was erklärt, warum sie überwiegend an Transportproteine (für Eisen: Transferrin/ Lactoferrin, bzw. für Kupfer: Albumin) und Speicherproteine (Ferritin bzw. Coeruloplasmin) gebunden sind. Die freien Übergangsmetallionen können mit Sauerstoff zu Superoxid ($Fe^{2+} + O_2 \rightarrow Fe^{3+} + O_2^{\cdot-}$) reagieren, welches mit Protonen dann weiter zu Wasserstoffperoxid reagieren kann ($2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Durch das Zusammentreffen von Übergangsmetallionen mit Wasserstoffperoxid können dann in der Fenton-Reaktion die hochreaktiven Hydroxylradikale entstehen ($H_2O_2 + M^{n+} \rightarrow OH^{\cdot} + HO^- + M^{(n+1)+}$). Eisen und Kupfer müssen von ihren Plasmatransportproteinen in die Zelle und dort in die Mitochondrien und die intrazellulären Speicher transportiert werden. Es wird vermutet, daß sie auf diesem Weg in reaktiven Zuständen vorliegend die Redox-Kettenreaktionen auslösen können.

1.2.2 Oxidativer Streß

Sauerstoffradikale werden kontinuierlich im menschlichen Körper gebildet. Dies beruht beispielsweise auf chemischen Unfällen (OH^{\cdot}), auf dem Abfallen von Elektronen aus den Elektronentransportketten ($O_2^{\cdot-}$) oder die normale Hintergrundstrahlung. Die im menschlichen Stoffwechsel zum Teil physiologische Produktion von Radikalen wie H_2O_2 und O_2^{\cdot} relativiert aber eine ausschließlich destruktive metabolische Wirkung. So werden Radikale für manche Stoffwechselmechanismen genutzt, beispielsweise für die Ataxis der Makrophagen (Hydroxylradikale) oder für die Erweiterung von Blutgefäßen durch NO^{\cdot} (1.2.1.1). Es kann also davon ausgegangen werden, daß Radikale in begrenzten Konzentrationen Teil eines gesunden Metabolismus sind. Wegen ihres großen toxischen Potentials auf der anderen Seite verfügt die menschliche Biochemie aber über hochwirksame spezialisierte Schutzfunktionen, die die zerstörerische Wirkung der Radikale begrenzen und die Schäden zügig beheben können. Wenn dieses sensible System aus Entstehung von Radikalen und deren Elimination durch die antioxidative Abwehr ins Ungleichgewicht gerät und organische Strukturen wie vor allem die Lipide geschädigt werden, spricht man von oxidativem Streß. Der Grund für oxidativen Streß ist immer entweder in der Reduktion der Antioxidantien, in der Vermehrung der Radikale oder schließlich auch in einer Erhöhung der Übergangsmetallionen zu finden. Eine Abnahme der Antioxidantien kann beispielsweise ernährungsbedingt sein, da viele Antioxidantien Vitamine und damit essentielle Nahrungsbestandteile sind (Ausnahme: Vitamin D). Eine zunehmende Produktion von $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 und OH^{\cdot} kann durch unterschiedliche Stoffwechselsituationen wie Entzündungen, Hypoxie oder Vergiftungen vermittelt werden.

1.2.3 Lipoproteinperoxidation

Die Hauptangriffsziele von Radikalen in den extrazellulären Räumen stellen die Plasmalipide dar. In dem wässrigen Milieu des Plasmas sind die Lipide mit Proteinen zu Lipoproteinmolekülen unterschiedlicher Zusammensetzung verbunden. Neben den überwiegend triglyceridhaltigen Chylomikronen sind dies die Very-Low-Density-Lipoproteins (VLDL), die Low-Density-Lipoproteins (LDL) sowie die High-Density-Lipoproteins (HDL), deren Triglyceridgehalt in dieser Reihenfolge abnehmend und deren Proteingehalt zunehmend ist. Den höchsten Cholesteringehalt haben die LDL mit 45%. Der Lipidanteil der Moleküle kann leicht oxidiert werden, vor allem bei einem hohen Anteil an hochungesättigten Fettsäuren. So zeigen Untersuchungen über das Verhalten von in vitro Oxidation von Lipoproteinen im Plasma, daß die mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) schneller oxidiert werden als die einfach ungesättigten [Karten B et al. 1997]. Wegen des pathogenetischen Zusammenhangs mit Atherosklerose hat bisher die LDL-Peroxidation das größte wissenschaftliche Interesse gefunden. In Gegenwart von aggressiven Radikalen wie den freien Übergangsmetallionen ($M^{(n+1)+}$) werden Lipidperoxide (LOOH) zu Lipidradikalen (LOO^{\bullet}) oxidiert: $LOOH + M^{(n+1)+} \rightarrow LOO^{\bullet} + M^{n+} + H^+$ oder $LOOH + M^{n+} \rightarrow LO^{\bullet} + M^{(n+1)+} + HO^-$ [Esterbauer et al. 1992]. Die Lipoproteine stellen als wesentliche Substrate von Radikalkettenreaktionen geeignete Parameter für die Beurteilung von oxidativem Streß in verschiedenen Flüssigkeiten und Geweben dar. So kann zum Beispiel die Rate der unter kontrollierter Oxidation generierten Lipidperoxidationsprodukte wie Lipidhydroperoxide unter variierenden oxidativen Bedingungen untersucht werden [Karten B et al. 1997] oder der gleichzeitige Verbrauch von Antioxidantien bestimmt werden.

1.2.4 Antioxidantien: Schutz vor Oxidationsprozessen

Aerobe Organismen haben eine Vielzahl von antioxidativen Abwehrmechanismen entwickelt. Diese Oxidationsschutzsysteme haben gemein, daß sie oxidative Schäden verhindern oder verzögern können. Voraussetzung dafür, daß ein Stoff antioxidativ wirksam sein kann ist, daß er mit biologisch relevanten Oxidantien und Radikalen reagiert, daß er in ausreichender Konzentration vorliegt und daß das Reaktionsprodukt des Stoffes selbst weniger schädlich ist als das Oxidans. Die Wirkungsmechanismen bestehen im Abfangen von reaktiven Sauerstoffverbindungen, minimalisieren der Sauerstoffverbindungen, der Reparatur oder dem Ersetzen geschädigter Zielmoleküle und dem Binden von Übergangsmetallionen. Die Antioxidantien lassen sich in Enzyme und Moleküle der intrazellulären antioxidativen Abwehr, hydrophile Antioxidantien des Extrazellulärraumes und lipophile Antioxidantien, die innerhalb der Phospholipiddoppelmembranen sitzen und diese schützen, zusammenfassen.

1.2.4.1 Intrazelluläre antioxidative Abwehrmechanismen

Die Superoxid-Dismutase (SOD) ist ein intrazelluläres, kupferhaltiges Enzym, welches ein wichtiger Bestandteil der Radikalabwehr von aeroben Lebewesen ist. Die SOD katalysiert die Reaktion von Superoxid und Proton zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff. Es muß eine enge Verknüpfung von dem

durch SOD produzierten H_2O_2 und den dieses Produkt weiterverarbeitenden und entschärfenden Enzymen bestehen. In dieser Funktion ist die SOD als Antioxidans wirksam. Allerdings kann ein Überschuss an SOD eine Überproduktion von H_2O_2 und, durch dessen potentielle Reaktion mit Metallionen zu einem Hydroxyl-Ion, eine Zellzerstörung zur Folge haben. Die Catalase ist ein großes, intrazelluläres, hochaktives Enzym, das vor allem in Peroxisomen vorkommt. Seine enzymatisch aktiven Seiten enthalten hämgebundenes Eisen. Die Catalase katalysiert die Reaktion von H_2O_2 zu Wasser und Sauerstoff, wodurch das Radikal H_2O_2 abgefangen wird.

Die Peroxidase verwendet H_2O_2 für die Oxidation einer großen Zahl von Substraten, weshalb sie auch ‚unspezifische Peroxidase‘ genannt wird. Bei der Peroxiase-katalysierten Reaktion gibt ein Substrat zwei Protonen ab, wodurch das oxidierte Substrat und Wasser entsteht und das Wasserstoffperoxid abgebaut ist. Insgesamt kommt die unspezifische Peroxidase in menschlichen Geweben selten vor, sie findet sich vor allem in Abwehrzellen. Das hämhaltige Enzym hat eine höhere Affinität zu H_2O_2 als die Catalase.

Glutathion (GSH) ist ein sehr potentes intrazelluläres Antioxidans, welches Substrat verschiedenster Enzyme, beispielsweise für die Peroxidase bei der Reaktion mit H_2O_2 ist. Für die antioxidative Potenz des GSH sind Schwefelwasserstoffgruppen verantwortlich. Zwei Glutathion-Moleküle reagieren mittels Katalyse durch die Glutathion-Transferase unter Abgabe von zwei Protonen und Entstehung einer Schwefelbrückenbindung (GSSG) zum Glutathion-Disulfid. GSSG wird durch die Glutathion-Reduktase wieder zu GSH reduziert. GSH hat eine Funktion als Protonendonator in Erythrozyten sowie in der Metabolisierung toxischer Substanzen und kann möglicherweise durch das Hydroxyl-Ion erzeugte Schäden an der DNA reparieren.

Am GSH-Stoffwechsel sind neben der Transferase und der Reduktase noch weitere Enzyme beteiligt. Durch die γ -Glutamyltranspeptidase finden zelluläre Translokationen und Degradationen von Peptiden des GSH-Metabolismus statt. Die Glutathion-Peroxidase ist ein wichtiges Peroxide abbauendes Enzym, das GSH mit H_2O_2 in GSSG überführt und Lipidhydroperoxide reduzieren kann (Lipidhydroperoxid -OOH zu -OH Alkoholrest). Möglicherweise besteht eine zentrale Interaktion mit der SOD bei der Abwehr von oxidativem Streß.

1.2.4.2 Extrazelluläre antioxidative Abwehrmechanismen

Der Extrazellulärraum umfaßt alle interstitiellen, intracavitären und intravasalen Flüssigkeiten. Darin müssen lipo- und hydrophile Moleküle, Zellen und die Oberflächen der sie umgebenden Zellen vor Oxidationsprozessen geschützt werden. Die wäßrige Phase enthält ein großes Spektrum von antioxidativ wirkenden Substanzen, den hydrophilen Antioxidantien. Bezüglich des Schutzes der Low-Density-Lipoproteins (LDL) vor Oxidation, die als pathogenetischer Ausgangspunkt für eine Vielzahl von Erkrankungen von großem wissenschaftlichen Interesse ist, scheint nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung das Zusammenspiel zwischen Vitamin C und Vitamin E die größte Bedeutung zu haben. Vor Eintreten der Lipidperoxidation werden lipidlösliche Antioxidantien wie α -Tocopherol und β -Carotin verbraucht. Die Antioxidantien werden nach Angaben in der Literatur in der Reihenfolge Ubichinol-10 >

Ascorbat > α - Tocopherol > γ - Tocopherol > α - Carotin > β - Carotin > Bilirubin > SH-Gruppen verbraucht [Karten B 1996]. Dabei verschwinden die ersten beiden sehr schnell. Über die Reihenfolge des Verbrauchs von Antioxidantien werden aber in Abhängigkeit von dem Versuchsaufbau unterschiedliche Aussagen gemacht [Stocker R et al. 1988]. In den Extrazellularräumen scheinen Enzyme für den Schutz vor Radikalen von untergeordneter Bedeutung zu sein. Im Plasma treten sie vor allem in Erscheinung, wenn sie infolge von Zellzerstörung in das umgebende Milieu austreten. Der mit einem solchen Zelluntergang einhergehenden Erhöhung der oxidativ wirkenden Substanzen steht damit eine größere Zahl an Antioxidantien gegenüber. Außerdem befindet sich eine endothelständige SOD (EC-SOD) an der Oberfläche der die Gefäße auskleidenden Zellen, die gegebenenfalls an das Plasma abgegeben werden und dort ihre antioxidative Aktivität entfalten kann.

1.2.5 Hydrophile Antioxidantien

Die wichtigsten extrazellulären hydrophilen Antioxidantien sind Ascorbinsäure (Vitamin C), Schwefelwasserstoffgruppen (Sulfhydrylgruppen, SH-Gruppen), Bilirubin und Urat.

1.2.5.1 Ascorbinsäure

Die Ascorbinsäure, oder das Ascorbat, ist das allgemein bekannte Vitamin C. Ascorbat ist Cofaktor von Hydroxylierungsreaktionen in der Kollagenbiosynthese und ist auch am Katecholaminstoffwechsel beteiligt. Ein Mangel kann verschiedene Krankheiten begünstigen, von denen die bekannteste der Skorbut ist. Seine metabolische Funktion ist vor allem durch das starke Reduktionspotential zu erklären, was bereits seine physiologische Funktion als Antioxidans nahelegt.

Ascorbat ist der Hauptradikalfänger im Extrazellularraum des Zentralen Nervensystems (ZNS) und dort gegenüber dem Plasma fünf- bis zehnfach konzentriert. Es kann eine große Breite von freien Radikalen neutralisieren, indem es selbst zu einem -allerdings nur wenig reaktionsfreudigen- Oxidans wird. Das Vitamin C-Radikal kann mit einem zweiten zu Dehydroascorbat reagieren, das allerdings im Extrazellularraum sehr instabil ist. Neben $O^{\cdot-}_2$, H_2O_2 , $\bullet OH$, $HOCl$ kann Ascorbat auch Peroxylradikale und Superoxid im intra- und extrazellulären Raum direkt neutralisieren, zum Schutze von freien Lipiden und Membranen. Allerdings ist es nicht innerhalb der Lipiddoppelmembranen gegenüber Lipidradikalen wirksam [Stocker R et al. 1988]. Verschiedene Untersuchungen über die Mechanismen der Lipoproteinperoxidation im Plasma belegen, daß Ascorbinsäure für die Verzögerung der Lipoproteinperoxidation unter oxidativem Streß von wesentlicher Bedeutung ist [Frei B 1989, Spranger T 1998]. Vom chemischen Aufbau ausgehend ist Ascorbat ein Reduktans. Es wurde aber auch eine prooxidative Wirkung beobachtet [Karten B et al. 1997, Dasgupta A et Zdunek T 1992]. In Gegenwart von Übergangsmetallionen kann es die Formation von $O^{\cdot-}$ aus H_2O_2 bewirken. In vivo sind die entsprechenden Reaktionspartner, z.B. freies Eisen und freies Kupfer, nur in sehr geringen Mengen vorhanden, weshalb sich die überwiegend antioxidative Wirkung von Vitamin C erklärt [Frei B et al. 1989].

1.2.5.2 Sulfhydrylgruppen/Schwefelwasserstoffgruppen

Plasma enthält unter physiologischen Bedingungen 400-600 μM Sulfhydrylgruppen (SH-Gruppen) [Motchnik PA 1994]. Der überwiegende Anteil der SH-Gruppen ist im Plasma an Proteine gebunden, allen voran an das Albumin, welches das Protein mit der höchsten Plasmakonzentration ist.

Da das Albumin lediglich eine kurze Plasmahalbwertszeit von ca. 20 Tagen hat, wird vermutet, daß die Oxidation seiner Thiolgruppen keine bedeutenden biologischen Konsequenzen hat; ihm soll am ehesten die Rolle eines "Opferantioxidans" zukommen. Allerdings können die SH-Gruppen eine große Zahl von Radikalen abfangen. Neben einer Vielzahl anderer Funktionen im menschlichen Metabolismus (z.B. Transport von Fettsäuren, Bindung von Giften) kann das Albumin so, stellvertretend für andere schützenswertere Moleküle, durch den Angriff verschiedenster Radikale zerstört werden. Durch die hohen Konzentrationen und den natürlichen hohen Umsatz des Proteins kann es dann zügig und ohne größeren Schaden für den Organismus abgebaut werden.

1.2.5.3 Bilirubin

Bilirubin liegt im Plasma in physiologischen Konzentrationen von 5 bis 20 μM vor. Bilirubin entsteht über mehrere Abbauschritte aus Häm (Protoporphyrin), welches als Molekülteil des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin für den Gastransport (Sauerstoff und Kohlendioxid) im Blut verantwortlich ist. In Form des ‚indirekten‘ oder freien Bilirubins ist es nicht wasserlöslich und liegt daher im Plasma an Albumin gebunden vor; nach Konjugation mit Glucuronsäure in der Leber ist es als ‚direktes‘ Bilirubin aber hydrophil und kann über die Galle ausgeschieden werden.

Bilirubin wird in der Literatur als effizienter Peroxidradikalfänger beschrieben, der durch seine Bindung an das Albumin die ebenfalls an albumingebundene Linolsäure vor Oxidation schützen kann [Stocker R et al. 1991].

1.2.5.4 Urat

Harnsäure, das 2,6,8-Trihydroxipurin, liegt bei physiologischem pH-Wert im menschlichen Plasma zu 90% in Form seines Salzes, des Urats, in Konzentrationen von 160-450 μM vor. Im menschlichen Organismus ist es das Endprodukt des Purinstoffwechsels, der adensin- und guaninhaltigen Purine, welche durch das Enzym Xanthinoxidoreduktase zu Urat abgebaut werden. Harnsäure und Urat sind schwer wasserlöslich. Die leicht ausfallenden Uratsalzkristalle sind die Ursache von Erkrankungen wie Gicht und Nierensteinleiden. Urat wurde daher über lange Zeit als reines ‚Abfallprodukt‘ betrachtet - verschiedene Aspekte des Purinstoffwechsels und des Urats weisen aber auf physiologische Funktionen und auf eine wichtige Rolle in der Radikalabwehr des menschlichen Stoffwechsels hin [Becker BF et al. 1993].

Der Normbereich der menschlichen Plasma-Uratkonzentration ist sehr breit und die Werte sind im Mittel deutlich höher als die anderer Antioxidantien. Der Anteil des Urats an der gesamten ‚Radikalabfangeleistung‘ der hydrophilen Antioxidantien des Plasmas wird von einigen Autoren auf bis zu

75% eingeschätzt [Karten B et al. 1997, Weyner DDM et al. 1987]. Es gibt Hinweise für eine Interaktion der hydrophilen Antioxidantien untereinander, beispielsweise wurde eine Regeneration des Ascorbats durch Urat beobachtet [Karten B 1997].

Die Uratproduktion erfolgt in hohem Maße im Mikrovaskularendothel und ebenfalls im menschlichen Myokard. Als oxidierbares Cosubstrat für die Cyclooxygenase verhindert es die Inaktivierung von Endothelenzymen (Cyclooxygenase, ACE) durch Oxidation und bewirkt eine Dilatation des Endothels bei oxidativem Streß [Becker BF et al. 1993]. Vor allem OH-(Hydroxyl) und ClOH-(Hypochlorsäure) Radikale können abgefangen werden und das Urat kann zu unschädlicheren Produkten gespalten werden. Dabei ist Urat selbst noch ein starkes Oxidans. Urat kommt in hohen Konzentrationen im ZNS vor, weshalb es für die Entstehung von oxidativem Streß im ZNS von besonderem Interesse ist. In den Sekreten des oberen Respirationstraktes könnte es eine Funktion in der Abwehr von oxidativ-wirkenden Verschmutzungen der Atemluft wie Ozon und Stickstoffdioxid haben [Becker BF et al. 1993].

1.2.6 Lipophile Antioxidantien

Die wichtigsten fettlöslichen Antioxidantien im Plasma sind α - und β - Tocopherol (15-40 μ M), β - Carotin (0,3-0,6 μ M) und Ubichinol- 10 (0,4-1,0 μ M), die reduzierte Form des Ubichinons (Coenzym Q 10).

1.2.6.1 α - Tocopherol

Von den in der Natur bekannten acht Substanzen mit Vitamin E-Aktivität, den Tocopherolen, ist die effektivste Form d- α -tocopherol, die anderen Formen sind im Vergleich für die Menschen wenig bedeutsam. Obschon die Stoffwechselfunktionen des Tocopherols noch nicht vollständig bekannt sind – ebensowenig ein eindeutiges Vitamin-E-Mangelsymptom-, gilt seine Funktion als Schutz vor Oxidation als gesichert. Das α -Tocopherol ist unter den lipophilen Antioxidantien der quantitativ größte Radikalfänger [Niki E et al. 1984] und ist mit einem Verhältnis von ca. einem Molekül auf tausend ungesättigte Fettsäureseitenketten das wichtigste Antioxidans innerhalb menschlicher Membranen [Esterbauer H et al. 1992, Kontush A et al. 1996a]. Durch das sehr schnelle Abfangen von Lipidperoxidradikalen kann es Lipidperoxidationskettenreaktionen verhindern, indem es seine OH-Gruppe an das Peroxidradikal abgibt, und ein Tocopherolradikal entsteht. Für die Regeneration des Tocopherolradikals werden verschiedene Systeme diskutiert, so zum Beispiel unter Beteiligung von Glutathion, Vitamin C oder auch Ubichinol (QH₂10). Eine Interaktion des Ascorbats mit α -Tocopherol wurde in der Literatur wiederholt beschrieben, sie tritt aber möglicherweise erst bei hohen Konzentrationen des Ascorbats auf [Karten B et al. 1997, Kagan VE et al. 1996]. Gleichzeitig wird dem α -Tocopherol eine Schutzfunktion gegenüber β -Carotin vor oxidativem Abbau zugesprochen [Kagan et al. 1992]. Neben der antioxidativen Funktion besitzt α -Tocopherol aber auch, ebenso wie das Ascorbat, eine prooxidative Wirkung [Karten B et al. 1997]. So wurde das bei der Reduktion von Cu(2) anfallende α -Tocopherol-Radikal als potentes Oxidans, das mehrfach ungesättigte Fettsäuren oxidieren kann, beschrieben [Kontush et al. 1996c].

1.2.6.2 Carotinoide

Bei den Carotinoiden handelt es sich um Isoprenderivate. Durch ihre acht bis zehn konjugierten Doppelbindungen sind sie intensiv rot oder gelb gefärbt, wodurch einigen Pflanzen, wie Karotten und Tomaten, ihre kräftige Farbe verliehen wird. Die Carotinoide lassen sich in Xanthophylle und Carotine unterteilen, von den letzteren sind α - und β - Carotin von vorrangiger physiologischer Bedeutung. Bei den Pflanzen erfüllen sie eine Funktion als Lichtschutz, für den Menschen sind sie vor allem als Provitamine des Vitamin A bekannt. Das Vitamin A, in der Form des 11-cis- oder all-trans-Retinals, bildet einen Teil des Sehpigmentes Rhodopsin, das beim menschlichen Sehvorgang eine wesentliche Rolle spielt. Darüber hinaus hat es auch eine Funktion in der Stabilisierung von Zellmembranen.

Für die vorliegende Arbeit sind α - und β - Carotin in ihrer Funktion als Antioxidantien bedeutsam. Sie können als lipophile Antioxidantien, die im lipophilen Milieu der Zellmembranen lokalisiert sind, Redox-Kettenreaktionen unterbrechen. Untersuchungen zeigen, daß sie, ebenso wie es für das Bilirubin beobachtet wurde, unter niedrigem Sauerstoffpartialdruck, wie er unter physiologischen Bedingungen vorherrscht wesentlich effektiver antioxidativ wirksam werden, als unter normalem Sauerstoffpartialdruck [Burton GW et al. 1984].

1.2.6.3 Ubichinon und Ubichinol

Ubichinon gehört zu den mitochondrialen Lipiden, das unter dem Namen Coenzym Q10 als wichtiges Coenzym in der Atmungskette bekannt ist. Durch diese zentrale Funktion im Energiehaushalt kommt es in fast allen menschlichen Geweben und im menschlichen Plasma vor. Chemisch handelt es sich um ein Derivat des para-Benzochinons (Moleküle mit 6-10 Isoprenresten), das strukturell mit den Vitaminen E und K verwandt ist. Der Hauptsyntheseort des Ubichinons ist die Leber - weshalb es bei schweren Leberfunktionsstörungen erniedrigt sein kann. In seiner Funktion als Elektronenüberträger in der Atmungskette kann es in reduzierter Form als Ubichinol (Ubihydrochinon, QH₂10), und in oxidierte Form als Ubichinon vorliegen. Das Ubichinol macht unter physiologischen Bedingungen den größeren Anteil (zwischen 60-80%) aus. [Okamoto T et al. 1988, Frei B et al. 1990]. Als lipophiles Antioxidans ist es in den Plasmalipiden und den Membranen tierischer und pflanzlicher Zellen lokalisiert. Dort kann es vor allem in der Frühphase von Oxidationszuständen sehr wirksam ungesättigte Fettsäuren vor Oxidation schützen [Kontush A et al. 1994]. Ubichinol ist extrem empfindlich gegenüber Oxidation, es reagiert möglicherweise schneller als es herkömmliche Methoden erfassen können, kann aber vielleicht durch diese Eigenschaft als sensibler Marker für oxidativen Streß dienen [Kontush A et al. 1998]. Seine Rolle als Antioxidans ist zwar wissenschaftlich vielfach beschrieben, aber im Detail noch nicht vollständig geklärt [Frei B et al. 1990, Kontush A 1999, Kontush A 1995].

1.3 Oxidation und Neurodegeneration bei Morbus Parkinson

Die multifaktorielle Pathogenese des Morbus Parkinson wird heute vielfach mit oxidativem Streß als gemeinsamer Folge verschiedener möglicher aber noch weitgehend unbekannter Ursachen in Verbindung gebracht. Ob z.B. ein oxidativ wirkendes Toxin auch die direkte Ursache für die Krankheitsentstehung ist, konnte bislang nicht gesichert werden. Vor allem die Gehirnforschung an verstorbenen Patienten ergab verschiedene Anzeichen für Schädigungen durch oxidativen Streß im Bereich der Substantia nigra pars compacta (SNc). In diesen Postmortem-Studien zeigten sich zum Beispiel ein deutlich erhöhter Eisengehalt (freies Eisen ist ein aggressives Radikal), eine Inhibition von mitochondrialen Funktionen durch eine Verringerung der Aktivität eines Proteinkomplexes (Komplex 1) der Atmungskette und eine vermehrte Lipidperoxidation [Dexter et al. 1989]. Daneben wurden Schäden an verschiedenen für Oxidation empfindlichen Molekülen [Jenner P et al. 1996], beispielsweise von Proteincarbonylradikalen (Zeichen erhöhter Proteinoxidation) und Lipidhydroperoxiden (Oxidationsprodukte von Plasmalipiden und den lipidhaltigen Zellmembranen) [Dexter DT et al. 1994] sowie deutlich erniedrigte Konzentrationen von Antioxidantien beobachtet [Riederer P 1989]. Es gibt Hinweise für eine Beteiligung eines gestörten Dopaminstoffwechsels an einer übermäßigen Radikalproduktion. Zudem legt die Kenntnis über den Pathomechanismus des Neurotoxins MPTP, welches durch die Bildung von Radikalen über eine Schädigung von Neuronen der SNc ein Parkinson-Syndrom auslösen kann, einen ähnlichen Mechanismus in der Pathogenese des MP nahe. Auch eine übermäßige Ausschüttung von Glutamat aus Nervenendigungen im Striatum könnte eine vergleichbar zerstörerische Kaskade über Radikalbildung in Gang setzen [Youdim MBH und Riederer P 1997].

1.3.1 MPTP: ein Beispiel für ein Parkinson-Syndrom auslösendes Toxin

Mit MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6tetrahydropyridine) wurde Anfang der achtziger Jahre zufällig durch einen „Drogenunfall“ ein neurotoxisch wirkender, Parkisonsymptome auslösender Stoff entdeckt. Seitdem wird der Mechanismus, durch den MPTP die Nerven schädigt, in der Forschung als Beispiel für ein potentiell ähnlich wirkendes Toxin herangezogen. In die Astrozyten aufgenommen wird es in die Mitochondrien eingeschleust und dort durch das Enzym MAO-B (Monoaminoxidase-B) in einen reaktionsfreudigen Stoff umgewandelt, das MPP^+ (Radikal des MPTP). Das wieder freigesetzte Molekül akkumuliert in Mitochondrien der dopaminergen Neuronen [Singer TP et al. 1985] und inhibiert den Komplex-1 der Atmungskette und die α -Ketoglutarat-Dehydrogenase (α -KGDH), ein Schlüsselenzym des Zitronensäurezyklus. Beide Veränderungen können zu Radikalbildung führen. Zusätzlich könnte es durch den Komplex-1-Defekt über eine Verringerung der Protonenpumpen und konsekutivem Fallen des Membranpotentials zum Zelluntergang (Apoptose) kommen [Susin SA et al. 1996] (siehe 1.3.3). Durch die

Kenntnis dieser Wirkung von MPP⁺ wird ein Defekt von Komplex-1 und der α -KGDH als pathogenetischer Faktor des MP betrachtet. Zusätzlich unterstrichen wird dies durch die in der Literatur postulierte neuroprotektive Wirkung des Medikamentes Selegelin (Deprenyl) [Olanow CW et al. 1995], welches in Untersuchungen die Umwandlung von MPTP in MPP⁺ verhindert. Bisher wurde allerdings auf der Suche nach einem Toxin, das ursächlich einen Morbus Parkinson auslöst, kein Agens gefunden, das diese Wirkung des MPTP für die große Zahl der Parkinsonkranken hinreichend erklären könnte.

1.3.2 GSH-Verringerung

Die in Postmortem-Untersuchungen beobachtete deutliche Verringerung von GSH und die Korrelation von dem Ausmaß der GSH-Verringerung und der Schwere der Erkrankung [Riederer P 1989] ist der vielleicht signifikanteste Hinweis für die Veränderungen im Antioxidationsabwehrsystem des Morbus Parkinson. Die zentrale Bedeutung dieser Beobachtung liegt darin, daß die GSH-Erniedrigung nur bei Parkinson-Patienten -sonst bei keiner anderen neurodegenerativen Erkrankung-, und dort streng auf die SNc begrenzt, gefunden wurde. Weil die entsprechenden Beobachtungen auch bei der ILBD gemacht wurden, gilt die GSH-Erniedrigung als das bisher in der Pathogenese früheste biochemische Korrelat des MP [Riederer P 1989]. Als weitere Veränderung des GSH-Stoffwechsels findet sich, auch auf die SNc bei MP beschränkt, eine Erhöhung der γ -Glutamyltranspeptidase. Den Aussagen dieser Ergebnisse widerspricht die Beobachtung, daß die GSSG-Konzentration gleichzeitig nicht erhöht ist [Sofic E et al. 1992], was einer Oxidation von GSH folgen müßte. Allerdings ist das Verhältnis von GSH und GSSG zuungunsten von GSH verändert.

1.3.3 Mitochondriale Komplex-1-Inhibition

Ein möglicher Schlüssel für die Frage nach der Ursache des MP ist die in Postmortem-Untersuchungen festgestellte 30-40%ige Verringerung der Aktivität von Komplex-1 in den Mitochondrien SNc [Shapira AHV et al. 1990]. Diese Beobachtung ist ebenso wie die GSH-Erniedrigung für MP spezifisch und kein anderer Enzymkomplex in der Atmungskette ist davon betroffen [Shapira AHV et al. 1990]. Dabei ist die Ursache dieser Mitochondrienschädigung unklar, es wurden bisher weder ein Toxin noch strukturelle oder speziell krankheitstypische Veränderungen in den die Komplex-1 codierenden Genen gefundenen [Ikebe S et al. 1990, Ikebe S et al. 1995]. Allerdings macht die Beständigkeit dieses Enzymfehlers bei unterschiedlichen Versuchen eine mögliche genetische Ursache wahrscheinlich [Swerdlow RH et al. 1996]. Wie es vom beschriebenen Defekt zur krankheitstypischen Neurodegeneration kommt ist nicht gesichert. Es wird ein Zusammenhang zwischen dem Komplex-1-Mangel und der zum Zelluntergang (Apoptose) führenden Verringerung des Membranpotentials als Ursache der Neurodegeneration postuliert [Susin SA et al. 1996], da die Anzahl apoptotischer Kerne bei Patienten mit MP signifikant erhöht ist [Anglade P et al. 1997]. Durch das Fallen des Membranpotentials könnten über eine Erhöhung der

Permeabilität Signalproteine freigesetzt werden, die die Apoptose initiieren. Möglicherweise macht der Komplex-1-Defekt die Neurone aber auch durch eine geringere Energiebereitstellung und eine konsekutiv geringere antioxidative Abwehr empfindlich gegenüber oxidativem Streß.

1.3.4 Freies Eisen

Als weiterer Hinweis auf oxidativen Streß in der Pathogenese des Morbus Parkinson wurde in Postmortem-Untersuchungen vor allem in den Neuromelaningranula der SNc eine Erhöhung von freiem Eisen gefunden [Olanow CW et al. 1992, Dexter DT et al. 1989]. Unter physiologischen Bedingungen ist Eisen in den dopaminergen Neuronen der aktive Teil verschiedener Katalysatoren oder an das Speicherprotein Ferritin und das Transportprotein Transferrin gebunden. In dieser Proteinbindung ist das aggressive Potential des freien Eisens unwirksam. Wenn Eisen aber angereichert und in freier Form vorliegt, kann es im Dopamin- und L-Dopa-Stoffwechsel die Bildung von Sauerstoffradikalen katalysieren. Trotz der deutlichen Erhöhung des Eisens in den Studien ist die tatsächlich oxidativ wirkende Eisenkonzentration nicht gesichert, da über die Konzentration des Ferritin keine eindeutigen Aussagen gemacht werden [Riederer P 1989]. Auch die Herkunft des Überschusseisens ist noch unklar; es könnte aus normalen zentralnervösen Speichern (z.B. Globus Pallidus, SNr), durch eine Fehlleistung der Blut-Hirn-Schranke oder auch als Folge einer Gliosis durch einen fraglichen chronischen Entzündungsprozeß bei MP entstehen. Die Schlußfolgerungen aufgrund der postmortem Funde, daß erhöhtes Eisen zu einem Neuronenuntergang führt, werden durch Tierversuche bestätigt, in denen die Infusion von Eisen in die SNc von Ratten zu konzentrationsabhängiger Abnahme von Neuronen und von Dopamin [Sengstock GJ 1993] führte und in direkter Folge Parkinson-Symptome ausgelöst wurden [Ben-Schachar D 1993]. Die Eisenvermehrung kann aber durchaus unabhängig von der Ursache sekundär zur Neurodegeneration erfolgen, da z.B. chronische Entzündungen zu einer Eisenanreicherung führen können.

Als weitere Auffälligkeit im Eisenmetabolismus wurde eine Erhöhung der Lactoferrinrezeptoren, einem Eisenbindungsprotein, in den Neuronen der SNc und der umgebenden Gefäße [Faucheux B et al. 1995, Fauchex B et al. 1993] wie auch eine Verminderung der Transferrinrezeptoren gefunden. Veränderungen im Eisenhaushalt finden sich allerdings auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen [Connor JR et al. 1992, Valberg LS et al. 1994]. Zusammenfassend kann eine Beteiligung des Eisens an der Pathogenese des MP über die Verstärkung von oxidativem Streß und der Lipidperoxidation als gesichert angenommen werden. Seine fragliche Bedeutung als Auslöser des oxidativen Stresses ist aber noch nicht wissenschaftlich belegt [Gutteridge JMC et al. 1983].

1.3.5 Überaktive Mikroglia

Die Immunzellen des Gehirns, die Mikrogliazellen, sind in der SNc von Patienten mit MP ungewöhnlich aktiv, vor allem in den Regionen, in denen die Neurodegeneration sehr ausgeprägt ist [Mc Geer PL et al.

1988]. Die hohe Aktivität der Abwehrzellen führt zu einer abnormen Zunahme der Zytokinkonzentration. Die Zytokine bewirken eine hohe Produktion und Freisetzung der freien Radikale Stickstoffmonoxid (NO) und Superoxid (Hyperoxidradikal) [Dawson TM et al. 1991]. Beide können eine oxidative Kaskade mit der möglichen Folge eines Nervenzelluntergangs auslösen: Stickstoffmonoxid kann den Komplex-1 in den Mitochondrien hemmen, entsprechend der Wirkungsweise des MPTP oder eines ähnlichen Toxins, und mit dem Superoxidradikal (ONOO^\bullet) das extrem toxische OH^\bullet bilden. Superoxid (Hyperoxidradikal) kann Eisen aus den Speichern des Gehirns freisetzen und den Anteil an den aggressiven freien Übergangsmetallionen erhöhen (siehe 1.3.4). Die Gliazellen wirken unter normalen Bedingungen einer Neurodegeneration entgegen. Sie produzieren GSH und andere Antioxidationssysteme sowie den ‚neurotrophic factor‘, der essentiell für das Überleben der Neurone ist und auch Schutz vor der Schädigung durch das Parkinsonmedikament L-Dopa bietet [Mena MA et al. 1997, Hou JGG et al. 1997]. Für das L-Dopa, dem ‚Golden Standard‘ in der Therapie des MP wird in der Literatur eine fragliche Neurotoxizität diskutiert

[Fahn S 1996]. Diese Schutzmechanismen könnten bei primär geschädigten Gliazellen wegfallen. Gliazellen sind somit sowohl am Erhalt der Neuronenintegrität als auch an deren Zerstörung unter pathologischen Bedingungen durch die verstärkte Bildung von freien Radikalen beteiligt.

1.3.6 Dopaminstoffwechsel

Der Dopaminstoffwechsel selbst ist eine mögliche Entstehungsquelle von reaktiven zytotoxischen Sauerstoffverbindungen. Über Autooxidation erfolgt die Formation von Neuromelanin, welches -in den Neuromelaningranula angereichert- der Substantia nigra die dunkle Farbe und ihren Namen geben. Aus Neuromelanin können Quinone und Semiquinon-Verbindungen sowie andere hochreaktive Sauerstoffverbindungen entstehen (Katalyse durch freies Eisen). Die durch die MAO-B vermittelte enzymatische Reaktion führt zur Entstehung von Hydrogenperoxid (H_2O_2), welches zwar neurotoxische Eigenschaften besitzt, aber unter physiologischen Bedingungen mit Hilfe des Enzyms Gluthation-Peroxidase schnell zu Wasser abgebaut wird. Allerdings kann H_2O_2 , ebenfalls begünstigt durch die Gegenwart von zweiwertigem Eisen (Fe^{2+}), weiter zu dem hochreaktiven zytotoxischen freien Hydroxylradikal (OH^\bullet) reagieren (Fenton-Reaktion). Durch diese hochreaktive Substanz können empfindliche Moleküle wie Lipide, Proteine und DNS zerstört werden, was dann in der Folge zum Untergang der Nervenzellen führen kann. Es konnte beispielsweise gezeigt werden, daß diese hochreaktiven Stoffe einen Anstieg von intrazellulärem Calcium mit der Folge einer Apoptosis bewirkten [Ratan RR et al. 1994]. Durch die Beteiligung des Dopamins selbst an der Bildung von hochreaktiven Stoffen erklärt sich möglicherweise die vorrangige Zerstörung von dopaminproduzierenden Neuronen. Dabei scheinen vor allem membranständige Dopamintransportproteine von der oxidativen Schädigung betroffen zu sein.

1.3.7 Proteinveränderungen und Proteosomenfunktion

Vielfach wurde auch ein Zusammenhang zwischen oxidativem Streß und Proteinveränderungen beschrieben [Münch G et al. 1996]. Unter dem Einfluß von leichtem oxidativen Streß, wie er auch unter physiologischen Stoffwechselbedingungen vorkommt, kann zwar eine Oxidation von Proteinen stattfinden, die veränderten Proteine können aber sofort durch Proteosomen abgebaut werden [Grune T et al. 1995]. Hingegen kann bei starkem oxidativen Streß zum einen die Proteosomenfunktion durch Radikale geschädigt werden und zum anderen die veränderten Proteine nicht mehr erkannt werden. Schließlich kann auch die Proteasekapazität gegenüber der Menge an oxidierten Proteinen nicht mehr ausreichen [Grune T et al. 1995]. Als Hinweis auf einen veränderten Proteinstoffwechsel bei MP wurden einerseits verschiedene potentiell die Proteine schädigenden Oxidantien, wie das Superoxidradikal, Peroxynitrite oder 4-Hydroxynonenal in erhöhten Konzentrationen gefunden [Berlett BS und Stadtman ER 1997], andererseits wurde die Zunahme von verschiedenen Proteinoxidationsprodukten wie Ubiquitin und Peroxynitrite [Good PF et al. 1998] beobachtet. Zudem wurde bei einigen Familien ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines Proteinmutanten, α -synuclein, und der Entwicklung von MP beschrieben [Polymeropoulos MH et al. 1997, Krüger R et al. 1998]. Der Mutant α -synuclein aggregiert leicht und wird dadurch schlechter durch Proteasen abgebaut. Mit und ohne Mutation akkumuliert α -synuclein in Lewykörperchen, einem morphologischen Korrelat des MP [Spillantini MG et al. 1997].

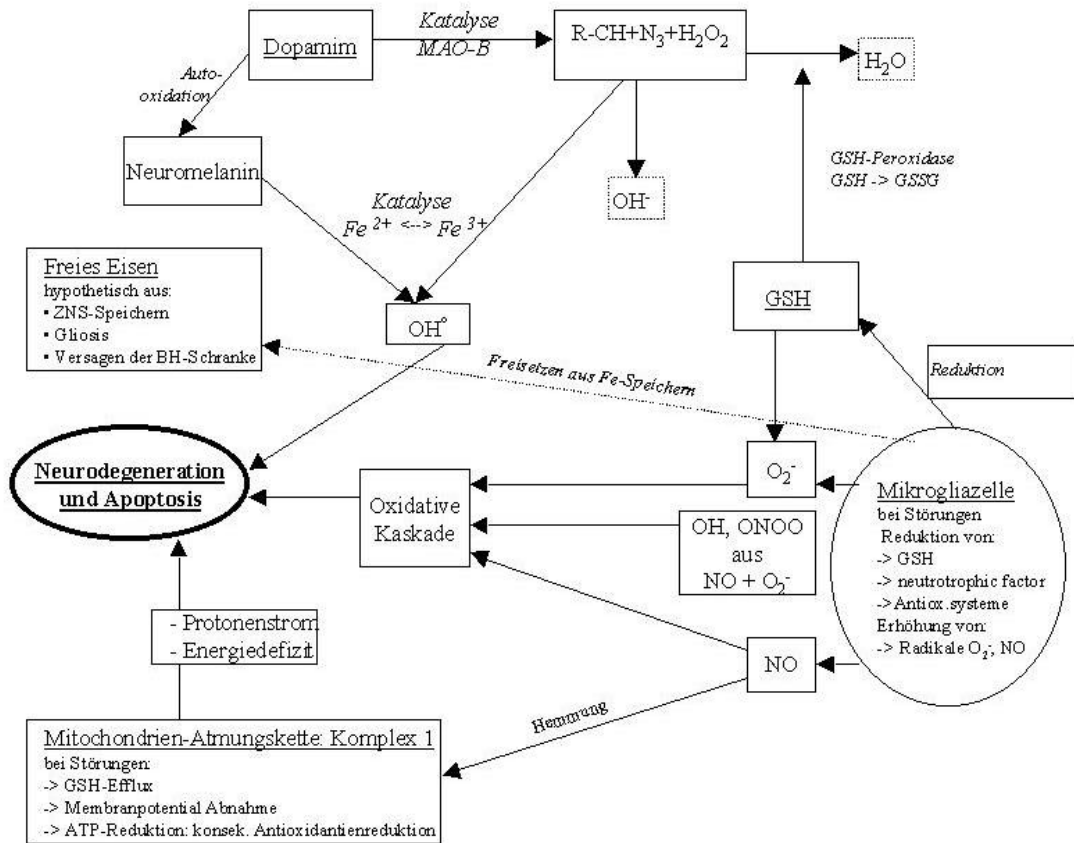
Allerdings ist der Pathomechanismus, der von der Proteinmutation zur Zelldegeneration führt, noch unklar, und α -synuclein ist als ein im Gehirn weit verbreitetes Protein auch nicht für MP spezifisch. Aufgrund der α -synuclein-Anreicherung in den Lewykörperchen und dem gleichzeitig vermehrten Auftreten von Oxidantien und verschiedenen Proteinoxidationsprodukten wird als Ursache der Entstehung der Lewykörperchen ein geschädigter Zellmetabolismus von oxidierten Proteinen vermutet [Olanow CW et al. 1998]. Die Lewykörperchen sind in diesem Sinne ein Ausdruck eines zellulären Schutzmechanismus vor Neuronenschädigung durch veränderte Proteine.

1.3.8 Hypothesen über das Zusammenwirken der prooxidativen Stoffwechselveränderungen bei Morbus Parkinson (MP)

Verschiedene Hinweise zeigen die Komplexität von oxidativem Streß und der möglichen Vernetzung der einzelnen Beobachtungen auf. Ein Teil des GSH-Verlustes (siehe 1.3.4) ist beispielsweise die mögliche Folge der Stoffwechselveränderung in den GSH-produzierenden Mikrogliazellen (siehe 1.3.5) und ein anderer Teil die Folge der Komplex-1-Inhibition in den Mitochondrien, der einen GSH-Efflux zur Folge hat [Mithöfer K et al. 1992], womit der GSH-Reduktion der beobachtete Komplex-1-Mangel und eine Stoffwechselveränderung der Mikrogliazellen zugrunde liegen könnte. Der GSH-Mangel könnte also ein Anzeichen für eine Mitochondrien-Dysfunktion sein, die bereits zu einem frühen Zeitpunkt in der

Krankheitsentwicklung auftritt. Die Mitochondrienfunktion wird zudem durch die aus überaktiven Mikrogliazellen freigesetzten NO-Radikale gestört. In der Summe sind alle oben beschriebenen Faktoren an der Entstehung einer oxidativen Kettenreaktion beteiligt, durch die sie selbst weiter geschädigt werden. Die Zusammenhänge der unter 1.3.2 bis 1.3.7 beschriebenen biochemischen Veränderungen bei MP

Hypothesen zu der Entstehung von oxidativem Stress in dopaminergen Neuronen



werden in der Abb. 1.2 graphisch dargestellt.

Abb. 1.2 Hypothesen zur Entstehung von oxidativem Streß in dopaminergen Neuronen

Durch die umfangreiche Forschung zu diesem Thema sind die einzelnen Protagonisten des pathologischen Oxidationsstoffwechsels bekannt. Deren Gewichtung und Zusammenwirken ist aber nach wie vor unklar und Gegenstand der aktuellen Diskussion. Manche Autoren legen als zentrale Störung des MP einen chronischen Antioxidantienmangel zugrunde [Burkhardt CR et al. 1994, Youdim MBH 1997], andere vermuten eher eine pathologisch verminderte Verstoffwechslung veränderter Proteine und anderer Moleküle in Neuronen [Olanow CW et al. 1998], z.B. durch irreversible Protein- und Peptid-Vernetzungen [Münch G et al. 1998].

2 Problemstellung

In der multifaktoriellen Pathogenese des Morbus Parkinson nimmt nach heutigen Erkenntnissen oxidativer Streß eine zentrale Rolle ein. Es gibt zahlreiche Hinweise dafür, daß die chronische Neurodegeneration in der Substantia nigra bei dieser Erkrankung durch die Vermittlung von Radikalen und durch einen Mangel an antioxidativer Abwehr ausgelöst wird.

In dieser Arbeit soll das Blutplasma von Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom hinsichtlich einer systemischen Beteiligung dieser durch oxidativen Streß verursachten lokalen Degeneration im ZNS anhand mehrerer Oxidationsparameter untersucht werden.

Dafür werden von 42 Parkinson-Patienten und 18 gesunden, im Alter den Parkinson-Patienten entsprechenden Kontrollpersonen die Oxidierbarkeit des Gesamtplasmas und die wichtigsten extrazellulären lipophilen und hydrophilen Antioxidantien quantitativ bestimmt und miteinander verglichen.

Die Plasmaproben werden unter Zugabe zweier Oxidantien unter kontrollierten Bedingungen oxidiert und die Akkumulation von Lipidhydroperoxiden bei 534nm photometrisch bestimmt. Die lipophilen Antioxidantien werden mittels High-Performance-Liquid-Chromatographie mit elektrochemischer Detektion bestimmt (HPLC-ECD) und die hydrophilen Antioxidantien photometrisch gemessen. Diese absoluten Meßwerte der lipophilen Antioxidantien werden in Relation zu den Konzentrationen von Triglyceriden und Cholesterin im Plasma gesetzt, da ihre Konzentration von der fetthaltigen Phase des Plasmas abhängig ist.

Als weitere mögliche Einflußgrößen auf die gemessenen Oxidationsparameter werden die Ernährungsgewohnheiten, zusätzliche Krankheiten und die Medikamenteneinnahme erfaßt.

Die Ergebnisse beider Gruppen werden im Kapitel 4 miteinander verglichen und mögliche Zusammenhänge in Sinne einer Korrelation dargestellt. In der Diskussion werden sie in den aktuellen wissenschaftlichen Zusammenhang gesetzt und hinsichtlich einer möglichen systemischen Beteiligung der zentralnervösen oxidativen Veränderungen in der Pathogenese des Morbus Parkinson bewertet.

3 Material und Methoden

3.1 Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterial

3.1.1 Geräte

Pipetten verschiedener Größe (Firmen Gilson und Labsystems, Deutschland)

Vakuum-Laborzentrifuge (Heraeus, Deutschland)

Laborzentrifuge Biofuge fresco (Heraeus, Deutschland)

Spektralphotometer Modell 150-20 (Hitachi, Japan)

Spektralphotometer UV2 (Pye-Unicam, GB)

LKB 2249 HPLC-Pump (LKB-Produkte AB, Bromma, Schweden)

HPLC-Säule LiChroCart-125-4 (Merck, Deutschland)

Analytical Cell Modell 5011 (Environmental Sciences Assoc., Bedford, USA)

Conditioning Cell Modell 5021 (Environmental Sciences Assoc., Bedford, USA)

Elektrochemischer Detektor Coulochem.-2 (Environmental Sciences Assoc., Bedford, USA)

3.1.2 Chemikalien und Verbrauchsmaterial

Ascorbinsäure (Merck, Deutschland)

Chelex-100 (Biorad, Deutschland)

Bilirubin Konzentratpulver (Sigma, Deutschland)

5,5-Dithiobis-(2-nitrobenzoylsäure) (DTNB) (Sigma Chemie, Deutschland)

Ethylanthranilat (Fluka, Deutschland)

HPLC-grade Ethanol, Methanol und 2-Propanol (Merck und Fluka, beide Deutschland)

Lithiumperchlorat (Fluka, Deutschland)

Lipoxygenase, 2.500.000 Units (Sigma, Deutschland)

Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS-Dulbecco's) (Gibco, Deutschland)

Alle weiteren Chemikalien wurden von den Firmen Merck, Fluka, Sigma Chemie (alle Deutschland) bezogen.

9ml EDTA-Monovetten (Sarstedt, Deutschland)

250µl, 500µl, 1500µl-Eppendorf-Tubes (Eppendorf, Deutschland)

5ml Serenröhrchen (Sarstedt, Deutschland)

Einmalspritzen und Kanülen (Braun, Deutschland)

Einmalküvetten (Sarstedt, Deutschland)

Falcon-Röhrchen (Becton Dickinson)

Alle weiteren Verbrauchsmaterialien wurden von den Firmen Sarstedt, Eppendorf, Braun (alle Deutschland) bezogen.

3.1.3 Gewinnung und Verarbeitung des Materials

Das verwendete Plasma wurde innerhalb eines halben Jahres in der Neurologischen Klinik der Universitätsklinik Eppendorf in Hamburg gewonnen. Von den dort vorstellig gewordenen Patienten wurde Venenblut in 10 ml-EDTA-Monovetten entnommen, sofort auf Eis gestellt und innerhalb von 30 min unter lückenloser Kühlung weiterverarbeitet. Das Blut wurde bei 4° Celsius mit 2500 U/min zentrifugiert, um das Plasma von den korpuskulären Anteilen des Blutes zu trennen, das anschließend in 250µl Eppendorftubes aliquotiert wurde. Die Aliquots wurden mit Argon oder Stickstoff begast, mit Nescofilm verschlossen, bei -80° Celsius eingefroren und für nicht länger als sechs Monate aufbewahrt. Unmittelbar vor den Messungen wurden die Proben aufgetaut und während der Vorbereitungsschritte bei 4° gekühlt, um unkontrollierte Oxidationsprozesse zu vermeiden.

3.2 Charakteristika der Parkinson-Patienten und der Kontrollgruppe

Alle Parkinson-Patienten wurden von zwei erfahrenen Neurologen untersucht und hinsichtlich der Klinik eines idiopathischen Parkinsonsyndrom und der Krankheitsschwere und -dauer beurteilt. Alle Patienten erfüllten nach der UK Parkinson's Disease Brain Bank die Kriterien des Morbus Parkinson [Ward CD and Gibb WR 1967], sie wurden nach der Krankheitsschwere im Bereich der klinischen Stadien 1-5 Hoehn und Yahr [Hoehn MM and Yahr MD 1967] eingruppiert. Neben Alter und Geschlecht der Patienten wurden in der Anamnese und mit Hilfe eines Fragebogens weitere mögliche Einflußfaktoren auf den Oxidationsstoffwechsel erfaßt. Darunter fiel die Einhaltung einer speziellen Diät, das Rauchen, der Alkoholkonsum, sowie die Erkrankungen arterieller Hypertonus, koronare Herzkrankheit (KHK), Atherosklerose, Diabetes mellitus, Lebererkrankungen und gegebenenfalls weitere. Das Rauchen wurde in aktuellen und früheren Nikotinkonsum, der Alkoholgenuß wurde in regelmäßigen/täglichen gegenüber sporadischem/keinem Konsum unterteilt. Die Einnahme von Medikamenten und Vitaminen wurde abgefragt, konnte im Rahmen dieser Studie aber nicht hinsichtlich ihres Einflusses auf den Oxidationsstoffwechsel differenziert untersucht werden. Für alle anderen oben genannte Faktoren wurde mittels des „t-test für unabhängige Stichproben“ in dem Statistikprogramm STATISTIKA für Windows ein möglicher Einfluß auf die Werte der einzelnen Parameter untersucht.

3.3 Bestimmung der Plasmalipide

Für die Bestimmung des Gesamtcholesterins [Siedel J et al. 1984], der Triglyceride, der LDL, VLDL und der HDL wurden die standardisierten Meßkits der Firma Boehringer Mannheim/Deutschland verwendet.

3.4 Bestimmung der Apolipoprotein-E Genotypen

Die Apolipoprotein (Apo) -E- Genotypisierung erfolgte nach der Methode von Hixon et al. [Hixon JE et al. 1990].

3.5 Bestimmung der hydrophilen Antioxidantien im Plasma

Die Plasmakonzentrationen der wichtigsten wasserlöslichen Antioxidantien Ascorbinsäure/Vitamin C, Sulfhydrylgruppen/Schwefelwasserstoffgruppen, Bilirubin und Urat/Harnsäure wurden durch photometrische Messungen bestimmt.

3.5.1 Bestimmung von Ascorbinsäure

Prinzip der Bestimmung: Ascorbinsäure reduziert den Farbstoff 2,6-Dichlorphenolindophenol. Die Reduktion bewirkt eine Abnahme der Absorption des Farbstoffs bei 520 nm Wellenlänge, durch die mit Hilfe einer erstellten Eichkurve aus Standardlösungen die Konzentration errechnet werden kann [Omaye ST et al. 1979]. Zur Vorbereitung der Proben wird das Plasma direkt nach der Blutentnahme im Verhältnis 1:1 mit 10%iger MPA gemischt, für 3 min bei 13000U/min zentrifugiert und anschließend bei – 80 °C eingefroren. Am Meßtag werden jeweils 400 µl der Proben in doppeltem Ansatz mit 200 µl Citrat-Acetat-Puffer versetzt,

200 µl DCIP hinzugegeben und gemischt (pH-Wert 3-4,5). Nach 30 sec wird die Absorption bei 520 nm gemessen. Nach Zugabe von Ascorbinsäure im Überschuß bis zur vollständigen Entfärbung des Farbstoffes (das entspricht einer vollständigen Reduktion), erfolgt bei gleicher Wellenlänge eine erneute Messung (Probenblindwert).

Verwendete Chemikalien: Citrat-Acetat-Puffer (pH 4,15), 2,6-Dichlorphenolindophenol(DCIP)-Natriumsalz in 10%iger wäßriger Lösung, Metaphosphorsäure (MPA) in 10%iger und 5% iger wäßriger Lösung.

3.5.2 Bestimmung von Sulfhydrylgruppen

Prinzip der Bestimmung: Die Konzentration der Sulfhydrylgruppen (Schwefelwasserstoffgruppen) im Plasma wird spektrophotometrisch bei einer Wellenlänge von 412 nm unter Verwendung von 5,5-Dithio-(2-nitrobenzoylsäure) (DTNB) bestimmt [Motchnik PA et al. 1994].

Zur Vorbereitung der zweifach angesetzten Plasmaprobenlösung wird 50 µl Plasma mit 50 µl NaCl, 900 µl EDTA und 20 µl DTNB versetzt. Für den Probenleerwert wird anstelle des DTNB 20 µl Phosphatpuffer hinzugegeben. Während der 30minütigen Inkubation reagieren die Sulfhydrylgruppen des Plasmas mit DTNB zu 2-Nitro-5-Mercaptobenzoylsäure, deren Absorption bei 412 nm gemessen wird.

Berechnung der Konzentration: Die Konzentration (c) in µM errechnet sich aus der Differenz der Absorption von Probenwert (Abs.) und Probenleerwert (Plabs.) multipliziert mit 1500 : $c = (\text{Abs.} - \text{Plabs.}) \times 1500$.

Verwendete Chemikalien: NaCl 0,9%, EDTA-Lösung 2 mM, NaH₂PO₄ 0,2 M, Phosphatpuffer 0,025 M (pH 7,0), DTNB-Lösung (40 mg DTNB in 10 ml 0,025 M Phosphatpuffer).

3.5.3 Bestimmung von Bilirubin

Prinzip der Bestimmung: Bilirubin wird nach dessen Reaktion mit Ethylanthranilat in DMSO bei 530 nm im Photometer gemessen [Trotman et al. 1982].

Vorbereitung der Proben: Für die an jedem Meßtag kurzfristig anzusetzende Ethylanthranilatreakanz wird 100 µl Ethylanthranilat (EA) gründlich mit 10 ml 0,15 M HCl vermischt, 300 µl 10%iger wäßriger NaNO₂-Lösung hinzugegeben und 5 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wird 100 µl 1%iger wäßriger Ammoniumsulfamatlösung zugegeben. 100 µl Plasmaprobe wird mit 1000 µl Dimethylsulfoxid (DMSO) und 400 µl EA-Reagenz versetzt und für 10 min bei 13.000 U/min bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wird bei 530 nm und 650 nm Wellenlänge gegen einen Blindwert (100 µl 0,15 M NaCl-Lösung anstelle des Plasmas) gemessen.

Für die Berechnung der Konzentrationen von Bilirubin müssen am jeweiligen Meßtag Eichkurven aus den Meßwerten mehrerer Bilirubinstandardproben erstellt werden, für die eine Stammlösung mit einer Konzentration von 250 µM/l bis auf 3,91 µM/l verdünnt wird. Nach Abzug des Probenblindwertes, der bei 650 nm erfaßt wurde, werden die Konzentrationen der Plasmaproben durch Anlegen an die Eichgerade abgelesen.

Verwendete Chemikalien: 10%ige wäßrige NaNO₂-Lösung, 1%ige wäßrige Ammoniumsulfamatlösung, 0,15 M HCl, 0,15 M NaCl, DMSO, Ethylanthranilat.

3.5.4 Bestimmung von Urat

Zur Bestimmung der Harnsäure wird der standardisierte Test (Granutest 25 Plus) der Firma Merck/Deutschland verwendet.

Prinzip der Bestimmung: Harnsäure reagiert mit Hilfe des Enzyms Uricase mit Wasser und Sauerstoff zu Allantoin, Kohlendioxid und Wasserstoffperoxid. Letzteres reagiert, katalysiert durch das Enzym Peroxidase, mit 3,5-Dichlor-2-hydroxy-benzolsulfonsäure und 4-Aminophenazon zu N-(4-antipyryl)-3-chlor-5-sulfonat-p-benzochinonimin. Die Absorption des in dieser Reaktion gebildeten Farbstoffs Chinonimin wird im Photometer bei 546 nm bestimmt. Seine Konzentration ist der der Harnsäure direkt proportional.

3.6 Bestimmung der lipophilen Antioxidantien im Plasma

Prinzip der Bestimmung: Die lipophilen Antioxidantien Ubichinon-10 (Coenzym 10, Q10), deren reduzierte Formen Ubichinol-10 (Ubihydrochinon, QH₂10), α -Carotin, β -Carotin und α -Tocopherol (Vitamin E) werden simultan mit Hilfe der High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC) und einem coulometrisch- elektrochemischen Detektor bestimmt [Finckh B et al. 1999]. Als Laufmittel wird ein mit Helium entgastetes Lösungsmittelgemisch aus Methanol: Ethanol: iso-Propanol (18:5:2) mit einem Zusatz von 13,4 mM Lithiumperchlorat verwendet. Nach Auftrennung der Lipide nach ihrer Molekülgröße in der HPLC-Säule LiChroCart-125-4 erfolgt die Messung in zwei hintereinandergeschalteten Zellen die im Reduktions-Oxidations-Modus arbeiten. Die Detektion erfolgt coulometrisch mit einem elektrochemischen Detektor, von dem die erfaßten Daten auf einen Computer übertragen und dort als Peaks aufgetragen werden. Durch externe Standards (am jeweiligen Meßtag erstellte Standardkurven, die aus den zu bestimmenden Antioxidantien in definierten Konzentrationen bestehen) können dann die Konzentrationen der lipophilen Antioxidantien des zu untersuchenden Plasmas bestimmt werden. Die von Finckh et al. beschriebene interne Standardisierung (definierte Konzentrationen mehrerer lipophiler Substanzen unterschiedlicher Molekülgröße bzw. Säulendurchlaufzeit werden bei der Probenvorbereitung dem Plasma zugefügt und somit im gleichen Meßdurchgang gemessen) konnte aus technischen Gründen nur für eine sehr kleine Anzahl von Parkinson-Patienten durchgeführt werden [Finckh B et al. 1999].

Vorbereitung der Proben: Von jeder EDTA-Plasmaprobe werden 100 μ l zusammen mit 100 μ l internem Standard in Ethanol in einem 1,5 ml Eppendorftube vermischt. Diese Standardlösung enthält Ubichinon-7 (Q₇) und Ubichinol-9 (QH₂9). QH₂9 ist der interne Standard von Ubichinol-10 (QH₂10) und Q₇ für α -, β -Carotin und Ubichinon-10 (Q10). Durch Hinzugabe von 500 μ l n-hexan, Vermischung und Zentrifugierung (4°C, 13000 U/min, 3 min) werden die lipophilen Anteile des Plasmas extrahiert und in der Hexanphase

gelöst. Von dem Hexanüberstand werden 400 µl abpipettiert und mit Stickstoff verdampft. Der in dem Eppendorftube verbliebene Rückstand wird durch Hinzugabe von 1 ml Ethanol wieder gelöst, wovon dann 100 µl in das HPLC-System gespritzt werden.

Berechnung der Konzentrationen: An jedem Meßtag werden mindestens drei verschiedene Standardlösungen in die HPLC eingegeben. Aus den elektronischen Daten der Zählzelle erstellt ein Computerprogramm Kurven entsprechend der Konzentrationsspitzen der einzelnen zu messenden Substanzen und integriert die Flächen darunter. Diesen Integralen werden die definierten Konzentrationen der Standardlösungen zugeordnet und folgend eine Standardkurve erstellt, mittels derer die Konzentrationen der Plasmaproben desselben Tages errechnet werden können.

3.7 Messung der Plasmaoxidierbarkeit

Prinzip der Bestimmung [Kontush A et al. 1999]: Unter Verwendung der Oxidantien AAPH und Lipoxygenase findet eine kontrollierte Plasmaoxidation statt. Die Absorption der durch die Oxidation generierten und akkumulierenden konjugierten Lipidoxidationsprodukte (v. a. Lipidhydroperoxide) mit Dienstruktur werden bei 234 nm im Photometer kontinuierlich über sechs Stunden gemessen. Die Steilheit der entstehenden Absorptionskurve gibt Auskunft über die gebildeten Diene pro Zeiteinheit. Je größer diese Oxidationsrate ist, desto größer ist die Oxidierbarkeit des Plasmas.

Vorbereitung der Proben: Um die Oxidation von Plasma in einem geeigneten Versuchsaufbau meßbar zu machen, wird das Plasma im 150-fachen mit Dulbecco's-Puffer, der zuvor mit Chelex (Fa. Biorad) behandelt wird, verdünnt und auf den physiologischen pH-Wert eingestellt. Chelex entfernt Übergangsmetallionen aus dem PBS, wodurch eine Beeinflussung der Plasmaoxidation durch exogene Radikale verhindert wird. 20 µl Plasma werden mit 2950 µl Puffer und 30 µl AAPH (330 µM) oder Lipoxygenase (25 U/ml) gut vermischt. In einem weiteren Ansatz wird für die Messung der Plasmaautooxidation anstelle eines Oxidans 30 µl Puffer verwendet. Zur Bestimmung der Eigenabsorption der Oxidantien und des Puffers werden entsprechend dem Plasmaprobenansatz zwei Kontrollansätze vorbereitet, in denen zu 2970 µl Puffer nur 30 µl AAPH oder Lipoxygenase gegeben wird. Die Quarzküvetten werden mit einem Deckel abgedeckt, mit Nescofilm umschlossen, um das Abdampfen der Proben zu verhindern, und anschließend sofort ins Photometer gestellt.

3.8 Auswertung und Statistik

Die Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm STATISTIKA für Windows. Mit dem t-test für unabhängige Stichproben wurden alle gemessenen Parameter hinsichtlich ihres Mittelwertes, der Standardabweichung und ihres p-Wertes für die statistische Signifikanz bei Patienten und Kontrollen analysiert und miteinander verglichen. Die einfache lineare Korrelation, auch Pearsonsche Korrelation, wurde in dem Modul Deskriptive Statistik für alle gemessenen Parameter analysiert. Die Berechnung der Korrelation erfolgte sowohl getrennt nach den Untersuchungsgruppen ‚Parkinson-Patienten‘ und ‚Kontrollkollektiv‘ als auch von der Gesamtdati. Zur graphischen oder tabellarischen Darstellung der Ergebnisse in Kapitel 4 kommen die Korrelationen der Parkinson-Patienten; davon abweichende Beobachtungen in der Kontrollgruppe oder der Gesamtdati finden ebenfalls im Text Erwähnung.

Die Signifikanz beschreibt die ‚Verlässlichkeit‘ oder auch die ‚Reproduzierbarkeit‘ eines Ergebnisses. Der p-Wert steht für das statistische Signifikanzniveau: $p \leq 0,05$ (5% Fehlerwahrscheinlichkeit) ist das niedrigste, das mittlere ist $p^{**}=0,01$ (1%) und das höchste $p^{***}=0,001$ (0,1%). Je niedriger p ist, desto verlässlicher ist die beobachtete Beziehung der Variablen zueinander. Mit n wird die Zahl der in die Wertung eingegangenen Fälle angegeben.

Die Korrelation bestimmt das Ausmaß der Proportionalität -des linearen Zusammenhangs- der Ergebnisse zweier Parameter zueinander. Ein solcher linearer Zusammenhang zwischen zwei Parametern ist groß, und damit ist die Korrelation hoch, wenn sie in Form einer ansteigenden oder abfallenden Geraden, der Regressionsgeraden, zusammengefaßt werden kann. Für die Beurteilung der Stärke der Korrelation wird der Pearsonsche Korrelationskoeffizient r und das statistische Signifikanzniveau p zugrunde gelegt. In dieser Arbeit werden die Begriffe ‚Korrelation‘ und ‚korreliert‘ im Sinne einer bestehenden statistischen Signifikanz verwendet.

In die Auswertung gingen alle Daten ein, die innerhalb von zwei Standardabweichungen des Mittelwertes lagen. Darüber hinaus abweichende Ausreißer wurden nicht miteinbezogen. Die in Kapitel 4 dargestellten Ergebnisse, die im Text, in den Tabellen und den Graphiken aufgeführten sind, wurden hingegen als Mittelwert und dessen einfache Standardabweichung angegeben.

Die Meßergebnisse aller Proben, der Analyse mittels t-test sind im Anhang der Arbeit -wenn nicht gesondert angegeben als Gesamtdati mit allen gemessenen Werten inklusive der Ausreißer- aufgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Charakteristika der untersuchten Kollektive

4.1.1 Charakteristika der Parkinson-Patienten

Das Kollektiv der Parkinson-Patienten besteht aus 42 an Morbus Parkinson erkrankten Personen. Das Geschlechterverhältnis ist mit 20 Frauen (47,6%) und 22 Männer (52,4%) annähernd ausgeglichen. Im Mittel sind die Patienten $63,3 \pm 9,56$, höchstens 83 und mindestens 45 Jahre alt.

Der Erkrankungszeitraum beträgt im Durchschnitt ca. 11 ± 10 Jahre (min.<1, max >30 Jahre), dabei liegen ca. 45% der Gesamtheit zwischen 5 und 15 Jahren. Die Angaben beziehen sich auf den von den Erkrankten selbst eingeschätzten Erkrankungsbeginn.

Alle Patienten nehmen in unterschiedlicher Länge und Konzentration Anti-Parkinsonmedikamente wie L-Dopa, Dopaminantagonisten oder MAO-Hemmer ein. Auf eine detaillierte Differenzierung zwischen diesen Gruppen und eine Untersuchung unter dem Aspekt einer Beeinflussung des Antioxidantien- oder Radikalstatus des Plasmas muß im Rahmen dieser Arbeit verzichtet werden. Ebenso wird ein möglicher Einfluß der Wirkung einzelner Vitamine bei den Parkinson-Patienten wegen geringer Homogenität und kleiner Fallzahlen ($n=7$, das entspricht 16,6% des Gesamtkollektivs) nicht näher untersucht. Von den 42 Patienten trinken 2 Patienten (< 5%) regelmäßig bis täglich Alkohol, 40 geben nur einen sporadischen oder gar keinen Alkoholkonsum an (95,2%). Der Nikotinkonsum wurde unterteilt in aktuellen und früheren Konsum, der bei den Parkinson-Patienten jeweils ungefähr 10% ($n=4$) ausmacht. Die weit überwiegende Mehrheit der Parkinson-Patienten war und ist Nichtraucher (85,7%, 88,1 %).

Unter den verschiedenen Erkrankungen, deren Entstehung mit oxidativem Streß in Zusammenhang gebracht wird oder die einen Einfluß auf die Konzentration der untersuchten Parameter haben, wurden arterieller Bluthochdruck (Hypertonus), die koronare Herzkrankheit (KHK), eine generalisierte Atherosklerose, Lebererkrankungen und Zuckerkrankheit (Diabetes Mellitus) ausgewählt und untersucht. Weniger als 10% der Parkinson-Patienten ($n=4$) sind an einem arteriellen Hypertonus erkrankt gegenüber 38 Patienten (90,5%) ohne Hypertonus. Bei 3 Patienten (7,15%) gegenüber 39 nicht erkrankten (92,85) ist eine KHK bekannt. Bei keinem der 42 Parkinson-Patienten ist eine Lebererkrankung oder ein Diabetes Mellitus bekannt. Alle Angaben, ausgenommen der Parkinsonmedikation und der Erkrankungszeiten werden in Tabelle 4.1 zusammengefaßt.

4.1.2 Charakteristika des Kontrollkollektivs

Das Kontrollkollektiv besteht aus 18 gesunden Personen. Das Geschlechterverhältnis ist mit 9 Frauen und 9 Männern ausgeglichen. Das Alter in dieser Gruppe ist der Altersverteilung der Parkinson-Patienten vergleichbar. Der Altersdurchschnitt liegt bei $62,15 \pm 9,94$, höchstens 84 und mindestens 40 Jahren. Über eine regelmäßige Einnahme von Medikamenten oder Vitaminen liegen in dieser Gruppe keine Angaben vor. 2 Personen trinken regelmäßig bis täglich Alkohol (11,1%), das entspricht den Daten des Parkinsonkollektivs, 10 Personen (55,5%) trinken sporadisch oder gar keinen Alkohol. Ein Drittel ($n=6$) des Gesamtkollektivs gibt keine Angaben bezüglich des Alkoholkonsums. Aktuell rauchen 2 (11,1%) der Kontrollpersonen, gegenüber 6 Nichtrauchern, das entspricht einem Drittel dieser Gruppe. Mehr als die Hälfte der Personen ($n=10$, 55,5%) hat keine Angaben gemacht. Ein Drittel ($n=6$) gibt an, ehemals geraucht zu haben gegenüber 38,9% ($n=6$), dabei machen 5 Personen keine Angaben. Beim Vergleich der beiden Kollektive zeigt sich prozentual eine deutlich geringere Zahl an aktuellen und ehemaligen Rauchern bei den Parkinson-Patienten. Bei 5 Personen (27,8%) der Kontrollgruppe besteht ein arterieller Hypertonus gegenüber 8 (44,4%) nicht erkrankten (hier 27,8% ohne Angaben). Bei 4 Personen (22,2%) ist eine koronare Herzkrankheit (KHK) bekannt, gegenüber 8 (44,4%) ohne KHK (6 Personen, 33,3%, ohne Angaben). Die Kontrollpersonen sind ca. dreimal so häufig wie die Parkinson-Patienten an KHK und arteriellem Hypertonus erkrankt, bei allerdings eingeschränkter Aussagefähigkeit wegen unterschiedlicher Fallzahlen und zum Teil fehlender Angaben. Alle Angaben zu den Charakteristika des Kontrollkollektivs werden vergleichend mit den Parkinson-Patienten in Tabelle 4.1 zusammengefaßt.

		<u>Parkinson (n= 42)</u>		<u>Kontrollen (n=18)</u>	
		Häufigkeit	in %	Häufigkeit	in %
Age	(MW \pm Stdabw)	63,3 \pm 9,6		62,15 \pm 9,9	
Geschlecht	(w/m)	20/ 22	52,4/ 47,6	9/ 9	50/50
Alkohol	(j/n/oA)	2/ 40	4,8 / 95,2	2/ 10/ 6	11,1/ 55,5/ 33,3
Rauchen akt.	(j/n/oA)	4/ 37/ 1	9,5 / 88,1/ 2,4	2/ 6/ 10	11,1/ 33,3 / 55,5
Rauchen ehem.	(j/n/oA)	5/ 36/ 1	11,9/ 85,77/ 2,4	6/ 7/ 5	33,3/ 38,9 / 27,7
Hypertonus	(j/n/oA)	4/ 38	9,5 / 90,5	5/ 8/ 5	27,8/ 44,4 / 27,8
KHK	(j/n/oA)	3/ 39	7,1 / 92,8	4/ 8/ 6	22,2/ 44,4 / 33,3
Vitamine	(j/n/oA)	7/ 35	16,6 / 83,3	0/ 0/ 18	

Tab. 4.1 Charakteristika der Parkinson-Patienten und der Kontrollgruppe. Das Alter ist mit Mittelwert (MW) und der Standardabweichung (Stdabw) dargestellt. Geschlechterverhältnis (dargestellt als w=Frauen, n=Männer), Alkoholkonsum, Zigarettenkonsum (aktuelle 'Rauchen akt.' und ehemalige 'Rauchen ehem. '), Vitamineinnahme und die Zweiterkrankungen KHK und arterieller Hypertonus werden in absoluten Häufigkeiten und deren Anteil am Gesamtkollektiv dargestellt ('j'= ja, 'n'=nein, oA= ohne Angabe). KHK= koronare Herzkrankheit.

4.2 Plasmalipidstatus und Apo-E-Genotypisierung

Bei dem Gesamtcholesterin, den Triglyceriden und VLDL zeigt sich bei den Parkinson-Patienten gegenüber dem Kontrollkollektiv eine deutliche Erniedrigung der Werte mit statistisch hoher Signifikanz. Auch bei den LDL-Werten zeigt sich eine Erniedrigung mit deutlicher Signifikanz. Die Mittelwerte von Kontrollen und Parkinson-Patienten liegen innerhalb des Normbereichs.

Die HDL-Werte sind hingegen bei den Parkinson-Patienten gegenüber den Kontrollen geringfügig erhöht. Beim Vergleich der Apo-E-Genotypenverteilung zeigen sich keine wesentlichen Unterschiede.

Diese deutlichen Konzentrationsunterschiede haben für die Bewertung der vorliegenden Arbeit eine besondere Bedeutung, da die Plasmakonzentrationen der lipophilen Antioxidantien von der Konzentration der Plasmalipide abhängt. Die Auswertung und Darstellung dieser Parameter wird deshalb immer bezugnehmend auf Gesamtcholesterin und Triglyceride erfolgen. Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Diagrammen 4.1 und 4.2 dargestellt. Die Tabelle 4.2 zeigt die Plasmalipide von Parkinson-Patienten und Kontrollen im Vergleich und in Tabelle 4.3 sind ergänzend die Verteilung der Apo-E-Genotypen beider Kollektive aufgeführt.

	Parkinson (n ≥ 39)	Kontrollen (n ≥ 16)
	MW ± Stdabw in mg/dl	MW ± Stdabw in mg/dl
Gesamtcholesterin	***189 ± 28	225 ± 37
TG	***94,7 ± 33	165 ± 76
LDL	**116 ± 24	137 ± 27
VLDL	***18,9 ± 6,6	31,2 ± 14
HDL	50,4 ± 11	47,2 ± 12

Tab. 4.2 Plasmalipide bei Parkinson-Patienten und Kontrollen in mg/dl mit Mittelwert (MW) und einfacher Standardabweichung (Stdabw), und Signifikanzniveau $p^{**} < 0,01$ und $p^{***} < 0,001$.

4.2.1 Gesamtcholesterin und Triglyceride

Der Mittelwert des Gesamtcholesterins der Parkinson-Patienten ist mit 189 ± 28 mg/dl (n=41) gegenüber 225 ± 37 (n=18) des Kontrollkollektivs statistisch hochsignifikant erniedrigt (**p= 0,0001). Ebenso sind die Triglyceride der Parkinson-Patienten im Vergleich statistisch hochsignifikant erniedrigt (**p=0,0001). Der Mittelwert beträgt $94,7$ mg/dl ± 33 mg/dl (n=39) gegenüber 165 ± 76 mg/dl (n=18).

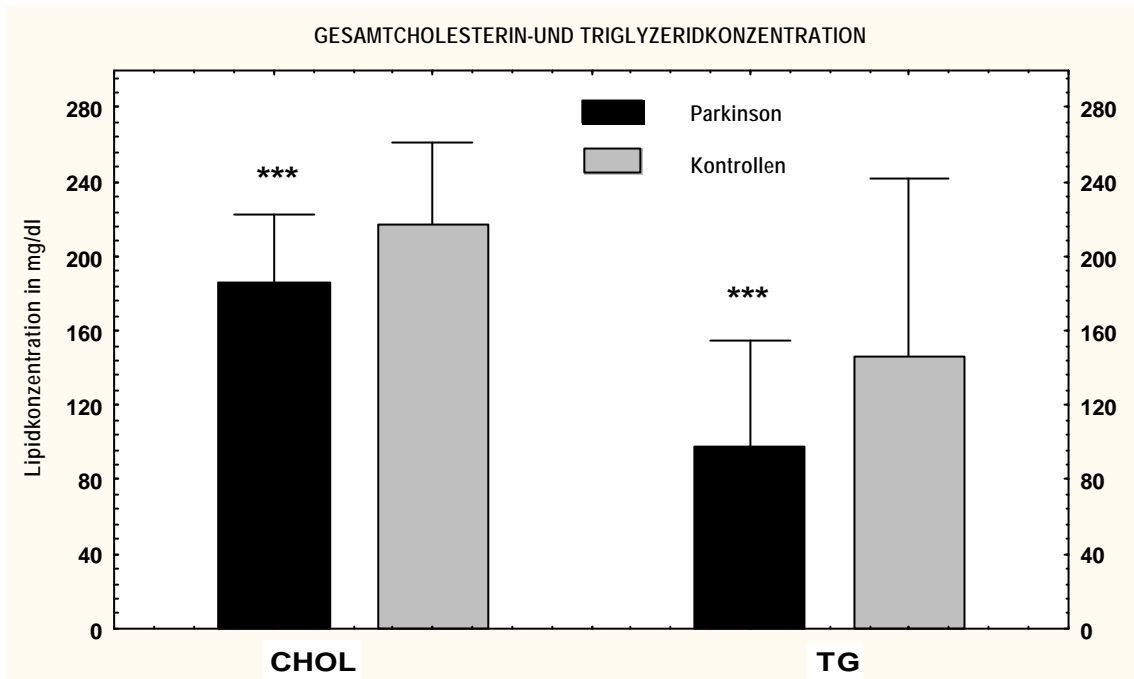


Abb. 4.1 Vergleich der Gesamtcholesterin- und Triglyzeridkonzentration im Plasma.

Auf der Ordinate sind die Konzentrationen in mg/dl aufgetragen, auf der Abszisse Gesamtcholesterin (CHOL) und Triglyceride (TG) jeweils in Paaren aus Parkinson- (MP) und Kontrollkollektiv (Kk). Das 'T' auf den Balken entspricht der Stdabw (= Bereich der Standardabweichung vom Mittelwert). ***p<0,001 zeigt statistisch höchste Signifikanz. CHOL: MP n= 41 Kk n=18 ; TG: MP n=39 Kk n=18

4.2.2 LDL, VLDL und HDL

Bei den Parkinson-Patienten beträgt die LDL-Konzentration im Mittel 116 ± 24 mg/dl (n=41) gegenüber 139 ± 27 mg/dl (n=18), sie ist damit signifikant erniedrigt ($p^{**}=0,0018$). Bei der VLDL-Konzentration zeigt sich eine ebensolche hochsignifikante Erniedrigung ($***p=0,0001$), bei einem Mittelwert von $18,9 \pm 6,6$ mg/dl (n=39) gegenüber $31,2 \pm 14$ mg/dl (n=17). Die HDL-Konzentration ist bei den Parkinson-Patienten gering erhöht, im Mittel $50,4 \pm 11$ mg/dl (n=40) gegenüber $47,2 \pm 12$ mg/dl (n=16) aber nicht signifikant ($p=0,3$).

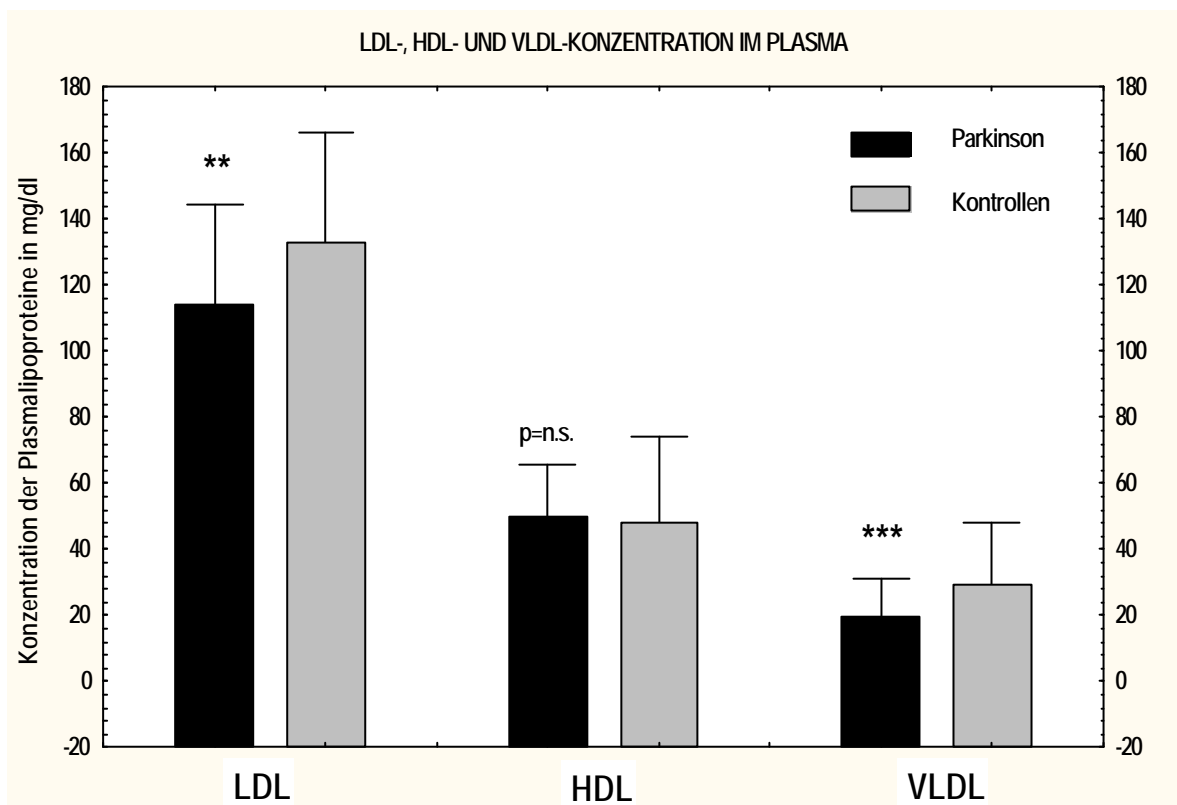


Abb. 4.2 Vergleich der LDL-, HDL- und VLDL-Konzentration im Plasma. Auf der Ordinate sind die Konzentrationen in mg/dl aufgetragen, auf der Abszisse die einzelnen Lipoproteinfraktionen jeweils in Paaren aus Parkinson (MP)- und Kontrollkollektiv (Kk). * $p < 0,05$ / ** $p < 0,001$ / *** $p < 0,001$ entsprechen Niveaus zunehmender statistischer Signifikanz und $p = n.s.$ entspricht einem nicht signifikanten Ergebnis. LDL: MP n= 41, Kk n=18; HDL: MP n= 39 Kk n=17 ; VDL: MP n=40 Kk n=16

4.2.3 Apo-E-Genotypen

Erwartungsgemäß hat die überwiegende Mehrheit den Genotyp 3/3 (66,6% der Parkinson-Patienten, 72,2% der Kontrollen). Jeweils ca. 10-15% der Personen beider Gruppen haben entweder den Genotyp 3/4 oder 2/3. Unter den Parkinson-Patienten haben 2 Personen die seltenen Genotypen 3/2 und einer den Typ 4/4. Das Verteilungsmuster der beiden Kollektive ist somit weitgehend gleich (Tabelle 4.2).

Apo-E-Genotypen	Parkinson (n=42)		Kontrollen (n=18)	
3/3	28	66,67	13	72,22
3/4	5	11,90	3	16,67
4/4	1	2,38	-	-
2/3	5	11,90	2	11,11
3/2	2	4,76	-	-
Ohne Angabe	1	2,38	-	-

Tab. 4.3 Verteilung der Apo-E-Genotypen der beiden untersuchten Kollektive. Die Zahlen 3/3, 3/4 usw. geben die beiden Allelen des Genotypen an.

4.3 Hydrophile Antioxidantien im Plasma

Für diese Arbeit wurden die hydrophilen Antioxidantien Ascorbinsäure (Vitamin C), Sulfhydrylgruppen (Schwefelwasserstoffgruppen), Bilirubin und Urat (Harnsäure) bestimmt. Die Meßergebnisse des Parkinson- und des Kontrollkollektivs werden vergleichend in Text und Diagrammen dargestellt. Die Werte der Parkinson-Patienten bei den Konzentrationen von Sulfhydrylgruppen und Bilirubin zeigen eine hochsignifikante Erniedrigung gegenüber dem Vergleichskollektiv. Für die Konzentration von Ascorbinsäure läßt sich hingegen nur die Tendenz einer Erniedrigung der Werte der Parkinson-Patienten gegenüber dem Vergleichskollektiv beschreiben, ohne daß eine statistisch hohe Zuverlässigkeit dieser Aussage im Sinne der Signifikanz besteht. Die Uratkonzentrationen der Parkinson-Patienten sind gegenüber den Kontrollen annähernd gleich.

4.3.1 Ascorbinsäure/Vitamin C im Plasma

Aus Abbildung 4.3 ist zu ersehen, daß sich im Falle der Ascorbinsäure entgegen der Erwartung keine deutlichen Konzentrationsunterschiede zwischen den beiden Gruppen zeigen. Im Mittel haben die Parkinson-Patienten (n=27) $53,8 \pm 23 \mu\text{mol/l}$, die Kontrollpersonen (n=17) $58,4 \pm 20 \mu\text{mol/l}$ Ascorbat im Plasma. Die Werte der Parkinson-Patienten sind damit in der Tendenz gegenüber den Kontrollpersonen verringert. Bei einem p-Niveau von 0,5 läßt sich statistisch keine hinreichend sichere Aussage über die Konstanz dieses Ergebnisses treffen. Die in diese Auswertung eingehende relativ geringe Zahl an Daten der Parkinson-Patienten (n=27) und eine große Streuung der Werte um den Mittelwert wirken einer möglichen statistischen Signifikanz entgegen.

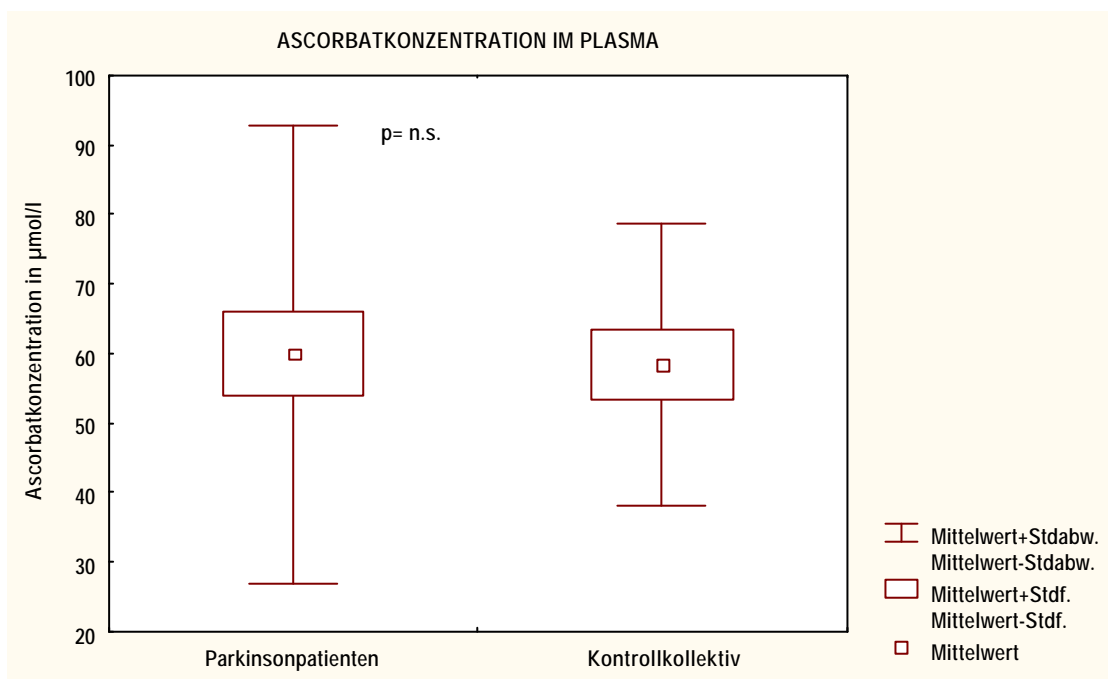


Abb. 4.3 Vergleich von Ascorbinsäurekonzentrationen von Parkinson-Patienten mit Kontrollen (Abszisse) im Plasma. Darstellung von Mittelwert (MW), dessen Standardfehler (Stdf.) und Standardabweichung (Stdabw). Auf der Ordinate sind Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen. Der Normbereich für Ascorbinsäure im Plasma beträgt 30-150 $\mu\text{M/l}$. Beide Gruppen liegen im Normbereich, es zeigen sich keine deutlichen Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen ($p=0,5$). MP n=27, Kk n=17

4.3.2 Sulphydrylgruppen (SH-Gruppen) im Plasma

Auch das Ergebnis der SH-Gruppen-Bestimmung zeigt eine deutliche Erniedrigung der Plasmakonzentration der Parkinson-Patienten gegenüber der Vergleichsgruppe von höchster statistischer Signifikanz ($p^{***}=0,0001$), wie auch der Abbildung 4.4 zu entnehmen ist. Im Mittel haben die Parkinson-Patienten eine Konzentration von $321 \pm 44 \mu\text{mol/l}$ ($n=40$), wogegen die Kontrollpersonen im Mittel $465 \pm 42 \mu\text{mol/l}$ ($n=18$) SH-Gruppen im Plasma aufweisen. Die Werte der Parkinson-Patienten liegen deutlich unterhalb des Normbereichs für Sulphydrylgruppen im Plasma von $400 - 600 \mu\text{M}$.

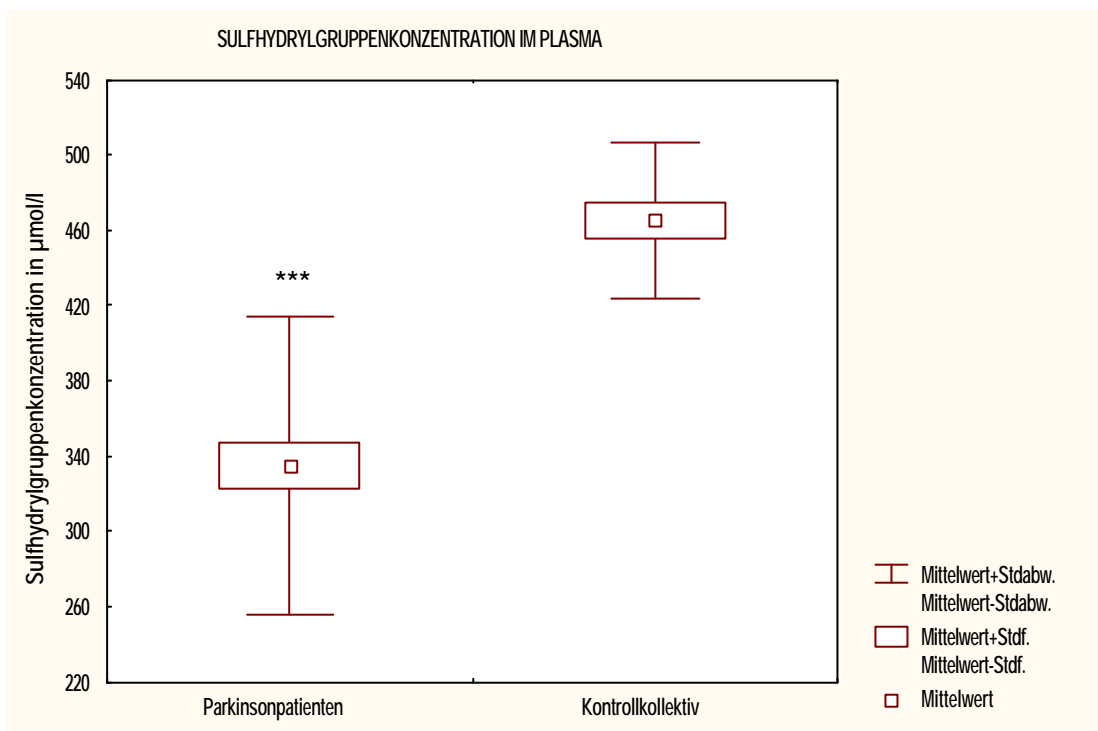


Abb. 4.4 Vergleich der Sulphydrylgruppenkonzentrationen im Plasma von Parkinson-Patienten mit dem Kontrollkollektiv (Abszisse), mit Darstellung der Konzentrationen (Ordinate) von Mittelwert, einfacher Standardabweichung (Stdabw) und Standardfehler des Mittelwertes (Stdf). Der p -Wert von 0,0001 beschreibt höchste statistische Signifikanz. Der Normbereich für SH-Gruppen im Plasma beträgt $400-600\mu\text{mol/l}$. MP $n=40$, Kk $n=18$.

4.3.3 Bilirubin im Plasma

Die Abbildung 4.5 zeigt einen offensichtlich erheblichen Konzentrationsunterschied des Bilirubins beim Vergleich der beiden Kollektive. Die Plasmabilirubinkonzentration der Parkinson-Patienten, Mittelwert von $8,73 \pm 2 \mu\text{mol/l}$ ($n=39$), gegenüber dem Kontrollkollektiv, Mittelwert $13,3 \pm 4$ ($n=18$), ist statistisch hochsignifikant ($p^{***}=0,0001$) erniedrigt. Beide Kollektive liegen innerhalb des Normbereichs der Plasma-Bilirubinkonzentration ($5\text{-}20 \mu\text{M}$).

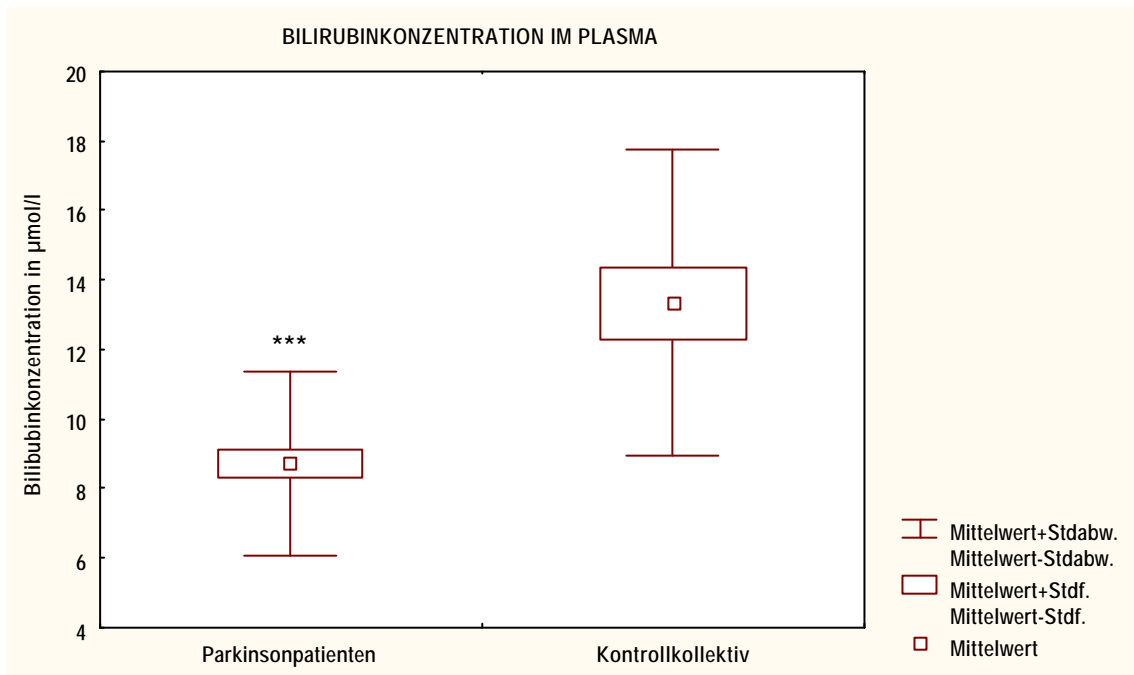


Abb. 4.5 Vergleich der Bilirubinkonzentrationen im Plasma von Parkinson-Patienten mit dem Kontrollkollektiv. Darstellung von Mittelwert, einfacher Standardabweichung (Stdabw) und Standardfehler des Mittelwertes (Std.). Die Abweichung entspricht mit $p^{***} < 0,0001$ dem höchstem Signifikanzniveau. Der Normbereich für Bilirubin im Plasma beträgt $5\text{-}20 \mu\text{mol/l}$. MP $n=39$, Kk $n=18$

4.3.4 Urat/Harnsäure im Plasma

Die im Plasma gemessenen Uratkonzentrationen der beiden Kollektive unterscheiden sich nur geringfügig voneinander (Abb.4.6). Der Mittelwert bei den Parkinson-Patienten ist mit $252,38 \pm 69,52 \mu\text{mol/l}$ ($n=39$) gegenüber $263,40 \pm 57,32 \mu\text{mol/L}$ ($n=17$) etwas erniedrigt. Die Mittelwerte beider Gruppen liegen innerhalb des Normbereichs von Urat im Plasma ($160\text{-}450 \mu\text{mol/l}$).

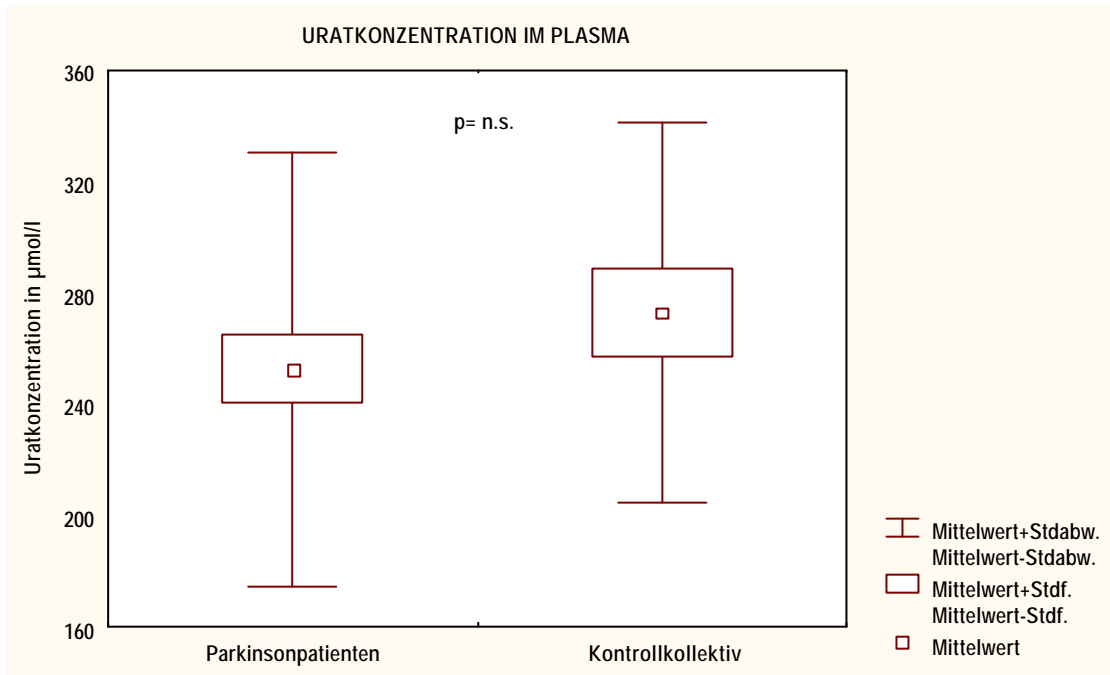


Abb. 4.6 Vergleich der Uratkonzentrationen im Plasma von Parkinson-Patienten mit dem Kontrollkollektiv. Darstellung der Konzentrationen auf der Ordinate mit Mittelwert, Standardabweichung (MW \pm Sdtabw) und Standardfehler (Stdf) des Mittelwertes. Keine statistisch signifikanten Konzentrationsunterschiede ($p= 0,57$). Der Normbereich von Urat im Plasma beträgt $150\text{-}450 \mu\text{mol/l}$.

4.4 Lipophile Antioxidantien im Plasma

Von den lipophilen Antioxidantien wurden α - Tocopherol, α - Carotin, β - Carotin und die reduzierte (Ubichinol/QH₂10) und oxidierte (Ubichinon /Q10) Form des Ubichinons (Coenzym Q10) bestimmt. Aus den Meßergebnissen des Coenzym Q10 wurde die Summe und der Anteil des QH₂10 an der Gesamtkonzentration berechnet.

Die Berechnung der Konzentration aller Parameter erfolgt mittels externer Standardisierung (Kapitel 3). Bei einigen Messungen von QH₂10 wurden auch interne Standardwerte erhoben, dazu wurde wegen geringer Fallzahlen bei den Kontrollpersonen nur vergleichend im Text Stellung genommen.

Die Konzentration der lipophilen Antioxidantien ist natürlicherweise von der Plasmalipidkonzentration abhängig. Aufgrund der unter Kapitel 4.2 (siehe auch Abb. 4.1 und 4.2) gezeigten deutlichen Differenz der Plasmalipidkonzentrationen zwischen Parkinson-Patienten und der Vergleichsgruppe wurden die absoluten Meßwerte der lipophilen Antioxidantien durch die Summe aus Gesamtcholesterin und Triglyceriden geteilt. Am Beispiel des α - Tocopherols werden absolute (Abb. 4.7) und durch die Gesamtlipidkonzentration korrigierte Werte (Abb. 4.8) dargestellt, um die deutliche Änderung der Aussage zu zeigen. Bei allen folgenden Parametern werden nur die auf die Lipidkonzentration bezogenen Werte dargestellt.

Für die meisten Parameter zeigt sich vor allem bei dem Parkinsonkollektiv eine erhebliche Streuung der Werte (Abb. 4.10). Es liegt bei den Extremwerten kein Anhalt für einen Meßfehler vor, sodaß diese nicht vor Beginn der Datenanalyse aus der Auswertung ausgeschlossen wurden. Bei der Betrachtung der Ergebnisse sollte aber berücksichtigt werden, daß das Maß der Streuung der Werte um den Mittelwert die Statistik beeinflußt.

4.4.1 a- Tocopherol in Relation zur Gesamtlipidkonzentration

In Abbildung 4.7 ist bereits in der Tendenz eine Erhöhung der α -Tocopherolkonzentration im Plasma der Parkinson-Patienten ($29,21 \pm 9,21 \mu\text{mol/l}$) gegenüber dem Kontrollkollektiv ($24,63 \pm 5,07 \mu\text{mol/l}$) zu sehen, die allerdings statistisch nicht signifikant ist ($p=0,057$). Die große Streuung der Daten bei den Parkinson-Patienten wirkt einem womöglich bei größeren Fallzahlen signifikanten Konzentrationsunterschied entgegen. Für die Auswertung wurden wie üblich die Ausreißer jenseits der zweifachen Standardabweichung des Mittelwertes aus der Wertung herausgenommen.

In der Abbildung 4.8 wird deutlich, daß bei Bezugnahme auf die deutlich niedrigeren Gesamtlipidkonzentrationen der Parkinson-Patienten gegenüber denen der Kontrollgruppe das α -Tocopherol im Vergleich statistisch hochsignifikant erhöht ist ($p^{***}=0,0001$). Die Werte der Parkinson-Patienten betragen im Mittel $9871,46 \pm 2809,48 \text{ pmol/mg}$ Gesamtlipide (Triglyceride [TG] plus Gesamtcholesterin [CHOL]) gegenüber dem Kontrollkollektiv mit $6597,16 \pm 1699,86 \text{ pmol/mg}$.

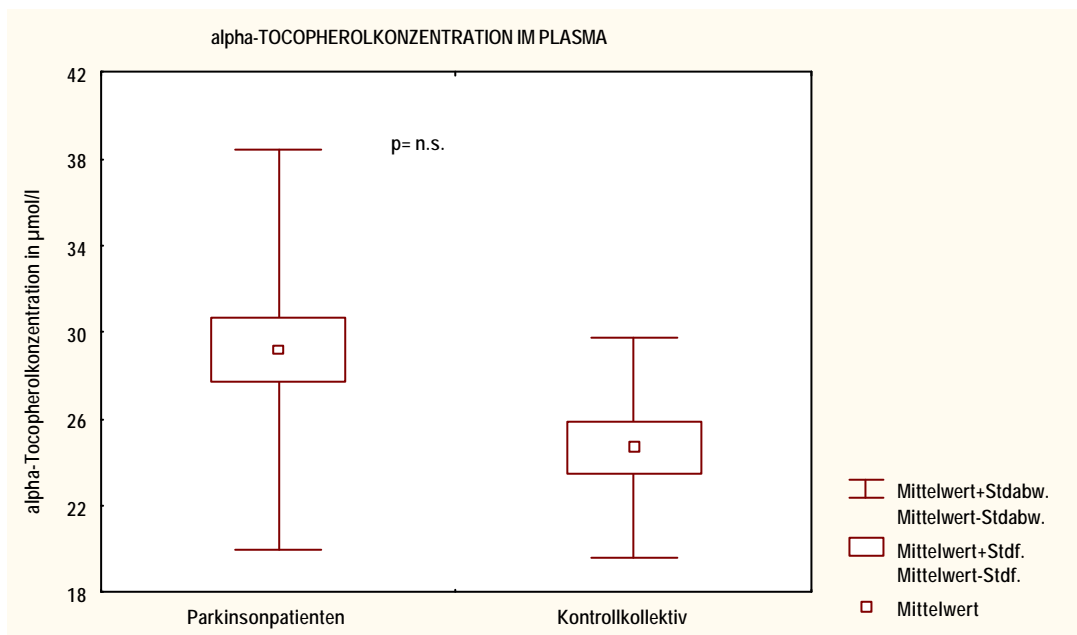


Abb. 4.7 Darstellung der α -Tocopherolkonzentration der Parkinson-Patienten im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv. Auf der Ordinate sind die Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen mit Mittelwert, Standardabweichung (Stdabw) und Standardfehler (Stdf). Der Normwert von α -Tocopherol im Plasma beträgt $\mu\text{mol/l}$. MP n=39, Kk n= 18.

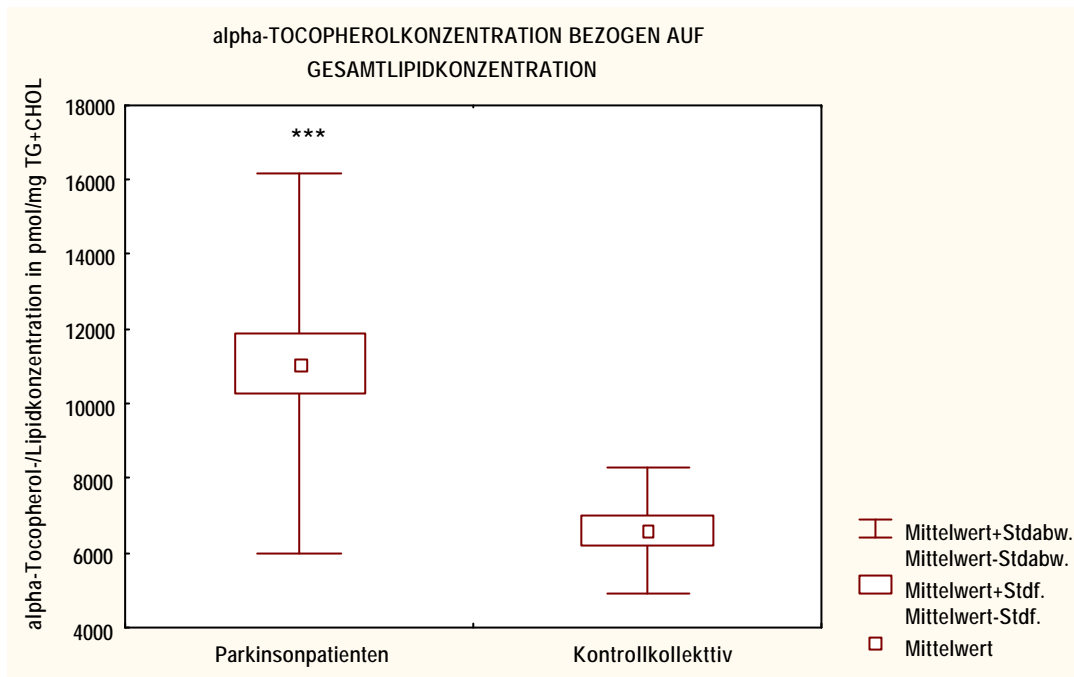


Abb. 4.8 Darstellung der α - Tocopherolkonzentration von Parkinson-Patienten und Kontrollkollektiv bezogen auf Gesamtlipide (Gesamtcholesterin und Triglyceride). Auf der Ordinate sind die Konzentrationen in pmol/mg CHOL+TG aufgetragen mit Mittelwert, einfacher Standardabweichung (Stdabw) und Standardfehler (Stdf) des Mittelwertes. Es zeigt sich eine statistisch hochsignifikante Erhöhung der Parkinsonwerte ($p=***0,0001$). Der Normwert für α - Tocopherol im Plasma beträgt >4000 pmol/mg Gesamtlipide. MP n=39, Kk n=18.

4.4.2 **a- Carotin in Relation zur Gesamtlipidkonzentration**

In Abbildung 4.9 sind die Konzentrationen des Quotienten aus α -Carotin und Gesamtlipiden dargestellt. Entsprechend der α - Tocopherolkonzentration zeigen sich auch hier höhere Werte bei den Parkinson-Patienten, aber ohne statistische Signifikanz ($p=0,36$). Bei Parkinson-Patienten sind es im Mittel $50,67 \pm 47,91$ pmol/mg TG+CHOL gegenüber den Kontrollen mit $39,22 \pm 17,17$ pmol/mg TG+CHOL. In der Abbildung 4.10 wird die erhebliche Streuung der Parkinsondaten um den Mittelwert gezeigt. Es besteht bei diesen Extremen kein Anlaß von einem Meßfehler auszugehen, so daß sie mit in die Wertung eingegangen sind. Selbst nach Ausschluß des Ausreißers aus der Auswertung ändert sich die getroffene Aussage nicht.

Die im Plasma gemessenen absoluten α - Carotinkonzentrationen sind im Vergleich dazu bei den Kontrollen ($0,16 \pm 0,07$ $\mu\text{mol/l}$ bei n=17) gegenüber den Parkinson-Patienten ($0,15 \pm 0,15$ n=40) annähernd gleich ($p= 0,75$).

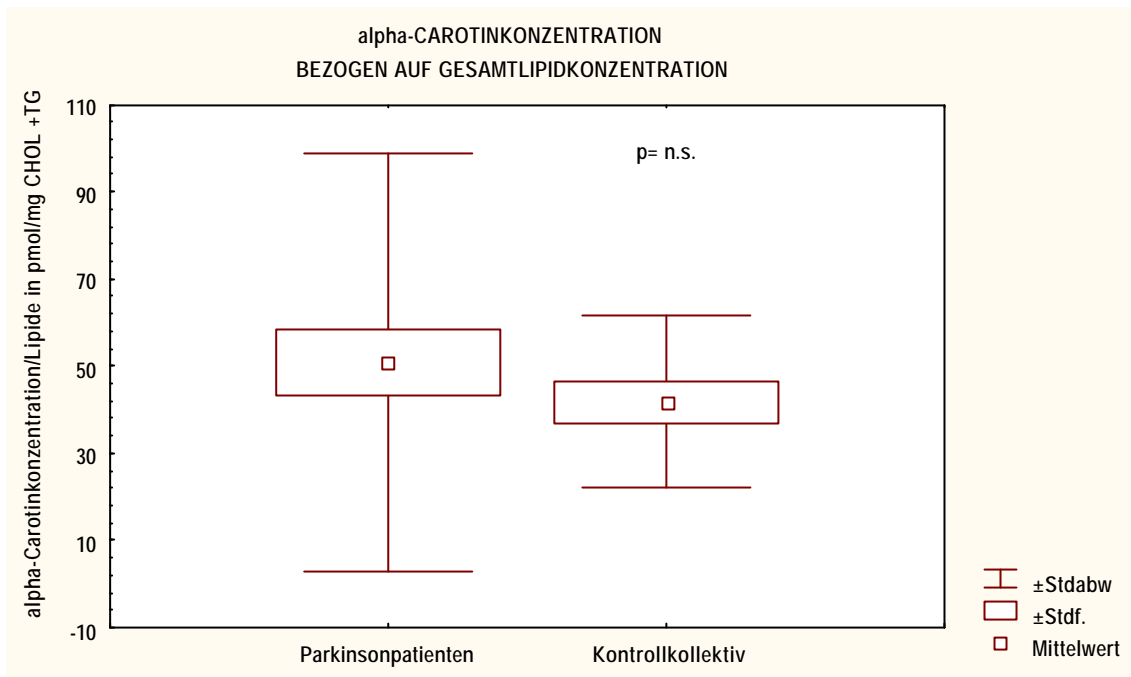


Abb. 4.9 Vergleich der α - Carotinkonzentrationen von Parkinson-Patienten mit dem Kontrollkollektiv. Auf der Ordinate aufgetragen sind die Konzentrationen in pmol/mg CHOL+TG (Gesamtcholesterin + Triglyceride) mit der Darstellung von Mittelwert, einfacher Standardabweichung (Stdabw) und Standardfehler (Std). Der Normwert für α -Carotin im Plasma beträgt >7 pmol/mg Gesamtlipide.

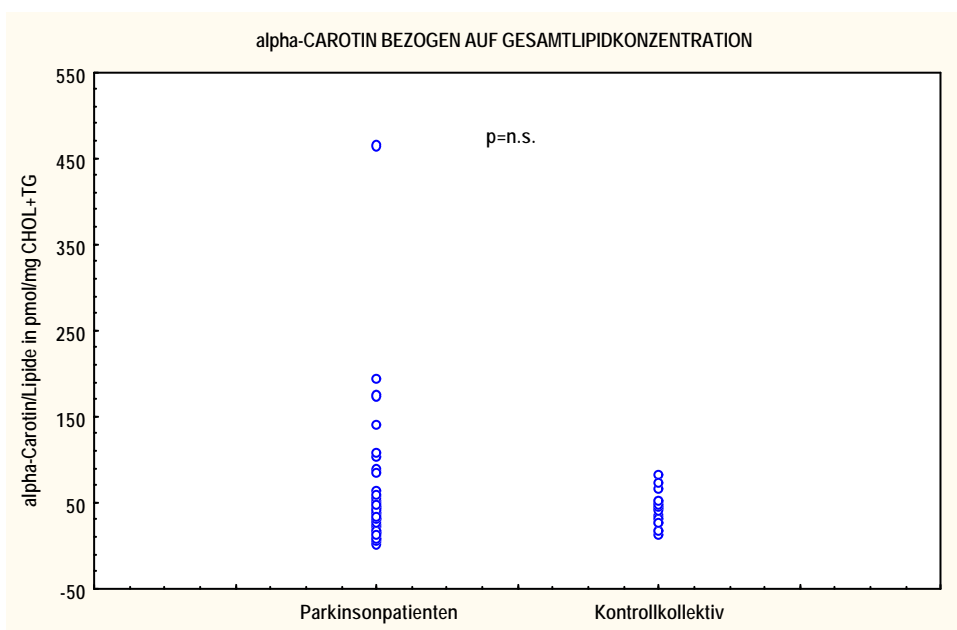


Abb. 4.10 Streuung der Konzentrationen des Quotienten aus α - Carotin und Gesamtlipiden von Parkinson- und Kontrollkollektiv um den Mittelwert. Die Ordinate zeigt die Konzentrationen in pmol/mg TG+CHOL der gemessenen Werte (inklusive der Werte jenseits zweifacher Standardabweichung vom Mittelwert). MP n=41, Kk n=17, p=0,34.

4.4.3 **β- Carotin in Relation zur Gesamtlipidkonzentration**

Die β - Carotinkonzentration der Parkinson-Patienten ist sowohl unter Betrachtung der absoluten Meßwerte als auch unter Berücksichtigung der Lipidkonzentrationen gegenüber den Kontrollen signifikant erhöht. Die in Abbildung 4.11 dargestellten Ergebnisse zeigen den Vergleich der β - Carotinkonzentration in Bezug auf die Lipidkonzentration. Die Parkinson-Patienten haben im Mittel $352,48 \pm 198,24$ pmol/mg TG+CHOL im Plasma gegenüber $153,62 \pm 73,49$ bei den Kontrollen ($p^{***}=0,0002$).

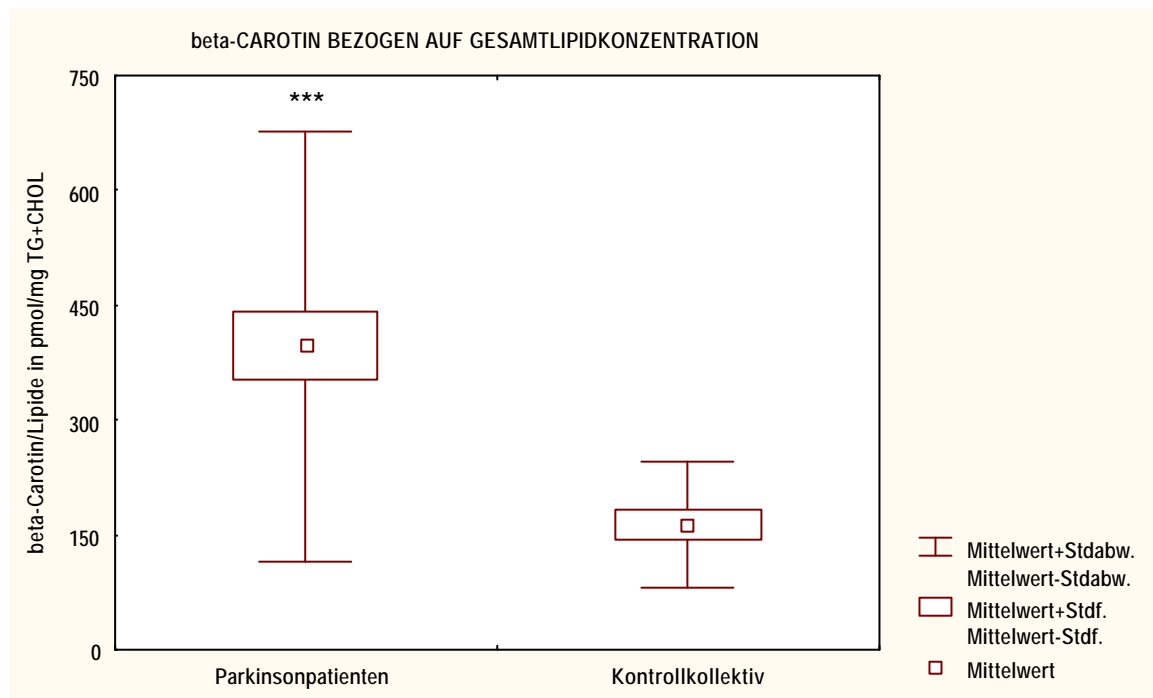


Abb. 4.11 Vergleich der β - Carotinkonzentrationen der beiden Kollektive auf Lipide bezogen. Auf der Ordinate sind die Konzentrationen pmol/mg CHOL und TG aufgetragen, mit Darstellung von Mittelwerten, Standardabweichung (Stdabw) und Standardfehler (Stdf) des Mittelwertes. Das p -Niveau $< 0,001$ ($p=0,0002$) zeigt ein hochsignifikantes Ergebnis. Der Normwert für β - Carotin/Lipide beträgt >50 pmol/mg Gesamtlipide. MP n=39 Kk n=17.

4.4.4 Ubichinol (QH₂10) in Relation zur Gesamtlipidkonzentration

Das Ubichinol (QH₂10) ist bei den Parkinson-Patienten im Plasma ebenfalls signifikant höher als bei den Kontrollen. In 4.12 sind die Ubichinolkonzentrationen im Verhältnis zur Gesamtlipidkonzentration dargestellt. Die Werte der Parkinson-Patienten betragen im Mittel $237,86 \pm 194,12$ pmol/mg TG+CHOL gegenüber $120,64 \pm 68,14$ bei den Kontrollen ($p^*=0,023$). Die interne Standardisierung ergab keinen Unterschied im Ergebnis, so daß auf eine Darstellung verzichtet wird.

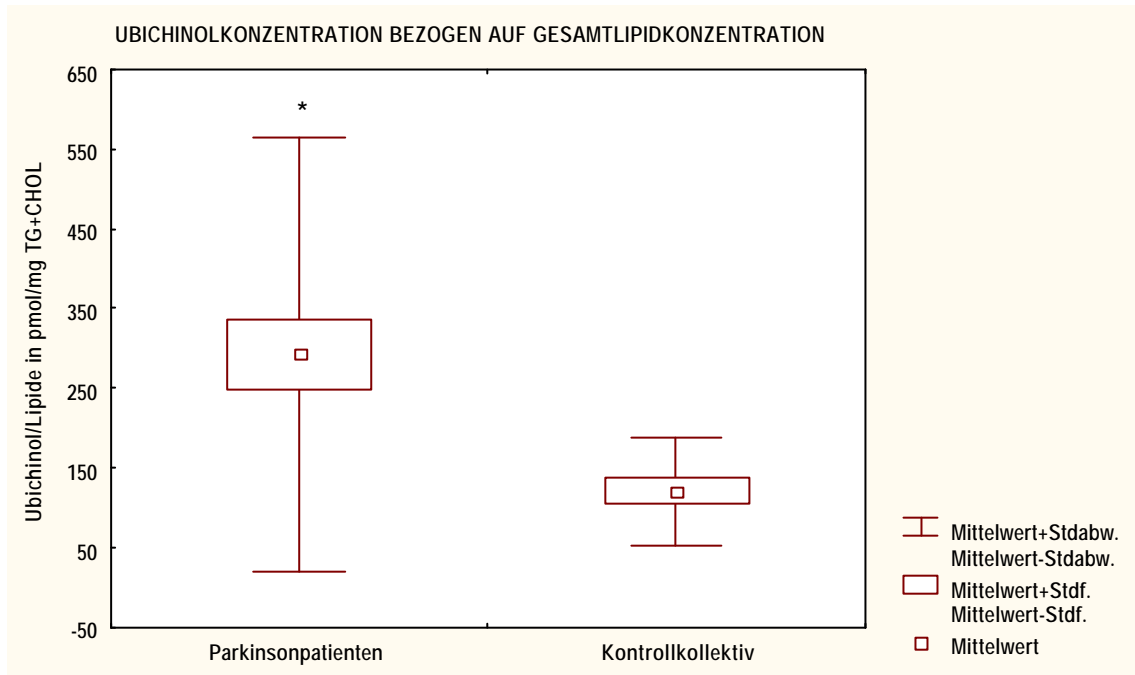


Abb. 4.12 Vergleich der Ubichinolkonzentrationen in Bezug auf die Gesamtlipidkonzentration. Auf der Ordinate ist Ubichinol geteilt durch die Summe aus Triglyceriden (TG) und Gesamtcholesterin (CHOL) in pmol/mg augetragen unter Darstellung von Mittelwerten, Standardabweichung (Stdabw) und Standardfehler (Stdf) des Mittelwertes. Der Normwert beträgt >100 pmol/mg TG+CHOL. MP n=38 Kk n=16.

4.4.5 Ubichinon (Q10) in Relation zur Gesamtlipidkonzentration

Bei der oxidierten Form des Coenzym Q, des Ubichinons, bezogen auf die Plasmalipidkonzentration ist ebenfalls eine Erhöhung der Werte bei den Parkinson-Patienten gegenüber dem Kontrollkollektiv, wie in 4.13 dargestellt, zu sehen. Bei den Werten von 13 Parkinson-Patienten liegt der Mittelwert bei $82,20 \pm 40,81$ gegenüber dem Mittel von 16 Kontrollen, der bei $53,69$ pmol/mg TG+CHOL liegt. Das entspricht einer statistisch signifikanten Erhöhung der Konzentration ($p^*=0,043$). Aus technischen Gründen konnten nicht alle Proben der Parkinson-Patienten hinsichtlich ihres Ubichinongehaltes gemessen werden. Dies ist wegen des Einflusses der Fallzahl auf die Statistik bei der Beurteilung des Ergebnisses und im Vergleich zu den anderen lipophilen Antioxidantien zu bedenken.

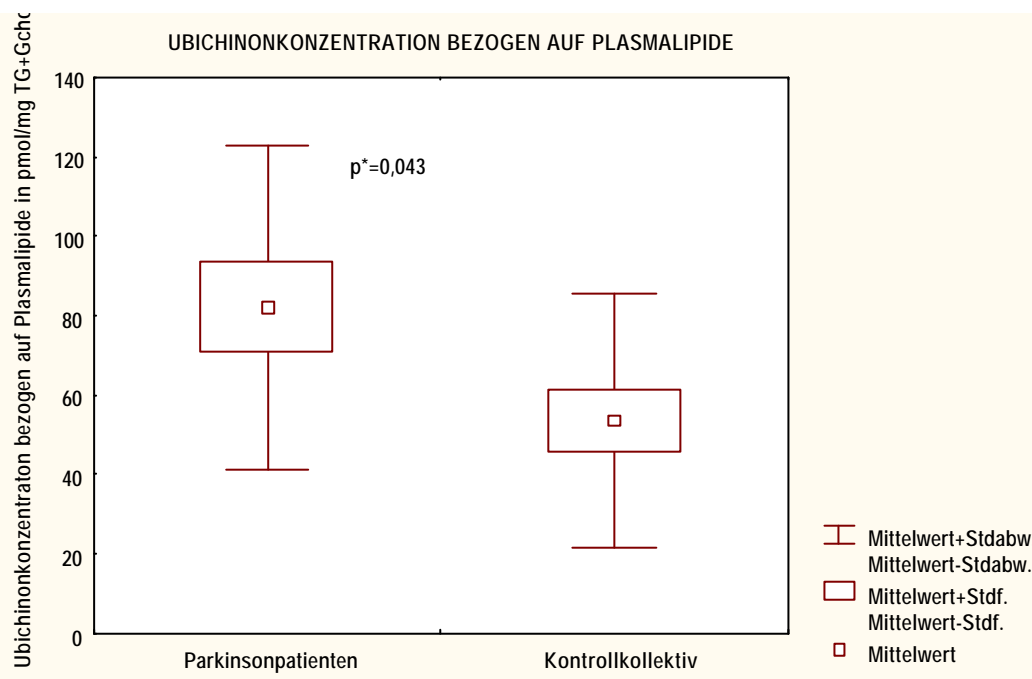


Abb. 4.13 Vergleich der Ubichinonkonzentration beider Kollektive bezogen auf Plasmalipide. Die Ordinate gibt die gemessenen Ubichinonkonzentrationen durch die Summe aus Triglyceriden und Gesamtcholesterin geteilt in pmol/mg an. Die Erhöhung der Parkinsonwerte ist statistisch signifikant ($p^*=0,043$). MP n=13, Kk n=16

4.4.6 Summe aus Ubichinon und Ubichinol in Relation zur Gesamtlipidkonzentration

Die Summe aus reduzierter und oxidiertes Form des Coenzym Q10 ist bei den Parkinson-Patienten ebenfalls deutlich gegenüber dem Kontrollkollektiv erhöht.

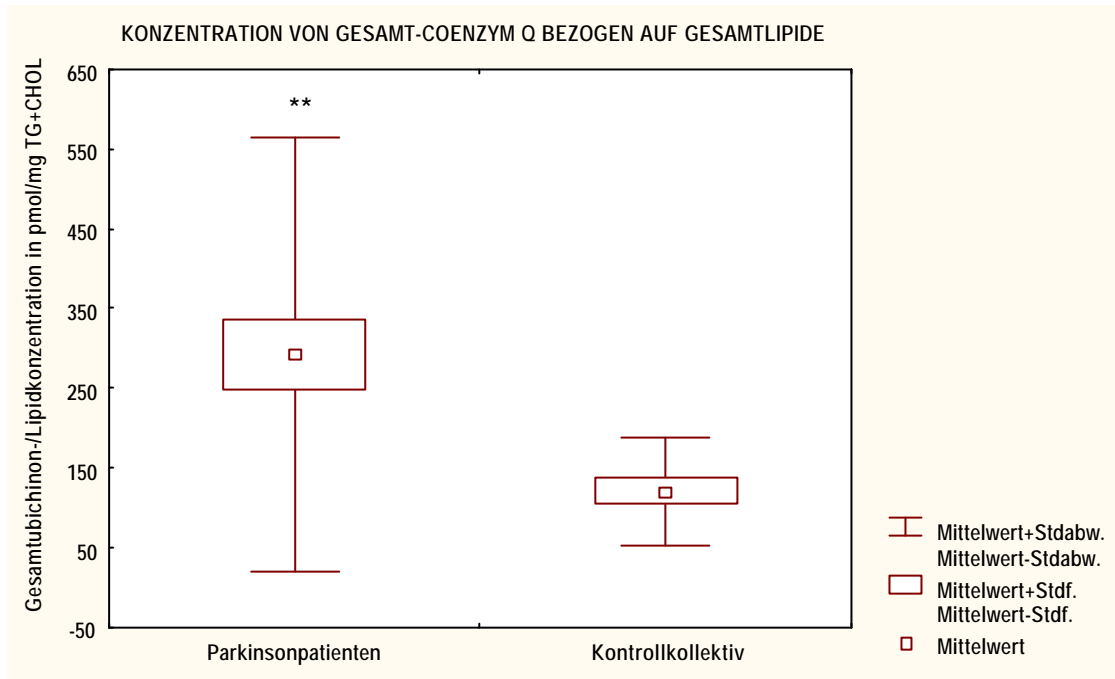


Abb. 4.14 Dargestellt ist die Konzentration von Gesamt-Coenzym-Q10-Konzentration/Gesamtlipide in pmol/mg Triglyceride und Gesamtcholesterin. Entsprechend der Erhöhung bei reduz. und oxid. Ubichinon ist auch die Summe bei den Parkinson-Patienten signifikant erhöht ($p^{**}=0,001$). Die Streuung der Parkinsonwerte ist wie bei allen lipophilen Antioxidantien sehr groß. MP n=13 Kk n=16.

4.4.7 Prozentualer Anteil des Ubichinols an der Coenzym Q10-Gesamtkonzentration

In Tabelle 4.4 wird der prozentuale Anteil des Ubichinols am Coenzym Q10-Gesamtgehalt im Plasma dargestellt. Der Anteil liegt üblicherweise zwischen 75 und 80%. Mit $80,3 \pm 11,89\%$ liegen die Parkinsonpatienten im Vergleich zu den in der Literatur beschriebenen Durchschnittswerten eher überdurchschnittlich [Kontush et al.1995], die Kontrollen mit $71,5 \pm 17,13\%$ liegen im Vergleich mit diesen Daten eher unterdurchschnittlich. Die Erhöhung der Werte bei MP gegenüber den Kontrollen ist nicht statistisch signifikant ($p=0,16$).

Anteil von QH ₂ 10 an Gesamtkonzentration	MW Parkinson in % ± Stdabw (n=12)	MW Kontrollen in % ± Stdabw (n=15)	Signifikanzniveau (p=)
Ubichinol %	80,33±11,89	71,85 ± 17,13	0,158

Tab. 4.4 Ubichinolanteil in % der Q10-Gesamtkonzentration. MW= Mittelwert, Stdabw= Standardabweichung

4.5 Messung der Plasmaoxidierbarkeit: Autooxidation und induzierte Plasmaoxidation

Für die Bestimmung der Plasmaoxidierbarkeit wurde die Gesamtplasmaoxidation mit den Oxidantien AAPH und Lipoxygenase durchgeführt. Bei jeder Messung wurde die Autooxidation, also die Lipoproteinoxidation ohne Zugabe eines Oxidans, gemessen und in den Diagrammen neben den Werten der Parkinson-Patienten und der Kontrollen aufgeführt. Die Kinetik der Plasmaoxidation in beiden Gruppen ist in Übereinstimmung mit den Untersuchungen an Probanden ohne MP [Kontush A and Beisiegel U 1999]. Die mit AAPH oxidierten Plasmaproben der Parkinson-Patienten zeigen eine hochsignifikant erhöhte Plasmaoxidationsrate als die des Kontrollkollektivs. Die Meßreihe mit dem Oxidans Lipoxygenase bestätigt diese Aussage nicht. Die nur unwesentlich gegenüber der Autooxidation erhöhte Oxidationsrate läßt vermuten, daß die Konzentration der Lipoxygenase zu gering gewählt war, um einen deutlichen Anstieg der Plasmaoxidationsrate zu erzielen. Auch angesichts einer relativ großen Schwankung der Werte und der geringeren Fallzahl des Kontrollkollektivs ist die Aussage kritisch zu beurteilen. Die negativen Werte bei der Autooxidation und bei den mit Lipoxygenase versetzten Proben erklären sich durch eine sehr langsame Entstehung der gemessenen Oxidationsprodukte bei gleichzeitigem Verbrauch von UV-absorbierenden Substanzen.

In Abbildung 4.15 werden von beiden Kollektiven die Autooxidation und die mit den Oxidantien AAPH und Lipoxygenase induzierte Plasmaoxidation als Rate der oxidierten Lipoproteine in nmol Diene/min dargestellt. Die Autooxidation bei den Parkinson-Patienten zeigt eine signifikant höhere Plasmaoxidationsrate als die der Kontrollen ($p=0,026$). Noch deutlicher wird dieser Unterschied bei der mit AAPH verstärkten Plasmaoxidation. Hier zeigt sich bei den Parkinson-Patienten ($4,10 \pm 1,63$) eine hochsignifikante Erhöhung ($p=0,0004$) gegenüber den Werten des Kontrollkollektivs ($2,11 \pm 1,94$).

Die Lipoxygenase-induzierte Plasmaoxidation der Parkinson-Patienten ($0,61 \pm 0,20$ nm Diene/min) ist gegenüber den Kontrollen ($0,42 \pm 1,16$) unwesentlich erhöht ($p=0,35$). Da sich die Ergebnisse beider Gruppen nur gering von der Autooxidation unterscheiden, läßt sich vermuten, daß die Lipoxygenaseaktivität zu gering -die Konzentration für den Versuch zu niedrig gewählt- ist, um eine ausreichende Plasmaoxidation zu induzieren und ein verwertbares Ergebnis zu erhalten.

Die deutliche Steigerung der Oxidationsrate sowohl bei der Autooxidation als auch bei der AAPH-induzierten Oxidation legt nahe, daß das gesamte plasmatische oxidative Milieu der Parkinson-Patienten deutlich anfälliger für Oxidationsprozesse ist, als es bei den Gesunden des Kontrollkollektivs der Fall ist.

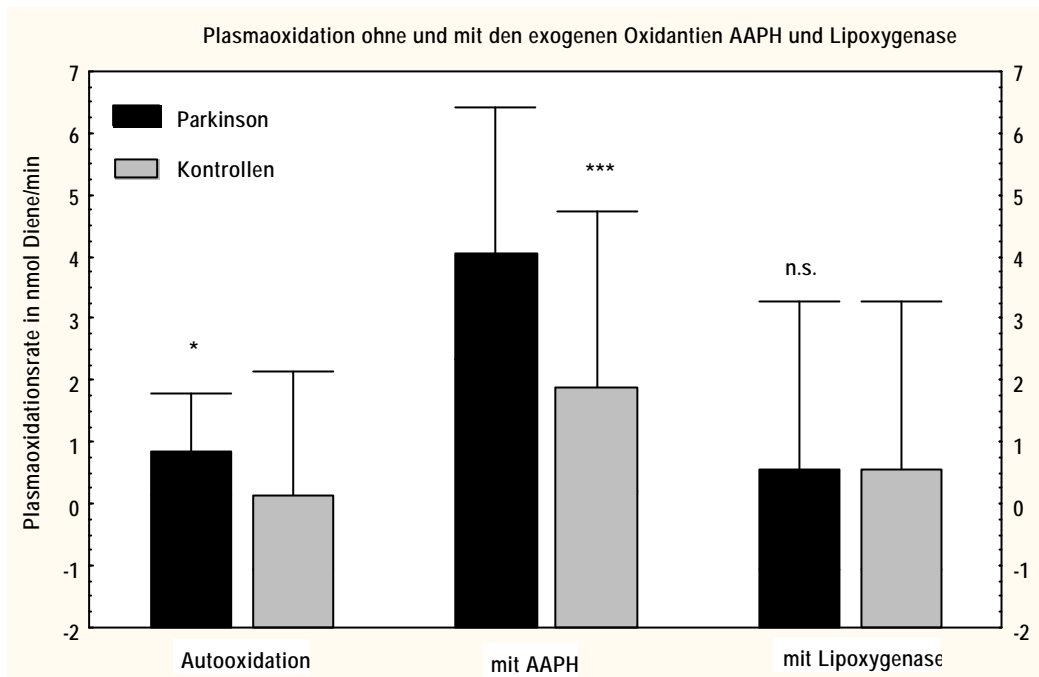


Abb. 4.15 Plasmaoxidation von Parkinson-Patienten und Kontrollkollektiv ohne (Autooxidation) und jeweils mit den exogenen Oxidantien AAPH und Lipoxygenase, mit Mittelwert und Standardabweichung. Auf der Ordinate ist die Rate der oxidierten Lipoproteine in nmol Diene/min aufgetragen, auf der Abszisse ist die Autooxidation, die AAPH-induzierte und die Lipoxygenase-induzierte Plasmaoxidation beider Kollektive nebeneinander dargestellt.

4.6 Korrelationen

Um festzustellen, ob sich die Meßergebnisse der einzelnen Parameter proportional zueinander verhalten und eine Aussage über einen entweder gleichgerichteten oder entgegengesetzten linearen Zusammenhang treffen, wurden alle gemessenen Parameter miteinander korreliert.

Eine signifikante Korrelation einzelner Oxidationsparameter mit dem Alter findet sich bei den lipophilen Antioxidantien α -Carotin und Ubichinol. Die Ergebnisse der Plasmaoxidation, der Plasmalipide und der hydrophilen Antioxidantien korrelieren nicht mit dem Alter.

Die Daten der meisten lipophilen Antioxidantien korrelieren miteinander und ebenso mit einigen hydrophilen Antioxidantien. Im Gegensatz dazu findet sich bei den Ergebnissen der hydrophilen Antioxidantien trotz der hohen Signifikanz der Konzentrationen von Bilirubin und den Sulfhydrylgruppen keine Proportionalität. Wider Erwarten zeigen sich keine Korrelationen zwischen den Konzentrationen der hydrophilen oder der lipophilen Antioxidantien mit der Plasmaoxidationsrate, mit Ausnahme des Urats, das mit der AAPH-induzierte Plasmaoxidation einen linearen Zusammenhang aufzeigt.

Einige wichtige signifikante Korrelationen werden im folgenden dargestellt und -wenn nicht anders gekennzeichnet- jeweils bezogen auf die Gruppe der Parkinson-Patienten. Alle Ergebnisse, aufgeteilt in die Untersuchungskollektive sowie die Gesamtdaten, sind im Anhang aufgeführt.

4.6.1 Korrelationen mit dem Alter

Die Betrachtung eines Zusammenhangs zwischen den Konzentrationen verschiedener Antioxidantien und dem Alter der Probanden ist wegen des vielfach beschriebenen Einflusses des Alters auf den Stoffwechsel und das vermehrte Auftreten von Oxidationsprozessen von großem Interesse.

Die Analyse ergab eine negative Korrelation des Alters der Parkinson-Patienten mit den lipophilen Antioxidantien α -Carotin (Abbildung 4.17), Ubichinol (Abb. 4.18) sowie der Gesamtkonzentration des Coenzym Q10 (Tabelle 4.5). In der Kontrollgruppe zeigten diese Parameter keine Proportionalität, hingegen korrelierten die Sulfhydrylgruppen negativ mit dem Alter ($p^*=0,033/ r= -0,570/ n=14$). Die negative Korrelation beschreibt die erwartete Verringerung der lipophilen Antioxidantien mit zunehmendem Alter. Da sich diese Korrelationen nicht bei den Kontrollen zeigen, ist es ein Hinweis für eine mit dem Alter zunehmende prooxidative Stoffwechsellaage bei Parkinson-Patienten. Bezüglich der hydrophilen Antioxidantien und der beiden wichtigsten lipophilen Antioxidantien α -Tocopherol und β -Carotin können diese Beobachtungen allerdings nicht bestätigt werden. Auch die Plasmaoxidierbarkeit steigt mit zunehmendem Alter nicht signifikant an.

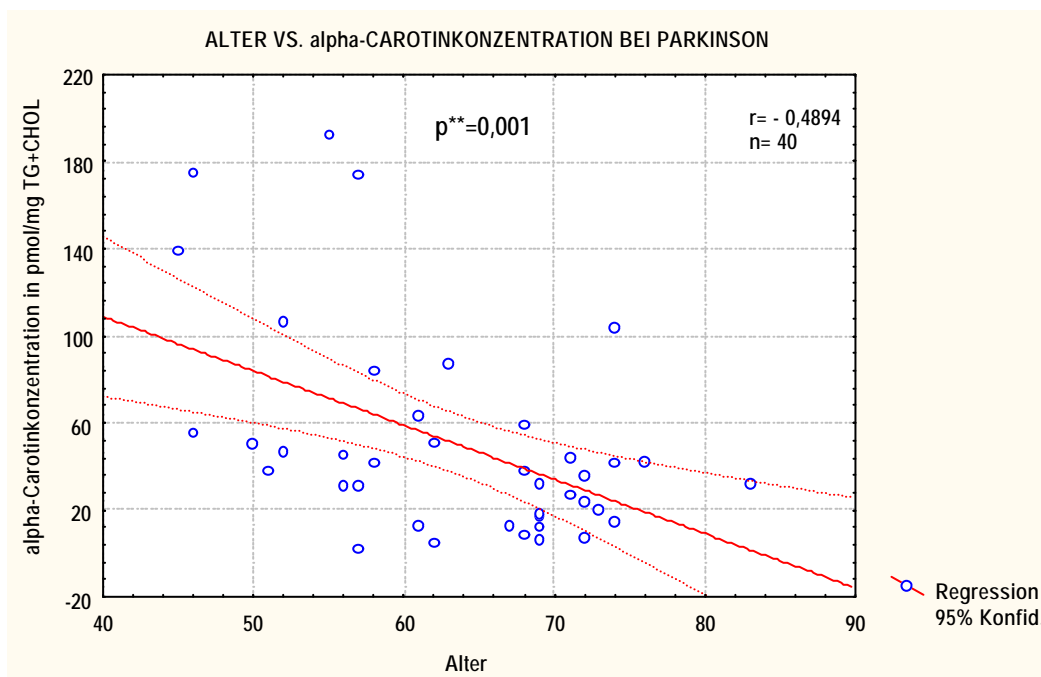


Abb. 4.17 Korrelation von Alter und α -Carotinkonzentration bei Parkinson-Patienten

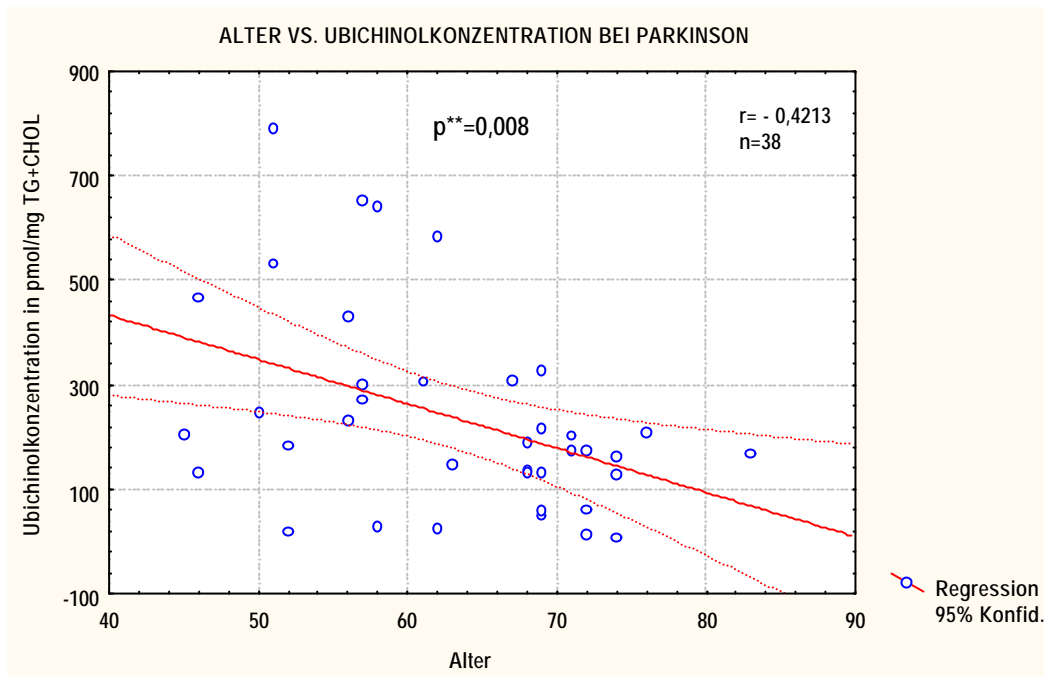


Abb. 4.18 Korrelation von Alter mit Ubichinolkonzentration bei Parkinson-Patienten

Parameter versus Alter	Fälle (n=)	Signifikanzniveau (p=)	Korrelationskoeffizient (r=)
OH ₂ 10/L	38	** ,008	-,421
Q10/L	13	* ,039	-,577
Gesamt-Coenzym Q 10/L	13	** ,001	-,799
α-Carotin/L	40	** ,001	-,489

Tab. 4.5 Korrelation Alter versus lipophile Antioxidantien. L steht für den Plasmalipid-Quotienten (CHOL plus TG) , Gesamt-Coenzym Q10 (Summe aus Konzentrationen von QH₂10 und Q10)

4.6.2 Korrelationen mit den Lipiden

Das Gesamtcholesterin (CHOL) und die Triglyceride sowie die Lipoproteinfraktionen LDL und HDL korrelieren positiv mit einzelnen lipophilen und hydrophilen Antioxidantien (Tabelle 4.6). Diese Beobachtungen treffen nicht für die Kontrollgruppe zu, bei der sich hingegen eine negative Korrelation von Triglyceriden mit α-Tocopherol zeigt (p* = 0,003/ r = -0,658/ n = 18). Die deutliche Korrelation der Triglyceride mit den VLDL erklärt sich durch den großen Anteil an Triglyceriden in der Lipidzusammensetzung der VLDL (ca. 50%).

Lipide	versus Parameter	Fälle (n=)	Signifikanzniveau (p=)	Korrelationskoeffizient (r=)
CHOL	Bilirubin	38	*,011	,409
	Ubichinon/L	13	*,019	,638
	Ges.-Q10/L	13	** ,005	,729
TG	VLDL	39	***,000	,999
	Bilirubin	36	*,034	,355
HDL	Ges.-Q10/L	13	*,021	,631
	β -Carotin/L	37	** ,003	,477
	Ubichinon/L	13	** ,005	,731

Tab. 4.6 Signifikante Korrelationen von Lipiden mit anderen Parametern bei Parkinson-Patienten

4.6.3 Korrelationen der Antioxidantien untereinander

Die Untersuchung möglicher linearer Zusammenhänge zwischen den einzelnen Antioxidantien ist von großem Interesse, da die Wechselwirkung und die zeitliche Abfolge des Verbrauchs von Antioxidantien vielfach Gegenstand aktueller Forschung ist. Bei den hydrophilen Antioxidantien wurden untereinander keine Korrelationen beobachtet, obschon aufgrund der hochsignifikanten Veränderungen der Konzentrationen von Sulfhydrylgruppen und Bilirubin auch eine statistisch nachweisbare Abhängigkeit der Parameter denkbar gewesen wäre. Allerdings zeigt sich ein signifikanter proportionaler Zusammenhang zwischen dem lipophilen Antioxidans β -Carotin mit Ascorbat (Abb. 4.19), mit den Sulfhydrylgruppen und mit Urat (Tabelle 4.7). Die lipophilen Antioxidantien zeigen fast alle eine positive Korrelation untereinander. Die Ergebnisse sind in in Tabelle 4.7 in einer Übersicht dargestellt, die Korrelation der beiden wichtigsten lipophilen Antioxidantien α -Tocopherol und β -Carotin werden in Abb. 4.19 gezeigt. Die Konzentration der lipophilen Antioxidantien wird durch Veränderungen der lipophilen Phase des Plasmas, also vor allem der Lipidoproteine des Plasmas und der Zellmembranen bestimmt. Die Korrelationen (Tabelle 4.6) zeigen, daß vor allem die Konzentrationen des Coenzym Q und auch des hydrophile Antioxidans Bilirubin bei den Parkinson-Patienten abhängig von der Konzentration der Plasmalipide ist.

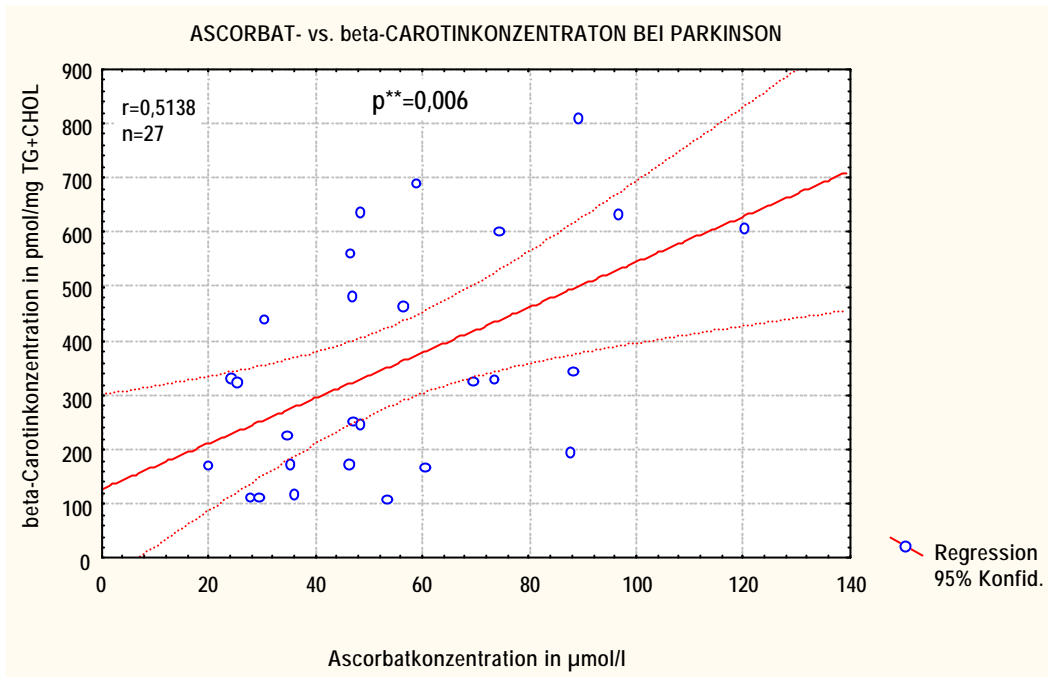


Abb. 4.19 Korrelation von Ascorbat- versus β -Carotinkonzentration bei Parkinson-Patienten

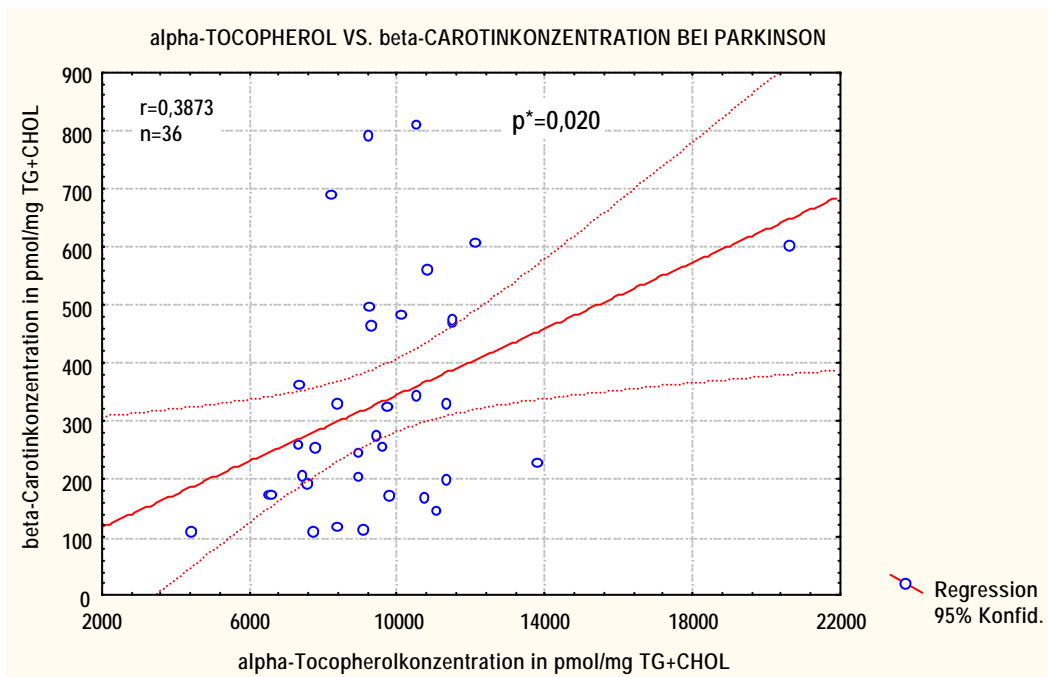


Abb. 4.20 Korrelation von α -Tocopherol- mit β -Carotinkonzentration bei Parkinson-Patienten

Antioxidantien	versus	Fälle (n=)	Signifikanzniveau (p=)	Korrelationskoeffizient (r=)
α -Tocoph./L	β -Carotin/L	36	*,020	,3873
α -Carotin/L	β -Carotin/L	38	***,0001	,542
	Ubichinol/L	37	*,033	,351
	Ges.-Q10/L	12	*,001	,828
β -Carotin/L	Ubichinol/L	36	*,030	,362
	Ges.-Q10/L	12	** ,001	,823
	Ascorbat	27	** ,006	,514
	SH-Gruppen	35	*,039	,351
	Urat	36	*,036	,350
Ubichinol/L	Ubichinol/L	12	*,020	,659

Tab. 4.7 Korrelationen der Antioxidantien untereinander.

4.6.4 Korrelationen mit der Plasmaoxidierbarkeit

Die AAPH-induzierte Plasmaoxidationsrate korreliert negativ mit der Uratkonzentration (Abb. 4.22). Das heißt, daß eine Abnahme von Urat eine Zunahme der Bildung von Lipoproteinhydroperoxiden bewirkt. Diese Abhängigkeit der Plasmaoxidation von der Uratkonzentration weist Urat als wirksames Antioxidans aus.

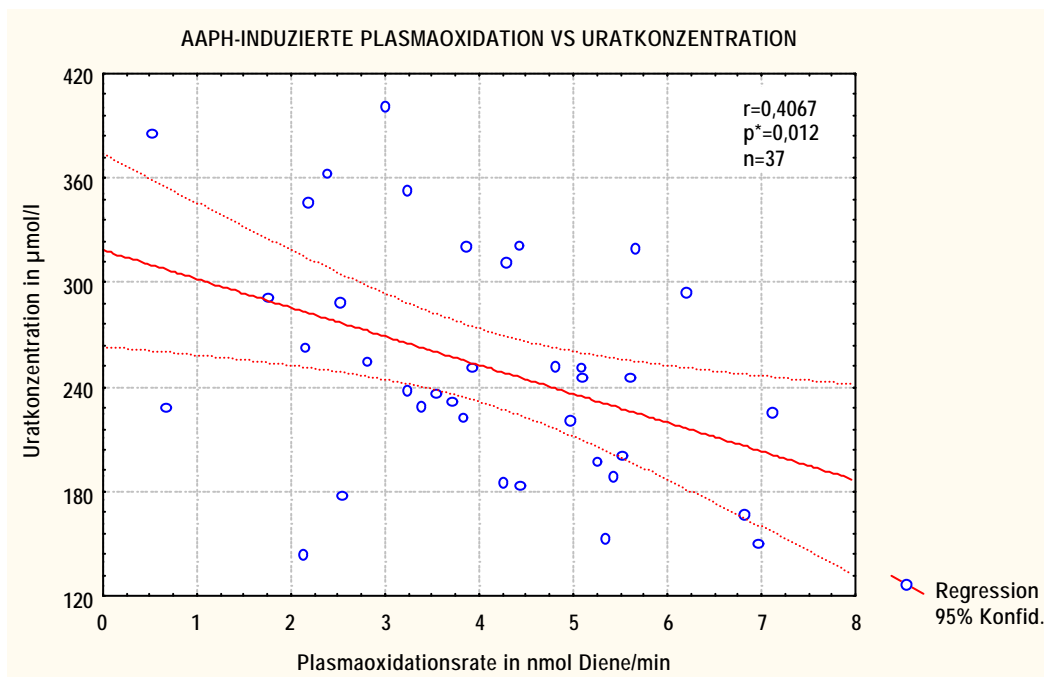


Abb. 4.22 Korrelation von AAPH-induzierter Plasmaoxidationsrate und Uratkonzentration für die Parkinson-Patienten (Vs =Versus).

5 Diskussion

In dieser Arbeit wurden verschiedene Oxidationsparameter im Blutplasma von Patienten mit einem idiopathischen Parkinson-Syndrom (Morbus Parkinson) untersucht und mit einer Kontrollgruppe aus gesunden Probanden verglichen. Dafür wurde die Oxidierbarkeit des Gesamtplasmas und die wichtigsten hydrophilen und lipophilen Antioxidantien untersucht. Die Daten wurden miteinander korreliert um mögliche Zusammenhänge der Parameter untereinander zu finden. In diesem Kapitel werden die Ergebnisse hinsichtlich der Hypothese analysiert, ob eine vermutete systemische Beteiligung der durch oxidativen Streß hervorgerufenen Schädigung der SNc (Substantia nigra, pars compacta) von Parkinson-Patienten anhand von Oxidationsparametern im Blutplasma erfaßbar ist.

5.1 Charakteristika der Untersuchungsgruppen

5.1.1 Alter

In der vorliegenden Arbeit wurden 42 Parkinson-Patienten mit einer gleichaltrigen Kontrollgruppe aus 18 Gesunden verglichen (Tabelle 4.1 bis 4.2). Eine Auswirkung des Alters auf die Ergebnisse wurde durch die Altersentsprechung ausgeschlossen. Wie auch bei anderen chronisch degenerativen Erkrankungen wird das Alter als Risikofaktor für die Entwicklung eines idiopathischen Parkinson-Syndroms betrachtet. So werden oxidative Schädigungen von Nervenzellen in der Literatur als altersabhängige Veränderungen beschrieben [Joseph JA et al. 1996, Joseph JA et al. 1998] und von einigen Autoren für den Morbus Parkinson (MP) als vorzeitige oder verstärkte Ausprägung von dieser in höherem Alter physiologischen Entwicklung gedeutet [Schneider E et al. 1997, Olanow W et al. 1999].

5.1.2 Krankheitsverlauf und Medikation

Die Auswirkungen von der Krankheitsschwere und der Krankheitsdauer der Parkinson-Krankheit und der Medikamenteneinnahme auf die Oxidationsparameter, konnten in dieser Arbeit keine Berücksichtigung finden. In den unveröffentlichten Daten von Buhmann et al. wurde in einer Untersuchung über die Auswirkung verschiedener L-Dopa-Dosen kein signifikanter Einfluß dieser Faktoren auf die Antioxidantienkonzentrationen im Plasma und die Liquor- und Plasmaoxidierbarkeit von Patienten mit MP gefunden [Buhmann C et al unveröffentlicht], allerdings eine tendentielle Verringerung des Plasma-Ascorbats bei Parkinson-Patienten mit sehr hohen L-Dopa-Tagesdosen (>500mg/Tag), die nicht statistisch signifikant war. Eine prooxidative Wirkung von L-Dopa und dem endogenen Dopamin selbst wird in der Literatur kontrovers

diskutiert [Melamed E et al. 1998][Agid Y et al. 1999, Jones DC et al. 2000]. In Vitro konnte die Neurotoxizität von L-Dopa für dopaminerge Zellen bereits nachgewiesen [Cohen G 1994] werden.

5.1.3 Andere Einflußfaktoren

Das Geschlechterverhältnis ist in beiden Gruppen ausgeglichen, so daß der in der Literatur bereits beschriebene und in der Studie bestätigte Geschlechterunterschied in den Plasmakonzentrationen von Urat (m>f) und HDL (f>m) keinen Einfluß auf den Gruppenvergleich genommen hat.

Einen interessanten Aspekt stellt der signifikant niedrigere Nikotinkonsum (aktive und ehemalige Raucher) bei den Parkinson-Patienten gegenüber den Kontrollen dar, da in der Literatur eine protektive Wirkung des Nikotins auf eine Erkrankung an MP beschrieben wird, die aber kontrovers diskutiert wird [Baumann RJ et al. 1980][Morens DM et al.1996, Rigg JE 1992]. Nikotin bewirkt zwar im ZNS eine Dopaminfreisetzung aus nigrostriatalen Zellen, eine denkbare Enzyminduktion als Erklärung für eine neuroprotektive Wirkung ist aber nicht beschrieben. Alle anderen Einflußfaktoren zeigten weder signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen noch einen wesentlichen Einfluß auf die gemessenen Oxidationsparameter (Tabelle 4.1).

5.1.4 Ernährung versus Krankheit

Für die vorliegende Studie erfolgte keine detaillierte Analyse der Ernährungsgewohnheiten der untersuchten Kollektive, so daß ein möglicher Einfluß diesbezüglich auf die gemessenen Parameter und insbesondere auf den Plasmalipidstatus ungeklärt bleiben muß. Die Ergebnisse anderer Untersucher, die mittels Fragebogenstudien die Ernährung von Parkinson-Patienten erfragt und analysiert haben [Losgroscino G et al. 1996, Hellenbrand W et al. 1996] weisen keinen statistisch signifikanten Einfluß der Nahrungszusammensetzung auf die Krankheitsentwicklung auf.

5.2 Plasmalipidstatus

Die Werte der Triglycerid-, der LDL-Cholesterin- und der Gesamtcholesterinkonzentration der Parkinson-Patienten waren gegenüber denen der Kontrollen hochsignifikant und die des VLDL-Cholesterins signifikant verringert (Tabelle 4.2). Die geringgradige Erhöhung der HDL-Werte von Patienten mit MP gegenüber den Werten der Kontrollpersonen ist vernachlässigenswert, so daß hier keine bedeutende Abweichung zwischen den beiden Gruppen beobachtet werden kann.. Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen werden in der Untersuchung von Buhmann et al. keine Unterschiede zwischen den Lipidkonzentrationen der beiden Kollektive festgestellt [Buhmann et al. unveröffentlicht]. Da es für diese abweichenden Resultate keine Erklärung gibt, erscheinen weitere Untersuchungen zu den Lipidkonzentrationen bei MP sinnvoll, ebenso wie eine Analyse der Ernährungsgewohnheiten (siehe auch 5.1.4). Die Lipoproteine können als wesentliches

Substrat der Peroxidationsreaktionen im Plasma betrachtet werden. Bei einer Verringerung der Lipoproteine entsteht zwar auch eine geringere Zahl an Lipidperoxidationsprodukten (z.B. Lipidhydroperoxid), im Falle vermehrter Bildung von Radikalen können aber anstelle der Plasmalipide empfindliche andere Strukturen verletzt werden (z.B. Antikörper, Gerinnungsfaktoren und verschiedene andere Proteine im Plasma) oder hochreaktive Radikale durch Reaktionen mit freien Übergangsmetallionen generiert werden. Bei dieser Betrachtung könnte den Lipoproteinen neben seinen vielfältigen anderen Funktionen eine „antioxidative Pufferwirkung“ zukommen. Die niedrigere Lipoproteinkonzentration der Parkinson-Patienten könnte somit einem schlechteren Antioxidationsstatus entsprechen.

Aus den vorliegenden Daten und der Literatur können diese statistisch hochsignifikanten Abweichungen nicht erklärt werden. Es ist fraglich, ob die Verringerung der Plasmalipide bei MP ernährungsbedingt ist, oder die Folge einer verstärkten Verstoffwechslung (z.B. durch Oxidationsprozesse) oder einer verringerten Synthese ist.

5.3 Apo-E-Genotypen

Die Untersuchung der Apo-E-Genotypen erfolgte aufgrund der Annahme, daß sich beim Morbus Parkinson -neben der Ähnlichkeit in den Veränderungen aufgrund von Oxidationsprozessen- eine weitere pathogenetische Verwandtschaft mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen zeigt. So ist beim Morbus Alzheimer das Apolipoprotein-E Typ 4-Allel ein genetischer Risikofaktor und entsprechend bei Patienten mit Morbus Alzheimer häufiger zu finden als in der Normalbevölkerung [Farrer et al. 1997]. Nach der vorliegenden Untersuchung entspricht die Verteilung der Apo-E-Genotypen im Wesentlichen denen der Kontrollgruppe, insbesondere das ϵ -4-Allel ist nicht vermehrt vorgekommen (Tabelle 4.3). Diese Ergebnisse werden unterstützt durch die Daten anderer Untersucher [Koller et al. 1995a, Marder K et al. 1994, Rubinsztein et al. 1994]. Allerdings wurden, ebenso wie bei Morbus Alzheimer, in Hirngewebe von Patienten mit Levy-Body-Disease, die als Frühform des Morbus Parkinson betrachtet wird, Ansammlungen von Apo-E gefunden [Schwab C et al 1996]. Dies kann als weiterer Baustein für einen bei MP und Alzheimer durch oxidativen Streß mittels eines ähnlichen Pathomechanismus geschädigten Stoffwechsels gewertet werden.

Die vorliegenden Daten geben keinen Hinweis auf einen Einfluß durch Apolipoprotein-Genotypen auf die Entstehung des Morbus Parkinson.

5.4 Hydrophile Antioxidantien im Plasma

5.4.1 Ascorbinsäure

Die Werte der Ascorbinsäure im Plasma der Parkinson-Patienten sind in der Tendenz gegenüber denen der Kontrollpersonen verringert (Abbildung 4.3). Diese Ergebnisse unterstützend konnten Foy et al. in einer Untersuchung eine signifikante Verringerung der Plasmakonzentrationen von Ascorbat bei Parkinson-Patienten feststellen [Foy CJ et al. 1999], und -unter Berücksichtigung einer unterdurchschnittlichen Ascorbatkonzentration bei den verwendeten Kontrollen- kam King et al. zu dem gleichen Ergebnis [King D et al. 1992]. Im Widerspruch dazu stehen die Untersuchungen von Fernandez-Calle et al., die keine Abweichung in den Ascorbatkonzentrationen bei MP zeigen [Fernandez-Calle P et al. 1993].

Ascorbat ist das wichtigste hydrophile Antioxidans im menschlichen Plasma, da es als einziges die Lipidperoxidation effektiv verhindern kann [Frei B et al. 1998]. Diese herausragende Bedeutung des Ascorbats wurde ebenso für die Lipidperoxidation im Liquor cerebrospinalis beschrieben [Arlt S et al. 2000]. Ascorbat ist in vielen menschlichen Geweben, wie dem ZNS, der Cornea, der Nebenniere oder der Leber höher konzentriert als im Plasma. Möglicherweise ist es neben seiner Funktion als Enzym auch wegen seiner großen Potenz als Antioxidans gerade in den Organen angereichert, die besonderen Schutz vor Oxidation brauchen. Rückschlüsse auf die Liquorkonzentrationen von Ascorbat aufgrund dieser vorliegenden Untersuchung sind deshalb unsicher. Die vorliegenden Daten legen aber nahe, daß der MP mit einer Veränderung der Ascorbatkonzentration im Plasma einhergeht.

5.4.2 Sulfhydryl-Gruppen

Bei den Ergebnissen der SH-Gruppen im Plasma (Abb. 4.4) zeigen sich hochsignifikant niedrigere Werte in der Gruppe der Parkinson-Patienten als in der der Kontrollpersonen. Die Bedeutung der SH-Gruppen als Antioxidans ist heutzutage unumstritten, ihre genaue Wirkungsweise ist aber noch unklar und wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Einige Autoren beschreiben die SH-Gruppen als ‚erste Abwehr-Reihe‘ gegenüber Peroxylradikalen [Wayner DDM et al. 1987], andere betonen vorrangig eine Bedeutung als Antioxidans gegenüber Carbonylradikalen [Sarini M et al. 1994]. Diese extrazelluläre Erniedrigung der SH-Gruppen entspricht der Beobachtung in einer anderen Studie, in der das intrazellulär bedeutendste SH-Gruppen tragende Antioxidans, das reduzierte Glutathion (GSH), beim Morbus Parkinson ebenfalls signifikant erniedrigt war [Riederer P et al. 1989]. Nach Martinez et al. könnten die extrazellulären SH-Gruppen bei oxidativem Streß der Regeneration der intrazellulären SH-Gruppen-haltigen Enzyme, die an der Atmungskette beteiligt sind, dienen [Martinez M et al. 1999]. Auch die Ergebnisse einer Studie, in der eine SH-Gruppen-Substitution eine Verringerung des durch Dopamin provozierten Neuronenuntergangs bewirkt

[Offen D et al.1996], weisen auf einen Verbrauch von Sulfhydrylgruppen bei oxidativem Streß hin. In Anbetracht der Daten anderer Untersucher kann die deutliche Verringerung der Sulfhydrylgruppen in der vorliegenden Arbeit als Ausdruck einer verstärkten Oxidation im Plasma bei Parkinson-Patienten gewertet werden.

5.4.3 Bilirubin

Die Bilirubinkonzentration der Parkinson-Patienten ist hochsignifikant erniedrigt gegenüber der des Kontrollkollektivs (Abb. 4.5). Zusätzlich zeigt sich -als einziges hydrophiles Antioxidans- eine positive Korrelation des Bilirubins mit den Plasmalipiden (CHOL und TG). Das Bilirubin ist folglich bei denjenigen Parkinson-Patienten erhöht, die auch einen höheren Lipidgehalt im Plasma aufweisen und umgekehrt auch bei denjenigen erniedrigt, die auch erniedrigte Plasmalipide haben. Die Bilirubinkonzentration im Plasma könnte also von der lipophilen Phase des Plasmas beeinflusst werden, obschon Bilirubin durch seine Bindung an das Albumin wasserlöslich ist. Bilirubin wird in der Literatur als potentes Kettenabbruchantioxidans beschrieben [Wu TW et al. 1994], das vor allem durch die Bindung von Übergangsmetallionen die Lipidperoxidation verhindern kann [Hulea SA et al. 1995]. Die vorliegende Verringerung von Bilirubin bei Patienten mit MP kann im Sinne eines erhöhten Verbrauchs des Antioxidans durch oxidativen Streß im Plasma gewertet werden.

5.4.4 Urat

Die Plasmakonzentrationen des Urats sind im Gegensatz zu den anderen hydrophilen Antioxidantien bei MP und den Kontrollen annähernd übereinstimmend (Abb. 4.6). Ebenso ist Urat das einzige Antioxidans, dessen Konzentrationen mit der AAPH-induzierten Plasmaoxidationsrate korreliert. Diese negative Korrelation sagt aus, daß niedrige Uratkonzentrationen mit einer hohen Plasmaoxidationsrate einhergehen. Diese Beobachtung zeigt eine deutliche Abhängigkeit der Lipoproteinperoxidbildung von der Uratkonzentration. Zwar ist Urat quantitativ und qualitativ ein wichtiges Antioxidans, das den Daten mehrerer Autoren zufolge bis zu 75% aller Radikale abfangen kann [Karten et al. 1997, Wayner et al. 1987]; es kann aber offenbar, obschon es nicht in verringerter Konzentration vorliegt, die in dieser Arbeit beobachtete beschleunigte Lipoproteinperoxidation nicht verhindern. Die vorliegenden Daten legen die Vermutung nahe, daß die Lipoproteinperoxidation im Plasma bei Patienten mit MP durch Urat verzögert wird, aber auch bei normalen Uratkonzentrationen nicht vollständig verhindert werden kann. Zum Zweiten lassen die Ergebnisse vermuten, daß Urat bei chronischem oxidativen Streß später als die anderen hydrophilen Antioxidantien verbraucht wird.

5.5 Lipophile Antioxidantien im Plasma

Sämtliche in dieser Arbeit untersuchten lipophilen Antioxidantien, α - Tocopherol, β - und α - Carotin, Ubichinol und Ubichinon (Abb. 4.7-4.13) sind bei MP im Vergleich mit den Werten der Kontrollen erhöht. Mit Ausnahme des α - Carotins ist diese Erhöhung bei allen anderen Parametern statistisch signifikant. Die Ergebnisse von α - Carotin, Ubichinol und Ubichinon korrelierten negativ mit dem Patientenalter; ältere Parkinson-Patienten weisen also einen niedrigeren Gehalt dieser Antioxidantien im Plasma auf als jüngere. Die beobachtete positive Korrelation einiger lipophiler Antioxidantien untereinander legt nahe, daß sich diese unter dem Einfluß eines gleichen, dritten Faktors verändern, welcher in Anbetracht der vorliegenden Ergebnisse in einer prooxidativen Stoffwechsellaage mit der Folge von oxidativem Streß bei den Patienten mit MP vermutet werden kann. Zusätzlich sind die positiven Korrelationen der lipophilen Antioxidantien untereinander durch ihre Abhängigkeit von der Konzentration ihres ‚Umgebungsmilieus‘, den Plasmalipiden, zu erklären.

5.5.1 α - Tocopherol

α - Tocopherol ist bei den Parkinson-Patienten statistisch hochsignifikant gegenüber den Werten der Kontrollen erhöht (Abb. 4.8). Die Ergebnisse anderer Untersucher zeigen im Gegensatz dazu keinen Unterschied zwischen den Plasmakonzentrationen von α -Tocopherol im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen [Molina JA et al. 1997, Frederico A et al. 1995, Fernández-Calle P et al. 1992], was zusätzlich auch durch entsprechende Befunde in Post-Mortem-Analysen untermauert wird [Dexter Dt et al. 1992]. Von den lipophilen Antioxidantien, die ihre Aktivität in den Lipoproteinen des Plasmas und im hydrophobem Milieu der Zellmembranen entfalten, ist α -Tocopherol das quantitativ größte und auch das wichtigste Kettenabbruch-antioxidans [Niki E et al. 1984]. Seine Rolle als Antioxidans ist hinreichend belegt, es wird ihm allerdings unter bestimmten Stoffwechselbedingungen auch eine prooxidative Wirkung zugesagt [Kontush et al. 1996a und 1996c]. Die vorliegende deutliche Erhöhung der α -Tocopherol-Konzentrationen der Parkinson-Patienten ist daher nicht eindeutig zu erklären und ist am ehesten als Anpassungsreaktionen auf den oxidativen Streß zu werten. Allerdings muß auch erwogen werden, ob die erhöhten α -Tocopherolkonzentrationen eine prooxidative Wirkung in vivo entfalten und den oxidativen Streß bei MP verstärken könnten. Da die vorliegenden Ergebnisse sich von denen anderer Studien unterscheiden, wären weitere Erhebungen mit größeren Untersuchungsgruppen zur Beurteilung der Daten sinnvoll.

5.5.2 Carotinoide

Entsprechend der α - Tocopherolkonzentrationen zeigten sich bezüglich der Carotinoide bei den Parkinson-Patienten ebenfalls erhöhte Werte (Abbildung 4.9-4.11). In verschiedenen anderen Studien zeigten sich im Widerspruch zu diesen Beobachtungen normale Konzentrationen für α -Carotin und das physiologisch bedeutsamere β -Carotin [Jiménez-Jiménez P et al. 1993, King D et al. 1992, Ahlskog JE et al. 1995]. Die erhöhten Meßwerte können ebenso wie für α -Tocopherol am ehesten im Sinne einer reaktiven Erhöhung im Plasma als Folge des generalisierten oxidativen Stresses interpretiert werden. Auch im vorliegenden Fall erscheint eine Datenerhebung in größerem Umfang zu den Konzentrationen von α - und β -Carotin bei Patienten mit MP sinnvoll. Für das β -Carotin wurden positive Korrelationen mit den hydrophilen Antioxidantien festgestellt, so daß angenommen werden kann, daß das Ausmaß von oxidativem Streß eine gleichgerichtete Veränderung dieser Parameter bewirkt.

5.5.3 Ubichinol und Ubichinon

Ubichinol (Ubihydrochinon) und Ubichinon -und entsprechend auch die Gesamtkonzentration des Coenzym Q10 (Summe aus Ubichinol und Ubichinon)- sind bei den Parkinson-Patienten signifikant erhöht. Der Anteil des Ubichinols beträgt normalerweise 60-80% der Coenzym Q10-Gesamtkonzentration. Im Vergleich mit den Normwerten in der Studie von Kontush et al. zeigen die vorliegenden Ergebnisse der Parkinson-Patienten eher überdurchschnittliche, die der Kontrollen eher unterdurchschnittliche Werte [Kontush A et al. 1997]. Im Widerspruch dazu konnte in einer Studie, in der die Coenzym Q10-Konzentrationen verschiedener Erkrankungen, deren Pathogenese von oxidativem Streß beeinflusst sein soll wie Atherosklerose und Morbus Alzheimer, miteinander verglichen wurde keine signifikante Erhöhung des Ubichinols im Plasma nachgewiesen werden [Kontush A et al. 1998]. Diese hier beobachtete unerwartete Erhöhung des Coenzym Q10-Komplexes und auch der überdurchschnittlich hohe Anteil des Ubichinols an der Gesamtkonzentration entspricht nicht den Erwartungen angesichts der in der Literatur beschriebenen hohen Empfindlichkeit des Ubichinols für oxidativen Streß [Kontush A et al. 1995]. Vor allem in Anbetracht der gleichzeitig vorliegenden deutlichen Erhöhung der Plasmaoxidationsrate ist dieses Ergebnis nicht sicher zu deuten. Eine Wechselwirkung von Ubichinol mit den hydrophilen Antioxidantien konnte bisher nicht festgestellt werden und ist aufgrund seiner Lokalisation innerhalb der Membranen unwahrscheinlich [Kontush A et al. 1995]. Seine Wirkung als Co-Antioxidans von α -Tocopherol ist mehrfach beschrieben worden [Kontush A et al. 1995, Ingold et al. 1993], eine Korrelation zwischen den beiden Parametern liegt hier aber nicht vor. Die vorliegenden erhöhten Ubichinol- und Ubichinonwerte der Parkinson-Patienten können gegen einen höheren Verbrauch des Coenzym Q10 durch den Einfluß von oxidativem Streß

sprechen. Sie können aber auch aufgrund der positiven Korrelationen der lipophilen Antioxidantien untereinander als reaktive Erhöhung durch den Einfluß von oxidativem Streß interpretiert werden. Möglicherweise ist die Erhöhung des Coenzym Q10 auch über eine vermehrte Freisetzung und eine reaktive Enzyminduktion dieses mitochondrialen Enzyms durch die bei Patienten mit MP beobachtete (Kapitel 1.3) Schädigung des Komplex-1 der Atmungskette [Shapira AHV et al. 1990] und den vermehrten Zelluntergang in der SNc [Anglade P et al. 1997] zu erklären.

5.6 Zusammenfassung der hydrophilen und lipophilen Antioxidantien

Die Konzentrationen der meisten Antioxidantien im Plasma der Parkinson-Patienten unterscheiden sich deutlich von denen des Kontrollkollektivs. Die hydrophilen Antioxidantien sind überwiegend verringert, die meisten lipophilen Antioxidantien sind deutlich erhöht. Die niedrigeren hydrophilen Antioxidantienkonzentrationen können im Sinne eines erhöhten Verbrauches unter den vermuteten prooxidativen Stoffwechselbedingungen bei den Parkinson-Patienten interpretiert werden, was durch die erhöhte Plasmaoxidationsrate unterstrichen wird. Die erhöhten Werte der lipophilen Antioxidantien sind hingegen weniger eindeutig zu erklären. Am ehesten ist eine reaktive Zunahme als Ausdruck einer Anpassungsleistung des Stoffwechsels an den oxidativen Streß zu vermuten. Die beiden wichtigsten lipophilen Antioxidantien α - Tocopherol (Vitamine E) und β - Carotin (Provitamin A) können im Gegensatz zu dem hydrophilen Ascorbat (Vitamin C) gespeichert werden, so daß eine Mehranreicherung von lipophilen Antioxidantien unter prooxidativen Bedingungen bei MP als Gegenregulation naheliegend ist.

Die Analyse der Korrelationen zeigt einen linearen Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der meisten lipophilen Antioxidantien und auch zwischen β - Carotin und den hydrophilen Antioxidantien Ascorbinsäure, SH-Gruppen und Urat. Diese Beobachtungen sagen aus, daß sich diese Antioxidantien wahrscheinlich unter dem Einfluß eines dritten Faktors zueinander positiv proportional verhalten, was im vorliegenden Falle am ehesten durch die Wirkung von oxidativem Streß zu erklären ist.

Die Veränderungen der Antioxidantienkonzentrationen bei den Parkinson-Patienten gegenüber den Kontrollen in dieser Arbeit legen einen Verbrauch der Antioxidantien unter prooxidativen Stoffwechselbedingungen in der Reihenfolge SH-Gruppen und Bilirubin > Ascorbinsäure > Urat > lipophile Antioxidantien nahe. Das Ergebnis einer in vitro-Untersuchung von Stocker et al. unterscheidet sich von den vorliegenden in vivo-Beobachtungen. Demnach werden die Antioxidantien in einer ebenfalls mit AAPH induzierten, kontrollierten Plasmaoxidierung in der Reihenfolge Ubichinol > Ascorbat > SH-Gruppen > Bilirubin > Urat > α - Tocopherol abgebaut [Stocker R et al. 1988]. Aus einer anderen Studie geht hervor, daß die Carotine als letzte Antioxidantien verbraucht werden [Stocker R et al. 1991] und die Untersuchung von Neuzil et al.,

in der der lipophile Radikalstarter AMVN für die Induktion der Plasmaoxidation eingesetzt wurde, zeigte eine ähnliche Reihenfolge in der Abnahme der Antioxidantien, die Uratkonzentration blieb hier am längsten stabil [Neuzil J et al. 1994]. Nach den in dieser Arbeit vorliegenden in vivo-Beobachtungen stellt sich die Frage, ob sich die Ergebnisse aus in vitro Untersuchungen auf die Verhältnisse in vivo übertragen lassen.

In der Literatur werden vielfach Interaktionen zwischen den unterschiedlichen Antioxidantien beschrieben. So wird vermutet, daß Ascorbat von Urat [Sevanian A et al. 1991, Karten B et al. 1997], α -Tocopherol von Ascorbat [Karten B et al. 1997, Kagan VE et al. 1992] und Bilirubin [Neuzil J et al. 1994] und β - Carotin von α - Tocopherol regeneriert werden können. Ferner wurde ein Zusammenwirken von Ubichinol mit α - Tocopherol beobachtet [Ingold KU et al. 1993]. Die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Antioxidantien können aber wahrscheinlich keine wesentlichen Verschiebungen in den Konzentrationen der Antioxidantien i. S. einer Korrelation erklären, so daß sie nicht für das Verständnis der vorliegenden Ergebnisse herangezogen werden können. Es erscheint sinnvoll, daß die hier erhobenen Befunde in einer größeren Studie unter Verwendung der gleichen Methode überprüft werden.

5.7 Plasmaoxidierbarkeit

Die Plasmaoxidierbarkeit wird durch die Rate der akkumulierenden konjugierten Lipidoxidationsprodukte (v. a. Lipidhydroperoxide) mit Dienstruktur bestimmt. Sie beschreibt die Empfindlichkeit des gesamten Plasmas für Oxidationsprozesse und ist somit als einzelner Parameter am ehesten geeignet ein Maß für die Summe aller pro- (v.a. Übergangsmetallionen) und antioxidativ (Antioxidantien, z.B. Ascorbat) wirkenden Substanzen, Oxidationssubstrate (v.a. Lipoproteine) und -produkte (v.a. Lipidhydroperoxide) zu sein. Die Messung der Oxidierbarkeit des gesamten Plasmas und damit die Bestimmung der Peroxidationsprodukte verschiedener Lipoproteine ist daher auch der isoliert gemessenen LDL- Peroxidation überlegen [Kontush A et al 1997, Kontush A and Beisiegel U 1999]. Wegen der Komplexität des Oxidationsstoffwechsels ist eine vollständige Bestimmung aller daran beteiligter Parameter bisher leider nicht möglich. Eine Annäherung an den Gesamtstatus des Oxidativen Milieus von Plasma oder Liquor ist aber in der vorliegenden Arbeit durch die Bestimmung der oben genannten Faktoren möglich.

Die in der vorliegenden Arbeit mit AAPH oxidierten Plasmaproben der Parkinson-Patienten zeigen eine hochsignifikant höhere Plasmaoxidationsrate als die des Kontrollkollektivs. Auch die Autooxidation der Parkinsonproben ist signifikant erhöht. In der Lipoxygenase-induzierten Plasmaoxidation wird diese Beobachtung nicht bestätigt. Die gegenüber der Autooxidation nur unwesentlich erhöhte Oxidationsrate läßt vermuten, daß die Konzentration der Lipoxygenase zu gering gewählt war, um eine eindeutige Wirkung des Oxidans zu erzielen.

Wichtige prooxidative Stoffe im Plasma sind die Übergangsmetallionen, wie Eisen und Kupfer, die unter physiologischen Bedingungen fest an Proteine gebunden sind, aber unter proteolytischen Bedingungen, wie z.B. bei der 6-stündigen Inkubation bei 37°C der hier angewandten Plasmaoxidierung, aus den Proteinbindungen freigesetzt werden können [Lamb DJ and Leake DS 1994]. Diese endogenen Übergangsmetallionen können für die Plasmaautooxidation verantwortlich sein. Eine entsprechende Beobachtung wurde bei der Oxidierung von Liquor gemacht [Arlt S et al. 2000]. Um zu verhindern, daß exogene Übergangsmetallionen die Plasmaoxidation beeinflussen, wurde der Puffer mit dem Ionen-Austauscher Chelex 100 von Metallionen gereinigt. Die Ergebnisse der AAPH induzierten Plasmaoxidation und die der Autooxidation geben einen deutlichen, möglicherweise den gewichtigsten Hinweis auf eine prooxidative Stoffwechsellaage im Plasma von Parkinson-Patienten.

5.8 Konzentrationen von Oxidationsparametern im Plasma versus Liquor cerebrospinalis

Damit eine systemische Wirkung der zentralnervösen oxidativen Veränderungen beim MP anhand von Oxidationsparameter im Plasma verlässlich bestimmt werden kann, müssen die Ergebnisse des Liquor cerebrospinalis (Liquor), der direkt mit den erkrankten Hirnregionen in Kontakt stehenden Flüssigkeit, und des Plasmas miteinander übereinstimmen bzw. in einem konstanten Verhältnis zueinander stehen. Da in der vorliegenden Studie keine Liquoruntersuchungen erfolgen konnten, werden die Daten anderer Untersucher mit den Ergebnissen verglichen. In einer bisher unveröffentlichten Studie von Buhmann et al., in der die Oxidationsparameter von Patienten mit MP und Gesunden im Plasma und im Liquor miteinander verglichen wurden, zeigt sich eine Erhöhung der Plasmaoxidationsrate bei gleichzeitiger Verkürzung der Lag-Phase (Verzögerungsphase der Oxidation durch antioxidative Abwehr der Radikalkettenreaktionen) der Liquoroxidation, sowohl bei endogener als auch bei exogener Oxidation. Die Oxidationsdaten von Plasma und Liquor (hier mit einer heterogenen Gruppe von neurodegenerativ Erkrankten) zeigen eine hochsignifikante Korrelation. Auch die Ascorbatkonzentrationen sind in Plasma und Liquor verringert, das α -Tocopherol hingegen ist im Liquor verringert und im Plasma sogar erhöht [Buhmann et al. unveröffentlichte Daten]. In einer vergleichbaren Studie über Patienten, die an Morbus Alzheimer erkrankt sind, wurde ebenso eine Korrelation der Plasma- und Liquorlipidperoxidation gefunden [Schipling S et al. 2000]. Beide Studien weisen deutlich auf die Möglichkeit einer Übertragbarkeit der Informationen aus dem Plasma auf die Konzentrationen im Liquor hin. Die in der Literatur beschriebenen Untersuchungen von menschlichem Liquor sind nur in kleineren Stichprobenumfängen gegeben, weil die Methoden der Liquorgewinnung komplikationsreicher als die der Blutgewinnung sind; die Zahl der Studien über

Oxidationsparameter im Liquor von neurodegenerativ erkrankten Personen ist deshalb gering. Meßreihen mit größeren Fallzahlen sollten aber zu einer weiteren Überprüfung der Beobachtungen durchgeführt werden.

5.9 Antioxidantientherapie

Wegen der möglichen therapeutischen Konsequenzen wurde vielfach eine alimentäre Antioxidantiensupplementierung im Hinblick auf eine Verbesserung der Symptomatik und auf eine Verlangsamung der Krankheitsprogression untersucht. Es zeigte sich, daß die natürlicherweise im ZNS fünf- bis zehnfach erhöhte Ascorbatkonzentration [Lönnrot K et al. 1996] sich durch eine Vitamin C-Supplementierung nicht im gleichen Verhältnis wie die Plasmakonzentration erhöhte, und auch die Radikalfangkapazität (TRAP) nicht im erwarteten Verhältnis gesteigert wurde [Lönnrot K et al. 1996]. Auch konnte über die Supplementierungsversuche mit Vitamin C bisher keine eindeutige klinische Verbesserung beobachtet werden. Auch nach einer dreimonatigen Supplementierung mit Ubichinon wurde keine Symptomreduktion festgestellt [Strijks E et al. 1997]. Allerdings postuliert eine Forschungsgruppe eine mögliche Schutzwirkung vor der Parkinson-Krankheit durch hohe Vitamin E-Gaben [de Rijk et al. 1997] eine andere Studie weist auf eine Verlangsamung der Neurodegeneration infolge einer Supplementierung mit SH-Gruppen hin [Offen D et al. 1996]. Eine Beurteilung über die grundsätzliche Bedeutung von Antioxidantiensupplementierung kann noch nicht erfolgen. Die Möglichkeiten einer alimentären Antioxidantienergänzung sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt mit großer Wahrscheinlichkeit noch nicht ausgeschöpft und weitere Forschung zu der Aufnahme, Wirkungsweise und Interaktion der Antioxidantien unter den komplexen prooxidativen Stoffwechselbedingungen sind wünschenswert.

5.10 Schlußfolgerungen

Bei Patienten mit Morbus Parkinson wurde in der vorliegenden Arbeit eine Erhöhung der Plasmaoxidation und eine Verringerung der hydrophilen Antioxidantien Sulfhydrylgruppen und Bilirubin, und in der Tendenz auch des Ascorbats beobachtet. Die Ergebnisse können als Zeichen einer oxidativen Dysregulation im Plasma dieser Patienten gewertet und als eine systemische Wirkung eines chronischen Zustandes von oxidativem Streß in der Substantia nigra verstanden werden. Die signifikanten Konzentrationserhöhungen der lipophilen Antioxidantien bei den Patienten mit MP hingegen sind nicht eindeutig erklärbar. Am ehesten kann man sie als reaktive Erhöhung auf den (generalisierten) oxidativen Streß interpretieren. Zur Überprüfung dieser Daten erscheint eine Studie in größerem Umfang sinnvoll. Zu der Frage, ob der gesicherte zentralnervöse, lokale oxidative Streß beim Morbus Parkinson den gesamten Organismus betrifft gibt es in der

Literatur widersprüchliche Beobachtungen [Ilic et al. 1998, Kalra J et al. 1992] [Ahlskog JE et al. 1995]. Ilic et al. fanden verschiedene gleichgerichtete Veränderungen im Liquor cerebrospinalis und im Plasma: eine Erhöhung der Peroxidationsprodukte, der Aktivität zellulärer antioxidativer Enzyme und der Sauerstoffradikale [Ilic T et al 1998]. Buhmann et al. konnten bei Parkinson-Patienten eine hochsignifikante Korrelation der Liquoroxidation mit der Plasmaoxidation feststellen [Buhmann C et al. unveröffentlichte Daten]. Die Daten einer vergleichbaren Studie über Alzheimerpatienten zeigen ebenfalls eine korrelierende Plasma- und Liquoroxidierung [Schippling S et al. 2000].

Die mit der exogenen oder endogenen Oxidierung des Plasmas erfaßte Rate der Lipidperoxidation spiegelt am ehesten von allen Oxidationsparametern das gesamte oxidative Milieu von Plasma (bzw. gegebenenfalls von Liquor) wider, weil sie die Produkte -im Sinne einer Bilanz- einer Vielzahl von pro- und antioxidativen Einflüssen sind. Auch angesichts der -noch nicht vollständig entschlüsselten- Komplexität der Bedeutung der Antioxidantien und deren Wechselwirkung untereinander, scheint dieser Parameter die größte Aussagekraft und Konstanz für oxidative Veränderungen im Plasma oder Liquor zu haben.

Die vorliegenden Daten über die verschiedenen Oxidationsparameter von Patienten mit MP weisen auf eine oxidative Dysregulation im Plasma hin und können als eine systemische Wirkung der in der SNc bei Patienten mit MP beobachteten metabolischen und strukturellen Veränderungen durch oxidativen Streß verstanden werden. Die Beobachtungen unterstützen die Hypothese von oxidativem Streß als pathogenetischer Faktor in der Entstehung des MP.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie geben eine mögliche Aussicht auf eine klinische Anwendung der in vitro Plasma- oder Liquorlipoproteinoxidation als Verlaufsparemeter für eine neuroprotektive Therapie (z.B. mit Selegelin) oder für das Monitoring von L-Dopa (wegen seiner prooxidativen Wirkung), als diagnostisches Instrument z.B. in der Früherkennung einer neurodegenerativen Erkrankung (z.B. Alzheimer, Multiple Sklerose) und als biochemischer Marker z.B. für die Beurteilung der Wirkung einer Antioxidantientherapie.

6 Zusammenfassung

Der Entstehung des Morbus Parkinson liegt nach heutigen Erkenntnissen eine multifaktorielle Genese zugrunde. Ein wichtiger Baustein in der Pathogenese scheint eine frühzeitige und fortlaufende Beteiligung von oxidativem Streß zu sein. Die zahlreichen Hinweise für eine morphologische und molekulare Schädigung der SNc (Substantia nigra, pars compacta) aufgrund von lokalen Oxidationsprozessen unterstreichen diese Hypothese.

Die vorliegende Studie hatte zum Ziel, eine mögliche systemische Beteiligung der im ZNS beobachteten oxidativen Veränderungen während des Krankheitsprozesses anhand von verschiedenen Oxidationsparametern im Plasma zu erfassen. Dafür wurde die Gesamtplasmaoxidierbarkeit, die hydrophilen und die lipophilen Antioxidantien im Plasma von 42 Parkinson-Patienten bestimmt und mit den Werten von 18 gesunden Kontrollpersonen verglichen. Die Ergebnisse zeigten für die Parkinson-Patienten eine hochsignifikante Erhöhung der Plasmaoxidationsrate im Vergleich mit den Kontrollpersonen auf. Die Konzentrationen der Sulfhydrylgruppen und des Bilirubins waren hochsignifikant erniedrigt. Ebenso waren die Werte der Ascorbinsäure erniedrigt, sie erreichten aber keine statistische Signifikanz. Die Konzentrationen des Urates in den beiden Gruppen entsprachen sich hingegen. Die Ergebnisse der lipophilen Antioxidantien der Parkinson-Patienten ergaben im Vergleich mit der Kontrollgruppe entgegen der Erwartung signifikant höhere Konzentrationen.

Die in dieser Arbeit gezeigte Erhöhung der Gesamtplasmaoxidierbarkeit, die Verringerung einiger hydrophiler Antioxidantien sowie die signifikanten Korrelationen mehrerer Parameter untereinander unterstützen die Hypothese einer oxidativen Dysregulation in der Pathogenese des Morbus Parkinson. Zusätzlich weisen sie, als Oxidationsparameter des Plasmas, auf eine generalisierte Wirkung des oxidativen Stresses in der SNc von Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom hin.

Zusammen mit den Beobachtungen anderer Untersucher, die signifikante Korrelationen zwischen den Oxidationsparametern von Plasma und Liquor beschrieben haben, geben die Ergebnisse dieser Arbeit die mögliche Aussicht auf eine klinische Anwendung der kontrollierten Plasmalipidperoxidation in der Diagnostik und Therapie neurodegenerativer Erkrankungen.

7 Literatur und Abkürzungsverzeichnis

7.1 Abkürzungsverzeichnis

α -KGDH.....	α -Ketoglutarat- Dehydrogenase	SN.....	Substantia nigra
[123J]-beta-CIT.....	2-beta-carbomethoxy-3- beta-[4- iodophenyl]tropan	SNc.....	Substantia nigra pars compacta
BG.....	Basalganglien	SNr.....	Substantia nigra pars retikularis
COMT-Hemmer....	Catechol-O- methyltransferase- Hemmer	SPECT.....	Single-Photonen- Emissions-Tomographie
CT.....	Computertomographie	Stdabw.....	Standardabweichung
CHOL.....	Gesamtcholesterin (Summe aus LDL, VLDL und HDL)	StdF.....	Standardfehler
DA.....	Dopaminagonisten	TG.....	Triglyceride
DNS.....	Desoxyribonucleinsäure	TRAP.....	Total Radical-trapping Antioxidant Parameter
EDRF.....	endothelial-derived relaxing-factor	v.a.....	vor allem
GSH.....	Glutathion	VLDL.....	Very-Low-Density- Lipoproteines
GSSG.....	Glutathion-Disulfid	ZNS.....	Zentrales Nervensystem
ILBD.....	I-Lewy-body-disease		
[123J]-IBZM.....	Iodobenzamid		
HDL.....	High-Density- Lipoproteines		
HPLC.....	High-Performance- Liquid-Chromatography		
KHK.....	Koronare Herzkrankheit		
LDL.....	Low-Density- Lipoproteines		
L-Dopa.....	linksdrehende Form von Dihydroxyphenylalanin		
MAO-B.....	Monoaminoxidase-B		
MP.....	Morbus Parkinson/ Parkinson-Krankheit		
MPTP.....	1-methyl-4-phenyl- 1,2,3,6- tetrahydropyridine		
MW.....	Mittelwert		
NW.....	Nebenwirkungen		
PET.....	Positronen-Emissions- Tomographie		
PUFA.....	Polyunsaturated fatty acids/ mehrfach ungesättigte Fettsäuren		
ROS.....	reaktive Sauerstoffspezies		

7.2 Literaturverzeichnis

- Agid Y, Ahlskog E, Albanese A, Calne D, Chase T, De Yebenes J et al. (1999) Levodopa in the treatment of Parkinson's disease: a consensus meeting. *Mov Disord* 14:911-913
- Ahlskog JE, Uitti RJ, Low PA, Tyce GM, Nickander KK, Petersen RC, Kokomen E (1995) No evidence for systemic oxidant stress in Parkinson's or Alzheimer's disease. *Mov Disord* 10(5):566-73
- Albin RL, Young AB, Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12:366-375
- Anglade P, Vyas S, Javoy-Agid F et al. (1997) Apoptosis and autophagie in nigral neurons of patients with Parkinson's disease. *Histo Histopath* 12:25-31
- Arlt S, Finckh B, Beisiegel U, Kontush A (2000) Time-Course of Oxidation of Lipids in Human Cerebrospinal Fluid *In Vitro*. *Free Rad* 32:103-114
- Baumann RJ, Mc Kean HE, Weisberg LM (1980) Cigarette smoking and Parkinson disease: 1. Comparison of cases with matched neighbors. *Neurology* 30(8):839-43
- Becker B.F (1993) Toward the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology & Medicine* 14:615-631
- Ben-Schachar D, Youdim MBH (1993) Intranigral iron injection induces behavioral and biochemical „Parkinsonism“ in rats. *J Neurosci Res* 35:67-82
- Berlett BS, Stadtman ER (1997) Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *J Biol Chem* 272:20313-20316
- Braak H, Braak E, Yilmazer D et al. (1995) Nigral and extranigral pathology in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 46:15-31.
- Buhmann C, Kontush A, Möller-Bertram T, Sperber S, Oechsner M, Stürenberg, Beisiegel U (in press)
- Burkhardt CR, Weber HK (1994) Parkinson's disease: a chronic, low-grade antioxidant deficiency? *Med Hypotheses* 43(2):111-4
- Burn DJ, Mark MH, Playford ED et al. (1992) Parkinson's disease in twins studied with 18F-dopa and positron emission tomography. *Neurology* 42(10):1894-900.
- Burton GW, Ingold KU (1984) beta-Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 224(4649):569-73.
- Cohen G (1994) The brain on fire? *Ann Neurol* 36:333-334
- Connor JR, Menzies SL, St.Martin SM, Mufson EJA (1992) Histochemical study of iron, transferrin, and ferritin in Alzheimer's diseased brains. *J Neurosci Res* 31:75-83

- Cruz SFF, Cuzner ML, Ravid R (eds)(1995) Neuropathological Diagnostic Criteria for Brain Banking. Europ Union Book Series
- Dasgupta A, Zdunek T (1992) In vitro peroxidation of human serum catalyzed by cupric iron : Antioxidanti rather than prooxidant role of ascorbate. Life sciences 50:875-882
- DATATOP (1989) A multicenter controlled clinical trial in early Parkinson's disease. Parkinson Study Group. Arch Neurol 46 :1052-60
- Dawson TM, London ED et al. (1991) Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. Proc Natl Acad Sci USA 88:6368-6367
- De Rijk MC, Breteler MM, den Breeijen JH, Launer LJ, Grobbee DE, van der Meche FG, Hofman A (1997) Dietary antioxidants and Parkinson's disease. The Rotterdam Study. Arch Neurol 54(6):762-5
- Deuschl G (1994a) Parkinson-Tremor und seine Differentialdiagnose. Parkinson im Dialog 3-10
- Deuschl G, Oertel W, Poewe W (1994b) Früh-und Differentialdiagnose des Parkinson-Syndroms. Dtsch Ärztebl 91:A1115-A1124
- Dexter DT, Holley AE, Flitter WD et al. (1994) Increased levels of lipid hydroperoxides in the parkinsonian substantia nigra: An HPLC and ESR study. Mov Disord 9:92-97
- Dexter Dt, Carter CJ, Wells FR, Javoy-Agid F et al. (1989) Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in patients with parkinson's deases. J Neurochem 52(2) :381-9
- Dexter DT, Walls RJ, Wells FR, Daniel SE, Lees AJ, Peters TJ, Jenner P, Marsden CD (1992) Alpha-Tocopherol levels in brain are not altered in Parkinson's disease. Ann Neurol 32(4):591-3
- Dexter DT, Wells FR, Lees AJ et al. (1989) Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. J Neurochem 52:1830-1836
- Diamond SG, Markham CH, Hoehn MM et al. (1987) Multi-Center-study of parkinson mortality with early versus later dopa treatment. Ann Neurol 22:8-12
- Ehringer H, Hornykiewicz O (1960) Verteilung von Noradrenalin und Dopamin im Gehirn des Menschen und Ihr Verhalten bei Erkrankungen des extrapyramidalen Systems. Klien Wochenschrift 72:12-36
- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jürgens G (1992)The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Rad Biol Med 13:341-390
- Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M (1989) Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. Free Radic Res Commun 6:67
- Fahn S (1996) Is levodopa toxic? Neurology 47:184-195
- Farrer LA, Cupples LA, Haines JL , Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak Vance MA, Risch N, van Duijn CM (1997) Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease. A meta-analysis. APO-E and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium 22-29, 278(16):1349-56

- Faucheux B, Nillesse N, Damier P et al. (1995) Expression of lactoferrin receptors is increased in the mesencephalon of patients with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:9630-9607
- Faucheux B, Hirsch EC, Villares J et al. (1993) Distribution of ¹²⁵I-ferrotransferrin binding sites in the mesencephalon of control subjects on patients with Parkinson's disease. *J Neurochem* 60: 2338-2341
- Fernández-Calle P, Molina JA, Jiménez-Jiménez FJ et al. (1992) Serum levels of alpha-tocopherol (vitamin E) in Parkinson's disease. *Neurol* 42(5):1064-6
- Fernández-Calle P, Jiménez-Jiménez FJ, Molina JA et al. (1993) Serum levels of ascorbic acid (vitamin c) in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 118(1):25-8
- Finckh B, Kontush A, Commentz J, Hübner C, Burdelski M, Kohlschütter A (1999) High-Performance Liquid Chromatography-Coulometric Electrochemical Detection of Ubiquinol 10, Ubiquinone 10, Carotenoids, and Tocopherol in Neonatal Plasma. *Methods in Enzymology* 299:341-348
- Foy CJ, Passmore AP, Vahidassr MD, Young IS, Lawson JT (1999) Plasma chain-breaking antioxidants in Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *92(1):39-45*
- Frederico A, Battisti C, Formichi P, Dotti MT (1995) Plasma levels of Vitamin E in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 45:267-70
- Frei B, England L, Ames BN (1989) Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:637-638
- Frei B, Stocker R, Ames BN (1988) Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:9748-9752
- Frei B, Kim MC, Ames BN (1990) Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4879-4883
- Gasser T, Wszolek ZK, Trofatter J et al. (1994) Genetic studies in autosomal dominant parkinsonism: evaluation of seven candidate genes. *Ann Neurol* 36 :387-396
- Gibb WRG, Lees AJ (1991) Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra and differential cell death in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54:388-396
- Glaß J (1997) Therapie des Morbus Parkinson. In: Schering AG, Dopergin Fortbildung Teil 2. Springer, Berlin Heidelberg New York
- Good PF, Hsu A, Werner P, Perl DP, Olanow CW (1998) Protein nitration in Parkinson's disease. *J Neuropath Exp Neurol* 57(4): 338-42
- Grune T, Reinheckel T, Joshi M, Davies KJA (1995) Proteolysis in cultured liver epithelial cells during oxidative stress. Role of multicatalytic proteinase complex proteasome. *J Biol Chem* 270:2344-2351

- Gutteridge J, Halliwell B (1994) *Antioxidants in Nutrition, Health and Disease*. Oxford University Press
- Gutteridge JMC, Halliwell B, Treffy A, et al. (1983) Effect of ferritin containing fractions with different iron loading on lipid peroxidation. *J Biochem* 209:557-560
- Hellenbrand W, Boeing H, Robra BP, Seidler A, Vieregge P, Nischan P, Joerg J, Oertl WH, Schneider E, Ulm G (1996) Diet and Parkinson's disease. *Neurology* 47(3):644-50
- Hixon JE, Vernier DT (1990) Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 31:545-548
- Hoehn MM, Yahr MD (1967) Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 17:427-42
- Hou J GG, Cohen G, Mytilineou C (1997) Basic fibroblast growth factor stimulation of glial cells protects dopamine neurons from 6-hydroxydopamine toxicity: Involvement of the glutathione system. *J Neurochem* 69:76-83
- Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ (1992) Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 55:181-184
- Hulea SA, Wasowicz E, Kummerow FA (1995) Inhibition of metal-catalyzed oxidation of low-density lipoprotein by free and albumin-bound bilirubin. *Biochim-Biophys-Acta* 1259(1):29-38.
- Ikebe S, Tanaka M, Ohno K et al. (1990) Increase of deleted mitochondrial DNA in the striatum in Parkinson's disease and senescence. *Biochem Biophys Res Commun* 170:1044-1048.
- Ikebe S, Tanaka M, Ozawa T (1995) Point mutations of mitochondrial genome in Parkinson's disease. *Mol Brain Res* 28:281-295
- Ilic T, Jovanovic M, Jovicic A, Tomovic M. (1998) Oxidative stress in Parkinson's disease. *Vojnosanit Preg* 55 (5):463-8
- Ingold KU, Bowry VW, Stocker R, Walling C (1993) Autoxidation of lipids and antioxidantation by alpha-tocopherol and ubiquinol in homogeneous solution and in aqueous dispersions of lipids: unrecognized consequences of lipid particle size as exemplified by oxidation of human low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 90(1):45-9.
- Innis RB (1994) Single photon emission tomography imaging of dopamine terminal innervation: a potential tool in Parkinson's disease. *Eur J Nucl Med* 21:1-5
- Jenner P, Dexter DT, Sian J, Schapira AH, Marsden CD (1992) Oxidative Stress as a cause of nigral cell death in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease. The Royal Kings and Queens Parkinson's Disease Research Group. *Ann Neurol* 32:82-7.
- Jenner P, Olanow CW (1996) Oxidative Stress and the pathogenesis of Parkinson's disease *Neurology* 47 (3):161-169

- Jenner P, Olanow CW (1996) Pathological evidence for oxidative stress in Parkinson's disease and related degenerative disorders. In: Olanow CW, Jenner P, Youdim M (eds.) *Neurodegeneration and Neuroprotection in Parkinson's Disease*. Academic Press, London 24-45
- Jiménez-Jiménez FJ, Molina JA, Fernández-Calle P (1993) Serum levels of beta-carotene and other carotenoids in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 157 (1):103-6
- Jones DC, Gunasekar PG, Borowitz JL, Isom GE (2000) Dopamine-induced apoptosis is mediated by oxidative stress and is enhanced by cyanide in differentiated PC12 cells. *J Neurochem* 74:2296-2304
- Joseph JA, Denisova N, Villalobos-Molina R, Erat S, Strain J (1996) Oxidative stress and age-related neuronal deficits. *Mol Chem Neuropathol* 1996 28(1-3):35-40
- Joseph JA, Denisova M, Fisher D, Bickford P, Prior R, Cao G (1998) Age-related neurodegeneration and oxidative stress: putative nutraceutical intervention. *Neurol Clin* 16(3):747-55
- Juncos JL, Fabbtrini G, Mouradian MM et al. (1987) Dietary influence on the parkinsonian response to levodopa. *Arch Neurol* 44: 1003-1005
- Kagan VE, Serbinova EA, Forte T, Scita G, Packer L (1996) Recycling of Vitamin E in human low density lipoproteins. *J Lipid Res* 33:385-397
- Kagan VE, Serbinova EA, Forte T, Scita G, Packer L (1992) Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J Lipid Res* 33(3):385-97.
- Kalra J, Rajput AH, Mantha SV, Prasad K (1992) Serum antioxidant enzyme activity in Parkinson's disease. *Mol Cell Biochem* 110(2):165-8
- Karten B (1996) Einfluß der verschiedenen Bestandteile des menschlichen Blutplasmas auf die Oxidierbarkeit von Lipiden durch Kupfer. *Bioch Diplomarbeit*. Universität Hamburg
- Karten B, Beisiegel U, Gercken G, Kontush A (1997) Mechanisms of lipid peroxidation in human blood plasma: a kinetic approach. *Chemistry and Physics of Lipids* 88:83-96
- King D, Playfer JR, Roberts NB (1992) Concentrations of vitamin A, C and E in elderly patients with Parkinson's disease. *Postgrad Med J* 68(802):643-7
- Koller WC, Glatt SL, Hubble JP et al. (1995a) Apolipoprotein E genotypes in Parkinson's disease with and without dementia. *Ann Neurol* 37(2):242-5
- Koller WC, Paulson G (eds.) (1995b) *Therapy of Parkinson's disease*. Marcel Dekker, New York Basel Hongkong
- Koller W, Vetere-Overfield B, Gray C et al. (1991) Environmental risk factors in Parkinson's disease. *Neurol* 40:1218-1221
- Kontush A, Beisiegel U (1999) Measurement of Oxidizability of Blood Plasma. *Methods in Enzymology* 299:35-49

- Kontush A, Finckh B, Karten B, Kohlschütter A, Beisiegel U (1996a) Antioxidant and prooxidant activity of α -tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *J Lipid Res* 37:1436-1448
- Kontush A, Hübner C, Finckh B, Kohlschütter A, Beisiegel U (1994) Low density lipoprotein oxidizability by copper correlates to its initial ubiquinol-10 and polyunsaturated fatty acid content. *FEBS Letters* 341:69-73
- Kontush A, Hübner C, Finckh B, Kohlschütter A, Beisiegel U (1995) Antioxidative activity of ubiquinol-10 at physiologic concentrations in human low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1258:177-187
- Kontush A, Hübner C, Finckh, Kohlschütter A, Beisiegel U (1996b) How different constituents of low density lipoproteines determine its oxidizability by copper: A correlation approach. *Free Rad Res* 24:135-147
- Kontush A, Meyer S, Finckh B, Kohlschütter A, Beisiegel U (1996c) α -Tocopherol as a reductant for Cu(II) in human lipoproteins. *J Biol Chem* 271:11106-11112
- Kontush A, Reich A, Baum K, Spranger T, Finckh B, Kohlschütter A, Beisiegel U (1997) Plasma ubiquinol-10 is decreased in patients with hyperlipidaemia. *Atherosclerosis* 129:119-126
- Kontush A, Schippling S, Spranger T, Beisiegel U (1999) Plasma ubiquinol-10 as a marker for disease: is the assay worthwhile? *Biofactors* 9(2-4):225-9.
- Kontush A, Schippling S, Spranger T, Reich A, Djahansouzi S, Karten B, Braesen JH, Finckh B, Kohlschütter A, Beisiegel U (1997) Whole plasma oxidation assay as a measure of lipoprotein oxidizability. *Biofactors* 6(2):99-109
- Krüger R, Kuhn W, Müller T, Woitalla D, Graeber M, Kösel S et al. (1998) Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet* 18:106-108
- Lamb DJ, Leake DS (1994) Iron released from transferrin at acidic pH can catalyse the oxidation of low density lipoprotein. *FEB Letters* 352,15-18
- Lönnrot K, Metsä-Ketelä T, Molnár G et al. (1996) The effect of ascorbate and ubiquinone supplementation on total antioxidant capacity. *Free Radic Biol Med* 21(2):211-217
- Losgroscino G, Marder K, Cote L, Tang MX et al. (1996) Dietary lipids and antioxidants in Parkinson's disease: a population-based, case-control study. *Ann Neurol* 39(1):89-94
- Marder K, Maestre G, Cote L et al. (1994) The apolipoprotein epsilon 4 allele in Parkinson's disease with and without dementia. *Neurology* 44(7):1330-1
- Martinez-M, Martinez-N, Hernandez-AI, Ferrandiz-ML (1999) Hypothesis: Can N-acetylcysteine be beneficial in Parkinson's disease? *Life-Sci* 64(15):1253-7.

- Masuhr K, Neumann M (1998) In: Neumann M (Hrsg) Neurologie. Duale Reihe, 4.Auflage
- Mc Geer PL, Itagaki S, Boyes BE, Mc Geer EG (1988) Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson and Alzheimer disease brains. *Neurol* 38:1285-1291
- Melamed E, Offen D, Shirvan A, Djaldetti R, Barzilai A, Ziv I. (1998) Levodopa toxicity and apoptosis. *Ann Neurol* 44:149-195
- Mena MA, Casarejos MJ, Carazo A et al. (1997) Glia protect fetal midbrain dopamine neurons in culture from L-DOPA toxicity through multiple mechanisms. *J Neural Transm* 104:317-328
- Mizuno Y, Hattori N, Mori H (1999) Genetics of Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother* 53(3):109-16.
- Mithöfer K, Sany M, Smith MT, Di Monte D (1992) Mitochondrial poisons cause depletion of reduced glutathione in isolated hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 295:132-136
- Molina JA, de Bustos-F, Jiménez-Jiménez FJ et al. (1997) Cerebrospinal fluid levels of alpha-tocopherol (Vitamin E) in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 104(11-12):1287-93
- Morens DM, Grandinetti A, Davis JW, Ross GW, White LR, Reed D (1996) Evidence against the operation of selective mortality in explaining the association between cigarette smoking and reduced occurrence of idiopathic Parkinson disease. *Am J Epidemiol* 15:144(4):400-4
- Motchnik PA, Frei B, Ames BN (1994) Measurement of Antioxidants in Human Blood Plasma. *Methods in Enzymology* 234:269-279
- Münch G, Simm A, Double KL, Riederer P (1996) Oxidative Stress and Advanced Glycation Endproducts-Parts of Vicious Circle of Neurodegeneration? *Alzheimer's disease Review* 1:71-74
- Münch G, Gerlach M, Sian J, Wong A, Riederer P (1998) In: Olanow CW, Jenner P (eds) *Beyond the decade of the brain- Neuroprotection in Parkinson's disease*.3:167ff
- Neuzil J, Stocker R. (1994) Free and albumin-bound bilirubin are efficient co-antioxidants for alpha-tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. *J Biol Chem* 269(24):16712-9.
- Niki E, Saito T, Kawakami A, Kamiya Y (1984) Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. *J Biol Chem* 259:4177-4182
- Oestreicher E, Sengstock GJ, Riederer P et al. (1994) Degeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons increases iron within the substantia nigra: a histochemical and neurochemical study. *Brain Res* 660:8-18
- Offen D, Ziv I, Sternin H, Melamed E, Hochman A (1996) *Exp Neurol* 141(1):32-9
- Okamoto T, Fukunaga Y, Ida Y, Kishi T (1988) *J Chromatogr* 430:11-19
- Olanow CW (1992) Magnetic resonance imaging in parkinsonism. *Neurological Clinics of North America* 405-420

- Olanow CW, Jenner P (1998) Understanding cell death in Parkinson's disease. In: Olanow CW, Jenner P (eds) Beyond the decade of the brain- Neuroprotection in Parkinson's Disease. 3:10
- Olanow CW, Tatton WG (1999) Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci* 22:123-44.
- Olanow CW, Hauser RA, Gauger L et al. (1995) The effect of deprenyl and levodopa on the progression of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 38:771-777
- Omaye ST, Turnbull JD, Sauberlich HE (1979) Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids. *Methods Enzymology* 62:3-15
- Payami H, Bernard S, Larsen K, Kaye J, Nutt J (1995) Genetic anticipation in Parkinson's disease. *Neurology* 45:135-138
- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E et al. (1997) Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276:2045-2047
- Ratan RR, Murphy TH, Baraban JM (1994) Oxidative Stress induces apoptosis in embryonic cortical neurons. *J Neurochem* 62:376-379
- Redfearn, ER (1967) Isolation and Determination of Ubiquinone. In: Hatefi Y (ed) Coenzyme Q. *Methods Enzymology* 10
- Riederer P, Sofic E, Rausch WD et al. (1989) Transition metals, ferritin, glutathione, and ascorbic acid in parkinsonian brains. *J Neurochem* 52:515-520
- Rigg JE (1992) Cigarette smoking and Parkinson disease: the illusion of a neuroprotective effect. *Clin Neuropharmacol* 15(2):88-99
- Rubinsztein DC, Hanlon CS, Irving RM, Goodburn S, Evans DG, Xuereb JH, Bandmann Om Harding AE (1994) Apo E genotypes in multiple sclerosis, Parkinson's disease, schwannomas and late-onset Alzheimer's disease. *Mol Cell Probes* 8(6):519-25
- Sarini M, Pietraforte D, Minetti M (1994) Antioxidant potential of anaerobic human: Role of Serum Albumin and Thiol as Scavengers of Carbonyl Radicals. *Arch of Bioch and Biophys* 312(1):180-188
- Scheider WL, Hershey LA, Vena JE, Holmlund T, Marshall JR, Freudenheim (1997) Dietary antioxidants and other dietary factors in the etiology of Parkinson's disease. *Mov Disord* 12 (2):190-6
- Schippling S, Kontush A, Arlt S, Buhmann C, Stürenberg HJ, Mann U, Müller-Thomsen T, Beisiegel U (2000) Increased Lipoprotein Oxidation in Alzheimer's Disease. *Free Rad Biol & Med* 28(3):351-360
- Schneider E, Baas H (1997) Morbus Parkinson. In: Shering AG, Dopergin Fortbildung. Springer, Berlin Heidelberg New York

- Schwab C, Steele JC, Akiyama H, McGeer PL (1996) Distinct distribution of apolipoprotein E and beta-amyloid immunoreactivity in the hippocampus of Parkinson dementia complex of Guam. *Acta Neuropathol Berl* 92(4):378-85
- Seidler A, Hellenbrand W, Robra BP, Vieregge P, Nischan P, Joerg J, Oertel WH, Ulm G, Schneider E (1996) Possible environmental, occupational, and other etiologic factors for Parkinson's disease: a case-control study in Germany. *Neurology* 46(5):1275-84.
- Sengstock GJ, Olanow CW, Menzies RA et al. (1993) Infusion of iron into the rat substantia nigra: nigral pathology and dose-dependent loss of striatal dopaminergic markers. *J Neurosci Res* 35:67-82
- Sevanian A, Davies KJ, Hochstein P (1991) Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr* 54(6):1129-1134.
- Shapira AHV, Cooper JM, Dexter D et al. (1990) Mitochondrial complex 1 deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem* 54:823-827
- Shapira AHV, Mann VM, Cooper JM et al. (1990) Anatomic and disease specificity of NADH CoQ1-Reduktase (Complex 1) deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem* 55:2142-2145
- Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J und Wahlefeld AW (1983) CHOD-PAP-Methode. *Clin Chem* 29:1075
- Singer TP, Castagnoli N Jr, Ramsay RR, Trevor AJ (1985) Biochemical events in the development of parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *Life Sci* 36:2503-2508
- Sofic E, Lange KW, Jellinger K, Riederer P (1992) Reduced and oxidized glutathione in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 142:128-130
- Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM-Y et al. (1997) α -Synuclein in Lewy-Bodies. *Nature* 388:839-840
- Spranger T, Finckh B, Fingerhut R, Kohlschütter A, Beisiegel U, Kontush A (1998) How different constituents of human plasma and low density lipoprotein determine plasma oxidizability by copper. *Chemistry and Physics of Lipids* 91:39-52
- Stocker R, Frei B (1991) Endogenous Antioxidant Defences in Human Blood Plasma. In : *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*. Academic Press
- Stocker R, Frei B, Ames BN (1988) Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci* 83:9748-9751
- Strijks E, Kremer HP, Horstink MW (1997) Q 10 Therapie in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Mol Aspects Med* 18:237-40
- Susin SA, Zamzami N, Kroemer G (1996) The cell biology of apoptosis: evidence for the implication of mitochondria. *Apoptosis* 1:231-242
- Swerdlow RH, Parks JK, Miller SW et al. (1996) Origin and functional consequences of Complex 1 defect in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 40:663-671

- Tanner CM, Langston JW (1990) Do environmental toxins cause Parkinson's disease ? A critical review. *Neurol* 40:1218-1221
- The Parkinson-Study-Group (1989) DATATOP: a multicenter controlled clinical trial in early Parkinson's disease. *Arch Neurol* 46:1052-1060
- Trotman et al. (1984) Monoconjugated bilirubin is a major component of hemolysis-induced gallstones in mice. *Hepatology* 8(4):919-24.
- Valberg LS, Flanagan PR, Kertesz A, Ebers GC (1994) Abnormalities in iron metabolism in multiple sclerosis. *Can J Neurochem* 62:134-146
- Vieregge P (1994) Genetic factors in the etiology of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Transm Park Dis Dement Sect* 8:1-37
- Ward CD, Gibb WR. (1990) Research diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Adv Neurol* 53:245-49
- Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barclay LRC, Locke SJ (1987) The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochimica et Biophysica Acta* 924:408-419
- Wu TW, Fung KP, Yang C (1994) Unconjugated bilirubin inhibits the oxidation of human low density lipoprotein better than Trolox.. *Life Sci* 54(25):477-81
- Yahr MD, Duvoisin RC, Schear MJ, Barrett RE, Hoehn MM (1969) Treatment of parkinsonism with levodopa. *Arch Neurol* 21:343-354
- Youdim MBH, Riederer P (1997) Freie Radikale und die Parkinson-Krankheit. *Spektrum der Wissenschaft* 3:52-60
- Zhang ZX, Roman GC (1993) Worldwide occurrence of Parkinson's disease: an updated review. *Neuroepidemiology* 12:195-208

Danksagung

Mein größter Dank gilt meiner Doktormutter Prof. Dr. Dr. h.c. Ulrike Beisiegel für die Überlassung der Arbeit, für die höchst professionelle fachliche Betreuung und ihr ausgesprochen großes Engagement für Studenten. Ein gesondertes Dankeschön möchte ich ihr für ihre Strenge und ihre gleichzeitige ‚mütterliche‘ Motivationsleistung sagen, die mich oftmals angetrieben und auch immer wieder bestärkt hat und ohne die diese Arbeit wohl noch lange nicht beendet worden wäre.

Dr. Anatol Kontush möchte ich ganz herzlich für die Anleitung der praktischen Arbeit im Labor und für seine kompetente Begleitung bei der statistischen Auswertung und der wissenschaftlichen Bearbeitung des Themas danken. Sein freundlicher und warmherziger Umgang war für mich in der Zeit meiner Doktorarbeit eine Bereicherung. Ebenso möchte ich seinem Nachfolger Sönke Arlt danken, der mich gerade in den letzten Schritten der Arbeit begleitet und unterstützt hat. Auch allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Biochemischen Stoffwechsellabors der Universitätsklinik Eppendorf danke ich für die freundschaftliche und hilfsbereite Atmosphäre im Labor zu der sie alle beigetragen haben.

Ein großes Dankeschön geht auch an Dr. Carsten Buhmann für die Initiation der Forschung an der Parkinson-Krankheit, für die ärztliche Betreuung der Parkinson-Patienten und die Bereitstellung des Probenmaterials sowie für die inhaltliche Begleitung und das kritische Feedback.

Katharina Dufner, Antje Kluth, Tim Knabe, Christoph Römhild und Daniela Sting danke ich für ihre zum Teil sehr kurzfristigen kompetenten Korrekturlesungen, für Anregungen, Kritik und fachkundliche Hilfe am PC. Meinen klugen Freundinnen und meiner Schwester Siv Sperber danke ich für ihre Weisheit und ihre Beratung bezüglich der Anforderungen durch die Doktorarbeit und den vielen anderen Lebensdingen.

Schließlich gilt mein ganz besonderer Dank Bettina Strehl, die mich mit viel Geduld und großem Einsatz intensiv bei der schriftlichen Arbeit unterstützt hat und wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Meinen Eltern Astrit Sperber und Dr. Knuth Sperber danke ich für alles, was sie mir ermöglicht haben.

Lebenslauf:

Sinje Sperber
Weckmannweg 13
D-20257 Hamburg
Deutschland
Telefon: 040 – 850 13 85

Geboren 15.12.1971
In Hamburg-Bergedorf
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

AUSBILDUNG

Grundschule in Hamburg-Bergedorf	1978	-	1982
Hansa-Gymnasium Hamburg-Bergedorf	1982	-	1991
High School in South Pasadena, USA	01/89	-	07/89
Abschluß: Abitur			

MEDIZINISCHE LAUFBAHN

Ärztin im Praktikum in der Internistischen Abteilung des Krankenhaus Mariahilf in Hamburg	11/00	-	05/02
Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg	1992	-	2000
Abschluß: Ärztliche Prüfung am 22.05.2000			
Abschnitte des Praktischen Jahres im Universitätsklinikum Eppendorf in Hamburg, Fachrichtung Psychiatrie	02/99	-	05/99
Allgemeines Krankenhaus Eilbek in Hamburg, Fachrichtung Innere	06/99	-	09/99
Spital Wattwil, Schweiz, Fachrichtung Chirurgie	10/99	-	01/00

DISSERTATION

Dissertation über den Einfluß von oxidativem Streß in der Pathogenese des M. Parkinson anhand von Oxidationsparametern im Blutplasma	09/98	-	07/01
--	-------	---	-------

PFLEGE- UND PATIENTENVERSORGUNG

Freiwilliges soziales Jahr auf der medizinischen Abteilung Johanniter-Krankenhaus in Geesthacht	1991	-	1992
Krankenhaus Elim in Hamburg, Studentische Pflegekraft auf der Intensivüberwachungsstation	1995	-	2000

ARBEITSERFAHRUNG IN SOZIALEN UND POLITISCHEN FELDERN

Verkehrsreferentin im Ökologiereferat des AStA der Universität Hamburg	1993	-	1994
Mitglied im Studierendenparlament der Universität Hamburg	1994	-	1996
Mitglied im Verwaltungsrat des Studentenwerkes der Universität Hamburg	1995	-	1997
Mitglied der IPPNW Deutschland	seit		1993

Hamburg im Dezember 2000

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbständig ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Hamburg, den 16.12.2000, Sinje Sperber

Ia: Gesamte Datei mit allen Parametern und Meßergebnissen

Fälle	CHOL	TG	LDL	HDL	VLDL	APO-E Typ	Ascor- binsäure	Urat	Biliru- bin	SHGrup- pen	Rate- Autoox.	AAPH	Lipoxyge- nase
1	180,0	75,0	73,0	92,0	15,0	2/3	69,70	197,0	9,42	300,8	,7821	5,250	,407
2	176,0	143,0	114,0	33,0	29,0	3/3	60,52	311,1	12,92	323,3	4,5021	4,296	,901
3	218,0	133,0	152,0	39,0	27,0	3/3	73,52	319,4	10,23	356,3	,4847	5,670	,821
4	200,0	85,0	139,0	44,0	17,0	3/3	48,29	254,9	8,35	446,3	,4801	2,807	,470
5	216,0	114,0	135,0	58,0	23,0	3/4	96,84	80,6	8,61	321,0	,0953	6,434	,889
6	228,0	167,0	132,0	63,0	33,0		166,59	429,8	13,03	366,8	2,5322	4,426	1,772
7	247,0	92,0	147,0	82,0	18,0	3/3	87,66	220,3	8,39	356,3	,4241	4,974	,588
8	215,0	258,0	129,0	34,0	52,0	4/4	36,25	360,5	13,46	360,8	,5782	9,728	,434
9	238,0	147,0	160,0	49,0	29,0	3/4	96,45	262,4	8,60	294,0	,3047	2,160	,461
10	223,0	250,0	125,0	48,0	50,0	3/4	35,11	250,9	12,38	222,0	,8125	5,081	,559
11	177,0	70,0	103,0	60,0	14,0	3/3	74,28	229,1	6,70	360,8	,2366	3,396	,626
12	208,0	82,0	144,0	48,0	16,0	3/3		251,3	10,77	318,0	,2883	4,808	,711
13	163,0	72,0	114,0	35,0	14,0	3/3	46,19	189,0	6,70	248,3	,5294	5,428	,421
14	230,0	70,0	165,0	51,0	14,0	3/3	56,32	149,9	6,91	312,0	,3851	6,963	,706
15	170,0	75,0	93,0	62,0	15,0	3/3	46,76	362,3	10,50	304,5	,4931	2,394	,336
16	200,0	74,0	122,0	63,0	15,0	3/4	47,15	228,0	2,26	289,5	,6702	,686	1,214
17	139,0	61,0	74,0	53,0	12,0	2/3	24,21	178,1	6,48	250,5	,2570	2,541	,267
18	168,0	81,0	99,0	53,0	16,0	3/3	89,19	144,0	6,91	378,8	,4611	2,128	,391
19	185,0	87,0	114,0	54,0	17,0	3/3		183,2	11,99	272,3	1,0547	4,446	,613
20	196,0	122,0	125,0	47,0	24,0	3/3		200,9	8,78	327,0	,8833	5,524	,615
21	229,0	142,0	147,0	54,0	28,0	3/3	53,45	236,1	14,54	298,5	,7765	3,550	,764
22	200,0	41,0	137,0	55,0	8,0	3/3	30,52	320,8	8,29	363,0	,2416	3,857	,290
23	163,0	68,0	106,0	43,0	14,0	2/3	27,65	288,7	6,31	266,3	,1579	2,518	,370
24	184,0	116,0	116,0	45,0	23,0	3/3		346,2	8,08	306,0	,3130	2,188	,358
25	137,0	71,0	80,0	43,0	14,0	2/3	88,24	231,6	6,31	288,0	,9527	3,705	,611
26	176,0	124,0	109,0	42,0	25,0	3/3	34,72	250,9	7,00	300,8	1,1050	3,925	,533
29	240,0	71,0	158,0	68,0	14,0	3/2				345,0	1,5097	4,378	,455
30	283,0	161,0	193,0	58,0	32,0	3/3	20,01	149,7	8,17	299,3	1,8406	10,033	1,798
31	175,0	69,0	93,0	68,0	14,0	3/3		321,7	8,60	279,0	,8187	4,427	,413
32	182,0	59,0	110,0	60,0	12,0	2/3		400,8	4,58	345,0	,3346	2,994	,374
33	168,0	119,0	114,0	30,0	24,0	3/3		290,9	8,61	282,0	,9827	1,761	,544
34	144,0	133,0	81,0	36,0	27,0	3/3		385,6	8,60	289,5	,3109	,531	,219
35	177,0	97,0	100,0	58,0	19,0	3/3		184,9	5,01	327,8	,7543	4,257	,674
36	171,0	89,0	101,0	52,0	18,0	3/3		222,7	5,64	514,5	1,1858	3,839	1,120
37	152,0	57,0	106,0	35,0	11,0	3/3		237,9	7,75	338,3	,9714	3,233	,655
38	161,0	208,0	76,0	43,0	42,0	3/3		293,8	7,54	711,8	1,8930	6,207	,705
39	206,0	82,0	143,0	47,0	16,0	3/3	46,67	167,1	11,04	333,0	1,2683	6,815	1,192
40	175,0	78,0	110,0	49,0	16,0	3/3	25,45	225,2	7,54	352,5	1,9069	7,115	,118
41	187,0	88,0	96,0	73,0	18,0	3/2	120,42	153,3	7,27	318,8	1,5246	5,338	,705
42	162,0	61,0	100,0	50,0	12,0	3/3	48,27	245,5	9,69	333,8	,9413	5,609	1,473

Ib

43	189,0	63,0	105,0	71,0	13,0	3/4	58,85	245,2	12,77	380,3	1,7553	5,100	1,099
44	184,0	156,0	110,0	43,0	31,0	3/3	29,61	352,4	10,43	390,0	2,5714	3,232	1,033
K54	183,0	199,0	109,0	34,0	40,0	3/4	59,93	387,5	10,55	475,0	-,9308	,544	,730
K69	232,0	59,0	118,0	102,0	12,0	3/3	55,66	250,0	10,33	373,5	,6656	,479	1,140
K71	228,0	143,0	162,0	37,0	29,0	3/3	54,36	194,8	17,03	393,0	4,8796	3,202	5,930
K73	181,0	92,0	110,0	53,0	18,0	3/3		167,1	13,78	455,3	1,3905	6,187	5,831
K75	274,0	197,0	182,0	53,0	39,0	3/3	12,70	260,1	12,02	481,5	-,9687	,540	-,867
K77	168,0	161,0	99,0	37,0	32,0	2/3	78,90	300,7	11,07	528,0	-1,3912	-,018	-1,323
K78	232,0	120,0	170,0	38,0	24,0	3/3	65,24	270,0	9,18	462,8	-,6629	1,659	-,527
K513	250,0	110,0	160,0	68,0	22,0	3/3	53,10	184,3	15,14	424,0	,1117	3,485	,315
Kb07	161,0	67,0	93,0	55,0	13,0	2/3	47,06	194,5	21,84	455,3	1,1603	5,109	1,431
Kb12	211,0	169,0	143,0	34,0	34,0	3/3	25,44	299,9	11,55	487,5	-,3248	3,014	,116
Kb19	230,0	297,0	132,0	39,0	59,0	3/3	58,55	326,3	13,05	471,7			
Kb22	212,0	195,0	108,0	65,0	39,0	3/3	77,43	308,7	7,47	452,3	-1,1870	2,999	-1,119
Kb33	278,0	310,0	167,0	49,0	62,0	3/4	82,96	313,3	13,85	533,3	1,1473	2,944	1,283
Kb40	261,0	294,0	162,0	40,0	59,0	3/3	48,27	431,2	18,31	458,3	,4172	-,668	,383
Kb41	199,0	126,0	138,0	36,0	25,0	3/3	37,24	238,0	17,70	508,5	,5059	1,133	,438
Kb44	240,0	96,0	152,0	69,0	19,0	3/3	77,76	260,4	8,14	446,3	2,8005	7,241	3,038
Kb49	281,0	127,0	156,0	101,0	25,0	3/3	75,86	266,5	7,94	508,5			
Kb55	237,0	208,0	147,0	48,0	42,0	3/4	82,29	255,9	21,17	462,0	,9752	1,348	,840

	γ- tocop herol	α-To- cophe -rol	α- Caro- tin	β- Caro- tin	QH10 intern	Q10	Q10+ QH10 intern	QH10 %- intern	γ-To- cophe rol-L	α-To- cophe rol-L	α- Carot in -L	β- Carot in-L	QH10 intern -L	Q10- -L	Q10+ QH10 -L	QH10 extern -L	Q10+ QH10 ex.-L	QH 10%	QH10 -L	Q10+ QH10 -L
1	2,438	24,86	,037	,829	,042				956,0	9750	14,5	324,9	16,6			,015			5,7	
2	2,721	34,17	,022	,531	,583				853,0	10711	6,8	166,4	182,8			,046			14,4	
3	4,599	29,46	,179	1,152	,628				1310	8394	51,0	328,3	178,8			,085			24,1	
4	14,55	74,18	,548	1,810	2,481	,252	1,799	86,0	5105	26026	192,3	634,9	870,4	88,5	631,3	2,481	2,733	90,8	870,4	958,9
5	16,13	94,80	1,534	2,091	1,713	,423	2,136	80,4	4887	28729	464,9	633,8	519,1	128,2	647,3	2,611	3,034	86,1	791,1	919,4
6	2,685	36,51	,688	1,967	6,763	,466	7,229	93,6	679,8	9244,	174,3	498,0	1712	117,9	1830	2,586	3,052	84,7	654,7	772,6
7	3,968	25,61	,149	,651	,796				1171	7555	43,9	192,2	234,8			,688			202,9	
8	8,645	39,62	,009	,553	1,421				1828	8377	1,9	116,8	300,4			1,421			300,4	
9																				
10	4,452	30,94	,061	,816	1,297				941,1	6542	12,9	172,5	274,3			1,445			305,6	
11	4,010	50,92	,256	1,483	1,272				1623	20613	103,7	600,4	515,1			,401			162,2	
12	5,578	33,35	,131	1,360	1,488				1924	11498	45,2	468,8	513,0			1,251			431,4	
13	2,226	15,47	,030	,408	,649	,130	1,620	83,9	947,1	6584	13,0	173,6	276,0	55,3	689,4	,723	,853	84,8	307,5	362,8
14	4,825	27,86	,417	1,389	1,133				1608	9285	138,8	463,0	377,8			,611			203,6	
15	3,480	24,82	,122	1,181	,547				1421	10130	50,0	482,0	223,3			,606			247,4	
16	5,338	21,39	,048	,689	1,401	,240	1,641	85,4	1948	7807	17,6	251,5	511,3	87,8	599,1	,896	1,137	78,8	327,1	414,9
17	3,175	22,62	,041	,661	,792				1587	11311	20,3	330,6	395,8			2,106			1053	
18	2,080	26,21	,159	2,018	1,070				835,4	10526	63,7	810,3	429,6			2,545			1022	
19	2,023	25,10	,474	2,152	1,397	,263	1,660	84,2	743,6	9228	174,4	791,2	513,5	96,7	610,2	1,267	1,530	82,8	465,7	562,4

IIa: Gesamttabelle t-test für unabhängige Stichproben mit der Gruppenvariablen Diagnose (Parkinson gegenüber Kontrollgruppe) und allen Parametern als abhängige Variablen

	Mittelwert Parkinson	Mittelwert Kontrollen	p	Gültige n Parkinson	Gültige n Kontrollen	1*Stdabw. Parkinson	1*Stdabw. Kontrollen	F-Quot. Varianz	p Varianz
Cholesterin (LDL+HDL+VLDL)	191,00	225,444	,000484	42	18	31,448	36,663	1,35913	,414242
Triglyceride	105,02	165,000	,000620	42	18	49,660	76,497	2,37286	,024144
LDL	117,86	139,333	,006328	42	18	26,802	27,157	1,02674	,903865
HDL	52,17	53,222	,814831	42	18	13,274	20,986	2,49966	,016773
VLDL	20,98	32,944	,000668	42	18	9,987	15,349	2,36220	,024897
Ascorbat	59,96	58,396	,860385	29	17	32,934	20,296	2,63322	,045861
Sulfhydrylgruppen	335,04	465,369	,000000	42	18	79,080	41,537	3,62470	,005836
Bilirubin	8,71	13,341	,000005	41	18	2,627	4,404	2,81141	,007255
Urat	252,52	272,729	,347056	41	18	78,208	68,243	1,31337	,554196
AAPH-induz. Oxidationsrate	4,38	2,450	,002748	42	16	2,023	2,266	1,25457	,547513
Lipoxidase-induz. Oxidationsrate	,68	1,102	,225196	42	16	,385	2,155	31,33270	,000000

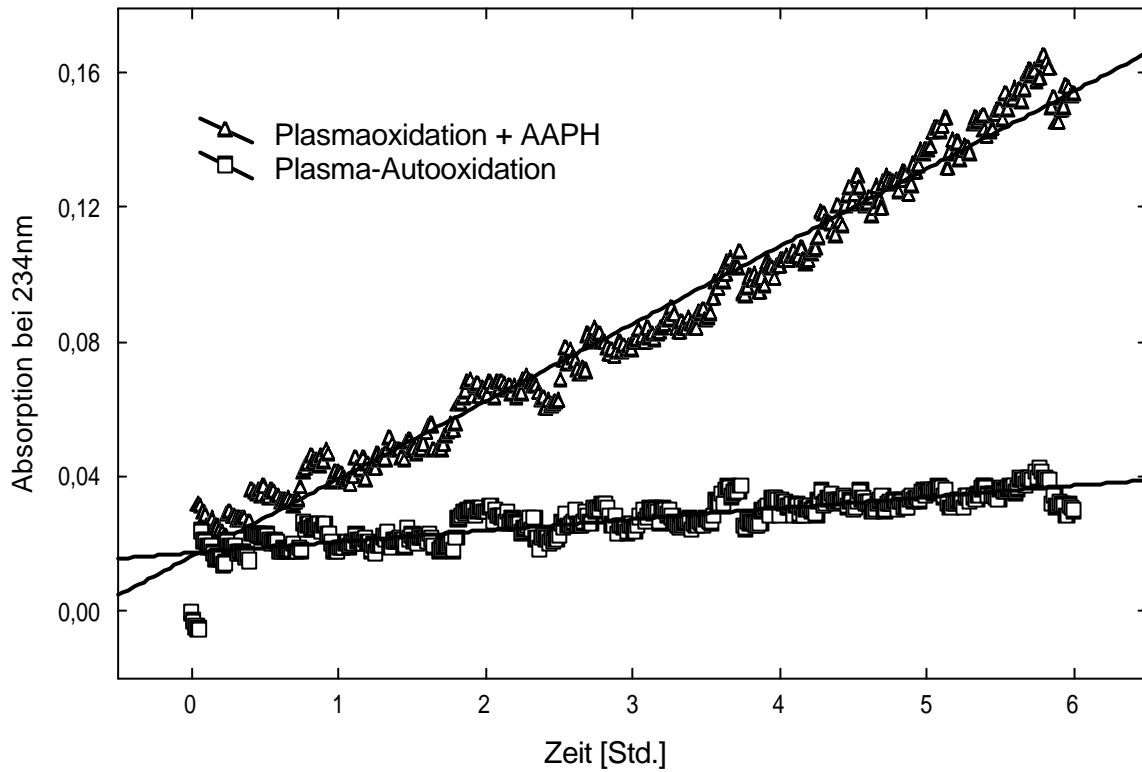
III: Gesamtdatei mit Alter, Geschlecht und weitere für den Oxidationsstoffwechsel relevante Anamnesedaten

Fälle	Diagnose	Alter	Sex F/M	VITA MINE	VITA MIN?	C ₂ H ₅ -OH	Nikot. gesamt	Nikot. aktuell	KHK	Hyper-tonie	Arterio-skler.
1	MP	74	f	n		n	n	n	n	n	n
2	MP	72	m	n		n	n	n	n	n	n
3	MP	62	m	n		n	?		n	n	n
4	MP	55	f	n		n	j	j	n	n	n
5	MP	51	f	n		n	j	j	n	n	n
6	MP	57	m	n		j	n	n	n	n	n
7	MP	71	f	j	Vit E	n	n	n	j	n	j
8	MP	57	m	n		n	n	n	n	n	n
9	MP	75	f	j	Multi	n	n	n	n	n	n
10	MP	61	f	n		n	n	n	n	n	n
11	MP	74	m	j	VitC,E	n	n	n	n	n	n
12	MP	56	m	n		n	n	n	n	n	n
13	MP	67	m	n		n	n	n	n	n	n
14	MP	45	f	n		n	n	n	n	j	n
15	MP	50	f	j	Multi	j	j	j	n	j	n
16	MP	69	m	n		n	n	n	n	n	n
17	MP	73	m	n		n	n	n	n	n	n
18	MP	61	f	n		n	n	n	n	n	n
19	MP	46	f	n		n	n	n	n	n	n
20	MP	72	f	j	VitA,C	n	j	j	n	n	n
21	MP	68	f	n		n	n	n	n	n	n
22	MP	51	m	n		n	n	n	n	n	n
23	MP	46	f	n		n	n	n	n	n	n
24	MP	56	m	n		n	n	n	n	n	n
25	MP	52	m	n		n	n	n	n	n	n
26	MP	63	m	n		n	n	n	n	n	n
29	MP	58	f	n		n	n	n	n	j	n
30	MP	62	f	n		n	n	n	n	n	n
31	MP	58	f	n		n	n	n	n	n	n
32	MP	69	m	n		n	n	n	n	n	n
33	MP	72	m	n		n	n	n	j	n	n
34	MP	83	m	n		n	n	n	n	n	n
35	MP	69	f	n		n	n	n	n	n	n
36	MP	76	f	n		n	n	n	n	n	n
37	MP	71	m	n		n	n	n	n	n	n
38	MP	68	m	n		n	n	n	n	n	n
39	MP	57	m	n		n	n	n	n	n	n
40	MP	68	f	j	Vit D	n	n	n	n	n	n
41	MP	74	f	j	Multi	n	n	n	n	n	n
42	MP	52	m	n		n	n	n	n	n	n
43	MP	69	m	n		n	n	n	n	n	n
44	MP	69	m	n		n	j	n	j	j	n
K54	Kk	70	m			n	n	n	j	n	
K69	Kk	77	f			j	j	n	n	n	
K71	Kk	84	m			n	j	n	j	j	
K73	Kk	67	m			n	n	n	j	n	
K75	Kk	72	m			n	j	n	j	j	
K77	Kk	64	m			j	j	j	n	j	
K78	Kk	62	m			n	j	n	n	n	
K513	Kk	63,	f			n	n		n	n	n
Kb07	Kk	55,	f			n	n		n	j	n
Kb12	Kk	56,	m			n	n		n	n	n
Kb19	Kk	60,	f			n	n		n	n	n
Kb22	Kk	52,	f			n	n		n	n	n
Kb33	Kk	53,	m			a	j	j		j	
Kb40	Kk	63,	m								
Kb41	Kk	41,	f								
Kb44	Kk	57,	f								
Kb49	Kk	56,	f								
Kb55	Kk	65,	f								

Gesamtdatei mit allen Parametern und Meßergebnissen

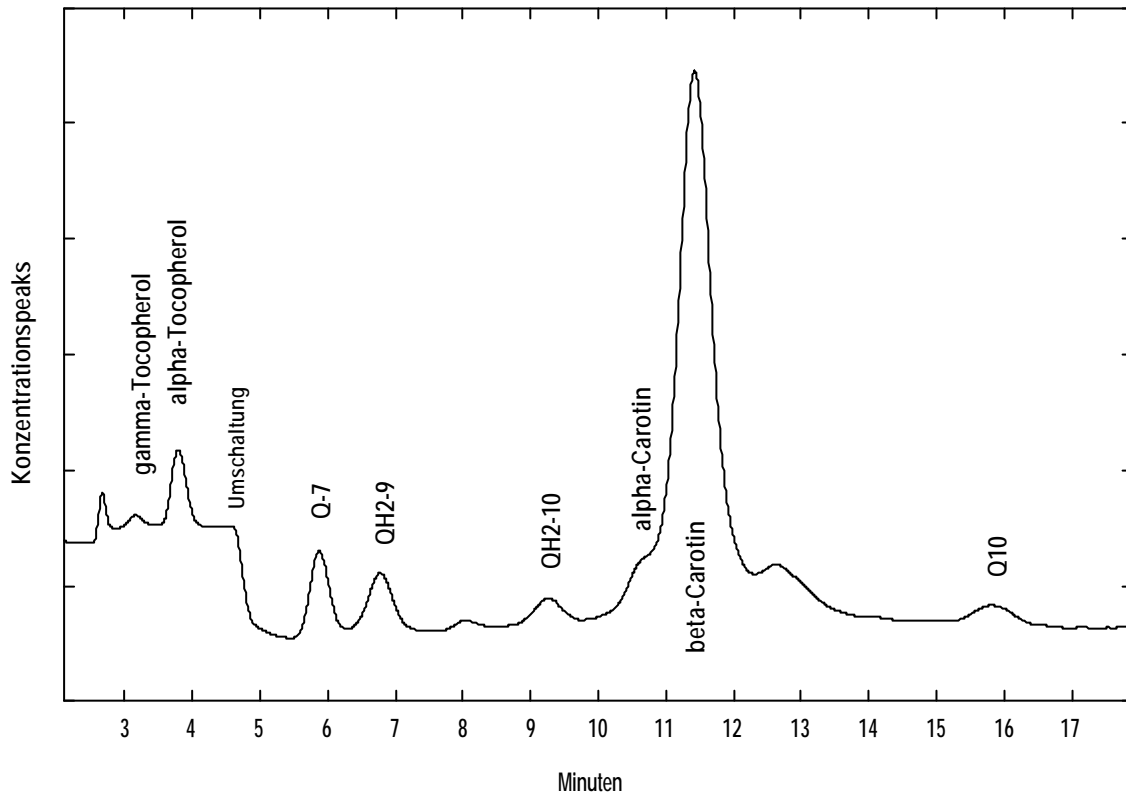
Geschlecht in männlich (m) und weiblich (f); Vitamineinnahme, regelmäßiger Alkoholkonsum (C₂H₅-OH), Nikotinkonsum unterteilt in aktuell (akt) und die Summe aus aktuellen und früheren Rauchern, KHK, Arteriosklerose, Hypertonie und Lebererkrankungen sind alle angegeben in Ja(j) und Nein (n). Andere wichtige Erkrankungen sowie Ernährungszusätze wie Vitamine und Medikamente sind einzeln aufgeführt. MP = Morbus Parkinson, Kk= Kontrollkollektiv

IV: Plasmaoxidation mit AAPH-Induktion und Autooxidation



Plasmaoxidation mit AAPH-Induktion und Autooxidation. Dargestellt sind die einzelnen Meßpunkte der Absorption bei 234 nm im Photometer, die durch die Kummulation der Lipidperoxidationsprodukte (v.a. Lipidhydroperoxide) mit Dienstruktur entstehen. Die Plasmaoxidationsrate wird mit gebildeten Dienen/min angegeben.

V: Auftragung der lipophilen Antioxidantien als Konzentrationspeaks



Auftragung der lipophilen Antioxidantien α -Tocopherol, α - und β - Carotin, Ubichinon (Q10) und Ubichinol QH₂10 mit ihren internen Standards (Q7 für α - und β - Carotin und Ubichinon, QH₂9 für Ubichinol). Alle anderen Peaks, wie auch das γ -Tocopherol wurden für die vorliegende Studie nicht ausgewertet. Durch die Auftrennung der Lipide nach ihrer Molekülgröße während der Messung, ist eine separate Quantifizierung der einzelnen lipophilen Antioxidantien möglich. Auf der Abszisse ist daher der Zeitverlauf angegeben, die Ordinate zeigt indirekt durch unterschiedlich hohe Peaks die Konzentrationen an, die im Anschluß durch Integration der Flächen berechnet werden können (Kapitel 3.5).

Bei ca. 4.5 Minuten erfolgt eine Umschaltung im Computerprogramm, damit die wesentlich geringeren Konzentrationen der nachfolgenden lipophilen Antioxidantien im Vergleich mit dem α -Tocopherol berechnet werden können.