

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

INSTITUT FÜR HUMANGENETIK

**Mechanische Hyperalgesie bei Restless Legs Syndrom und
neuropathischem Schmerz – Analyse genetischer
Varianten im Rahmen einer Assoziationsstudie**

Hannah Sophie Berger

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigte Dissertation.

Vorsitzender: Univ. -Prof. Dr. E.J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. J. Winkelmann
2. Univ. –Prof. Dr. B. Hemmer

Die Dissertation wurde am 13.08.2013 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 19.11.2014 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Restless Legs Syndrom (RLS)	1
1.1.1	Epidemiologie, Diagnose, Klinik und Therapie	1
1.1.2	Pathophysiologie.....	7
1.1.3	Genetik	9
1.2	Neuropathischer Schmerz	12
1.2.1	Epidemiologie, Definition, Klinik, Diagnose und Klassifikation	12
1.2.2	Pathophysiologie und Genetik.....	16
2	Fragestellung	21
3	Probanden und Methodik	22
3.1	Quantitative Sensorische Testung (QST)	22
3.1.1	Probanden mit Restless Legs Syndrom für die QST	22
3.1.2	Gesunde Probanden für die QST	23
3.1.3	Methodik der QST	23
3.1.4	Statistische Auswertung	26
3.2	Quantitative Assoziationsstudie.....	26
3.2.1	Probanden mit neuropathischem Schmerz für die Genotypisierung	28
3.2.2	Methodik der Genotypisierung.....	28
3.2.3	Statistische Auswertung	34
4	Ergebnisse	35
4.1	Quantitative Sensorische Testung.....	35
4.1.1	Demographische Daten der Probanden mit RLS.....	35
4.1.2	QST-Daten der Probanden mit RLS	38
4.1.3	QST-Daten der gesunden Probanden	40
4.1.4	Gruppenvergleich der QST-Daten	42
4.2	Quantitative Assoziationsstudie.....	44
4.2.1	Demographische Daten der Probanden mit neuropathischem Schmerz.....	44
4.2.2	Regressionsanalysen	45

4.2.3	Quantitative Assoziationsanalyse	48
5	Diskussion.....	52
5.1	Quantitative Sensorische Testung.....	52
5.1.1	Rekrutierung von Probanden und Klassifizierung der Probanden mit RLS	52
5.1.2	Studiendesign und Auswahl der Messwerte	55
5.1.3	Ergebnisse im Vergleich zu anderen Studien	59
5.1.4	Zusammenhang zwischen Pathophysiologie und dem sensorischen Profil	60
5.2	Quantitative Assoziationsstudie.....	63
5.2.1	Probanden mit neuropathischem Schmerz.....	63
5.2.2	Regressionsanalysen und die Auswahl der Kovarianten	67
5.2.3	Ergebnisse der quantitativen Assoziationsstudie	68
6	Zusammenfassung.....	71
7	Literaturverzeichnis	73
8	Danksagung	86
9	Lebenslauf	87
10	Anhang.....	88

Anhang

Anhang 1: Anschreiben zur Teilnahme an der Studie

Anhang 2: Schweregrad-Skala der IRLSSG

Anhang 3: Abbild zum Einzeichnen der betroffenen Körperstellen

3a. weibliche Person

3b. männliche Person

Anhang 4: Patientenaufklärung und Einverständniserklärung für die QST

Anhang 5: Gel zur qualitativen Kontrolle der DNA

Anhang 6: Liste der verwendeten SNPs und Primersequenzen

Anhang 7: Gel zur qualitativen Kontrolle der PCR

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1a: Essentielle Kriterien des Restless Legs Syndroms

Tabelle 1b: Supportive Kriterien des Restless Legs Syndroms

Tabelle 1c: Assoziative Charakteristika des Restless Legs Syndroms

Tabelle 2: Ätiologisch basierte Klassifikation von neuropathischem Schmerz

Tabelle 3: Schweregrad der RLS-Symptome zum Zeitpunkt der Untersuchung (ohne Therapie)

Tabelle 4: Familienanamnese und Alter der Patienten bei Beginn der RLS-Symptome

Tabelle 5: Demographische Daten der Patienten mit RLS

Tabelle 6: QST-Daten der Probanden mit RLS

Tabelle 7: QST-Daten der gesunden Probanden

Tabelle 8: p -Werte beim Gruppenvergleich der QST-Parameter mit dem DFNS-Normkollektiv

Tabelle 9: Übersicht über die unterschiedlichen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes

Tabelle 10: Regressionsanalysen der QST-Daten von neuropathischen Schmerzpatienten

Tabelle 11: MAFs der RLS-assoziierten SNPs bei neuropathischen Schmerzpatienten

Tabelle 12: Quantitative Assoziationsanalyse für die MPT-Werte (z-score)

Tabelle 13: Quantitative Assoziationsanalyse für die MPS-Werte (z-score)

Tabelle 14: Prozentsätze der pathologischen MPT- bzw. MPS-Werte (z-score)

Tabelle 15: Vergleich der Patientenpopulationen der aktuellen Studie mit der Studie von Maier et al. 2010

Tabelle 16: Prävalenzen der pathologischen MPT- bzw. MPS-Werte (z-score) in den verschiedenen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einstufungsschema für die Diagnose „neuropathischer Schmerz“

Abbildung 2: Spinale Mechanismen bei der Entstehung von Schmerz

Abbildung 3: Mechanismus der peripheren Sensibilisierung

Abbildung 4: Mechanismus der zentralen Sensibilisierung

Abbildung 5: Materialien der QST

Abbildung 6: Überblick über die Arbeitsschritte bei der Genotypisierung

Abbildung 7: Mittelwerte der QST-Parameter der gesunden und RLS-erkrankten

Probanden im Vergleich zu dem DFNS-Normkollektiv mit jeweiligen p -Werten

Abbildung 8: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und den MPT-Werten (z-score)

Abbildung 9: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und den MPS-Werten (z-score)

Abkürzungsverzeichnis

a.d.	aqua destillata (= destilliertes Wasser)
bzw.	beziehungsweise
(d)dNTP	(Di)desoxyribonukleosid-Triphosphate
DFNS	Deutscher Forschungsverbund Neuropathischer Schmerz
DNA	deoxyribonucleic acid (= Desoxyribonukleinsäure)
GABA	gamma-aminobutyric acid (= γ -Aminobuttersäure)
ggf.	gegebenenfalls
IRLSSG	International Restless Legs Syndrome Study Group
MAF	minor allele frequency (= Frequenz des selteneren Allels)
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight
MDT	mechanical detection threshold (= taktile Detektionsschwelle)
MPS	mechanical pain sensitivity (= mechanische Schmerzsensitivität)
MPT	mechanical pain threshold (= mechanische Schmerzschwelle)
m-RNA	messenger ribonucleic acid (= Boten-Ribonukleinsäure)
n.z.	nicht zutreffend
PCR	polymerase chain reaction (= Polymerase-Kettenreaktion)
PNP	Polyneuropathie
PLM	periodic leg movements (=periodische Beinbewegungen)
PPT	pressure pain threshold (= mechanische Schmerzschwelle für Druck)
QST	Quantitative Sensorische Testung
QNART	quantitativer nozizeptiver axonaler Reflextest
RLS	Restless Legs Syndrom
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	standard deviation (= Standardabweichung)
SNP	Single Nucleotid Polymorphism (= Einzel-Nukleotid-Polymorphismus)
TSL	thermal sensory limen (= thermische Unterscheidungsschwelle)
vs.	versus
WDR	wide dynamic range (= multimodal)
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Restless Legs Syndrom (RLS)

1.1.1 Epidemiologie, Diagnose, Klinik und Therapie

Der schwedische Neurologe Ekbom beschrieb 1945 erstmalig die Symptome des Restless Legs Syndroms (Ekbom 1945; Ekbom and Ulfberg 2009). Heute zählt es zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen (Berger et al. 2004; Allen et al. 2005). Die Prävalenz ist abhängig vom Alter, der ethnischen Abstammung und nicht zuletzt dem Geschlecht. So wird bis zum 60.- 70. Lebensjahr eine kontinuierliche Zunahme der Erkrankung beschrieben (Berger et al. 2004; Allen et al. 2005; Tison et al. 2005). Die Prävalenz beträgt um die 0,1-3,9% in Asien, der Türkei sowie in Südosteuropa (Tan et al. 2001; Sevim et al. 2003; Hadjigeorgiou et al. 2007), wohingegen sie in Nordeuropa und der USA mit circa 10% abhängig vom durchschnittlichen Alter der Probanden angegeben wird (Berger et al. 2004; Hogl et al. 2005; Tison et al. 2005). Ferner besitzen Frauen ein nahezu doppelt so hohes Risiko am RLS zu erkranken (Rothdach et al. 2000; Berger et al. 2004; Allen et al. 2005; Tison et al. 2005). Patienten mit RLS berichten über einen intensiven Drang Ihre Beine zu bewegen, meistens in Begleitung von Missempfindungen. Letztere werden als „ziehend“, „kribbelnd“, „elektrifizierend“, „klopfend“ oder auch „reißend“ beschrieben, wobei einige der Patienten sie als schmerzhaft empfinden (Winkelmann et al. 2000; Allen et al. 2003; Ekbom and Ulfberg 2009). Den meisten Patienten fällt es schwer, Ihre Empfindungen in Worte zu fassen. Sie beschreiben diese lediglich als „unangenehmes Gefühl, das aus der Tiefe der Beine kommt“ (Allen et al. 2003). Die häufigste Lokalisation der Beschwerden erfolgt im Bereich zwischen Sprunggelenk und Knie (Ekbom and Ulfberg 2009). Die Erkrankung verläuft häufig progredient. So berichten Patienten, dass sich Ihre Beschwerden über die Jahre auf andere Körperteile zum Beispiel die Arme ausbreiten. Selten sind diese Stellen von Anfang an mit betroffen (Winkelmann et al. 2000; Bassetti et al. 2001; Allen et al. 2003; Ekbom and Ulfberg 2009). Die Intensität der Beschwerden sowie die Häufigkeit des Auftretens nimmt ebenfalls über die Jahre zu (Allen et al. 2003; Tison et al. 2005). Berichtet ein Patient über derartige Symptome, so ist das erste von vier obligatorischen RLS-Diagnosekriterien, die von der Internationalen Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG) 1995 entwickelt und 2003 überarbeitet wurden, erfüllt (Walters 1995; Allen et al. 2003). Das zweite Diagnosekriterium basiert auf der Beobachtung, dass die Symptome in Ruhe, meist im Sitzen oder Liegen, beginnen bzw. sich verstärken. Dabei bezieht sich der Begriff „Ruhe“ nicht nur auf die motorische Immobilität, sondern auch auf eine reduzierte geistige Aktivität (Allen et al. 2003). Man kann dies mit Hilfe des Immobilisationstestes von Montplaisir et al. feststellen (Montplaisir et al. 1998). Patienten, bei denen die für RLS typischen Symptome in Ruhe auftreten, versuchen diese durch entsprechende Maßnahmen

zu unterdrücken. Dabei kann eine geistige Ablenkung, zum Beispiel Beschäftigung am Computer, ebenso wirkungsvoll sein, wie Anspannung der Muskeln, Kreisen der Füße oder abwechselndes Waschen der Beine mit heißem und kaltem Wasser (Winkelmann et al. 2000; Allen et al. 2003). Sind die Symptome mit derartigen Methoden nicht in den Griff zu bekommen, ist der Patient letztlich gezwungen aufzustehen und umherzulaufen. Wenngleich dies meistens zur erhofften Linderung der Symptome führt, beginnt der Kreislauf von vorne, sobald der Patient zur Ruhe kommt. Das dritte Diagnosekriterium beinhaltet somit die Verbesserung der Symptome durch Bewegung zumindest so lange, wie die Aktivität anhält (Allen et al. 2003). Das letzte der vier obligatorischen Diagnosekriterien bezieht sich darauf, dass sich die Symptome vor allem abends oder nachts verschlimmern bzw. erst erscheinen (Allen et al. 2003). Ein zirkadianer Rhythmus wurde für die RLS-Beschwerden (Hening et al. 1999b) sowie für die periodischen Beinbewegungen (PLM) beschrieben, die bei 80-90% der RLS-Patienten beobachtet werden (Trenkwalder et al. 1999). Neben diesen essentiellen Kriterien gibt es noch weitere supportive Kriterien und assoziierte Charakteristika, die die Diagnose RLS festigen [Tabelle 1a-c] (Allen et al. 2003).

Tabelle 1a: Essentielle Kriterien des Restless Legs Syndroms

Essentielle Kriterien des Restless Legs Syndroms (Allen et al. 2003)
RLS-Symptome
<p>Das typische Symptom für RLS ist ein Bewegungsdrang, meist in den Beinen, häufig kombiniert mit sensorischen Missempfindungen. Diese Missempfindungen werden unter anderem als „ziehen“, „kribbeln“ oder sogar „schmerzhaft“ empfunden. Vielen Patienten fällt es schwer, ihre Beschwerden überhaupt in Worte zu fassen (Winkelmann et al. 2000; Ekbom and Ulfberg 2009).</p>
Verschlechterung der Symptome
<p>Die RLS-Symptome beginnen bzw. verschlechtern sich bei Ruhe. Der Begriff „Ruhe“ beinhaltet dabei sowohl die motorische Immobilität als auch eine reduzierte geistige Aktivität. Zur Diagnosesicherung kann der Immobilitätstest von Montplaisir et al. herangezogen werden (Montplaisir et al. 1998).</p>
Verbesserung der Symptome
<p>Eine teilweise bzw. vollständige Verbesserung der RLS-Beschwerden kann durch geistige Aktivität oder wirkungsvoller durch Bewegung erzielt werden. Jedoch hält die Besserung meist nur solange an, wie diese Aktivität ausgeübt wird (Winkelmann et al. 2000).</p>
Zirkadianer Rhythmus der Beschwerden
<p>Sowohl für die RLS-Beschwerden als auch für die bei RLS-Patienten gehäuft beobachteten PLM, wurde ein zirkadianer Rhythmus beschrieben. Beide Symptome verschlechtern sich am Abend bzw. in der Nacht oder treten ausschließlich dann auf (Trenkwalder et al. 1999; Hening et al. 1999b).</p>

Tabelle 1b: Supportive Kriterien des Restless Legs Syndroms

Supportive Kriterien des Restless Legs Syndroms (Allen et al. 2003)
Positive Familienanamnese
Verschiedene Studien haben gezeigt, dass bei Familienangehörigen ersten Grades eines RLS-Patienten mit einer Häufigkeit von über 50% ein weiterer Betroffener gefunden werden kann. Dabei ist die positive Familienanamnese umso wahrscheinlicher, je früher der Patient am RLS erkrankt. (Montplaisir et al. 1997; Winkelmann et al. 2000).
Ansprechen auf eine dopaminerge Therapie
90% der RLS-Patienten berichten, dass bei erstmaliger Gabe von Levodopa oder einem anderen Dopamin-Agonisten sich sowohl die sensorischen als auch die motorischen Symptome verbessern bzw. diese verschwinden. (Benes et al. 1999; Hening et al. 1999a; Comella 2002; Silber et al. 2004). Zur Diagnose wird der von Stiasny-Kolster et al. validierte Levodopa-Test verwendet (Stiasny-Kolster et al. 2006).
Periodische Beinbewegungen
Die PLM, die bei 80-90% der RLS-Patienten auftreten, werden in zwei Gruppen unterteilt; PLM im Wachzustand, diese gelten durchweg als pathologisch, und PLM im Schlaf, diese werden erst ab einem Auftreten von mehr als 5 Mal pro Stunde als pathologisch angesehen. Es handelt sich dabei um unwillkürliche, stereotypische Reflexe, die als Dorsalflexion im oberen Sprunggelenk und der großen Zehe bzw. als Flexionsbewegung im Knie- und Hüftgelenk beschrieben werden. Die PLM gelten aber in keiner Weise als RLS-spezifisch. Sie treten ebenfalls bei Patienten mit Parkinson, Narkolepsie und sogar bei älteren gesunden Menschen auf (Montplaisir et al. 1997; Montplaisir et al. 1998; Bassetti et al. 2001).

Tabelle 1c: Assoziative Charakteristika des Restless Legs Syndroms

Assoziative Charakteristika des Restless Legs Syndroms (Allen et al. 2003)
Klinischer Verlauf
<p>Sowohl das Alter der Erstmanifestation als auch die Häufigkeit und Stärke der Symptome können bei der Erkrankung RLS erheblich variieren. Treten die ersten Symptome früh auf (vor dem 45. Lebensjahr = early onset), so ist der Verlauf in der Regel eher schleichend. Bei diesen Patienten wird eine genetische Komponente für die Erkrankung vermutet. Wohingegen Patienten, die erst nach dem 45. Lebensjahr (late onset) erkranken, häufiger ein sogenanntes sekundäres RLS besitzen. Die Erkrankung bei den „late onset“- Patienten hat in der Regel einen schwereren Verlauf mit schnellerer Progredienz (Allen and Earley 2000; Winkelmann et al. 2000; Allen and Earley 2001; Allen et al. 2002; Hanson et al. 2004).</p>
Schlafstörungen
<p>Durch den zirkadianen Rhythmus wie auch das überwiegende Auftreten der Beschwerden in Ruhe leiden viele Patienten an einer Ein- und/oder Durchschlafstörung; sowohl die Schlafdauer als auch die Schlafqualität sind beeinträchtigt. Viele Patienten leiden daher an einer erhöhten Tagesmüdigkeit. Daraus resultierende weitere Folgeerscheinungen sind vermehrte Depressionen, erniedrigte Lebensqualität und ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. Zur Objektivierung des Schlafprofils kann eine Polysomnographie durchgeführt werden (Allen and Earley 2001; Berger and Kurth 2007; Winkelmann et al. 2008).</p>
Körperliche Untersuchung
<p>Eine intensive körperliche Untersuchung, unterstützt durch technische und laborchemische Zusatzuntersuchungen, trägt dazu bei, die Diagnose RLS zu sichern. So führen neurologische Untersuchungen, die Bestimmung der Nervenleitgeschwindigkeit sowie die Elektromyographie und laborchemische Untersuchungen (Bestimmung von Blutbild, Ferritin, Serumeisen, Kreatinin, Harnstoff, TSH, fT3, fT4, Vitamin B12 und Folsäure) bei primären RLS-Patienten zu unauffälligen Befunden. Diese können aber einerseits zur Klassifikation eines sekundären RLS herangezogen werden und andererseits dazu dienen andere neurologische Erkrankungen wie eine Polyneuropathie (PNP) auszuschließen (Garcia-Borreguero et al. 2006; Allen and Earley 2007). Weitere diagnostische Maßnahmen beruhen auf der Durchführung einer Polysomnographie, dem Immobilitätstest, sowie dem Levodopa-Test [siehe Tabelle 1 a-c].</p>

Anhand der Ätiologie lassen sich Patienten mit RLS in zwei Gruppen einteilen, primäres und sekundäres RLS. Beim primären oder idiopathischen RLS findet man keine zugrunde liegende Erkrankung als Auslöser. Im Gegensatz dazu besteht bei dem sekundären oder symptomatischen RLS ein Zusammenhang mit einer anderen Krankheit, einem Medikament oder einer hormonellen bzw. metabolischen Veränderung (Garcia-Borreguero et al. 2006; Ekbom and Ulfberg 2009). Die bekanntesten Auslöser sind dabei ein Eisenmangel (O'Keefe et al. 1994; Allen and Earley 2007), eine Urämie (Winkelman et al. 1996; Garcia-Borreguero et al. 2006) sowie das Vorliegen einer Schwangerschaft (Manconi et al. 2004). Bei einigen RLS-Patienten konnte eine Assoziation mit einer peripheren Neuropathie oder Radikulopathie festgestellt werden (Iannaccone et al. 1995; Polydefkis et al. 2000; Gemignani et al. 2006). Ferner wurden Medikamente wie Antidepressiva, Neuroleptika und Dopamin-Antagonisten als „Trigger“ des RLS beschrieben (Wetter et al. 2002; Rottach et al. 2008). Wird der spezifische Auslöser des RLS beseitigt, zum Beispiel durch einen Ausgleich des Eisendefizits oder eine Nierentransplantation bei den urämischen Patienten, so kommt es zur Besserung der Symptome, bestenfalls verschwinden diese sogar vollständig (O'Keefe et al. 1994; Wetter et al. 2002; Winkelman et al. 2002; Allen and Earley 2007). Beide RLS-Formen unterscheiden sich nicht in der Ausprägung der RLS-typischen Symptome (Walters 1995; Winkelman et al. 2000). Allerdings tritt die Erstmanifestation bei der sekundären Form häufig im höheren Alter auf und die Wahrscheinlichkeit einer familiären Häufung ist geringer als bei der primären Form (Winkelman et al. 2000; Allen et al. 2002; Hanson et al. 2004; Whittom et al. 2007). Neben der Beseitigung des Auslösers bei der sekundären Form des RLS ist die dopaminerge Therapie mit Levodopa (in Kombination mit einem Decarboxylasehemmer) oder einem Dopamin-Agonisten das Mittel der Wahl (Hening et al. 1999a; Silber et al. 2004). Die dopaminergen Medikamente unterscheiden sich unter anderem in ihrer Halbwertszeit und der Zeit bis zum Wirkungseintritt. Levodopa wirkt bereits nach einer kurzen Zeit von circa 30 Minuten. Es wird daher meist als Bedarfsmedikation bei intermittierendem RLS verwendet oder als Zusatzmedikament in Situationen, in denen die RLS-Beschwerden besonders ausgeprägt auftreten (Benes et al. 1999; Silber et al. 2004). Die Dopamin-Agonisten besitzen eine längere Halbwertszeit; zum Beispiel hat Levodopa eine Halbwertszeit von 1,5 Stunden, wohingegen der Dopamin-Agonist Pramipexol eine Halbwertszeit von 8-12 Stunden aufweist (Ruß and von Stuckrad-Barre 2008). Der Vorteil eines Dopamin-Agonisten besteht darin, dass insbesondere bei täglichem Auftreten von mittleren bis schweren RLS-Schüben die Einnahme auf wenige Gaben reduziert werden kann. So reicht eine einmalige Gabe den Patienten häufig für die gesamte Nacht (Comella 2002; Silber et al. 2004). Ferner treten unter der Therapie mit Dopamin-Agonisten seltener sogenannte Rebound-Phänomene auf. Letztere sind dadurch gekennzeichnet, dass gegen Wirkungsende des Medikaments die RLS-Beschwerden verstärkt auftreten (Comella 2002;

Silber et al. 2004). Als alternative Medikamente bei unzureichendem Behandlungserfolg oder Komplikationen bzw. Kontraindikationen der dopaminergen Therapie können Opiate verwendet werden (Silber et al. 2004). Sie beeinflussen wie die dopaminergen Medikamente sowohl die sensorische als auch die motorische Komponente positiv (Hening et al. 1999a; Walters et al. 2001). Weitere alternative Präparate sind Antikonvulsiva wie Gabapentin oder Benzodiazepine; diese werden meist als Kombinationstherapie mit Opiaten oder Dopamin-Agonisten verschrieben (Hening et al. 1999a; Silber et al. 2004).

1.1.2 Pathophysiologie

Obwohl in den letzten Jahren viel am RLS geforscht wurde, ist die Pathophysiologie noch nicht vollständig verstanden. Man geht davon aus, dass unterschiedliche neuroanatomische Strukturen an der Entstehung des RLS beteiligt sind. Sie umfassen kortikale und subkortikale Areale wie die Basalganglien, den Thalamus, die A11 Neuronengruppe, die Substantia nigra sowie den Hirnstamm. Ferner scheinen auch das Rückenmark und die opioiden und dopaminergen Transmittersysteme betroffen zu sein (Winkelmann and Trenkwalder 2001; Paulus et al. 2007a; Paulus et al. 2007b). Es wird von einer erhöhten kortikalen sowie spinalen Erregbarkeit berichtet, für deren Ursache unterschiedliche Theorien existieren (Tergau et al. 1999; Bara-Jimenez et al. 2000). So wurde eine reduzierte interkortikale Hemmung festgestellt, die auf eine Beteiligung des supraspinalen motorischen Hemmungsmechanismus sowie zum anderen auf eine Dysfunktion der subkortikalen Strukturen zurückgeführt wurde (Tergau et al. 1999; Allen and Earley 2001). Die erhöhte spinale Erregbarkeit, auch zentrale Sensibilisierung genannt, lässt sich entweder durch Veränderungen in den vom zentralen Nervensystem absteigenden Bahnen (Wei et al. 1999) oder den spinalen Neuronenkreisläufen erklären (Pertovaara 1998; Bara-Jimenez et al. 2000; Paulus et al. 2007b). Dabei wird vermutet, dass es durch afferenten Input von den C/A δ -Fasern zu Plastizitätsveränderungen der Neuronen im Rückenmark kommt; zum Beispiel verlieren hemmende Interneurone ihre Funktion (LaMotte et al. 1991; Paulus et al. 2007b; D'Mello and Dickenson 2008; Bachmann et al. 2010). Infolge dessen tritt eine erhöhte spinale Erregbarkeit auf. In einer Studie von Bara-Jimenez et al. wurden bei RLS-Patienten eine erniedrigte Erregungsschwelle sowie eine größere Ausbreitung der Reflexantwort bei den Flexorenreflexe nachgewiesen. Dies spricht für eine Enthemmung der spinalen Reflexkreisläufe (Bara-Jimenez et al. 2000). In weiteren Studien konnten Veränderungen im somatosensorischen Profil von RLS-Patienten gefunden werden, die ebenfalls für eine zentrale Sensibilisierung sprechen (Schattschneider et al. 2004; Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010). Dabei wurde in zwei Studien eine mechanische Hyperalgesie, die sich durch eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle sowie eine erhöhte mechanische Schmerzsensitivität äußert, festgestellt (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010). Bezüglich der thermischen Detektionsschwellen unterscheiden sich die Studien. Bachmann

et al. stellten eine Hypästhesie gegenüber thermischen Reizen nur in den sekundären RLS-Patienten fest, wohingegen Schattschneider et al. in beiden RLS-Gruppen (primäre und sekundäre) eine signifikante Beeinträchtigung der thermischen Wahrnehmung beobachteten (Schattschneider et al. 2004; Bachmann et al. 2010). Weiterhin wird in vielen Untersuchungen der Frage nachgegangen, warum Levodopa und andere Dopamin-Agonisten die Medikamente sind, mit denen RLS am erfolgreichsten therapiert werden kann. Eine besondere Bedeutung wird in diesem Zusammenhang den A11-Neuronen zugeschrieben (Ondo et al. 2000; Clemens et al. 2006). Diese zählen zum dorsalposterior hypothalämischen System. Sie besitzen einen hemmenden Einfluss auf afferente sensorische sowie präganglionäre sympathische Neuronen auf spinaler Ebene. Ihre Fehlfunktion könnte ebenfalls zur erhöhten spinalen Erregbarkeit beitragen. Sie scheinen aber auch im Zusammenhang mit der Schmerzverarbeitung und der Kontrolle von autonomen und motorischen Funktionen zu stehen (Winkelman 2006). Der bei RLS-Patienten beobachtete zirkadiane Rhythmus könnte aufgrund der anatomischen Nähe von den A11-Neuronen und dem Nucleus Suprachiasmaticus, dem wichtigsten Taktgeber für den zirkadianen Rhythmus beim Menschen, auf entsprechende Wechselwirkungen zurückzuführen sein (Trenkwalder and Paulus 2004; Winkelman 2006). Im Zusammenhang mit RLS wird noch ein weiteres dopaminerges System, das nigrostriatale A9-System, diskutiert. Dieses System spielt vor allem eine Rolle bei der Generation willkürlicher Bewegungen (Winkelman 2006).

Ferner wurden viele Studien mit bildgebenden Verfahren zur Untersuchung des dopaminergen und opioidalen Systems durchgeführt (Wetter et al. 2004). Sie lassen vermuten, dass es bei der Erkrankung zur Remodulierung bzw. Abschwächung der dopaminergen und opioidalen Systeme kommt, nicht jedoch zu einer primären Neurodegeneration (Paulus et al. 2007b). So zeigten Untersuchungen mit der Positronen-Emissions-Tomographie unter Verwendung von 18-Fluordopa eine verminderte Aufnahme des 18-Fluordopa im Putamen und Caudatum (Turjanski et al. 1999; Winkelmann and Trenkwalder 2001; Paulus et al. 2007b). Untersuchungen via Single-Photon-Emissionscomputertomographie zeigten eine geringfügig verminderte Bindung von Iodobenzamid an den postsynaptischen striatalen Dopamin-D2-Rezeptoren; dies wird durch eine verringerte Dichte an Rezeptoren bzw. durch eine geringere Affinität der Rezeptoren zum Substrat erklärt. In anderen Studien wurden jedoch konträre Resultate erzielt (Winkelmann and Trenkwalder 2001; Wetter et al. 2004; Paulus et al. 2007b). Auch sind die Veränderungen im Vergleich zu denen bei Parkinson, einer anderen das dopaminerge System betreffenden Erkrankung, eher geringfügig (Winkelmann and Trenkwalder 2001; Paulus et al. 2007a; Paulus et al. 2007b). Des Weiteren wurde die Beteiligung des endogenen Opiatsystems bei der Entstehung des RLS untersucht. In einer

Studie, bei der zur Untersuchung eine Positronen-Emissions-Tomographie mit Diprenorphin als Ligand verwendet wurde, konnten keine Veränderungen gezeigt werden (von Spiczak et al. 2005; Paulus et al. 2007b). Mit Hilfe einer hochauflösenden funktionellen Magnetresonanztomographie wurde hingegen während des Auftretens von RLS-Beschwerden eine bilaterale Aktivierung des Kleinhirns, vor allem subkortikal, sowie eine kontralaterale Aktivierung der Thalamus festgestellt (Bucher et al. 1997). Anhand von weiteren bildgebenden Studien konnte in den aktivierten Kleinhirnbereichen eine Dominanz von μ -Opiat-Rezeptoren festgestellt werden. Möglicherweise kann so der Einfluss der Opiate auf die sensorischen und motorischen Symptome beim RLS erklärt werden (Winkelmann and Trenkwalder 2001).

Darüber hinaus scheint auch die Therapie mit Antikonvulsiva effizient zu sein. Letztere wirken vermutlich unspezifisch über hemmende Transmitter bzw. über Aktivierung hemmender Kanäle (Paulus et al. 2007a). Nicht zuletzt wurde die Rolle des Eisendefizits bei sekundären RLS-Patienten genauer untersucht (O'Keeffe et al. 1994; Allen and Earley 2007). Magnetresonanztomographie-Studien zeigen eine erniedrigte Eisenverteilung in der Substantia nigra und dem Putamen, wobei der Grad der Erniedrigung mit dem Schweregrad des RLS korrelierte (Winkelman 2006). In einer Studie, bei der Gehirngewebe post mortem untersucht wurde, zeigte sich, dass die Transferrin-Rezeptoren gegenüber Gesunden geringer exprimiert waren und in den Zellen weniger Eisen und H-Ferritin (Speicherform der Ferritins) angefärbt werden konnte (Connor et al. 2003; Winkelman 2006). Des Weiteren wurden bei der Untersuchung des Liquors erniedrigte Ferritin-Werte (wichtigstes Eisenspeichermolekül) bei gleichzeitig erhöhten Transferrin-Werten (Haupttransportmolekül) gefunden (Winkelman 2006). Der Zusammenhang zwischen dem Eisendefizit und der dopaminergen Fehlfunktion bei RLS-Patienten wird darin gesehen, dass die eisenabhängige Tyrosinkinase, die das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Dopaminsynthese ist, bei einem Eisendefizit eine verminderte Aktivität besitzt (Winkelman 2006).

1.1.3 Genetik

Bei einem hohen Prozentsatz (40-65%) der Patienten mit primärem RLS wird eine positive Familienanamnese beschrieben; dies kann auf eine genetische Beteiligung hinweisen (Montplaisir et al. 1997; Winkelmann et al. 2000). Bei der sekundären Form des RLS werden deutlich seltener positive Familienanamnesen beschrieben; 42,3% beim idiopathischen RLS vs. 11,7% beim urämischen RLS (Winkelmann et al. 2000), 65% beim idiopathischen RLS vs. 20% beim RLS und PNP (Polydefkis et al. 2000) bzw. 92% beim idiopathischen RLS vs. 13% beim RLS und periphere Neuropathie (Ondo and Jankovic 1996). Ferner konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer positiven Familienanamnese häufig in jüngeren Jahren am RLS erkranken und eine langsamere Krankheitsprogression aufweisen, als die nicht-hereditär Erkrankten (Montplaisir et al. 1997; Allen and Earley 2000; Winkelmann et al. 2000;

Allen et al. 2002; Hanson et al. 2004). Die These, dass bei der RLS-Erkrankung genetische Faktoren eine Rolle spielen, wird durch Zwillingsstudien gestützt (Xiong et al. 2007; Winkelmann et al. 2007a). In den letzten Jahren wurden vor allem Kopplungsstudien und Assoziationsstudien in der genetischen Grundlagenforschung vom RLS durchgeführt. Mit Hilfe von Kopplungsstudien in Familien mit RLS-Patienten konnten bisher 6 für das RLS relevante Risikoloci auf dem Chromosomen 12q22-23.3, 14q13-22, 9p22-24, 2q33, 20p13 und 16p12.1 beschrieben werden (Winkelmann et al. 2007a; Levchenko et al. 2009). Diese wurden aufgrund der Annahme eines autosomal-dominanten Erbgangs identifiziert. Nur Genlocus RLS1 wird autosomal-rezessiv vererbt; er erscheint auf Grund der hohen Allelfrequenz aber pseudodominant (Desautels et al. 2001). In anderen Studien konnten noch weitere Loci identifiziert werden. Eine unmittelbar für das RLS verantwortliche Sequenzvariante konnte jedoch durch einen Familien-basierten Ansatz bisher nicht beschrieben werden (Winkelmann et al. 2007a; Winkelmann et al. 2007b). Bei genomweiten Assoziationsstudien, in denen die Allelfrequenzen von Einzel-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs) zwischen betroffenen und nicht betroffenen Personen verglichen wurden mit dem Ziel, signifikante Frequenzunterschiede zu finden, konnten beim Vergleich des Genoms von RLS-Patienten mit dem gesunder Probanden in fünf Genen RLS-assoziierte SNPs identifiziert werden (Stefansson et al. 2007; Winkelmann et al. 2007b; Schormair et al. 2008; Winkelmann et al. 2011). Für einen sechsten Locus auf Chromosom 12 im NOS1-Gen ergaben sich widersprüchliche Ergebnisse (Winkelmann et al. 2008). Bei allen assoziierten SNPs handelt es sich um häufige genetische SNPs mit schwachem Effekt auf den Phänotyp. Die Funktion der Gene und ihre Bedeutung bei der Entstehung des RLS sind bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht geklärt, jedoch gibt es einige Hypothesen bezüglich ihrer Bedeutung beim RLS. Die ersten drei Risikovarianten, jeweils bestehend aus mehreren mit dem RLS-assoziierten SNPs, wurden in den Genen MEIS1, BTBD9 und SKOR1/MAP2K5 bei Assoziationsstudien in einer europäischen Population identifiziert und in einer kanadischen Population repliziert (Winkelmann et al. 2007b). In einer unabhängigen US-amerikanischen Population konnte die Assoziationen mit MEIS1 und BTBD9 ebenfalls bestätigt werden (Vilarino-Guell et al. 2008). Bei allen drei Genen gibt es Hinweise auf einen Zusammenhang mit der embryonalen Entwicklung der Extremitäten und des zentralen Nervensystems (Winkelmann et al. 2007b). Das MEIS1-Gen ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 2 (2p) lokalisiert. Die Risikoregion liegt im Intron 8/Exon 9. Ein Zusammenhang zwischen RLS und MEIS1 kann darauf beruhen, dass MEIS1 als Teil des HOX-transkriptions-regulations-Netzwerks, welches allgemein für die Steuerung der Zelldifferenzierung und der Morphogenese zuständig ist, eine Rolle bei der Festlegung der Identität und der Vernetzung der spinalen Motoneurone spielt (Winkelmann et al. 2007b). Eine erhöhte spinale Erregbarkeit, wie sie in einigen Studien für das RLS gezeigt wurde, entsteht möglicherweise

auf der genetischen Grundlage von MEIS1 (Tergau et al. 1999; Bara-Jimenez et al. 2000; Winkelmann et al. 2007b). Ferner wurde eine veränderte Expression von MEIS1 bei adulten Mäusen in den Granulazellen des Kleinhirns, des Vorderhirns sowie vor allem in den dopaminergen Zellen der Substantia nigra und im Nukleus ruber diskutiert (Mignot 2007; Winkelmann et al. 2007b). Veränderungen in diesen Strukturen des Gehirns beim RLS konnten bereits in unterschiedlichen bildgebenden Studien gezeigt werden. Darüber hinaus gehören die wirksamsten Medikamente bei der Therapie des RLS zur Gruppe der Dopaminagonisten; diese könnten ebenfalls an diesen Strukturen des Gehirns wirken (Wetter et al. 2004; Paulus et al. 2007a). Andere Studien zeigen neben den Veränderungen im dopaminergen System auch erniedrigte Eisenwerte in der Substantia nigra (Winkelman 2006). Eine aktuelle Studie bestätigt einen Zusammenhang zwischen einem erniedrigten Eisenniveau und der verminderten Expression von MEIS1 im Gehirngewebe von verstorbenen RLS-Patienten und in Lymphoblasten von RLS-Patienten (Catoire et al. 2011). Eine genetische Veranlagung basierend auf MEIS1-Varianten wird im Zusammenhang mit den erniedrigten Eisenverteilungen als Ursache der Entstehung von Symptomen, wie dem Drang die Beine zu bewegen und/oder die Entstehung der PLM im Schlaf, vermutet (Mignot 2007; Paulus et al. 2007a). Im Intron 5 des BTBD9-Gens wurde die zweite signifikante Region lokalisiert. Es liegt auf Chromosom 6p und kodiert für ein BTBD-Protein unbekannter Funktion (Winkelmann et al. 2007b). Erstmals wurde das Vorkommen der BTBD-Proteine in *Drosophila melanogaster* untersucht. Dort zeigte sich ein ubiquitäres Vorkommen sowohl im peripheren als auch zentralen Nervensystem, was es schwierig macht, die exakte Funktion des Gens bei der Entstehung des RLS zu identifizieren (Mignot 2007; Winkelmann et al. 2007b). In einer unabhängigen Assoziationsstudie mit Patienten einer isländischen Population konnte primär ein Zusammenhang zwischen den PLM im Schlaf und denselben BTBD9 - Genvariationen gefunden werden. Es kann daher angenommen werden, dass BTBD9 vor allem bei der motorischen Komponente des RLS eine Rolle spielt (Stefansson et al. 2007; Winkelmann 2008). Diese Hypothese wird durch eine aktuelle Studie unterstützt, in der die Funktion des BTBD9-Gens an Mausmodellen untersucht wurde. So konnte bei BTBD9-Mutationsmäusen, die nahezu identische Symptome zu den RLS-Patienten zeigten, eine Beteiligung des BTBD9-Gens bei der Lokomotion und dem Dopa-Stoffwechsel gezeigt werden (DeAndrade et al. 2012). Ebenfalls konnte in beiden Studien ein Zusammenhang zwischen dem Eisenhaushalt und der Risikovariante des BTBD9-Gens gefunden werden, wengleich die Korrelation kontrovers diskutiert wurde (Stefansson et al. 2007; DeAndrade et al. 2012). Die dritte auf Chromosom 15q lokalisierte Region umfasst das 3'Ende des MAP2K5-Gens und Teile des SKOR1-Gens (Winkelmann et al. 2007b). MAP2K5 gehört zur Familie der mitogenaktivierenden Proteinkinasen und ist ein spezifischer ERK5 (extracellulär signal-regulated kinase)-Aktivator. Die MAP2K5-Proteinkinase wird unter anderem durch

oxidativen Stress und Hyperosmolarität aktiviert (Winkelmann et al. 2007b). In einer Studie zur Funktion des ERK5 konnte eine protektive Wirkung auf dopaminerge Zellenlinien gezeigt werden, sodass deren Funktionsänderung bei RLS-Patienten einen Zusammenhang mit der Wirkung der dopaminergen Therapie beim RLS vermuten lassen (Cavanaugh et al. 2006; Winkelmann et al. 2007b). Das SKOR1-Gen fungiert als transkriptionaler Korepressor für das LBX1-Gen. LBX1 wird unter anderem während der embryonalen Entwicklung des Rückenmarks in einer Gruppe von Interneuronen im Hinterhorn exprimiert (Gross et al. 2002). Dort ist es, wie an Hand von Mausmodellen gezeigt werden konnte, für die Zelldifferenzierung zu GABAergen (γ -Aminobuttersäure) Interneuronen verantwortlich (Cheng et al. 2005; Mignot 2007). Eine Veränderung in den hemmenden GABAergen Interneuronen könnte zur Entstehung der sensiblen Komponenten sowie dem Schmerz bei RLS-Patienten führen (Mignot 2007; Paulus et al. 2007a; Winkelmann et al. 2007b). In der ersten genomweiten Assoziationsstudie beim RLS im Jahr 2007 zeigte sich bereits ein Trend auf Chromosom 9p (Winkelmann et al. 2007b). Dies war auch der alleinige Genlocus, der in Kopplungsstudien mit Familien, deren Angehörige am RLS erkrankt waren, aufgedeckt werden konnte. Eine weitere Assoziationsstudie in diesem Bereich konnte den vierten Locus, der mit dem RLS in Verbindung gebracht werden kann, im PTPRD-Gen identifizieren (Schormair et al. 2008). Knockout Maus-Modelle zeigten, dass das Gen bei der Pfadfindung von Axonen und der Termination von Motoneuronen eine Rolle spielt (Uetani et al. 2006; Schormair et al. 2008). Wie beim MEIS1-Gen kann vermutet werden, dass das Gen bei der erhöhten spinalen Erregbarkeit eine Rolle spielt. Erst kürzlich konnte in einer erweiterten genomweiten Assoziationsstudie in einer deutschen Population, mit Replikation in einer Gruppe aus europäischen, amerikanischen und kanadischen Probanden, ein weiterer Genlocus auf Chromosom 16q entdeckt werden (Winkelmann et al. 2011). Er umfasst unter anderem das 5'Ende des TOX3-Gen. TOX3 reguliert in Neuronen die calcium-abhängige Transkription. Inwiefern diese Funktion mit der Entstehung des RLS zusammenhängt, ist zu diesem Zeitpunkt nicht bekannt (Yuan et al. 2009; Winkelmann et al. 2011).

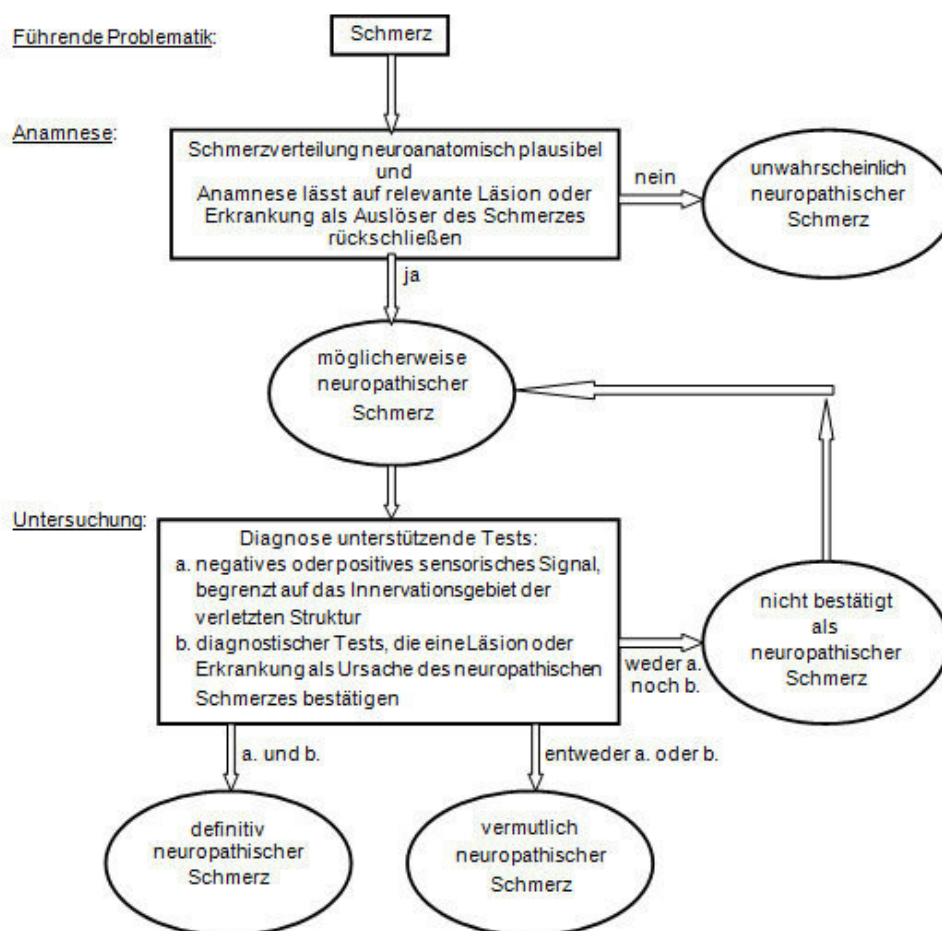
1.2 Neuropathischer Schmerz

1.2.1 Epidemiologie, Definition, Klinik, Diagnose und Klassifikation

Das neuropathische Schmerzsyndrom ist eine häufige Erkrankung mit steigender Prävalenz. Aktuell geht man davon aus, dass circa 6% der Allgemeinbevölkerung von dieser Erkrankung betroffen sind (Toelle et al. 2007; Toelle and Baron 2008). Sie beeinträchtigt die Lebensqualität der Patienten in erheblicher Weise und kann in vielen Fällen nicht in ausreichendem Maße therapiert werden (Toelle and Baron 2002a; Toelle and Baron 2002b; Toelle et al. 2007; Toelle and Baron 2008). Die International Association for the Study of

Pain definiert den chronisch neuropathischen Schmerz als einen Schmerz, der durch Läsionen und Dysfunktionen im peripheren oder zentralen Nervensystem verursacht wird (Cruccu et al. 2004; Toelle et al. 2007; Toelle and Baron 2008). Davon abzugrenzen ist der nozizeptive Schmerz, bei dem das Nervensystem der Patienten intakt ist und ein adäquater Stimulus für den Schmerz existiert (Toelle and Baron 2002a; Baron 2006b). Da die Abgrenzung oft schwer fällt, setzen neuere Definitionen die Rolle des somatosensorischen Systems stärker in den Mittelpunkt und liefern zusätzlich ein Einstufungssystem für die Diagnose „neuropathischer Schmerz“ [Abbildung 1] (Treede et al. 2008).

Abbildung 1: Einstufungsschema für die Diagnose „neuropathischer Schmerz“



(Modifizierte Abbildung aus Treede et al. 2008)

Die Ursachen für die Entstehung von neuropathischem Schmerz sind vielfältig. Sie lassen sich grob in vier Gruppen einteilen: periphere fokale und multifokale schmerzhafte Neuropathie, periphere generalisierte schmerzhafte Neuropathie, zentrale schmerzhafte Neuropathie und komplexe neuropathische Schmerzerkrankung [häufigste Ursachen siehe Tabelle 2] (Toelle and Baron 2002a; Baron 2006a; Baron and Toelle 2008).

Tabelle 2: Ätiologisch basierte Klassifikation von neuropathischem Schmerz

Ätiologisch basierte Klassifikation von neuropathischem Schmerz (Baron 2006a)	
periphere fokale und multifokale schmerzhaftes Neuropathie	periphere generalisierte schmerzhaftes Neuropathie (Polyneuropathie)
<ul style="list-style-type: none"> • Engpasssyndrome • Phantomschmerz, Stumpfschmerz • Posttraumatische Neuropathie • Postzosterische Neuropathie • Diabetische Mononeuropathie • Ischämische Neuropathie • Polyarteriitis nodosa 	<ul style="list-style-type: none"> • Diabetes mellitus • Alkohol • Amyloidose • Plasmazytom • HIV Neuropathie • Hypothyreose • Hereditäre sensible-autonome Neuropathie • Morbus Fabry • Bannwarth-Syndrom • Vitamin B-Defizit • Toxische Neuropathie (z.B. Chloramphenicol)
zentrale schmerzhaftes Neuropathie	komplexe neuropathische Schmerzzerkrankung
<ul style="list-style-type: none"> • Rückenmarksverletzung • Hirninfarkt (insbesondere Thalamus und Hirnstamm) • Rückenmarksinfarkt • Syringomyelie • Multiple Sklerose 	<ul style="list-style-type: none"> • Komplexes regionales Schmerzsyndrom Typ I und II (sympathische Reflexdystrophie, Kausalgie)

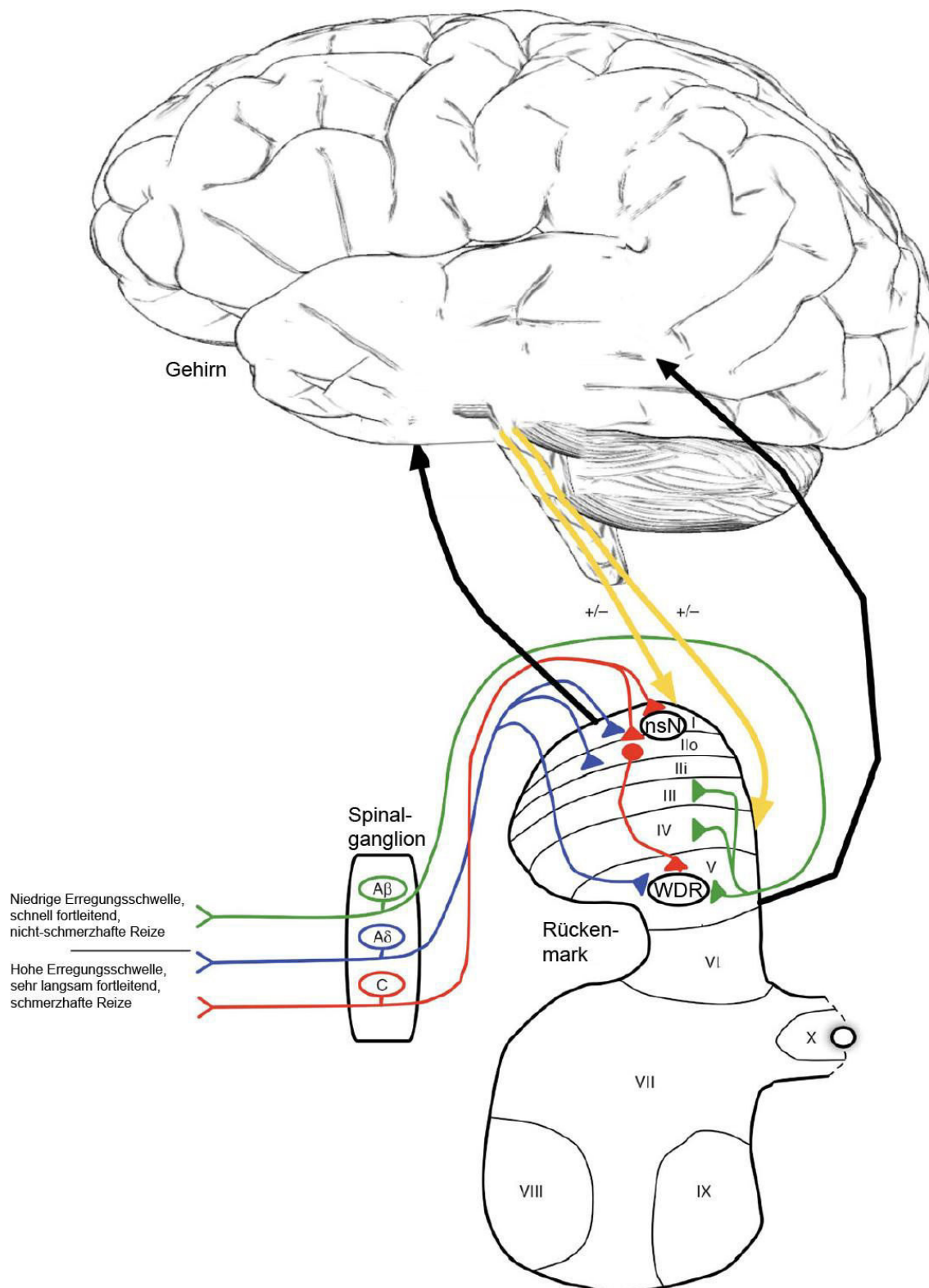
Patienten mit neuropathischen Schmerzen zeigen sowohl singuläre Symptome als auch häufiger Kombinationen aus negativen sowie positiven sensorischen Symptomen (Toelle 2010). Der Begriff „negative Symptome“ bezeichnet dabei den teilweisen bis kompletten Verlust einer somatosensorischen Qualität. Dies können zum Beispiel Hypästhesien (allgemein reduziertes Empfinden gegenüber Reizen), Hypalgesien (reduziertes Empfinden gegenüber schmerzhaften Reizen), Thermhypästhesien (reduziertes Empfinden gegenüber thermischen Reizen) oder Pallhypästhesien (reduziertes Empfinden gegenüber Vibrationen)

sein. Zu den positiven Symptomen zählen die Parästhesien (nicht schmerzhaftes kribbelnde Empfindung), Dysästhesien (schmerzhaftes Empfindung entweder spontan oder evoziert) und die Hyperalgesien (verstärktes Schmerzempfinden bei leicht schmerzhaften Reizen) (Toelle and Baron 2002a). Der Schmerz kann anhand seiner Qualität (brennend, drückend, einschießend), seiner Intensität (mittel bis schwer) und seinem zeitlichen Auftreten (konstant, in Serie, spontan) klassifiziert werden (Sommer 2003; Baron and Toelle 2008). Früher wurden die Patienten mit neuropathischen Schmerzen in der Regel nach der Ätiologie in Gruppen eingeteilt. Es ist allerdings evident, dass neuropathischer Schmerz unterschiedlicher Ätiologie, zum Beispiel diabetische Neuropathie und postzosterische Neuropathie, häufig den gleichen Phänotyp von Schmerz aufweisen, zum Beispiel durch Berührung getriggert Schmerz. Im Gegensatz dazu zeigen Patienten mit der gleichen Grunderkrankung oft ein ganz unterschiedliches Schmerzbild (Toelle and Baron 2008; Toelle 2010). Aus heutiger Sicht wird daher angenommen, dass den unterschiedlichen Symptomen auch unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen (allein oder in Kombination) zugrunde liegen. Kennt man diese pathophysiologischen Mechanismen, so kann an Hand dessen die Therapie optimiert werden, eine sogenannte mechanismenorientierte Therapie (Dworkin et al. 2003; Jensen and Baron 2003; Toelle and Baron 2008). Es ist deshalb von besonderer Bedeutung, die Symptome möglichst exakt zu diagnostizieren. Dabei helfen neben einer allgemeinen Anamnese diverse neu entwickelte spezifische Fragebögen (LANSS, DN4, painDETECT) wie auch apparative Untersuchungen (Baron and Toelle 2008; Toelle 2010). Diese umfassen sogenannte „bedside“-Tests, die die Wahrnehmung von Temperaturen, Vibrationen und mechanischen Reizen untersuchen, elektrophysiologische Untersuchungen, wie die Nervenleitgeschwindigkeit, die Elektromyographie, die somatosensorisch-evozierten Potentiale und die laser-evozierten Potentiale, bildgebende Untersuchungen, wie die Magnetresonanztomographie und die Positronen-Emissions-Tomographie, und schließlich Nervenbiopsien aus dem betroffenen Areal (Cruccu et al. 2004; Baron and Toelle 2008). Um das somatosensorische Profil eines Patienten in seiner Gesamtheit zu erfassen, das heißt sowohl positive und negative Symptome als auch alle Qualitäten der Somatosensorik, entwickelte der Deutscher Forschungsverbund Neuropathischer Schmerz (DFNS) eine standardisierte Testbatterie, die Quantitative Sensorische Testung (QST) (Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b; Toelle and Baron 2008).

1.2.2 Pathophysiologie und Genetik

In den letzten Jahren konnten mit Hilfe von Tiermodellen viele Pathomechanismen für die Entstehung von neuropathischem Schmerz entdeckt werden (Baron 2006a). In der Haut stehen unterschiedliche Fasern für die Wahrnehmung von sensiblen Reizen zur Verfügung. Die wichtigsten drei sind die unmyelinisierten C-Fasern, sie haben eine hohe Erregungsschwelle, leiten sehr langsam und sind für die Wahrnehmung von schmerzhaften Reizen verantwortlich, die leicht myelinisierten A δ -Fasern, sie haben eine niedrigere Erregungsschwelle, leiten etwas schneller und sind für die thermische und taktile Wahrnehmung sowie die Wahrnehmung von Schmerzen verantwortlich, und die stark myelinisierten A β -Fasern, die die niedrigste Erregungsschwelle haben, besonders schnell leiten und für die taktile Wahrnehmung von leichten Berührungen zuständig sind (D'Mello and Dickenson 2008). Die nozizeptiven Fasern (C/A δ -Fasern) werden nach Gewebsverletzung durch Mediatoren wie Bradykinin, Prostaglandin, ATP und andere aktiviert. Die Perikaryen der sensiblen Neuron sitzen im Spinalganglion. Von dort aus ziehen die nozizeptiven Fasern weiter vor allem in die Laminae I, II und V des Hinterhorns im Rückenmark, während die A β -Fasern vor allem in die Laminae III-VI projektieren. Im Hinterhorn werden sie auf das zweite Neuron verschaltet. In den Laminae I und II handelt es sich meist um nozizeptiv spezifische Neurone, in den anderen Laminae um multimodale Neurone (sogenannte wide dynamic range Neuronen = WDR-Neurone). Diese WDR-Neurone bekommen neben dem direkten Input von den nozizeptiven Fasern, Eingänge von den multisynaptisch verschalteten A δ / β -Fasern, den hemmenden GABA-Interneuronen und von den vom zentralen Nervensystem absteigenden regulatorischen Bahnen. Die Axone der spinalen Neurone bilden das Vorderstrangsystem und leiten die Schmerzsignale nach zentral weiter [Abbildung 2] (Meßlinger 2005; Baron 2006a; D'Mello and Dickenson 2008).

Abbildung 2: Spinale Mechanismen bei der Entstehung von Schmerz

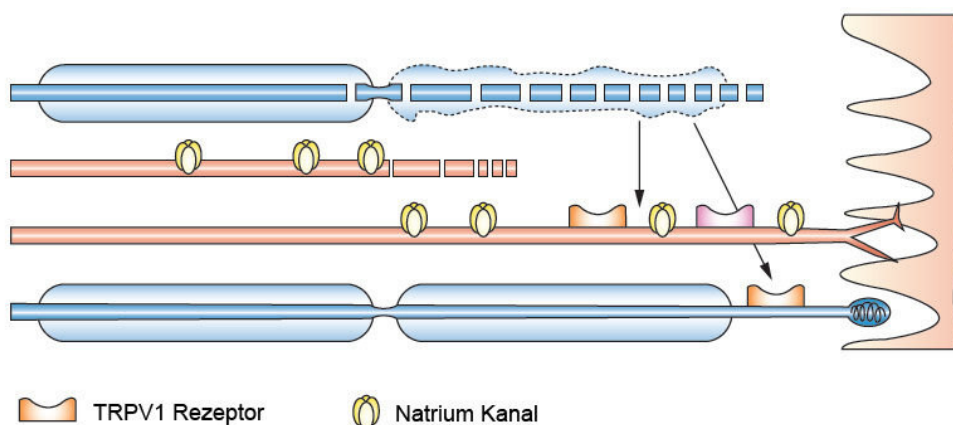


(Modifizierte Abbildung aus D'Mello und Dickenson 2008: nsN: nozizeptiv spezifische Neurone, WDR: wide dynamic range Neuronen = multimodale Neurone)

Nach einer Nervenverletzung kommt es zu molekularen und zellulären Veränderungen in den zugrunde liegenden physiologischen Mechanismen. Man unterscheidet dabei die

periphere und die zentrale Sensibilisierung (Jensen and Baron 2003; Toelle et al. 2007). Bei der peripheren Sensibilisierung betreffen die Veränderungen nicht nur die verletzte peripheren Nervenendigungen; es kommt viel mehr durch Ausschüttung von Wachstumsfaktoren, Cytokinen (wie Tumornekrosefaktor α) und Interleukinen (Interleukin-6) aus den verletzte Nervenendigungen und durch aus den Gefäßen einwandernden Makrophagen sekundär zu Veränderungen auf den gesunden Nervenfasereindigungen und den dazugehörigen Spinalganglien (Zieglgansberger et al. 2005). Ein Beispiel für solche Veränderungen an gesunden Nervenendigungen nach einer Nervenverletzung ist, dass vermehrt m-RNA (messenger Ribonukleinacid), die für die Bildung von spannungsabhängigen Natriumkanälen kodiert, exprimiert wird. Ebenfalls werden die Natriumkanäle Nav1.3, die vor allem während der Embryonalentwicklung exprimiert sind und später herunter reguliert werden, wieder vermehrt sowohl auf den verletzte als auch auf den gesunden Nervenfasern gebildet. Folge dieser vermehrte Anzahl an Natriumkanälen ist eine erleichterte Depolarisation der Nerven [Abbildung 3] (Baron 2006a).

Abbildung 3: Mechanismus der peripheren Sensibilisierung



(Modifizierte Abbildung aus Baron 2006a: blaue Fasern: A-Fasern, rote Fasern: C-Fasern. Bei einer partiellen Nervenverletzung (beide oberen Axone) kommt es durch Ausschüttung von Wachstumsfaktoren und Expression neuer Kanäle zur peripheren Sensibilisierung.)

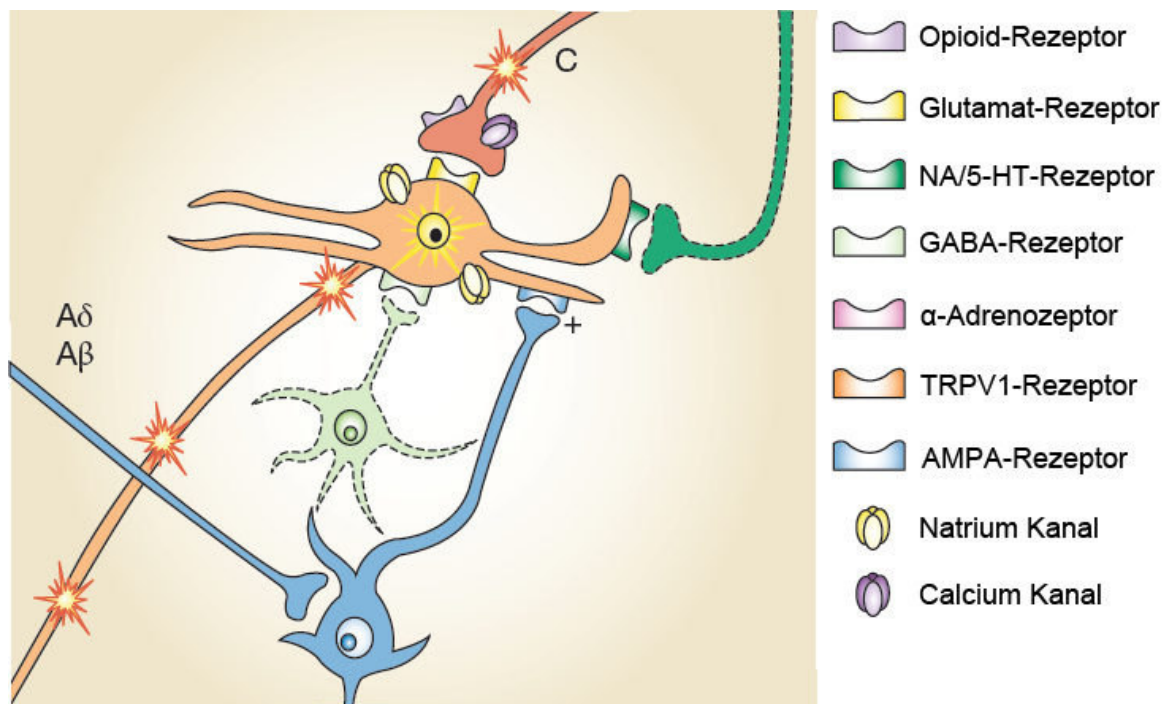
Im Zusammenhang mit den veränderten Natriumkanälen nach einer Nervenverletzung konnte bei der Erythromelalgie eine Punktmutation mit folgender „Missense-Mutation“ im Exon 23 des SCN9A-Gens identifiziert werden (Dib-Hajj et al. 2005). Dieses Gen kodiert für die Nav1.7 Kanäle (Baron 2006a). Des Weiteren werden auch andere Rezeptoren, die an der Schmerzentstehung beteiligt sind, durch intrazelluläre Signalkaskaden hochreguliert, das heißt vermehrt an der Nervenfaseroberfläche exprimiert. Einer von ihnen ist der Capsaicin-Rezeptor, TRPV1. Er wird von Protonen, Hitze und Capsaicin aktiviert und führt über einen

erleichterten/vermehrten Kalzium- und Natrium-Einstrom zu einer Depolarisation der Nervenzellen. Ferner bewirkt dieser Rezeptor durch eine Neuropeptidausschüttung die Aktivierung weiterer Nervenfasern. Bei einer Nervenverletzung wird dieser Capsaicin-Rezeptor auf den verletzten Fasern herunter reguliert und gleichzeitig auf den gesunden Nervenfasern und in den Spinalganglien herauf. Dies trägt zur Entstehung von Hitzehyperalgesie bei (Baron 2006a). Weitere Rezeptoren sind der Capsaicin-Rezeptor TRPV4, α 1- und α 2- Adrenorezeptoren und der TRPM8-Kanal (Transient receptor potential cation channel subfamily M member 8) (Baron 2006a).

Durch die periphere Sensibilisierung der C-Fasern und A δ / β -Fasern, werden an der Synapse im Hinterhorn des Rückenmarks vermehrt Glutamat und Substanz P frei. Beide Substanzen sind erregende Neurotransmitter im Rückenmark. Glutamat agiert am AMPA- und NMDA-Rezeptor während Substanz P insbesondere am Neurokinin1-Rezeptor wirkt. Sie erhöhen so die neuronale Aktivität (D'Mello and Dickenson 2008). Auch auf spinaler Ebene kommt es zur Neuroplastizitätsveränderungen. Zum Beispiel werden spannungsabhängige Kalziumkanäle an der Präsynapse nach einer Nervenverletzung überexprimiert, wodurch die Ausschüttung der Neurotransmitter nochmals verstärkt wird (Luo et al. 2001). Weitere zentrale Sensibilisierungsveränderungen bestehen darin, dass es durch Aktivierung intrazellulärer Signalkaskaden zu Veränderungen in den multimodalen Neuronen auf spinaler Ebene sowie im weiteren Verlauf in den Neuronen des Gehirns kommt (vor allem im Thalamus und primären sensorischen Cortex). Diese Veränderungen betreffen die Opiat-, Glutamat-, Serotonin-, Noradrenalin- und GABA-Rezeptoren sowie die Natriumkanäle auf den multimodalen Neuronen [Abbildung 4] (Baron 2006a). Des Weiteren verlieren wesentliche inhibitorische Mechanismen auf spinaler Ebene ihre Wirkung auf die multimodalen Neurone (= WDR-Neurone). GABA ist eines der wichtigsten hemmenden Neurotransmitter und wird unter anderem von Interneuronen ausgeschüttet. Nach einer Nervenverletzung kommt es entweder zur Apoptose dieser Interneuronen oder zur Änderung ihres transmembranen Ionengradienten. Beides führt dazu, dass zu wenig GABA ausgeschüttet wird; dies trägt ebenfalls zur Übererregbarkeit der WDR-Neurone bei (Moore et al. 2002). Außerdem stehen die WDR-Neurone unter dem regulatorischen Einfluss von absteigenden Bahnen des zentralen Nervensystems. Ein Funktionsverlust der inhibitorischen Serotonin- und Noradrenalinbahnen unterstützt die zentrale Sensibilisierung (Vanegas and Schaible 2004; Baron 2006a). Diese Hypothese wird durch bildgebende Studien mit der funktionellen Magnetresonanztomographie und der Positronen-Emissions-Tomographie verstärkt. Diese zeigten fundamentale Veränderungen im somatosensorischen Cortex sowie in der mesozephalen Formatio reticularis, im Thalamus und in dem zentralen Höhlengrau (Baron 2006a). Neuere Studien gehen sogar davon aus, dass nicht-neuronale Zellen wie die Gliazellen und die Astrozyten eine Rolle bei der Entstehung von neuropathischem Schmerz

spielen (Baron 2006a). Alle diese Veränderungen führen zu einer gesteigerten Aktivität gegenüber Reizen und zählen zur sogenannten „zentralen Sensibilisierung“. Die Folge ist, dass ein Input von den A δ / β -Fasern, der beim gesunden Menschen keinen Schmerz verursacht, in den veränderten WDR-Neuronen einen Schmerz provoziert (Baron 2006a; D'Mello and Dickenson 2008).

Abbildung 4: Mechanismus der zentralen Sensibilisierung



(Modifizierte Abbildung aus Baron 2006a: oranges Neuron: WDR-Neuron, grünes Neuron: Interneuron, dunkel grüne Faser: absteigende Bahnen des zentralen Nervensystems, rote Faser: C-Faser, blaue Fasern: A-Fasern. Verschiedene prä- und postsynaptische Veränderungen sowie ein Verlust des hemmenden Systems (grüne Fasern) auf das WDR-Neuron, führt zur Übererregbarkeit im Rückenmark (= zentrale Sensibilisierung).

Das Risiko, neuropathischen Schmerz zu entwickeln, ist von Individuum zu Individuum sehr unterschiedlich. Als wesentliche Ursache wird dabei eine genetische Veranlagung gesehen. So haben sich viele Studien (Assoziationsstudien, Tiermodelle, Kopplungsanalysen) mit dem genetischen Einfluss auf die Entstehung von Schmerz beschäftigt und bislang sind mehr als 200 Gene im Zusammenhang mit dieser Erkrankung beschrieben worden; als Beispiel sind RUNX1, SCN9A, COMT und CYP2D6 zu nennen. Dabei kodieren diese Gene für Proteine mit unterschiedlichen Funktionen, zum Beispiel Transportermoleküle, Ionenkanäle, Rezeptoren oder regulatorische Transkriptionsfaktoren (Baron 2006a; Diatchenko et al. 2007; Toelle et al. 2007).

2 Fragestellung

In zwei unabhängigen Studien, die sich mit dem somatosensorischen Profil von Patienten mit Restless Legs Syndrom befassten, wurde gezeigt, dass RLS-Patienten häufig eine mechanische Hyperalgesie besitzen (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010). Die mechanische Hyperalgesie wurde dabei mittels verschiedenen Nadelreizstimulatoren gemessen und umfasste zwei relevante Messgrößen, die mechanische Schmerzschwelle und die mechanische Schmerzsensitivität (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010). Eine erhöhte mechanische Sensitivität spricht für eine Sensibilisierung des zentralen Nervensystems (LaMotte et al. 1991; Ziegler et al. 1999; Baumgartner et al. 2002; Baron 2006a). Eine mechanische Hyperalgesie wird nicht nur in Verbindung mit dem RLS beschrieben, sondern kann auch bei Patienten mit neuropathischem Schmerz nachgewiesen werden (Baron 2006a; D'Mello and Dickenson 2008).

Innerhalb der Gruppierung des DFNS wird die These vertreten, dass bei Probanden mit neuropathischem Schmerz, die gleichartige Auffälligkeiten im somatosensorischen Profil zeigen, auch derselbe Pathomechanismus zugrunde liegt (Rolke et al. 2006a; Toelle et al. 2007; Toelle and Baron 2008). Für Patienten mit RLS bzw. neuropathischem Schmerz, die das gleiche somatosensorischen Profil besitzen, kann diese Arbeitshypothese eines gemeinsamen Pathomechanismus ebenfalls aufgestellt werden. Darüber hinausgehend kann postuliert werden, dass der gleichartige Pathomechanismus beider Erkrankungen auch auf einer zumindest teilweise gemeinsamen genetischen Grundlage basiert. Beim RLS sind bereits genetische Risikovarianten bekannt (BTBD9, MEIS1, SKOR1/MAP2K5, PTPRD, TOX3) (Winkelmann et al. 2007b; Schormair et al. 2008).

Im Rahmen dieser Studie soll zunächst überprüft werden, ob im RLS-Patientenkollektiv dieser Studie eine mechanische Hyperalgesie vorliegt. Im Anschluss daran soll in einer quantitativen Assoziationsstudie mit neuropathischen Schmerzpatienten, die eine mechanische Hyperalgesie besitzen, untersucht werden, ob in diesem Kollektiv eine Assoziation zwischen den beiden beim RLS auffälligen QST-Werten (mechanische Schmerzschwelle und mechanische Schmerzsensitivität) und den RLS-assoziierten SNPs besteht.

3 Probanden und Methodik

3.1 Quantitative Sensorische Testung (QST)

Die Quantitative Sensorische Testung dient der Erkennung von Sensibilitätsveränderungen der Haut unter Verwendung eines standardisierten Protokolls. Sie umfasst nahezu alle Submodalitäten der Somatosensorik und kann sowohl zur Erfassung von Funktionssteigerungen als auch deren Abschwächung bzw. Verlust eingesetzt werden (Rolke et al. 2002; Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b; Toelle et al. 2007).

Die Testbatterie wurde vom Deutschen Forschungsverbund Neuropathischer Schmerz entwickelt. Sie enthält 13 Testparameter, mit denen sowohl die thermische als auch mechanische Empfindung an zwei Stellen des Körpers (erkrankt vs. gesund) getestet wird (Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b).

3.1.1 Probanden mit Restless Legs Syndrom für die QST

Die Probanden wurden aus einem Kollektiv von Patienten rekrutiert, die bis Oktober 2010 am Krankenhaus rechts der Isar (Abteilung Neurologie) in stationärer oder ambulanter Behandlung waren oder die bereits an einem genetischen RLS-Forschungsprojekt des Instituts für Humangenetik am Helmholtz Zentrum in München teilgenommen hatten. 110 Patienten wurde ein Anschreiben zugeschickt mit der Bitte um Rückantwort bei Interesse an der Studienteilnahme [Anhang 1]; eine Blutentnahme erfolgte parallel für eine unabhängige Studie. Alle Probanden erfüllten die Diagnosekriterien der IRLSSG (Allen et al. 2003). Die Diagnose RLS wurde von Neurologen der RLS-Ambulanz am Klinikum München recht der Isar gestellt. Alle Patienten erhielten als RLS-spezifisches Medikament ausschließlich Levodopa oder einen Dopamin-Agonisten, die Therapie mit Opiaten oder Antikonvulsiva galt als Ausschlusskriterium. Die RLS-Patienten zeigten keine Symptome einer peripheren Polyneuropathie, noch besaßen sie andere relevante Komorbiditäten, wie Diabetes mellitus, extensiver Alkoholgenuss, Vitamin B₁₂-Mangel oder eine Urämie. Es lagen keine weiteren neurologischen Erkrankungen bzw. Schmerzerkrankungen vor, wie Migräne oder chronischer Rückenschmerz. Alle Probanden mussten ihre RLS-Medikamente für die 5-fache Halbwertszeit sowie mindestens 24 Stunden vor der QST absetzen. Sie nahmen im Untersuchungszeitraum keine weiteren Medikamente mit bekanntem oder möglichem Einfluss auf die QST ein (Bachmann et al. 2010). Die Quantitative Sensorische Testung erfolgte immer zwischen 18:00 und 22:00 Uhr und bei den RLS-Patienten zu einem Zeitpunkt, an dem die Probanden Symptome aufwiesen. Alle Patienten füllten zusätzlich einen formalisierten Bogen der IRLSSG zur Erfassung des Schweregrades des RLS aus [Anhang 2] (Walters et al. 2003), zeichneten in vorgegebenen Blättern ihre von der Erkrankung betroffenen Körperteile bzw. -partien ein [Anhang 3] und unterschrieben die Einverständniserklärung für die Quantitative Sensorische Testung [Anhang 4].

3.1.2 Gesunde Probanden für die QST

Eine Kontrollgruppe mit gesunden Probanden wurde etabliert durch Rekrutierung von Probanden mittleren Alters (zwischen dem 30.-70. Lebensjahr) aus der Allgemeinbevölkerung, wohnhaft im Umkreis von München. Die gesunden Probanden der Kontrollgruppe erfüllten dabei weder ein Diagnosekriterium für das Restless Legs Syndrom (Allen et al. 2003) noch zeigten sie Symptome einer peripheren Polyneuropathie oder einer anderen relevanten Komorbidität, wie Diabetes mellitus, extensiver Alkoholgenuss, Vitamin B₁₂-Mangel oder eine Urämie. In der Anamnese gaben die Personen an, weder an einer neurologischen Erkrankung zu leiden noch an einer Schmerzerkrankung (siehe Kapitel 3.1.1.). Die Teilnehmer nahmen zum Zeitpunkt der Untersuchung keine Medikamente ein, die gegebenenfalls einen Einfluss auf die QST haben könnten. Jeder Teilnehmer unterzeichnete die Einverständniserklärung für die Quantitative Sensorische Testung [Anhang 4].

3.1.3 Methodik der QST

In dieser Studie wurde ein Teil der QST durchgeführt und bestimmte Parameter erhoben. Die Auswahl der Parameter basierte auf den bestehenden Studien: Bachmann et al. 2010, Stiasny-Kolster et al. 2004 sowie Schattschneider et al. 2004 (siehe Kapitel 1.1.2 und 5.1.2). Die Messungen wurden bei den Probanden jeweils an dem stärker bzw. in diesem Moment betroffenen Fußrücken und an der Handaußenseite durchgeführt.

Thermische Unterscheidungsschwelle (TSL):

Diese Untersuchung wurde unter Verwendung eines Thermal Sensory Analyzers (Firma Medoc, Israel) durchgeführt. Dieser besitzt eine Thermode mit einer 9,0 cm² großen Oberfläche, der nach dem Peltier-Prinzip funktioniert. Die Thermode wird auf die Haut gelegt und mit einem Band fixiert. Bei einer Starttemperatur von 32°C fängt die Thermode mit einer kontinuierlichen Rate von 1°C/s an sich abwechselnd zu erhitzen bzw. abzukühlen. Der Proband wurde instruiert, die Stopp-Taste zu drücken, sobald er eine Temperaturänderung spürt. Er sollte ferner angeben, ob es an der Messstelle kälter oder wärmer geworden ist (Rolke et al. 2002). Insgesamt wurde dieser Test 6 Mal ohne Zwischenpausen wiederholt (Yarnitsky and Sprecher 1994; Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b).

Taktile Detektionsschwelle (MDT):

Um die taktile Detektionsschwelle zu testen, wurde ein standardisiertes Set aus Monofilamenten (sogenannten von Frey Haare) verwendet (0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 und 256 mN) (Optihair2-Set, Marstock Nervtest, Germany). Bei der Konstruktion der Monofilamente hat die Spitze der Monofilamente eine standardisierte Kontaktfläche von 1mm² (Fruhstorfer et al. 2001). Die Untersuchung wurde mit einem Monofilament der Intensität von 16 mN begonnen, dann wurde abwechselnd in ab- bzw. aufsteigender Intensität bis zur Wahrnehmungsgrenze einer Berührung getestet. Der Patient wurde aufgefordert, die Wahrnehmung eines Reizes verbal mit „Ja“ anzuzeigen. Insgesamt wurden je 5 Grenzwerte bestimmt (Rolke et al. 2002; Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b).

Mechanische Schmerzschwelle (MPT):

Für diese Untersuchung wurde ein Set aus 7 Nadelreizstimulatoren mit einer standardisierten Intensität (8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 mN) und einer flachen Kontaktfläche mit einem Durchmesser von 0,2 mm eingesetzt. Die Reize wurden mit einer Andruckphase von 2 Sekunden auf das Hautareal wieder in auf-/absteigender Intensität aufgebracht. Der Patient wurde zuvor instruiert, den wahrgenommenen Reiz in die Kategorie „stechend“ oder „stumpf“ einzusortieren (Rolke et al. 2002). Es wurde mit einer 8 mN starken Intensität begonnen, im Anschluss wurde solange jeweils die nächst höhere Intensität appliziert, bis der Proband eine Wahrnehmungsveränderung angab. Dann wurde in umgekehrter Richtung fortgefahren. Insgesamt wurden wiederum 5 Grenzwerte ermittelt (Chan et al. 1992; Ziegler et al. 1999; Baumgartner et al. 2002; Rolke et al. 2002; Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b).

Mechanische Schmerzsensitivität (MPS):

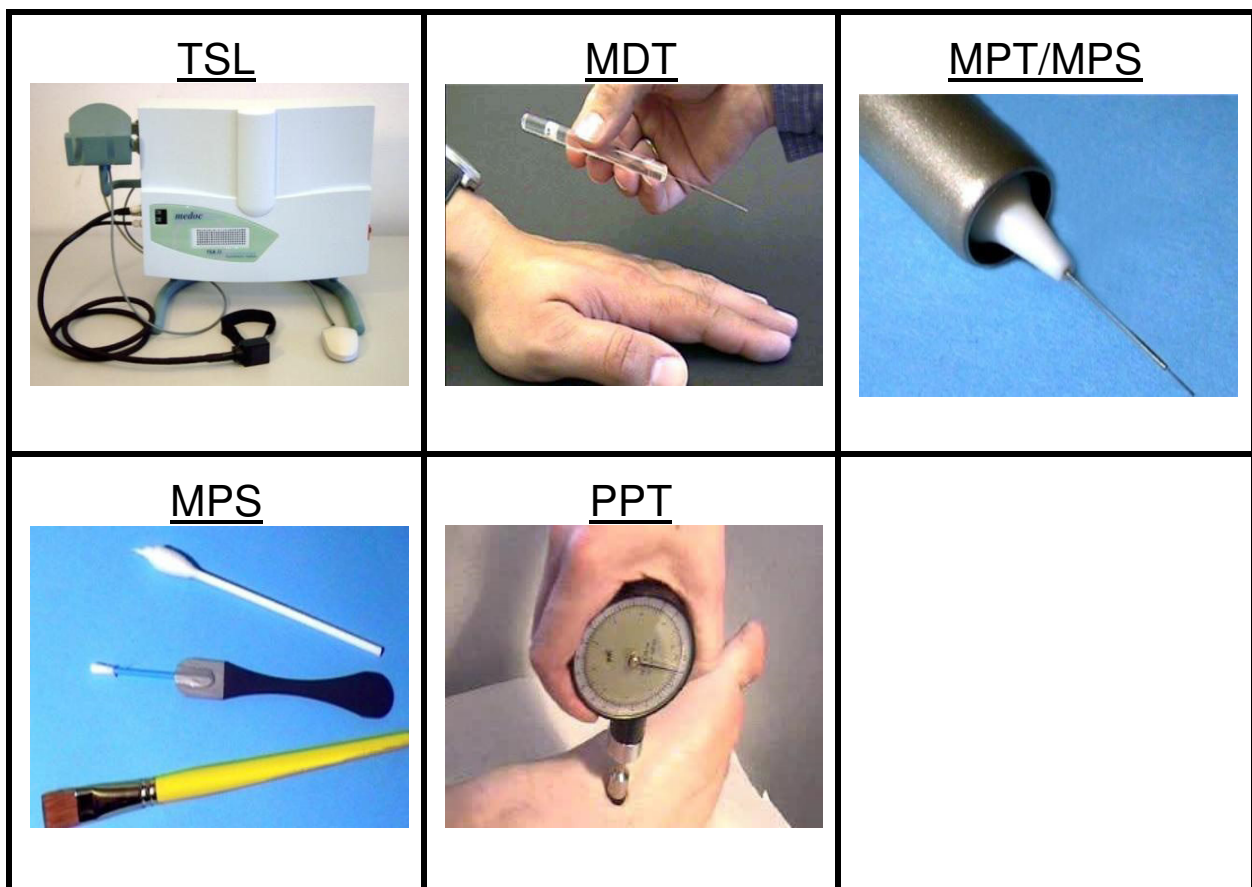
Bei diesem Test wurden neben den 7 Nadelreizstimulatoren aus dem vorhergegangenen Test zur Reizapplikation noch ein Wattebausch, ein Q-Tip (Wattestäbchen) befestigt an einem elastischen Plastikstreifen und ein Pinsel verwendet. Die letzten drei Stimulatoren erzeugen leichte Berührungsreize; der Wattebausch mit einer Kraft von ca. 3 mN, der Q-Tip von ca. 100 mN und der Pinsel mit einer Kraft zwischen 200 und 400 mN. Die Reize wurden alle in einer einzigen Streichbewegung über eine 1-2 cm lange Strecke appliziert. Alle Reize wurden jeweils 5 Mal und in vorgeschriebener balancierter Reihenfolge dargeboten. Nach jedem Reiz wurde der Proband gebeten, die Schmerzintensität auf einer Skala zwischen 0-100 anzugeben. Dabei bedeutet „0“, der Patient hat den Reiz wahrgenommen, hatte aber keine Schmerzen. Die Zahl „100“ entspricht dem schlimmsten Schmerz, den der Patient sich vorstellen kann (Rolke et al. 2002). Mit Hilfe dieser Daten lässt sich dann eine Reiz/Antwort-

Funktion für die mechanische Schmerzsensitivität berechnen (LaMotte et al. 1991; Ziegler et al. 1999; Baumgartner et al. 2002; Rolke et al. 2002; Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b).

Mechanische Schmerzschwelle für Druck (PPT):

In diesem letzten Test wurde ein stumpfer mechanischer Stimulator zum Druckmessen verwendet (FDN200, Wagner Instruments, USA). Der Stimulator hat eine Kontaktfläche von 1 cm²; mit ihm kann maximal eine Kraft von 20 kg (= 2000 kPa/200N) ausgeübt werden (Kosek et al. 1999). Der Stimulator wurde in diesem Test an der Hand auf der Thenarmuskulatur und am Fuß auf den Musculus abductor hallucis gesetzt. Mit einer Kraftsteigerung von 50 kPa/s wurde der Stimulator solange auf die Haut gedrückt, bis der Patient angab, dass sich die Wahrnehmung von einem dumpfen Druck in stechend oder schmerzhaft verändert hat. Dieser Test wurde insgesamt drei Mal wiederholt (Rolke et al. 2002; Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b).

Abbildung 5: Materialien der QST



Photographien stammen von dem DFNS

3.1.4 Statistische Auswertung

Zunächst wurde für jeden durchgeführten Test mittels einer Statistik Software für Windows™ (StatSoft Inc., USA) aus den Einzelmesswerten der Mittelwert berechnet. Anschließend wurde der Mittelwert mit Hilfe der folgenden Gleichung:

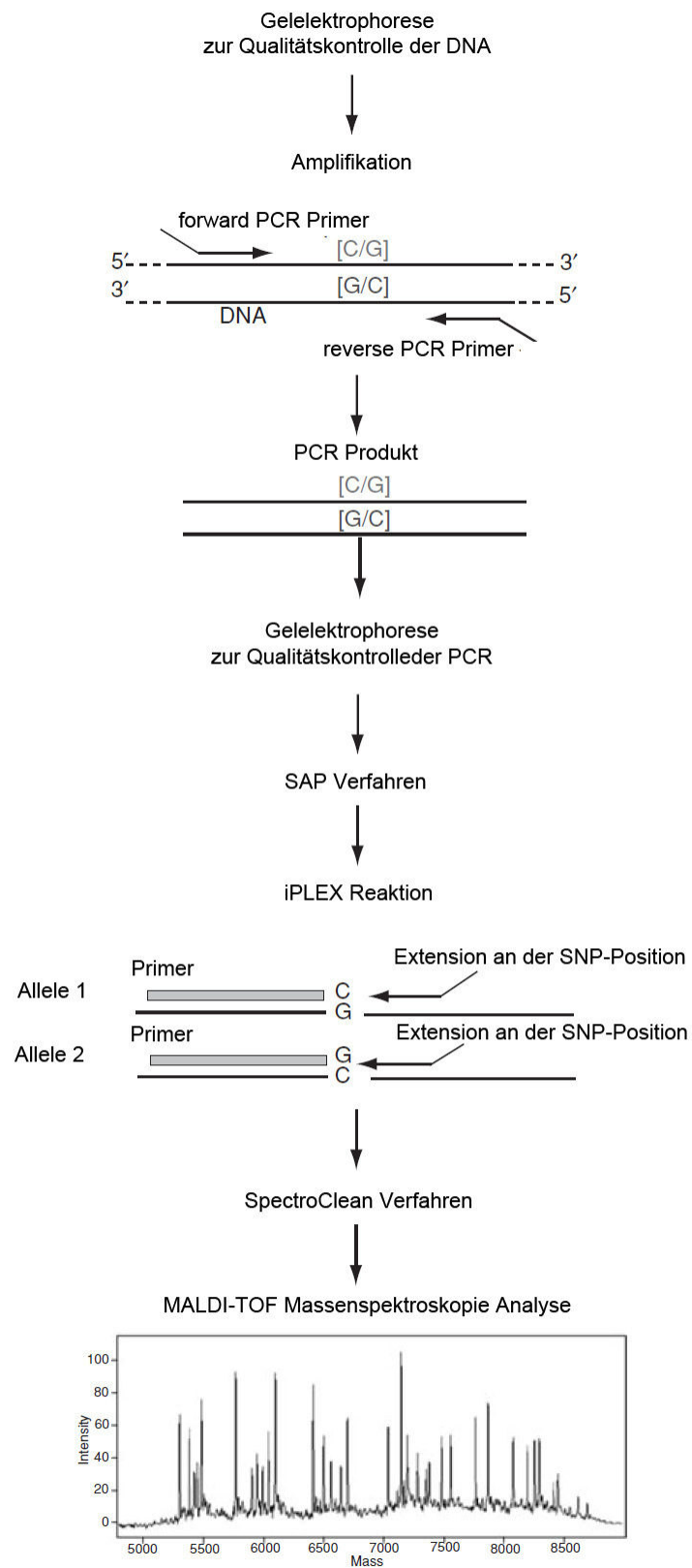
$$z\text{-score} = \frac{(\text{Mittelwert}_{\text{individuell RLS Patient/gesunder Proband}} - \text{Mittelwert}_{\text{Kontrollen der DFNS-Datenbank}})}{\text{Standardabweichung}_{\text{Kontrollen der DFNS-Datenbank}}}$$

in einen z-score umgewandelt (Rolke et al. 2006a; Bachmann et al. 2010). Die für die Berechnung herangezogene DFNS-Datenbank basiert auf den Kontrollwerten von 180 gesunden Probanden, die jeweils an 3 unterschiedlichen Körperstellen (Hand, Fuß und Gesicht) beidseits mit der vollständigen QST-Batterie gemessen wurden (Rolke et al. 2006a). Abhängig vom Alter der Patienten, der gemessenen Körperstelle und dem Geschlecht werden die unterschiedlichen Mittelwerte und die Standardabweichungen der Kontrollen der DFNS-Datenbank entsprechend für die Berechnung des z-scores ausgewählt (Magerl et al. 2010). Ein z-score über 0 korreliert mit einer Hyperästhesie, wohingegen ein z-score unter 0 eine Hypästhesie im Vergleich zu dem Normkollektiv anzeigt (Rolke et al. 2006b). Ein z-score von $0 \pm 1,96$ Standardabweichung (SD) kennzeichnet das 95%ige Konfidenzintervall der gesunden Kontrollen (Freyenhagen et al. 2008). Bezogen auf das Paper zur Auswertung von QST-Daten in einer Gruppe (Magerl et al. 2010), wurde in einem weiteren Schritt mit Hilfe eines ungepaarten t-Testes geprüft, ob sich die Gruppen der gesunden Probanden (Kontrollen der Studie) bzw. der RLS-Patienten signifikant von der Kontrollgruppe des DFNS unterscheiden. Dabei entspricht der Mittelwert der Kontrollen des DFNS 0 und die Standardabweichung 1; die Zahl der herangezogenen DFNS-Kontrollen entsprach derjenigen der jeweiligen untersuchten Gruppe (Magerl et al. 2010). Der t-Test wurde mit Hilfe der Statistik Software von Microsoft Excel 2007™ durchgeführt.

3.2 Quantitative Assoziationsstudie

Die Genotypisierung der Einzel-Nukleotid-Polymorphismen erfolgte mit der iPLEX-Technologie (Sequenom Inc.). Diese besteht im Wesentlichen aus drei Schritten: der lokusspezifischen Polymerase-Kettenreaktion (PCR), der iPlex-Reaktion und der Analyse der Endprodukte mit Hilfe von Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight (MALDI-TOF)-Massenspektroskopie, sowie den dazugehörigen Aufreinigungs- und Qualitätssicherungsschritten [Abbildung 6] (Gabriel et al. 2009).

Abbildung 6: Überblick über die Arbeitsschritte bei der Genotypisierung



(Modifizierte Abbildung aus Gabriel et al. 2009)

3.2.1 Probanden mit neuropathischem Schmerz für die Genotypisierung

Insgesamt wurden 844 DNA-Proben (Desoxyribonukleinsäure) von Probanden mit neuropathischem Schmerz über eine Blut/DNA-Datenbank des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz bereitgestellt (Standort: München, Projektleiter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Thomas R. Tölle, Dipl. Psych., PD Dr. med. Achim Berthele). Der DFNS wurde 2002 unter Förderung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung gegründet mit dem Grundgedanken, die Versorgung von Patienten mit neuropathischem Schmerz zu verbessern. Die eingesetzten DNA-Proben stammten aus diversen Standorten des DFNS (Bochum, Erlangen, Heidelberg, Kiel, Mainz, Mannheim, München [Klinikum rechts der Isar, Klinikum Großhadern] und Würzburg). Neben der Blutabnahme wurden die Probanden noch einer QST unterzogen (Toelle and Baron 2002b).

3.2.2 Methodik der Genotypisierung

Gelelektrophorese zur qualitativen Kontrolle der DNA:

Für die Qualitätskontrolle der DNA wurde ein 0,8%iges Agarosegel (Biozym®) hergestellt. Dazu wurde pro Gel 0,8g Agarose mit 100ml TRIS-Borat-EDTA-Puffer (Puffer enthält: Tris 5,4g, Borsäure 2,75g, EDTA 0,465g mit 100ml destilliertem Wasser (a.d.)) aufgekocht, im Anschluss wurden 2µl Ethidiumbromid dazugeben und das Gel gegossen. Nachdem das Gel ausgehärtet war, wurde 1µl DNA mit 6µl Blue Juice (Gelladepuffer) gemischt, in je eine Kammer pipettiert und das Gel bei 90V 120min laufen gelassen. Die Visualisierung der DNA-Banden zur Auswertung erfolgte mittels UV-Licht [Anhang 5].

Polymerase-Kettenreaktion zur Amplifikation der DNA:

Material:

384er PCR-Mikrotiterplatte mit jeweils 8ng eingetrockneter DNA

Reaktionsansatz:

Reagenz	Konzentration (in 5µL)	Einzelansatz (in µL)
Nanopure H ₂ O	n.z.	3,680
PCR-Puffer with MgCl ₂ (10x) (Qiagen ®)	1,25x	0,625
MgCl ₂ (25 mM) (Qiagen ®)	1,625 mM	0,325
dNTP mix (25 mM) (Thermo Fischer®, 1:4 a.d.)	500 µM	0,100
Primer (100 µM) (Metabion® [Anhang 6])	100 nM	0,005
Hotstar Taq® (Qiage, 5 U/µL)	0,5 U/rxn	0,100
Gesamt		5,000

SNP-Auswahl:

Insgesamt wurden 16 SNPs untersucht, für die ein Zusammenhang mit der Erkrankung RLS bestätigt worden ist (Winkelmann et al. 2007b; Schormair et al. 2008). Zusätzlich wurde ein SNP zur Geschlechtsbestimmung genotypisiert. In der Auswertung wurde das genotypisierte Geschlecht als Qualitätskontrolle verwendet, da dieses mit dem in den Daten angegebenen Geschlecht übereinstimmen musste. Die dazugehörigen Primer sind im sogenannten RLS-Masterplex enthalten [Anhang 6].

Methodik:

Zuerst wurde der sogenannte PCR-Mastermix aus den oben beschriebenen Komponenten zusammen gemischt. Anschließend wurde mit dem TECAN-Roboter™ (Crailsheim, Deutschland) in jedes Well 5µl zur DNA pipettiert. Dann wurden die Platten in den Thermocycler (Tetrad Multi Cycler-Blöcke der Firma MJ Research®) gestellt und das vorprogrammierte Programm gestartet (Gabriel et al. 2009).

Cycler Programm

Schritt	Temperatur	Dauer	Zyklen
	94 °C	15 min	1x
Denaturierung	94 °C	20 sec	45x
Primerhybridisierung	56 °C	30 sec	
Elongation	72 °C	60 sec	
	72 °C	3 min	1x
	20 °C	weiter	1x

Im ersten Schritt, der Denaturierung, lösten sich bei 94°C die Wasserstoffbrücken des DNA-Doppelstranges auf, sodass die DNA in Einzelsträngen vorlag. Im zweiten Schritt, der „Annealing“ (Primerhybridisierung) kühlte der Thermocycler auf 56°C ab. Jetzt konnten sich die Primer an das 3` Ende der DNA anlagern. Im letzten Schritt, der Elongation, erhitze sich der Thermocycler wieder. Dabei wurde die DNA-Polymerase (Hotstar Taq™, Qiagen®) aktiv und verlängerte die Primer durch Anlagerung freier Nukleotide in 5` -> 3` Richtung; es entstand ein neuer Doppelstrang. Insgesamt wurden diese Schritte 45 Mal wiederholt; dabei wurde der zu amplifizierende Teil der DNA exponentiell vermehrt. Bevor jedoch der jeweilige Zyklus beginnen konnte, musste eine initiale Denaturierung von 15min stattfinden, damit die thermostabile DNA-Polymerase aktiviert wurde (Gabriel et al. 2009).

Gelelektrophorese zur Kontrolle der PCR:

Um den Erfolg der PCR zu kontrollieren, wurden im Anschluss an die PCR 10% der PCR-Produkte auf ein 3%iges Agarosegel (Biozym®) aufgetragen. Die Herstellung erfolgte wie bei der Gelelektrophorese zur qualitativen Kontrolle der DNA, nur wurde an Stelle von 0,8g Agarose 3,0g verwendet. Die Gelelektrophorese lief bei 120V 30min lang [Anhang 7].

Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) zur Reinigung der PCR-Produkte:

Reaktionsansatz:

Reagenz	Einzelansatz (in µL)
Nanopure H ₂ O	1,530
10x SAP Puffer (Sequenom®)	0,170
SAP-Enzyme (Sequenom®, 1U/µL)	0,300
Gesamt	2,000

Methodik:

Die SAP wurde verwendet, um die in der PCR nicht verwendeten Nukleosidtriphosphate zu dephosphorylieren und damit unbrauchbar zu machen. Sie entfernte dabei die Phosphatgruppe am 5` Ende.

Zuerst wurde der SAP-Mastermix aus den oben genannten Komponenten hergestellt und dann mit dem SPECTROPREP Multimek Roboter™ (Beckman Coulter GmbH, Krefeld) je 2,0µl in jedes Well der 384er Platten pipettiert. Anschließend wurden die Platten in einen Thermocycler gestellt, da die SAP eine bestimmte Temperatur zur Aktivierung brauchte (Gabriel et al. 2009).

Cycler-Programm Schritt	Temperatur	Dauer	Zyklen
Aktivierung	37 °C	40 min	1
Inaktivierung	85°C	5 min	1
	20°C	weiter	1

iPlex-Reaktion zur allelspezifischen Extension:

Reaktionsansatz:

Reagenz	Konzentration (in 9µL)	Einzelansatz (in µL)
Nanopure H ₂ O	NA	0,7550
iPlex Puffer plus (10x) (Sequenom®)	0,222X	0,2000
iPlex termination mix (Sequenom®)	1X	0,1000
Primer (µM) (Metabion® [Anhang 6])	siehe unten	
iPlex Enzyme (Sequenom®)	1X	0,0205
Gesamt		2,0000

Extensions-Primervolumen:

Extension-Primersequenz	verwendetes Volumen (µM)
ext_rs12469063_E	9,8
ext_rs6494696_E	9,8
ext_rs4236060_E	9,8
ext_rs1026732_E	9,8
ext_rs9296249_E	12,9
ext_rs3923809_E	12,9
ext_rs11683508_E	12,9
ext_rs2300478_E	12,9
ext_rs3104788_E	16,2
ext_rs11635424_E	16,2
ext_rs6710341_E	16,2
ext_rs1975197_E	16,2
ext_rs3784709_E	19,5
ext_GYG2_SNPE08_GSF_E	19,5
ext_rs11788684_E	19,5
ext_rs3104767_E	19,5
ext_rs4626664_E	19,5

Methodik:

Bei der iPlex-Reaktion wurden Didesoxyribonukleosid-Triphosphate (ddNTPs) mit spezifischem Molekulargewicht verwendet. Da diesen Nukleosid-Triphosphaten die Hydroxylgruppe am 3`Ende fehlte, konnte bei der Polymerisation kein weiteres Nukleosid-Triphosphat angehängt werden und es kam zum Kettenabbruch (klassische Abbruchreaktion nach Sanger). Die Primer für die Extensionsreaktion waren dabei so konstruiert, dass sie an der amplifizierten DNA direkt oberhalb der zu untersuchenden Allele banden. Bei der iPlex-Reaktion wurden die Primer also um genau eine Position verlängert, die dem zu untersuchenden SNP entspricht.

Begonnen wurde mit der Herstellung des oben beschriebenen iPlex-Mastermix. Dann wurden 2 µl des iPlex-Mastermix in jedes Well der 384er Platten mit dem Multimek Roboter pipettiert. Im Anschluss wurden die 384er Platten in den Thermocycler gestellt und die iPlex-Reaktion gestartet. Die Schritte liefen entsprechend der PCR zur Amplifikation der DNA ab, allerdings variierten die Temperatur und die Anzahl der Wiederholungen der einzelnen Zyklen (Gabriel et al. 2009).

Cyclerprogramm

Schritt	Temperatur	Dauer	Zyklen
	94 °C	30 sec	
Denaturierung	94 °C	5 sec	} 5x 40x
Primerhybridisierung	52 °C	5 sec	
Elongation	80 °C	5 sec	
	72 °C	3 min	
	20 °C	weiter	

SpectroClean™ zur Reinigung der iPlex-Produkte:

Dieser Schritt war notwendig, um die im Endprodukt der iPlex-Reaktion enthaltenen Salze zu entfernen. Diese hätten im nächsten Schritt, der Massenspektroskopie, zu Signalstörungen geführt. Dazu wurden die Wells der 384er Platten mit SpectroClean™ (= Ionenaustauschharz, Sequenom®, Hamburg) gefüllt und Ultrapure PCR-grade H₂O durch den Multimek-Roboter hinzugefügt. Die Platten wurden dann für circa 10 min auf einen Rotator gestellt und im Anschluss kurz abzentrifugiert (Gabriel et al. 2009).

Analyse der SNPs mit Hilfe von MALDI-TOF-Massenspektroskopie:

Um die Extensionsprimer mit der MALDI-TOF-Massenspektroskopie untersuchen zu können, mussten diese erst auf einen Siliziumchip (Sequenom®) gespottet werden. Dazu wurde das Spectro Point Nanoliter Pipetting Systems™ der Firma Sequenom® verwendet.

Auf diesem Siliziumchip befand sich bereits die organische Säure 3-Hydroxypicolinsäure; diese kokristallisierte mit dem Analyten. Die 3-Hydroxypicolinsäure absorbierte die Energie des Lasers. Dies trug einerseits zu der Ionisation der Analytmoleküle bei, andererseits schützte es die Analyten vor photolytischer Beschädigung und verhinderte eine Interaktion zwischen ihnen (Illig et al. 2004). Dieser Chip wurde dann in die Hochvakuumkammer des Massenspektrometers gelegt. Für eine Nanosekunde wurde die Matrix mit einem intensiven ultravioletten Laserimpuls bestrahlt, dabei verdampfte ein Teil der Analyten und sie wurden ionisiert. Diese Ionen wurden im Anschluss in einem elektrischen Feld beschleunigt und wanderten durch das Flugrohr in Richtung Detektor (Monforte and Becker 1997). Ihre Fluggeschwindigkeit war abhängig von ihrem Massen-/Ladungsverhältnis. Ein großer Wert für das Massen-/Ladungsverhältnis bedeutete dabei, dass die Ionen sehr langsam wanderten. Der TOF-Analysator maß ganz exakt die Flugzeit, mit der dann auf die Molekülgröße rückgeschlossen werden konnte. Mit Hilfe einer Software, SpectroCaller™ 3.4 (Sequenom®) Software, konnte aus dem Massenprofil einer Probe der spezifische Genotyp bestimmt werden (Gabriel et al. 2009).

3.2.3 Statistische Auswertung

Es wurde mittels einer quantitativen Assoziationsstudie untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen den RLS-assoziierten SNPs und den QST-Daten aus der Proben-/Datenbank des DFNS festgestellt werden kann. Es wurden nur die MPT- und MPS-Werte (für 615 Patienten vorliegend, siehe Kapitel 4.2.3) auf eine Assoziation hin untersucht (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010).

Die Gruppe der 615 Patienten ist sehr heterogen bezüglich der Ätiologie des neuropathischen Schmerzes sowie des Alters und des Geschlechtes der Probanden. Um Stratifizierungseffekte zu erkennen, wurden zunächst mittels Regressionsanalysen, unter der Verwendung des Statistik-Pakets in Microsoft Excel 2007, Korrelationen zwischen den möglichen Faktoren und den MPT- bzw. MPS-Werten geprüft. Hierzu wurden lineare Regressionsmodelle eingesetzt, welche eine Geradengleichung ($y = mx + b$) mit dem Regressionskoeffizienten m , das Bestimmtheitsmaß r^2 und, mittels eines F-Tests, einen Signifikanzwert p ergaben. Das Bestimmtheitsmaß ist ein Maß für die Güte der Regression und kann Werte zwischen 0 und 1 einnehmen. Bei der einfachen linearen Regression ist r^2 auch ein Maß für die Effektstärke der Variablen x . Der Signifikanzwert p gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit die angenommene Beziehung zwischen x -Wert und y -Wert falsch, d.h. zufällig ist. Bei einem p -Wert unter 0,05 wird der Zusammenhang zwischen x -Wert und y -Wert gemeinhin als statistisch signifikant gewertet. Für die Auswertung wurde der z -score und nicht die Rohwerte der MPT- und MPS-Werte der Patienten verwendet. Stellte sich bei der Regressionsanalyse ein signifikanter Zusammenhang des z -scores mit einem der oben genannten Faktoren heraus, so wurde dieser Faktor bei der im Anschluss durchgeführten quantitativen Assoziationsanalyse als Kovariante berücksichtigt.

Die quantitative Assoziationsstudie wurde unter Verwendung von Plink v1.07 durchgeführt (Purcell et al. 2007a); als Phänotyp wurden die für die MPT- und MPS-Werte berechneten z -scores verwendet. Für die Analyse wurden nur SNPs verwendet, die die Mindestanforderungen der Qualitätskontrollen erfüllten: eine Genotypisierungsrate über 95% pro Person, eine Genotypisierungsrate über 95% pro SNP, eine Allelfrequenz über 1% (minor allele frequency (MAF) < 0.01) und eine Abweichung der Genotypverteilung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht mit einer Wahrscheinlichkeit von weniger als 10^{-5} ($P < 1 \times 10^{-5}$). In der Auswertung der quantitativen Assoziationsstudie wurde als Signifikanzgrenze ein nach Bonferroni korrigierter p -Wert von $0,05/[Zahl \text{ der SNPs} = 14]$ angesetzt (Balding 2006; Purcell et al. 2007a; Purcell et al. 2007b). Zusätzlich wurde der Regressionskoeffizient BETA der Assoziation berechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Quantitative Sensorische Testung

4.1.1 Demographische Daten der Probanden mit RLS

Von den 110 angeschriebenen RLS-Patienten konnten 17 Patienten mit bestätigtem Restless Legs Syndrom für die Untersuchung mittels QST rekrutiert werden. Das Alter der Patienten lag zwischen 30 und 72 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 57,12 Jahren \pm SD 11,54 Jahren. Die Gruppe bestand aus 10 Frauen (58,8%) und 7 Männern (41,2%). Das Alter beim Auftreten der ersten Symptome variierte in dieser Patientengruppe zwischen ~10 bis 60 Jahren; dies entsprach einem Durchschnittsalter bei Beginn der Symptome von 38,6 Jahren \pm SD 14,5 Jahren. Einigen Patienten fiel es jedoch schwer, sich an das exakte Jahr des Auftretens der ersten Symptome zu erinnern, so dass es sich nur um eine ungefähre Jahreszahl handelt. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer lag bei 18,5 Jahren \pm SD 13,5 Jahren. Mit Hilfe der Fragen aus dem Erfassungsbogen für den Schweregrad des RLS, herausgegeben von der IRLSSG, konnte bei den 17 Patienten ein durchschnittlicher Schweregrad von 23,4 Punkten \pm SD 5,5 Punkten berechnet werden (Walters et al. 2003). Dabei bedeutet ein Punktwert zwischen 1-10 ein milder Grad des RLS, zwischen 11-20 ein mittelgradiges RLS, zwischen 21-30 ein schwerer Grad des RLS und von 31-40 ein sehr schwerer Grad des RLS (Walters et al. 2003). Die Auswertung der Befragung ergab bei 5 Patienten ein mittelgradiges RLS (29,4%), bei 11 Patienten einen schweren Grad des RLS (64,7%) und 1 Patient wies einen sehr schweren Grad des RLS (5,9%) auf [Tabelle 3].

Tabelle 3: Schweregrad der RLS-Symptome zum Zeitpunkt der Untersuchung (ohne Therapie)

Schweregrad der RLS-Symptome	Patientenanzahl (%)
mildes RLS (1-10 Punkte)	0 (0%)
mittelgradiges RLS (11-20 Punkte)	5 (29,4%)
schweres RLS (21-30 Punkte)	11 (64,7%)
sehr schweres RLS (31-40 Punkte)	1 (5,9%)

Insgesamt gaben 8 der 17 Patienten (47,1%) eine positive Familienanamnese an, das heißt mindestens ein weiteres Familienmitglied wies ebenfalls RLS-typische Symptome auf. Von den anderen 9 Patienten konnten 7 (41,2%) eine Familienanamnese sicher ausschließen und 2 Patienten war es nicht möglich, eine eindeutige Aussage zur Familienanamnese zu treffen. Das Durchschnittsalter beim Auftreten der ersten Symptome lag bei den Patienten

mit positiver Familienanamnese bei 37 Jahren \pm SD 11,7 Jahren, bei denen Patienten mit negativer Familienanamnese bei 36,6 Jahren \pm SD 17,7 Jahren [Tabelle 4].

Tabelle 4: Familienanamnese und Alter der Patienten bei Beginn der RLS-Symptome

	Familienanamnese			
	positiv	negativ	unbekannt	Gesamt
Patientenzahl (%)	8 (47,1%)	7 (41,2%)	2 (11,7%)	17
Alter bei den ersten Symptomen	37 \pm SD 11,7 Jahren	36,6 \pm SD 17,7 Jahren	52,5 \pm SD 10,6 Jahren	38,6 \pm SD 14,5 Jahren

Alle 17 Patienten gaben RLS-Beschwerden in den Beinen an, wobei bei 9 Personen (52,9%) die RLS-Symptome nur vom Knie abwärts auftraten. Bei den anderen 8 Patienten (47,1%) waren entweder das gesamte Bein oder zusätzlich die Hüfte betroffen. 4 der 17 Personen (23,5%) gaben zusätzlich Beschwerden an anderen Körperstellen, zum Beispiel Ellenbogen oder Brust, an. Die RLS-Beschwerden wurden von allen Patienten als „plus“ Symptome beschrieben, wie zum Beispiel „kribbeln“, „reißend“ oder „zittern“. Zwei Patienten gaben die Beschwerden sogar als „schmerzhaft“ an und einigen Patienten fiel es schwer, ihre Symptome überhaupt zu beschreiben. Sie gaben diese nur als „unangenehme Missempfindung“ oder als „Bewegungsdrang“ an. 4 der 17 Probanden (23,5%) hatten bis zur QST-Messung in dieser Studie noch keine feste Medikation erhalten. Von den restlichen Patienten erhielten 8 Patienten Pramipexol, ein Dopamin-Agonist, als Dauermedikation sowie 4 Patienten Levodopa bei Bedarf bzw. als Dauermedikation. Jedoch wurde bei allen Patienten, wie beschrieben (siehe Kapitel 3.1.1), die Medikation für alle RLS-Medikamente im Rahmen der QST-Messung unterbrochen [Übersicht: Tabelle 5].

Tabelle 5: Demographische Daten der Patienten mit RLS

	Geschlecht	Alter	IRLSS	Alter bei Erkrankungsbeginn	Erkrankungsdauer	Familienanamnese	Symptome	Lokalisation der Symptome	Medikamente
Patient 1	m	43	23	28	15	positiv	kribbeln/ziehen	Knie/Waden	keine
Patient 2	m	45	23	33	12	positiv	Bewegungsdrang	Knie/Sprunggelenk/ Ellenbogen	Pramipexol
Patient 3	m	50	27	20	30	keine	Missempfindung	Hüfte/Knie/ Ellenbogen/Handgelenk	Pramipexol
Patient 4	m	55	17	50	5	keine	kribbeln	Waden/Schienbein	keine
Patient 5	m	62	26	55	7	positiv	kribbeln/ reißend	gesamtes Bein	Pramipexol
Patient 6	m	69	13	52	17	positiv	kribbeln	Waden/Schienbein	Pramipexol
Patient 7	m	70	22	60	10	unbekannt	komisches Gefühl	ganzes Bein	Pramipexol
Patient 8	w	30	26	28	2	positiv	kribbeln	Wade/Oberschenkel	keine
Patient 9	w	48	30	31	17	keine	kribbeln/zittern	ganzes Bein	Pramipexol
Patient 10	w	53	23	10	43	keine	ziehend/Unruhe	ganzes Bein/ Sprunggelenk	Levodopa
Patient 11	w	56	16	45	11	unbekannt	kribbeln	Schienbein/Fuß/Finger	Levodopa
Patient 12	w	56	29	38	18	positiv	ziehend/ schmerzhaft	Knie	Pramipexol
Patient 13	w	60	19	55	5	keine	toben/Schmerz	Waden/Schienbein	Levodopa
Patient 14	w	64	17	40	24	positiv	Unruhe/Zuckung	Kniekehle	keine
Patient 15	w	68	33	35	33	keine	ziehend	Beinvorderseite	Pramipexol
Patient 16	w	70	27	55	15	keine	ziehend	Knie abwärts alles	Levodopa
Patient 17	w	72	26	22	50	positiv	Bewegungsdrang	ganzes Bein/Wade/Brust	Levodopa
Mittelwert		57,12	23,4	38,6	18,5				
Standardabweichung		11,54	5,5	14,5	13,5				

4.1.2 QST-Daten der Probanden mit RLS

Bei der Untersuchung der 17 Patienten mit RLS zeigten zwei Personen einen z-score außerhalb des 95%igen Konfidenzintervalls bei der Messung der TSL, jeweils einer oberhalb und einer unterhalb der jeweiligen Grenze. Dieses entsprach einem Anteil von je 5,9% der Patienten. Der Mittelwert für TSL lag bei $-0,26 \pm SD 1,074$. Kein RLS-Patient hatte einen z-score außerhalb des 95%igen Konfidenzintervalls für MDT; als Mittelwert berechnete sich $-0,46 \pm SD 0,87$. Für MPT lagen 3 Patienten über dem 95%igen Konfidenzintervall (17,6%), der Mittelwert lag bei $1,017 \pm SD 1,22$. Bei der Messung der MPS sowie PPT lagen jeweils 2 Patienten oberhalb des 95%igen Konfidenzintervalls. Dies entsprach einer Häufigkeit von 11,8% bei MPS und einer Häufigkeit von 15,4% bei PPT, da bei diesem Messwert weniger Patientendaten verfügbar waren. Der Mittelwert bei MPS betrug $0,85 \pm SD 1,11$ und bei PPT $1,14 \pm 0,89$ [Übersicht: Tabelle 6].

Tabelle 6: QST-Daten der Probanden mit RLS

	Geburtsdatum	Alter bei der Untersuchung	Geschlecht	TSL z-score	MDT z-score	MPT z-score	MPS z-score	PPT z-score
Patient 1	14.04.1967	43	m	-0,79	0,62	-0,0081	-0,23	0,23
Patient 2	02.01.1966	45	m	0,067	0,32	1,77	1,33	/
Patient 3	09.09.1960	50	m	-0,55	-0,42	0,10	0,20	-0,52
Patient 4	22.11.1955	55	m	-0,49	0,54	2,42	1,51	0,78
Patient 5	11.10.1948	62	m	-0,70	-1,67	0,15	0,10	/
Patient 6	08.07.1941	69	m	-0,55	-1,48	3,86	-0,11	2,50
Patient 7	05.06.1940	70	m	1,38	-0,33	1,57	3,23	0,48
Patient 8	06.11.1980	30	w	-0,53	-0,94	-0,22	0,63	/
Patient 9	16.06.1962	48	w	-0,60	-1,11	0,53	2,78	2,82
Patient 10	15.05.1957	53	w	0,84	-0,76	-0,34	-0,55	1,34
Patient 11	12.10.1954	56	w	0,0033	-1,24	0,48	1,32	1,45
Patient 12	21.04.1955	56	w	1,22	0,083	2,36	1,62	1,57
Patient 13	11.05.1950	60	w	-1,48	-1,15	-0,67	1,12	1,38
Patient 14	25.03.1946	64	w	1,98	-0,66	1,40	-0,77	0,75
Patient 15	23.02.1942	68	w	-1,42	1,67	1,72	0,010	/
Patient 16	27.10.1940	70	w	-2,059	-0,60	1,80	1,36	0,75
Patient 17	30.05.1938	72	w	-0,74	-0,77	0,36	0,95	1,25
Mittelwerte		57,12		-0,26	-0,46	1,017	0,85	1,14
Standardabweichung		11,54		1,074	0,87	1,22	1,11	0,89

4.1.3 QST-Daten der gesunden Probanden

Insgesamt konnten 25 Probanden aus dem Umkreis von München für diese Studie rekrutiert werden. Die Gruppe setzte sich aus 12 Männern (48%) und 13 Frauen (52%) zusammen. Das Alter der Probanden lag zwischen 29 und 74 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 52,68 Jahren \pm SD 8,33 Jahren. Nach Berechnung der z-scores zeigten bei der Messung der TSL drei Probanden einen niedrigeren Wert als -1,96; dies entsprach einer Häufigkeit von 12%. Der Mittelwert der z-scores von TSL lag bei $-1,023 \pm$ SD 0,98. Wie bei den Patienten mit RLS lag bei der Messung der MDT kein gesunder Proband außerhalb des 95%igen Konfidenzintervalls; der Mittelwert lag bei $-0,021 \pm$ SD 0,56. Ebenso lag kein gesunder Proband bei der Messung der MPS außerhalb dieses Intervalls; der Mittelwert lag hier für MPS bei $-0,39 \pm$ SD 0,76. Bei vier der Probanden lag bei der Messung der MPT der z-score über dem 95%igen Konfidenzintervall, dies entsprach einer Häufigkeit von 16%; der Mittelwert für MPT lag bei $0,58 \pm$ SD 1,13. Bei der Messung der PPT lag ein Proband unter dem 95%igsten Konfidenzintervall; dies entsprach einer Häufigkeit von 4%. Der Mittelwert lag bei $-0,47 \pm$ SD 0,87 [Übersicht: Tabelle 7].

Tabelle 7: QST-Daten der gesunden Probanden

	Geburtsdatum	Alter bei der Untersuchung	Geschlecht	TSL z-score	MDT z-score	MPT z-score	MPS z-score	PPT z-score
Proband 1	14.09.1980	29	m	-2,23	0,49	1,00	0,16	0,10
Proband 2	29.06.1968	41	m	-0,0013	0,025	-0,72	0,0071	-1,37
Proband 3	05.02.1967	43	m	-0,42	0,50	0,99	-0,52	1,011
Proband 4	24.07.1959	50	m	-0,12	-0,48	0,74	-0,37	-0,15
Proband 5	10.11.1957	52	m	-1,34	0,32	-0,94	-0,22	-2,11
Proband 6	16.08.1955	54	m	-0,92	0,70	0,18	0,28	-0,72
Proband 7	16.03.1956	54	m	0,16	-0,16	2,18	1,00	-1,17
Proband 8	03.03.1956	54	m	-0,77	0,54	-0,46	-0,60	-0,42
Proband 9	06.02.1954	56	m	-0,35	-0,038	1,87	1,089	-0,053
Proband 10	22.09.1952	57	m	-1,18	-0,21	0,50	0,34	-1,19
Proband 11	28.07.1950	59	m	-1,26	-0,69	0,82	0,032	0,11
Proband 12	28.03.1949	61	m	-1,36	0,30	-0,18	-0,67	-1,55
Proband 13	15.12.1963	46	w	-1,69	0,26	1,12	-0,40	0,44
Proband 14	07.03.1963	47	w	-0,94	-0,24	1,50	0,39	1,71
Proband 15	05.05.1961	48	w	0,87	0,48	0,34	-0,19	0,36
Proband 16	02.05.1958	51	w	-0,068	-1,0015	-0,82	-1,91	0,80
Proband 17	20.07.1957	52	w	-2,31	0,56	2,28	-0,59	-0,34
Proband 18	22.09.1958	52	w	-1,00	0,56	-0,42	-0,97	-0,13
Proband 19	05.10.1956	53	w	-3,66	-1,12	1,79	-1,80	-0,021
Proband 20	17.03.1957	53	w	-1,25	0,057	-1,74	-0,75	-0,36
Proband 21	23.09.1955	54	w	-1,060	0,14	0,15	-1,55	-1,020
Proband 22	19.02.1956	54	w	-1,84	0,083	2,28	0,030	-1,14
Proband 23	25.05.1949	60	w	0,34	0,21	2,12	-1,0091	-1,85
Proband 24	16.06.1946	63	w	-1,24	-1,25	0,29	-1,23	0,59
Proband 25	19.03.1936	74	w	-1,93	-0,55	-0,35	-0,40	-0,37
Mittelwerte		52,68		-1,023	-0,021	0,58	-0,39	-0,47
Standardabweichung		8,33		0,98	0,56	1,13	0,76	0,87

4.1.4 Gruppenvergleich der QST-Daten

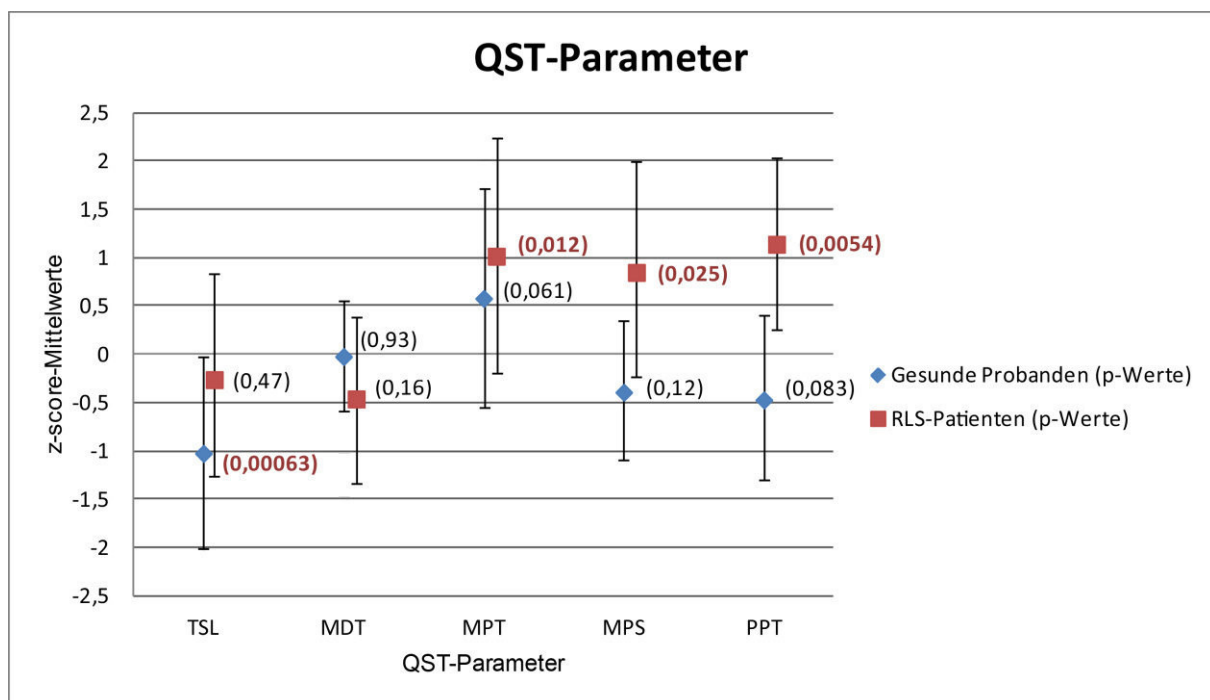
Bei dem im Anschluss an die Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen durchgeführten ungepaarten t-Tests zeigte sich im Vergleich der Gruppe der gesunden Probanden (Kontrollen dieser Studie) gegenüber der Gruppe der Kontrollen des DFNS lediglich ein signifikanter Unterschied bei TSL ($p= 0,00063$). Bei allen anderen Werten (MDT, MPT, MPS, PPT) lag der p -Wert jeweils über 0,05; es bestand somit kein signifikanter Unterschied zwischen den erhobenen Werten der Kontrollen dieser Studien und denen des DFNS. Bei dem Vergleich der Werte der RLS-Patienten dieser Studie gegenüber den Kontrollen des DFNS zeigten die Werte von MPT, MPS und PPT, dass beide Gruppen signifikant voneinander abweichen. Die dazugehörigen p -Werte waren wie folgt: 0,012 (MPT), 0,025 (MPS) und 0,0054 (PPT). Bei TSL wurde ein p -Wert von 0,47, bei MDT ein p -Wert von 0,16 ermittelt, somit bestand dort keine signifikante Abweichung von dem Normkollektiv des DFNS [Abbildung 7 und Tabelle 8].

Tabelle 8: p -Werte beim Gruppenvergleich der QST-Parameter mit dem DFNS-Normkollektiv

Gruppenvergleiche						
	Alter	TSL	MDT	MPT	MPS	PPT
Mittelwerte Probanden	52,68	-1,023	-0,021	0,58	-0,39	-0,47
SD Probanden	8,33	0,98	0,56	1,13	0,76	0,87
Mittelwerte Patienten	57,12	-0,26	-0,46	1,017	0,85	1,14
SD Patienten	11,54	1,074	0,87	1,22	1,11	0,89
Gesunde Probanden vs. DFNS-Kontrollen (p -Wert)		0,00063 ¹	0,93	0,061	0,12	0,083
RLS-Patienten vs. DFNS-Kontrollen (p -Wert)		0,47	0,16	0,012	0,025	0,0054

¹ ohne Probanden 1,17 und 19 ergibt sich ein p -Wert von 0,0057 im t-Test

Abbildung 7: Mittelwerte der QST-Parameter der gesunden und RLS-erkrankten Probanden im Vergleich zu dem DFNS-Normkollektiv mit jeweiligen p -Werten



4.2 Quantitative Assoziationsstudie

In der quantitativen Assoziationsanalyse dieser Studie sollten die RLS-assoziierten SNPs mit den MPT- und MPS-Werten der Patienten mit neuropathischem Schmerz assoziiert werden (siehe Kapitel 2). Deshalb wurde erst einmal der vorliegende Datensatz der neuropathischen Schmerzpatienten genauer analysiert und die MPT- und MPS-Daten auf mögliche Koabhängigkeiten untersucht.

4.2.1 Demographische Daten der Probanden mit neuropathischem Schmerz

Der Datensatz, der für 615 Patienten mit neuropathischem Schmerz vorlag (siehe Kapitel 4.2.3), basierte auf den Daten von 298 Männern (48,5%) und 317 Frauen (51,5%). Das Alter der Patienten lag zwischen 18 und 85 Jahren; es ergab sich ein Durchschnittsalter von 55,9 Jahren \pm SD 14,1 Jahren. Die gesamte Gruppe der 615 neuropathischen Schmerzpatienten konnte entsprechend der Ätiologie ihrer Schmerzen in 6/(7) Untergruppen mit folgender Ätiologie zugeordnet werden: postzosterische Neuropathie, periphere posttraumatische Neuropathie, Polyneuropathie, zentrale schmerzhafte Neuropathie, komplexes regionales Schmerzsyndrom und Trigeminusneuralgie. Die 7. Gruppe beinhaltet alle diejenigen Patienten, die nicht unter die Ätiologien der ersten 6 Gruppen einzuordnen waren und deren Ätiologie im gesamten Datensatz jeweils sehr gering vertreten war (zum Beispiel Phantomschmerz). Der Patientenanteil der einzelnen Gruppen in Bezug auf den gesamten Datensatz betrug wie folgt: postzosterische Neuropathie mit $n = 65$ (10,6%), periphere posttraumatische Neuropathie mit $n = 56$ (9,1%), Polyneuropathie mit $n = 182$ (29,6%), zentrale schmerzhafte Neuropathie mit $n = 46$ (7,5%), komplexes regionales Schmerzsyndrom mit $n = 154$ (25,0%), Trigeminusneuralgie mit $n = 50$ (8,1%) sowie die restlichen Neuropathien unterschiedlicher Ätiologie mit $n = 62$ (10,1%). Aus den letzten vier Spalten der Tabelle 9 ist zunächst ersichtlich, wie häufig bei den 615 Patienten ein MPT- bzw. MPS-Wert außerhalb des 95%igen Konfidenzintervalls ($0 \pm$ SD 1,96) gefunden wurde. Im gesamten Datensatz hatten 106 Patienten (17,2%) einen z-score für MPT oberhalb von 1,96 und 100 Patienten (16,3%) unterhalb von -1,96. Für den z-score von MPS lagen 103 (16,8%) der 615 Patienten oberhalb von 1,96 und 29 Patienten (4,7%) unterhalb von -1,96. In der Tabelle 9 sind des Weiteren für die unterschiedlichen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes das Durchschnittsalter, die Geschlechterverteilung und der Prozentsatz an auffälliger MPT- und MPS-Werte aufgelistet [Tabelle 9].

Tabelle 9: Übersicht über die unterschiedlichen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes

	Patienten -anzahl	Durch- schnitts- alter	Geschlecht	z- score MPT > 1,96	z- score MPT < - 1,96	z- score MPS > 1,96	z- score MPS < -1,96
postzosterische Neuropathie	65 (10,6%)	68,3 ± 10,7	M: 24(36,9%) W: 41(63,1%)	17 = 26,2%	6 = 9,2%	20 = 30,8%	4 = 6,1%
periphere posttraumatische Neuropathie	56 (9,1%)	50,1 ± 14,0	M: 24(42,9%) W: 32(57,1%)	7 = 12,5%	12 = 21,4%	4 = 7,2%	4 = 7,2%
Polyneuropathie	182 (29,6%)	57,7 ± 12,5	M: 131(72,0%) W: 51(28,0%)	22 = 12,1%	49 = 26,9%	19 = 10,4%	6 = 3,3%
zentrale schmerzhafte Neuropathie	46 (7,5%)	58,3 ± 11,9	M: 27(58,7%) W: 19(41,3%)	9 = 19,6%	8 = 17,4%	9 = 19,6%	4 = 8,6%
komplexes regionales Schmerzsyndrom	154 (25,0%)	49,8 ± 12,9	M: 38(24,7%) W: 116(75,3%)	29 = 18,9%	9 = 5,8%	33 = 21,4%	4 = 2,6%
Trigeminus- neuralgie	50 (8,1%)	60,2 ± 12,2	M: 24(48,0%) W: 26(52,0%)	6 = 12%	6 = 12%	5 = 10%	0 = 0%
restliche Neuropathien	62 (10,1%)	52,8 ± 16,9	M: 30(48,4%) W: 32(51,6%)	16 = 25,8%	10 = 16,1%	13 = 21%	7 = 11,3%
Gesamt- population	615	55,9 ± 14,1	M: 298(48,5%) W: 317(51,5%)	106 = 17,2%	100 = 16,3%	103 = 16,8%	29 = 4,7%

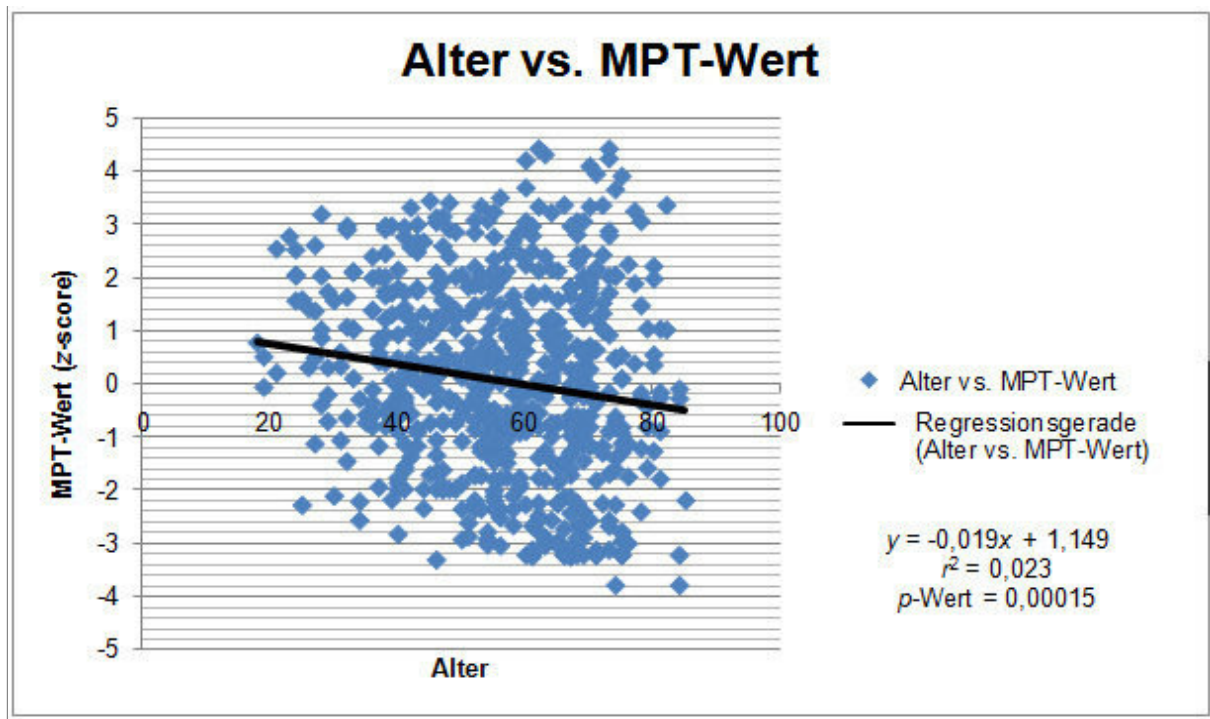
4.2.2 Regressionsanalysen

Über Regressionsanalysen wurde eine mögliche Abhängigkeit der MPT- und MPS-Werte von den Faktoren Alter, Geschlecht und Ätiologie für die vorliegende Population der neuropathischen Schmerzpatienten untersucht.

Zwischen Alter und MPT-Wert ergab sich die Regressionsgeradengleichung $y = -0,019 x + 1,149$. Das Bestimmtheitsmaß r^2 berechnete sich mit 0,023. Obwohl die Effektstärke (und damit die Vorhersagekraft des Alters) nicht besonders groß war, zeigte sich

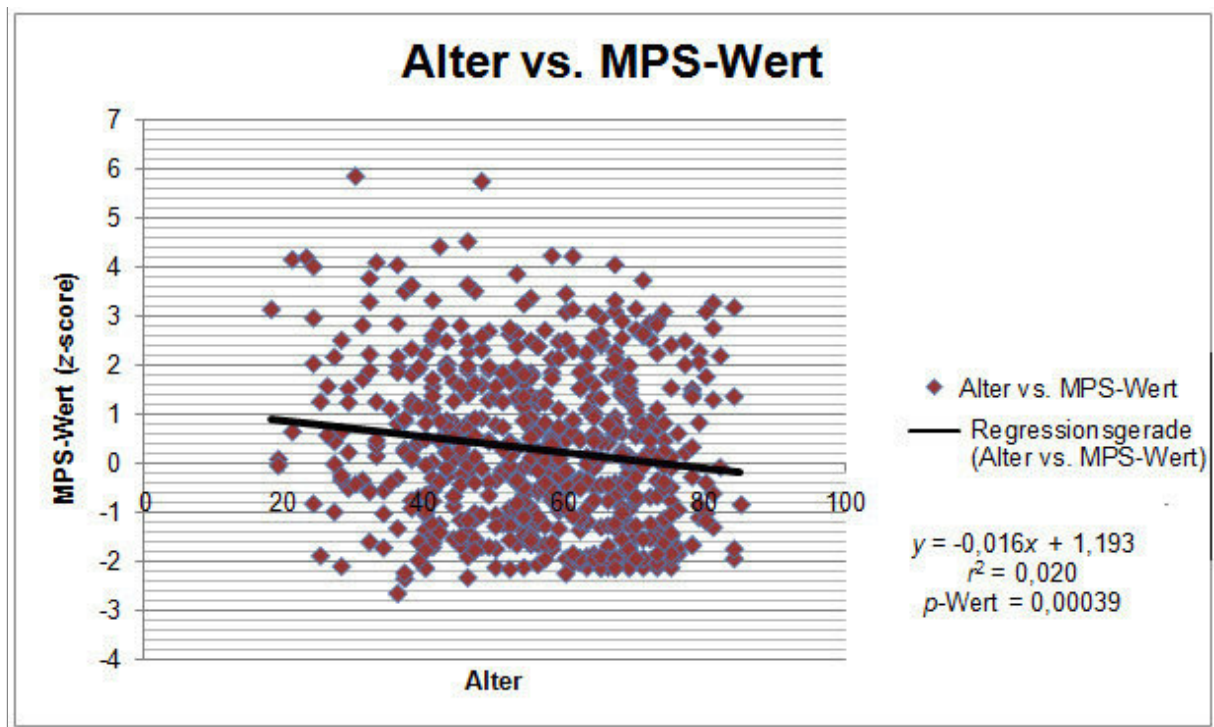
ein hoch signifikanter Zusammenhang ($p = 0,00015$) zwischen Alter und MPT-Wert [Abbildung 8 und Tabelle 10].

Abbildung 8: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und den MPT-Werten (z-score)



Für die Korrelation zwischen Alter und MPS-Wert ergab sich die Regressionsgerade $y = -0,016x + 1,193$. Wiederum war das Bestimmtheitsmaß r^2 mit 0,020 relativ gering, während der p -Wert mit 0,00039 abermals hoch signifikant war [Abbildung 9 und Tabelle 10].

Abbildung 9: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und den MPS-Werten (z-score)



In der Tabelle 10 sind die r^2 - und p -Werte für alle Regressionsanalysen der MPT- und MPS-Werte bezüglich der Faktoren Ätiologie, Alter und Geschlecht aufgelistet. Es zeigte sich, dass sich durch die Regressionsgerade in allen Fällen nur sehr schlecht der tatsächliche y -Wert widerspiegeln lässt. Ein p -Wert unter 0,05 bzw. nahe diesem Wert und damit eine signifikante Korrelation trat neben dem Alter noch bei der postzosterischen Neuropathie, der peripheren posttraumatischen Neuropathie, der Polyneuropathie sowie bei dem komplexen regionalen Schmerzsyndrom auf. Bei der folgenden quantitativen Assoziationsstudie wurden daher diese fünf Faktoren als Kovarianten in den Berechnungen berücksichtigt.

Tabelle 10: Regressionsanalysen der QST-Daten von neuropathischen Schmerzpatienten

	r^2 -Wert für MPT	p -Wert für MPT	r^2 -Wert für MPS	p -Wert für MPS
Alter	0,023	0,00015	0,020	0,00039
Geschlecht	$1,062 \times 10^{-7}$	0,99	0,0047	0,091
postzosterische Neuropathie	0,0049	0,084	0,0069	0,039
periphere posttraumatische Neuropathie	0,0052	0,073	0,0055	0,067
Polyneuropathie	0,045	$1,075 \times 10^{-7}$	0,045	$1,11 \times 10^{-07}$
zentrale schmerzhafte Neuropathie	0,0013	0,37	$1,039 \times 10^{-05}$	0,94
komplexes regionales Schmerzsyndrom	0,023	0,00014	0,031	$9,75 \times 10^{-06}$
Trigeminusneuralgie	0,0012	0,40	0,0010	0,42
restliche Neuropathien	0,0013	0,36	0,00065	0,53

4.2.3 Quantitative Assoziationsanalyse

Von insgesamt 17 genotypisierten SNPs [Anhang 6] wurden zwei SNPs (rs3104767, rs1975197) im Rahmen der Qualitätskontrolle der Genotypisierung ausgeschlossen (Callrate < 95%). Ein SNP (GYG2_SNPE08_GSF) diente der Überprüfung des angegebenen Geschlechts. Damit standen nach der Qualitätskontrolle 14 RLS-assoziierte SNPs für die quantitative Assoziationsstudie zur Verfügung. Von den 844 genotypisierten DNA-Proben konnten für die quantitative Assoziationsstudie nur 615 Proben genutzt werden, da für die restlichen Proben die dazugehörigen MPT- und MPS-Werte nicht vorlagen. Bei allen 615 Proben stimmte das genotypisierte Geschlecht mit dem in der Datenbank angegebenen phänotypischen Geschlecht überein. Nach der Qualitätskontrolle mussten 6 Proben aussortiert werden, da sie eine Genotypisierungsrate < 95% aufwiesen. Letztendlich blieben 609 Datensätze für die Auswertung übrig.

Zuerst wurde für jeden SNP die seltene Allelfrequenz (MAF) im Datensatz berechnet [Tabelle 11].

Tabelle 11: MAFs der RLS-assoziierten SNPs bei neuropathischen Schmerzpatienten

Gen	Chromosom	SNP (dpSNP ID)	seltenes Allel	MAF	RLS-Risikoallel*
Meis1	2	rs6710341	G	0,16	A
Meis1	2	rs12469063	G	0,24	G
Meis1	2	rs2300478	G	0,24	G
Meis1	2	rs11683508	A	0,18	A
BTBD9	6	rs3923809	G	0,24	A
BTBD9	6	rs9296249	C	0,31	T
BTBD9	6	rs4236060	A	0,28	C
PTPRD	9	rs11788684	C	0,17	G
PTPRD	9	rs4626664	A	0,16	A
MAP2K5/SKOR1	15	rs11635424	A	0,31	G
MAP2K5/SKOR1	15	rs3784709	T	0,30	C
MAP2K5/SKOR1	15	rs1026732	A	0,31	G
MAP2K5/SKOR1	15	rs6494696	C	0,31	G
TOX3	16	rs3104788	C	0,41	T

* RLS-Risikoallel = das Allel, das mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit am RLS zu erkranken korreliert. Dieses Allel muss nicht dem selteneren Allel entsprechen.

In der quantitativen Assoziationsstudie zwischen den SNPs und den MPT-z-scores unter Berücksichtigung der Kovarianten Alter, postzosterische Neuropathie, periphere posttraumatische Neuropathie, Polyneuropathie und komplexes regionales Schmerzsyndrom konnte gezeigt werden, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen beiden Parametern besteht. Nach Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni (Balding 2006), konnte gezeigt werden, dass der p -Wert für alle SNPs bei 1 lag, was sehr deutlich für einen fehlenden Zusammenhang zwischen den SNPs und den MPT-Werten spricht [Tabelle 12].

Tabelle 12: Quantitative Assoziationsanalyse für die MPT-Werte (z-score)

Gen	Chromosom	SNP (dpSNP ID)	selteneres Allel	BETA	nominaler p-Wert	Bonferroni korrigierter p-Wert
Meis1	2	rs6710341	G	-0.12	0.40	1
Meis1	2	rs12469063	G	-0.040	0.73	1
Meis1	2	rs2300478	G	-0.062	0.60	1
Meis1	2	rs11683508	A	-0.023	0.86	1
BTBD9	6	rs3923809	G	0.017	0.89	1
BTBD9	6	rs9296249	C	0.10	0.35	1
BTBD9	6	rs4236060	A	0.13	0.27	1
PTPRD	9	rs11788684	C	-0.11	0.41	1
PTPRD	9	rs4626664	A	-0.083	0.54	1
MAP2K5/SKOR1	15	rs11635424	A	-0.058	0.60	1
MAP2K5/SKOR1	15	rs3784709	T	-0.096	0.38	1
MAP2K5/SKOR1	15	rs1026732	A	-0.086	0.43	1
MAP2K5/SKOR1	15	rs6494696	C	-0.086	0.43	1
TOX3	16	rs3104788	C	-0.014	0.89	1

Im Gegensatz dazu errechnete sich in der quantitativen Assoziationsanalyse zwischen den 14 SNPs und dem MPS-z-score zunächst ein signifikanter nominaler p -Wert von 0,038 bei dem SNP rs4626664 und ein nahe dem Signifikanzniveau liegender nominaler p -Wert von 0.082 bei dem SNP rs9296249. Allerdings assoziierten diese beiden SNPs nach der Bonferroni-Korrektur nicht mehr signifikant [Tabelle 13]. Betrachtet man die Regressionskoeffizienten (BETA aus Tabelle 13), so zeigt SNP rs4626664 einen negativen Wert von -0.25. Ein negativer Regressionskoeffizient bedeutet, dass der Messwert, in diesem Fall der MPS-Wert, mit der Häufigkeit des selteneren Allels fällt. Die homozygoten Träger des häufigeren Allels haben somit den höchsten MPS-Wert, die homozygoten Träger selteneren Allels den niedrigsten Wert. Bei dem SNP rs4626664 entspricht das selteneres Allel A dem Risikoallel A für RLS [siehe Tabelle 11]. Somit haben Patienten, die homozygot AA besitzen, tendenziell den niedrigsten MPS-Wert. Im Gegensatz dazu hat der SNP rs9296249 einen positiven Regressionskoeffizient von 0.17. Das heißt, die Patienten, die homozygot für das selteneres Allel sind, haben den höchsten MPS-Wert. Bei diesem SNP ist das selteneres Allel C, die Risikovariante für RLS allerdings das häufigere Allel T. Dementsprechend haben die Patienten, wie bei dem SNP rs4626664, mit den homozygoten Risikoallelen den niedrigsten MPS-Wert. Zusammenfassend lässt sich nochmals feststellen,

dass weder bei den MPT-Werten noch bei den MPS-Werten eine signifikante Korrelation in der untersuchten Population besteht.

Tabelle 13: Quantitative Assoziationsanalyse für die MPS-Werte (z-score)

Gen	Chromosom	SNP (dpSNP ID)	seltenes Allel	BETA	nominaler p-Wert	Bonferroni korrigierter p-Wert
Meis1	2	rs6710341	G	-0.14	0.26	1
Meis1	2	rs12469063	G	-0.14	0.18	1
Meis1	2	rs2300478	G	-0.12	0.23	1
Meis1	2	rs11683508	A	-0.041	0.73	1
BTBD9	6	rs3923809	G	0.086	0.42	1
BTBD9	6	rs9296249	C	0.17	0.082	1
BTBD9	6	rs4236060	A	0.15	0.14	1
PTPRD	9	rs11788684	C	-0.078	0.50	1
PTPRD	9	rs4626664	A	-0.25	0.038	0.53
MAP2K5/SKOR1	15	rs11635424	A	0.0037	0.97	1
MAP2K5/SKOR1	15	rs3784709	T	-0.020	0.84	1
MAP2K5/SKOR1	15	rs1026732	A	0.0031	0.97	1
MAP2K5/SKOR1	15	rs6494696	C	0.0031	0.97	1
TOX3	16	rs3104788	C	-0.13	0.15	1

5 Diskussion

5.1 Quantitative Sensorische Testung

5.1.1 Rekrutierung von Probanden und Klassifizierung der Probanden mit RLS

Bisher gibt es drei Studien, die das somatosensorische Profil von RLS-Patienten untersucht haben. In allen Studien wurden unterschiedliche Teilaspekte der Somatosensorik untersucht. Lediglich die aktuellste Studie verwendete das standardisierte Protokoll des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz, mit dem das gesamte somatosensorische Profil eines Probanden erfasst werden kann (Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b; Bachmann et al. 2010). Die jeweiligen Schwerpunkte der beiden anderen Studien waren die mechanische Empfindung und die thermische Wahrnehmung (Schattschneider et al. 2004; Stiasny-Kolster et al. 2004).

Bevor die Ergebnisse dieser Studie mit den bestehenden Daten der Studien zum somatosensorischen Profil von RLS-Patienten verglichen werden, wird zunächst auf die jeweilige Rekrutierung und Klassifizierung der Patienten sowie die unterschiedlichen Studiendesigns eingegangen. Diese können erhebliche Auswirkungen auf die Ergebnisse der Studien haben und ggf. unterschiedliche Daten erklären.

Bachmann et al. rekrutierten 34 Patienten aus einem RLS-Patientenkollektiv am Klinikum der Georg August Universität Göttingen. Alle Patienten erfüllten die vier Diagnosekriterien der IRLSSG und hatten weder eine weitere relevante neurologische Vorerkrankung noch litten sie an einer Schmerzerkrankung (Walters 1995; Allen et al. 2003). Die Patienten wurden an Hand ihrer klinischen Befunde in primäre und sekundäre RLS-Patienten eingeteilt. Der Gruppe der primär am RLS erkrankten Patienten wurden alle Probanden zugeordnet, die ihre Symptome als nicht schmerzhafte Parästhesien, wie z.B. „Kribbeln“ oder „Ziehen“, beschrieben. Zusätzlich wurde dieser Gruppe ein Proband, der seine Symptome zwar als einschließenden Schmerz beschrieb, auf Grund seiner positiven Familienanamnese und dem guten Ansprechen auf eine Therapie mit Ropinirole (einem Dopamin-Agonist) zugeordnet. In der zweiten Gruppe, die der sekundär am RLS erkrankten Probanden, beschrieben die Patienten ihr Symptome als hauptsächlich schmerzhaft. Die meisten Patienten dieser Gruppe erhielten neben einem Dopamin-Agonisten auch Antikonvulsiva oder Opiode (Bachmann et al. 2010).

Die in der vorliegenden Studie rekrutierten 17 Patienten würden gemäß der oben vorgenommenen Einteilung zur Gruppe der primären RLS-Patienten zählen. Lediglich die Probanden 12 und 13 gaben schmerzhafte Parästhesien an, diese waren auf die Gabe von Dopamin-Agonisten komplett rückläufig (siehe Zuordnung der Ausnahme oben) (Bachmann et al. 2010). Proband 12 gab darüber hinaus eine positive Familienanamnese an; seine

beginnende Erkrankung im relativ jungen Alter von 38 Jahren spricht ebenfalls für ein primäres RLS (Allen and Earley 2000).

Die von Bachmann et al. vorgenommene Einteilung der primären und sekundären RLS-Patienten basierend auf der klinischen Symptomatik ist umstritten. Die bislang bestehende Einteilung der RLS-Erkrankung – und damit ihrer Patienten - in primär und sekundär beruht auf der Feststellung, dass beim sekundären RLS ein potentieller Auslöser der Erkrankung vorliegt, wie ein RLS-auslösendes Medikament, eine hormonelle oder metabolische Veränderung oder eine andere Erkrankungen, zum Beispiel ein Eisendefizit oder eine Urämie (Allen et al. 2003; Garcia-Borreguero et al. 2006). Gegen diese Einteilung spricht auch die Tatsache, dass sich in seiner Studie beide Patientengruppen bezüglich des Alters bei Erkrankungsbeginn kaum unterscheiden (primär 41 Jahre vs. sekundär 46,7 Jahre) (Bachmann et al. 2010). Dies steht im Gegensatz zum aktuellen Stand der Forschung (Gemignani and Vitetta 2010). In zahlreichen Studien konnte ein durchschnittlich jüngeres Alter bei Erkrankungsbeginn bei primären RLS-Patienten festgestellt werden (Allen and Earley 2000; Winkelmann et al. 2000; Hanson et al. 2004; Whittom et al. 2007). Der hohe Anteil von 38% mit einer positiven Familienanamnese in der Gruppe der sekundären RLS-Patienten spricht ebenfalls gegen die oben vorgenommene Einteilung, da ein hoher Prozentsatz an positiver Familienanamnese insbesondere für die primären RLS-Patienten beschrieben worden ist (Montplaisir et al. 1997; Winkelmann et al. 2000; Whittom et al. 2007; Bachmann et al. 2010; Gemignani and Vitetta 2010).

Die Probanden dieser Studie hatten bei Beginn der Erkrankung ein Durchschnittsalter von 38,6 Jahren; 47,1% der Patienten berichteten über eine positive Familienanamnese. Ferner konnten in der Anamnese der Patienten der hier vorliegenden Studie weder weitere neurologische Vorerkrankungen oder Schmerzerkrankungen noch andere Auslöser für die RLS-typischen Symptome ermittelt werden. Dies spricht zusammengenommen dafür, dass es sich bei den Probanden dieser Studie um klassische primäre RLS-Patienten nach aktuellem Stand der Forschung handelt. Eine kleine Einschränkung zu dieser klaren Aussage ist zu machen, da das Alter bei Beginn der RLS-Symptome bei der Gruppe mit positiver Familienanamnese leicht höher war als bei den sporadisch Erkrankten.

Stiasny-Kolster et al. verwendeten in ihrer Studie ebenfalls nur primär erkrankte RLS-Patienten; als Ausschlusskriterium galten: Eisendefizit, Diabetes mellitus, Vitamin B12-Mangel, Urämie, Alkoholabusus bzw. eine bekannte Polyneuropathie. Alle Patienten erfüllten die Diagnosekriterien der IRLSSG und hatten vor der ersten Messung weder RLS-spezifische Medikamente erhalten noch nahmen sie zum Zeitpunkt der Messung andere im zentralen Nervensystem wirkende Medikamente ein (Walters 1995; Allen et al. 2003; Stiasny-Kolster et al. 2004). Letztendlich bestand das Patientenkollektiv aus 11 Probanden.

Dieses Patientenkollektiv hatte eine durchschnittliche Erkrankungsdauer von 18 Jahren und ein durchschnittliches Alter bei der Untersuchung von 60 Jahren. Das Alter der Probanden bei Erkrankungsbeginn wurde nicht angegeben. 4 der 11 Patienten berichteten über eine positive Familienanamnese; dies entspricht einem Anteil von 36% (Stiasny-Kolster et al. 2004). Diese vorliegenden Daten unterstützen die getroffene Diagnose eines primären RLS bei den Patienten.

In der letzten Studie zum somatosensorischen Profil von RLS-Patienten wurden 42 Patienten rekrutiert. Diese Probanden erfüllten ebenfalls die vier Diagnosekriterien der IRLSSG. Sie standen alle unter der Therapie mit einem Dopamin-Agonisten, ansonsten aber keinem weiteren das zentrale Nervensystem beeinflussenden Medikament (Walters 1995; Allen et al. 2003; Schattschneider et al. 2004). Die Patienten wurden an Hand der klinischen Untersuchung, der Blutwerte (insbesondere Vitamin B12, B1, B6, Eisenstatus, Kreatinin, HbA1c und TSH) und der Nervenleitgeschwindigkeit in primär und sekundär erkrankte RLS-Patienten eingeteilt. Als primär erkrankt galten nur diejenigen, die in allen Untersuchungen normale Werte aufwiesen. In Übereinstimmung mit den bekannten Daten bezüglich der Klassifizierung von primärem und sekundärem RLS wurde in der Gruppe der primär Erkrankten ein signifikant jüngeres Alter bei Beginn der RLS-Symptome (primär 39,4 vs. sekundär 50,9 Jahre) und eine höhere Familienanamnese (primär 42% vs. sekundär 23%) beschrieben (Winkelmann et al. 2000; Schattschneider et al. 2004).

Während Stiasny-Kolster et al. nur 11 Patienten mit primärem RLS im Vergleich zu 11 gesunden Probanden in ihrer Studie einbezogen (Stiasny-Kolster et al. 2004), konnten Bachmann et al. ein Probandenkollektiv bestehend aus 21 primären sowie 13 sekundären RLS-Patienten im Vergleich zu 20 gesunden Probanden und einem Normkollektiv, bestehend aus 180 gesunden Kontrollen des DFNS, untersuchen (Bachmann et al. 2010). In der letzten Studie wurde das größte Patientenkollektiv mit 20 primären und 22 sekundären RLS-Patienten im Vergleich zu 15 bezüglich Alter und Geschlecht angeglichenen Kontrollprobanden rekrutiert (Schattschneider et al. 2004). Obwohl allgemein gilt, je größer die Probandenpopulation, desto valider ist die Aussagekraft der Ergebnisse, handelt es sich bei allen Studien eher um kleine Studienpopulation.

In der vorliegenden Studie konnte ebenfalls nur eine kleine Anzahl von 17 Probanden mit primärem RLS rekrutiert werden. Zu Vergleichszwecken wurden 180 gesunde Kontrollen des DFNS herangezogen. Das größte Hindernis für die Rekrutierung einer höheren Anzahl an Patienten bestand in der Notwendigkeit, dass die Probanden ihre RLS-spezifischen Medikamente für mindesten 24 Stunden und die 5-fache Halbwertszeit absetzen mussten (siehe Kapitel 3.1.1 und 5.1.2). Dies entsprach zum Beispiel beim Pramipexol (Sifrol®), das eine Halbwertszeit von 8-12 Stunden besitzt, einer 60-stündigen Unterbrechung der

Medikamenteneinnahme (Ruß and von Stuckrad-Barre 2008). Viele Patienten, die sich initial bereit erklärten an der Studie teilzunehmen, sagten nach einer Nacht ohne Medikamente ihre Teilnahme ab. Dies geschah aufgrund der auftretenden heftigen Krankheitssymptome, die besonders stark waren durch ein „Rebound-Phänomen“ bei der Therapie mit Dopamin-Agonisten. Der zweite Grund für das kleine Patientenkollektiv in dieser Studie bestand darin, dass insbesondere bei Patienten mit mildem bzw. mittelgradigem RLS häufig trotz längerer Untersuchungsperiode (Liegezeit) keine RLS-typischen Symptome zur Zeit der QST-Messung auftraten; die erhobenen Daten der QST-Messung konnten so nicht in dieser Studie berücksichtigt werden (siehe Kapitel 3.1.1 und 5.1.2).

5.1.2 Studiendesign und Auswahl der Messwerte

Die Studie von Stiasny-Kolster et al. wurde durchgeführt zur Klärung der Fragen, ob es bei RLS-Patienten zu Veränderungen der Wahrnehmung bzw. Verarbeitung von Schmerz kommt und ob die Therapie mit Dopamin-Agonisten einen Einfluss auf Letzteres hat (Stiasny-Kolster et al. 2004). Die These der Studie basierte auf der Erkenntnis, dass in vorherigen Studien ein vermehrtes gemeinsames Auftreten vom Restless Legs Syndrom und einer peripheren Neuropathie beschrieben wurde (Iannaccone et al. 1995; Polydefkis et al. 2000). Zum anderen beschreiben viele RLS-Patienten ihre Symptome als „quälend“, „ziehend“, „piksend“ bzw. „schmerzhaft“, also als Symptome, die ebenfalls typisch für eine Neuropathie sind. Ferner wurde in einer weiteren Studie eine erhöhte spinale Erregbarkeit während der Schlafphase von RLS-Erkrankten beschrieben, die auf eine veränderte Signalverarbeitung auf spinaler Ebene hindeutet, auch zentrale Sensibilisierung genannt (Bara-Jimenez et al. 2000). Diese zentrale Sensibilisierung ist dadurch charakterisiert, dass es zur verstärkten Wahrnehmung von mechanischen Reizen kommt, ausgedrückt durch zwei Werte, die dynamische (Allodynie) und statische mechanische Hyperalgesie (LaMotte et al. 1991; Ziegler et al. 1999). In der Studie erhielten 11 RLS-Patienten Reize auf beide Hände und beide Fußrücken, jeweils appliziert mit einem Set aus sieben Nadeln und mit einem Wattebausch, einem Q-Tip sowie einem Pinsel für weiche Reize. Die Patienten mussten die Reize entsprechend der Schmerzintensität auf einer Skala zwischen 0-100 bewerten (dies entspricht der Bestimmung des MPS-Werts und der Allodynie bei der QST (Rolke et al. 2002)). Die Testung wurde zum einen abends (20.00-22.00) und morgens (8.00-10.00) zum anderen vor Therapiebeginn und nach einer einmaligen Abenddosis von Levodopa 100mg durchgeführt. Bei 6 Patienten wurde die Messung nach einer 12-monatigen Therapiezeit wiederholt. Zusätzlich wurden bei allen Patienten eine Bestimmung der Nervenleitgeschwindigkeit sowie eine Elektromyographie zum Ausschluss einer Läsion oder Dysfunktion der myelinisierten Nervenfasern durchgeführt. Ferner ergab eine Polysomnographie, dass bei allen Patienten eine reduzierte Schlaflänge und -qualität vorlag und sich vermehrt PLM im Schlaf zeigten. Die Studie hatte zum Ergebnis, dass bei den RLS-

Patienten sowohl an den Händen als auch an den Füßen insgesamt eine erhöhte Schmerzintensität gegenüber den gesunden Kontrollen festgestellt werden konnte. Diese war jedoch nur abends signifikant. Die einmalige Gabe von Levodopa verbesserte zwar die Symptomatik, führte jedoch zu keiner Änderung bei der Evaluation der Schmerzintensität während der Untersuchung. Im Gegensatz dazu zeigten die Patienten nach einer 12-monatigen Therapie mit Dopamin-Agonisten sowohl eine Reduktion der Symptome als auch eine erniedrigte Schmerzsensitivität. Eine Allodynie konnte zu keinem Zeitpunkt bei den am RLS erkrankten Patienten festgestellt werden (Stiasny-Kolster et al. 2004).

Bachmann et al. hat erstmals das gesamte somatosensorische Profil von primären sowie sekundären RLS-Patienten erfasst (Bachmann et al. 2010). Es wurde in der Beurteilung der Daten besonderen Wert auf die Unterschiede im somatosensorischen Profil der primären und sekundären RLS-Patienten gelegt, da diese möglicherweise für verschiedene Pathomechanismen der Erkrankung sprechen. In der Studie wurde das standardisierte Protokoll des DFNS eingesetzt (Rolke et al. 2006a; Rolke et al. 2006b). Die Messungen fanden immer abends zwischen 14.00-1:00 und zu einem Zeitpunkt, wo der Patient Symptome verspürte, statt. Die RLS-spezifischen Medikamente wurden vorab für mindestens 24 Stunden und die 5-fache Halbwertszeit abgesetzt. Die Patienten nahmen keine weiteren Medikamente, die einen Einfluss auf die Messung haben könnten, ein. Wie in den anderen beiden Studien erhielten alle Patienten zusätzlich eine Bestimmung der Nervenleitgeschwindigkeit zum Ausschluss einer Läsion der myelinisierten Nervenfasern; ferner wurde eine Blutentnahme zur Bestimmung der Parameter Vitamin B12 und B6, Eisenstatus, Kreatinin, Folsäure, HbA1c und TSH durchgeführt. Die Gruppe der sekundär erkrankten RLS-Patienten erhielt zusätzlich noch eine Hautbiopsie zur Diagnose einer small-fibre-Neuropathie. Sowohl die primären RLS-Patienten als auch die sekundär Erkrankten zeigten eine statisch mechanische Hyperalgesie, ausgedrückt durch eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle sowie eine erhöhte Schmerzsensitivität; eine Allodynie konnte abermals nicht festgestellt werden. Zusätzlich fiel in der Gruppe der primären RLS-Patienten eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Druckschmerz sowie Vibration auf. In der Gruppe der „sekundären RLS-Patienten“ fiel neben der statisch mechanischen Hyperalgesie eine Hypästhesie gegen kalte sowie warme Reize auf. Zusammen mit der reduzierten Dichte an interepidermalen Nervenfasern, die bei den Hautbiopsien der sekundär Erkrankten festgestellt wurde, spricht dies laut Autoren für eine Assoziation einer small-fibre-Neuropathie bei den sekundär am RLS erkrankten Patienten (Bachmann et al. 2010). Die Feststellung, dass nur die Patienten mit einem sekundären RLS eine Hypästhesie gegen kalte und warme Reize besitzen, ist jedoch kritisch zu betrachten, da die Patienten der Studie basierend auf den klinischen Symptomen und nicht nach der Einteilung der IRLSSG (siehe Kapitel 5.1.1) in die Gruppen primäre und sekundäre RLS-Patienten eingeteilt wurden

(Allen et al. 2003; Gemignani and Vitetta 2010). Die Auffälligkeit in der Gruppe der „sekundären RLS-Patienten“ kann folglich auch am Selektionsbias liegen. Des Weiteren wurden keine Hautbiopsien bei den primären RLS-Patienten durchgeführt; somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese Patienten ebenfalls an einer small-fibre-Neuropathie leiden (Gemignani and Vitetta 2010). Zuletzt sei darauf hingewiesen, dass unter Verwendung der Rydel-Seiffer-Stimmgabel, wie sie bei der QST verwendet wird, eine mechanische Hyperästhesie gegen Vibrationsreize bei einem einzelnen Probanden nicht diagnostiziert werden kann, da der maximale Messwert von 8/8 im Bereich der normalen Reichweite liegt. Um eine genauere Aussage über die mechanische Hyperästhesie gegenüber Vibrationsreizen bei RLS-Patienten zu treffen, müssten andere Methoden verwendet werden (Rolke et al. 2006a; Maier et al. 2010).

In der dritten Studie zum somatosensorischen Profil von RLS-Patienten wurde insbesondere die Wahrnehmung thermischer Reize bei RLS-Patienten untersucht und zusätzlich eine Untersuchung der C-Nervenfasern mit Hilfe eines quantitativen nozizeptiven axonalen Reflextests (QNART) durchgeführt (Schattschneider et al. 2004). Hierdurch sollte einerseits die Häufigkeit einer thermischen Hypästhesie bestimmen werden und andererseits eine Differenzierung anhand der Veränderungen der unmyelinisierten C-Fasern bezüglich einer peripheren oder zentralen Ursache bei der Entstehung des Restless Legs Syndrom vorgenommen werden. Zur thermischen sensorischen Testung wurde zwar eine andere Apparatur wie bei der QST verwendet, jedoch derselbe Untersuchungsablauf. Mit beiden Methoden kann sowohl die thermische Unterscheidungsschwelle als auch die thermische Detektionsschwelle für warme und kalte Reize und deren thermische Schmerzschwelle untersucht werden. Dabei stellten Schattschneider et al. im Gegensatz zu Bachmann et al. keine Unterschiede zwischen primär und sekundär erkrankten RLS-Patienten fest. Bei allen Patienten konnte sowohl eine erhöhte thermische Unterscheidungsschwelle (TSL) als auch eine erhöhte thermische Detektionsschwelle für warme und kalte Reize festgestellt werden. Die thermische Schmerzschwelle für warme und kalte Reize war in beiden Gruppen normal. In der QNART zeigte sich, dass in der Gruppe der sekundär erkrankten RLS-Patienten im Gegensatz zu der Gruppe der primär Erkrankten die Funktion der C-Fasern beeinträchtigt war. Dies deutet auf eine Beteiligung der C-Fasern an der Entstehung der RLS-Erkrankung bei sekundär erkrankten Patienten hin (Schattschneider et al. 2004).

Ziel der vorliegenden Studie war es, die bestehende Datenbasis für das somatosensorische Profil von RLS-Patienten zu erweitern, da diese bislang nur auf einer geringen Patientenpopulation beruht. Die erhobenen Daten der verschiedenen Studien waren zudem teilweise kontrovers. Aus zeitlichen Gründen, es sollten möglichst viele Probanden zur Erzeugung einer breiten Datenbasis gemessen werden, wurde nur ein Teil der QST-

Messung durchgeführt. Die Probleme bei der Rekrutierung wurden bereits diskutiert (siehe Kapitel 5.1.1). Ein weiterer wesentlicher Grund, nur einen Teil des QST-Protokolls zu verwenden, bestand in der Untersuchungsdauer selbst; die Durchführung einer vollständigen QST an einer Körperstelle benötigt circa 30 Minuten. RLS-Patienten leiden insbesondere darunter, dass sich ihre Symptome durch Ruhe verstärken und diese sie geradezu zwingen, sich zu bewegen (Walters 1995; Allen et al. 2003). Eine Messserie, bei der die RLS-Patienten parallel zum Auftreten ihrer Symptome für circa 1 Stunde ruhig liegen müssen, wurde von vielen Patienten als nicht realisierbar angesehen. Die vorgenommene Auswahl der Messungen beruhte auf den bestehenden Daten (Schattschneider et al. 2004; Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010). In der Studie von Bachmann et al. wurde bei der Untersuchung des somatosensorischen Profils mittels der QST Auffälligkeiten in der thermischen Detektionsschwelle und der thermischen Unterscheidungsschwelle bei sekundären RLS-Patienten festgestellt, die thermischen Schmerzschwellen waren normal (Bachmann et al. 2010). Diese thermischen Messwerte wurden ebenfalls in einer früheren Studie zur thermischen Wahrnehmung beim RLS untersucht, wobei die Ergebnisse divergierend waren (siehe vorheriger Absatz) (Schattschneider et al. 2004). In dieser Studie wurde exemplarisch die TSL gemessen, da bei der Untersuchung die thermische Unterscheidungsschwelle für kalte und warme Reize bestimmt wird. Zudem wurde in der vorhergegangenen Studie, die mit Hilfe der QST durchgeführt wurde, Auffälligkeiten in der PPT, MPT und MPS und der Vibrationsschwelle beschrieben, die MDT sowie die Untersuchungen zum Wind-up-Phänomen, dem paradoxe Hitzeempfindung und der mechanischen Allodynie waren normal (Bachmann et al. 2010). In der ersten Studie zur mechanischen Empfindung bei RLS-Patienten 2004 wurde bereits eine auffällige MPS bei fehlender mechanischer Allodynie beschrieben (Stiasny-Kolster et al. 2004). Die aktuelle Studie umfasst die auffälligen Werte der vorhergegangenen Studien PPT, MPT und MPS sowie als dritten mechanischen Reiz die MDT. Auf die Messung der Vibrationsschwelle wurde verzichtet, da die in der QST verwendete Methode nicht geeignet ist, um eine mechanische Hypästhesie gegenüber Vibrationsreizen sicher zu diagnostizieren (Rolke et al. 2006a; Maier et al. 2010). Unter der Berücksichtigung der Datenlage, die nahelegt, dass eine statisch mechanische Hyperalgesie nur abends signifikant erhöht ist und die Therapie mit Dopamin-Agonisten einen Einfluss auf die Messung hat (Stiasny-Kolster et al. 2004), wurde in der vorliegenden Studie die Messung abends zwischen 18:00 -22:00 und zu einem Zeitpunkt, wo der Patient Symptome verspürte durchgeführt. Ferner mussten die RLS-Medikamente vorher für mindestens 24 Stunden und die 5-fache Halbwertszeit abgesetzt werden.

Obwohl es im Rahmen dieser Studie zu weit gegangen wäre, bleibt es interessant in einer weiterführenden Studie nochmals genauer den Einfluss unterschiedlicher, beim RLS eingesetzter Medikamente zu untersuchen. Insbesondere deshalb, weil die bestehenden

Daten zur Langzeittherapie mit Dopamin-Agonisten nur auf 6 Patienten beruhen (Stiasny-Kolster et al. 2004). Des Weiteren wäre es interessant genauer zu untersuchen, inwiefern sich die Ergebnisse der Messung ändern, wenn der Patient während der Messung keine Symptome besitzt bzw. die Messung zu einer anderen Tageszeit stattfindet.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde vor Aufnahme der Messungen zur Bestimmung des somatosensorischen Profils eine ausführliche Anamnese durchgeführt, jedoch keine weitergehenden Voruntersuchungen wie eine Bestimmung der Nervenleitgeschwindigkeit, eine Elektromyographie, eine Hautbiopsie oder eine Kontrolle der Laborwerte. Letztendlich wurde eine mögliche zusätzliche sekundäre Ursache für ein RLS sowie eine weitere neurologische Erkrankung über die Anamnese ausgeschlossen. Es kann daher nicht mit absoluter Sicherheit gefolgert werden, dass die beobachteten Veränderungen in der Somatosensorik ausschließlich durch das vorliegende Restless Legs Syndrom bedingt sind.

5.1.3 Ergebnisse im Vergleich zu anderen Studien

Bei der statistischen Auswertung wurden die Daten der RLS-Patienten sowie die Daten der gesunden Probanden dieser Studie mit den Daten eines Normkollektivs des DFNS, bestehend aus 180 gesunden Kontrollen, verglichen. Ein interner Gruppenvergleich wurde nicht durchgeführt, da im Vergleich zur großen Datenbank des DFNS die Kontrollen dieser Studie nur eine eingeschränkte Aussagefähigkeit besitzen (siehe folgender Absatz). Auf Basis der bereits publizierten Methodik zum Vergleich von Gruppendaten bei der QST, wurde ein ungepaarter t-Test zur Auswertung verwendet (Magerl et al. 2010).

Beim Vergleich der Kontrollgruppen, also der gesunden Probanden (Kontrollen dieser Studie) mit denen des DFNS, war auffällig, dass die thermische Unterscheidungsschwelle bei der Kontrollgruppe dieser Studie signifikant erhöht war, die Probanden also eine Hypästhesie gegenüber der Wahrnehmung von alternierenden kalten und warmen Stimuli besaßen. Die Stärke des Effektes wurde insbesondere durch die Probanden 1, 17 und 19 beeinflusst. Die Auffälligkeit der TSL war aber auch nach Ausschluss der Probanden signifikant [siehe Tabelle 7 unter Kapitel 4.1.3]. Die Werte der Probanden sind dabei keineswegs als Messfehler zu deuten, sondern viel mehr im Rahmen der Variabilität in der Normalbevölkerung zu erwarten; ihr Anteil von 12% an der gesamten Kontrollgruppe liegt dabei jedoch deutlich über den statistisch zu erwartenden 5%, die außerhalb des Normalbereiches von -1,96 bis 1,96 liegen. Eine Ursache für diese auffällige Wertelage der Kontrollgruppe könnte in der begrenzten Auswahl der Probanden liegen. Die Kontrollgruppe stellt somit keine optimale Vergleichsgruppe dar, um eine Aussage über die Allgemeinbevölkerung zu treffen.

Um eine solidere Aussagekraft für die Ergebnisse der Studie zu erhalten, wurden die Daten der RLS-Patienten mit den Daten aus dem Normkollektiv des DFNS verglichen.

Die aus den vorliegenden Studien bekannte statisch mechanische Hypästhesie, ausgedrückt durch eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle und eine erhöhte mechanische Schmerzsensitivität, bei am RLS erkrankten Patienten konnte auch in dieser Studie bestätigt werden (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010). Betrachtet man die einzelnen Werte und nicht nur den Gruppenvergleich, so liegen bei der MPT 17,6% und bei der MPS 11,8% oberhalb des 95%igen Konvidenzintervalles, also mehr als die statistisch zu erwartenden 5%. Eine größere Zahl an Patienten liegt dabei zusätzlich nahe der oberen Normgrenze beider Werte. Diese detailliertere Beobachtung erklärt die Ergebnisse des Gruppenvergleiches. Die Ergebnisse dieser Studie stimmen ebenfalls mit der vorherigen Veröffentlichung überein, dass primäre RLS-Patienten eine Hypästhesie gegenüber stumpfen mechanischen Stimulatoren besitzen, die taktile Detektionsschwelle jedoch gegenüber gesunden Personen unverändert ist (Bachmann et al. 2010). Besonders interessant war die Bestimmung der thermischen Detektionsschwelle, da hier kontroverse Daten existierten (Schattschneider et al. 2004; Bachmann et al. 2010). In der vorliegenden Studie wurde, wie in der Studie von Bachmann et al., keine Veränderung der TSL bei den primären RLS-Patienten gegenüber den gesunden Probanden festgestellt. Eine mögliche Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse der aktuellen Studien, die dieselbe Messapparatur der QST verwendeten, zu der Studie von 2004 ist, dass bei der damaligen Studie eine andere Messapparatur, die Thermotest-Apparatur von Somedic AB, Schweden, verwendet wurde. Weitere Gründe können die damalige geringere Anzahl der gesunden Probanden in der Kontrollgruppe sein oder drauf basieren, dass die Messung unter der Therapie mit Dopamin-Agonisten durchgeführt wurde. Nicht zuletzt deshalb wäre es - wie oben bereits erwähnt - sehr interessant, den Einfluss von RLS-spezifischen Medikamenten auf das somatosensorische Profil von RLS-Patienten genauer zu untersuchen.

5.1.4 Zusammenhang zwischen Pathophysiologie und dem sensorischen Profil

Eine mechanische Hyperästhesie ohne thermische Hyperalgesie ist ein Kennzeichen der sekundären Hyperalgesie (Ziegler et al. 1999). Sie entsteht durch Sensibilisierung der spinalen Neuronen und wird als zentrale Sensibilisierung bezeichnet (Ziegler et al. 1999). Diese konnte nicht nur bei RLS-Erkrankten wiederholt festgestellt werden (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010), sondern auch bei neuropathischen Schmerzpatienten (Ziegler et al. 1999; Baron 2006a). Bei der zentralen Sensibilisierung handelt es sich um Plastizitätsveränderungen der spinalen Neuronen im Hinterhorn (Baron 2006a). Die Veränderung entsteht durch andauernden peripheren Input, getriggert durch eine Läsion der peripheren Nerven (LaMotte et al. 1991; Ziegler et al. 1999), und über Veränderungen in den

vom zentralen Nervensystem absteigenden Bahnen, die ihrerseits eine regulatorische Funktion auf die spinalen Neurone besitzen (Wei et al. 1999; D'Mello and Dickenson 2008). Beide Mechanismen führen letztendlich zu einem erhöhten spinalen Erregungspotential. Beim RLS wurden neben der mechanischen Hyperalgesie, als Zeichen der veränderten spinalen Signalverarbeitung, auch eine erhöhte Erregbarkeit der spinalen Flexoren-Reflexe, vor allem während des Schlafs, festgestellt (Bara-Jimenez et al. 2000).

Eine Läsion der peripheren Nerven, vor allem der C-Fasern und A δ -Fasern, scheint als Ursache der erhöhten spinalen Erregbarkeit beim primären RLS eher unwahrscheinlich. So konnten in der vorliegenden Studie, wie in früheren Studien, keine Veränderung in der Wahrnehmung thermischer Reize festgestellt werden (Bachmann et al. 2010). Die thermische Hyp- bzw. Hyperästhesie kennzeichnet insbesondere eine periphere Sensibilisierung (Baron 2006a). Bei der Untersuchung der C-Fasern mit Hilfe der QNART, zeigte sich eine normale Funktion der unmyelinisierten Fasern bei primären RLS-Patienten (Schattschneider et al. 2004). Bei der Untersuchung von Nervenbiopsien von primären RLS-Patienten konnte ebenfalls keine Veränderungen der unmyelinisierten Fasern festgestellt werden (Iannaccone et al. 1995). Allerdings ist die Nervenbiopsie zur Beurteilung der unmyelinisierten Fasern schlechter geeignet als eine Hautbiopsie (Schattschneider et al. 2004). Es konnte dafür in den Nervenbiopsien der primären RLS-Patienten eine axonale Neuropathie festgestellt werden. Diese Feststellung ist aus heutiger Sicht jedoch umstritten, da die Studie vor 2003 abgeschlossen wurde, also bevor die Diagnosekriterien des RLS nochmals überarbeitet wurden. So zählen neuerdings Auffälligkeiten bei der Elektromyographie als Ausschlusskriterium einer primären RLS-Erkrankung (Iannaccone et al. 1995; Allen et al. 2003).

In einer Studie mit 22 konsekutiven RLS-Patienten wurde die Prävalenz von unterschiedlichen Neuropathien untersucht (Polydefkis et al. 2000). Zieht man dabei von den 22 untersuchten Patienten die 5 Patienten ab, bei denen die Nervenleitgeschwindigkeit auffällig war, so zeigten 3 der restlichen 17 in der Hautbiopsie eine small-fiber-Neuropathie (Polydefkis et al. 2000). Diese RLS-Patienten zeigten jedoch eher typische klinische Anzeichen einer sekundären RLS-Erkrankung, wie ein später Erkrankungsbeginn und eine negative Familienanamnese (Allen et al. 2003). Ein weiterer Hinweis dafür, dass nicht eine Läsion bzw. Dysfunktion der peripheren Nerven Ursache der erhöhten spinalen Erregbarkeit beim primären RLS ist, kommt der Tatsache zu, dass bei RLS-Patienten zwar eine statisch mechanische Hyperalgesie niemals jedoch eine mechanische Allodynie festgestellt werden konnte (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010). Für die mechanische Allodynie ist bekannt, dass sie abhängig von einem andauernden nozizeptiven Input ist; dies trifft für die statisch mechanische Hyperalgesie nicht zu (LaMotte et al. 1991; Ziegler et al. 1999).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass ein abnormaler peripherer Input als Ursache der erhöhten spinalen Erregbarkeit beim primären Restless Legs Syndrom nicht anzunehmen ist (Stiasny-Kolster et al. 2004). Eine Aussage darüber, ob Veränderungen der peripheren Nervenfasern bei der Entstehung des sekundären RLS eine Rolle spielen, kann in dieser Studie nicht getroffen werden, da diese Patienten aus der Studie ausgeschlossen wurden. Die Ergebnisse anderer Studien deuten jedoch darauf hin (Schattschneider et al. 2004; Bachmann et al. 2010).

Für die Entstehung der nachgewiesenen erhöhten spinalen Erregbarkeit beim RLS ist eine Läsion oder Dysfunktion in kortikalen sowie subkortikalen Arealen hingegen wahrscheinlicher, weil diese eine Fehlfunktion der absteigenden regulatorischen Bahnen im Rückenmark zur Folge haben bzw. haben könnten (Schattschneider et al. 2004; Stiasny-Kolster et al. 2004). Als eine mögliche Struktur wurden in diesem Zusammenhang die dopaminergen A11-Neurone im dorsalposterioren hypothalämischen System diskutiert (Clemens et al. 2006; Bachmann et al. 2010). A11-Neurone projektieren in das Hinterhorn des Rückenmarks, vor allem in die Lamina I sowie in den intermediolateralen Trakt, und haben dort einen inhibitorischen Einfluss (Clemens et al. 2006). Fällt dieser inhibitorische Einfluss weg, ist es möglich, dass die Signale der A δ - und C-Fasern, die ebenfalls in diese Lamina projektieren, verstärkt wahrgenommen werden. Eine denkbare Folge ist die beim RLS beobachtete statisch mechanische Hyperalgesie sowie die erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Druckschmerz. Unterstützt wird diese Hypothese einer Beteiligung des dopaminergen Systems an der Entwicklung der mechanischen Hyperalgesie durch die Beobachtung, dass unter der Langzeittherapie mit Dopamin-Agonisten nicht nur die RLS-Beschwerden nachlassen, sondern parallel dazu die mechanische Hyperalgesie verschwindet (Stiasny-Kolster et al. 2004; Clemens et al. 2006).

5.2 Quantitative Assoziationsstudie

5.2.1 Probanden mit neuropathischem Schmerz

Ziel der Studie war es zu untersuchen, ob die Einzel-Nukleotid-Polymorphismen, die im Zusammenhang mit dem Restless Legs Syndrom als Risikovarianten identifiziert wurden, auch bei einer Studienpopulation von Patienten mit neuropathischem Schmerz eine Rolle spielen. Da bei beiden Erkrankungen eine statisch mechanische Hyperalgesie sowie in Teilen überlappende Symptome auftraten, lag eine Überprüfung potentieller genetischer Zusammenhänge nahe. Die in dieser Studie verwendeten 615 DNA-Proben von Patienten mit neuropathischem Schmerz stammten aus einem Patientenkollektiv des DFNS. Alle Patienten erhielten bereits eine vollständige QST, die auch die beiden relevanten Messparameter für eine statische mechanische Hyperalgesie, (erhöhte) mechanische Schmerzsensitivität und (erniedrigte) mechanische Schmerzschwelle, beinhaltete. Die anderen 11 Messparameter der quantitativen sensorischen Testung wurden in dieser Assoziationsstudie nicht berücksichtigt, da für diese Werte entweder kein Zusammenhang mit dem RLS gezeigt wurde bzw. die diesbezüglichen Daten kontrovers diskutiert wurden oder, wie im Fall der PPT, eine Auffälligkeit beim RLS bislang nur in zwei sehr kleinen Patientenpopulationen gezeigt werden konnte. Signifikant auffällige Werte für MPT und MPS wurden in drei unabhängigen Studien, inklusive der vorliegenden Studie, bei der RLS-Erkrankung beschrieben (Stiasny-Kolster et al. 2004; Bachmann et al. 2010).

Maier et al. beschäftigten sich mit der Frage, wie häufig auffällige QST-Werte und dabei unter anderem auch auffällige MPT- bzw. MPS-Werte bei neuropathischem Schmerz vorkommen und ob sich ihre Prävalenzen bei den verschiedenen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes unterscheiden (Maier et al. 2010). Die Studie beinhaltete Daten von 1236 neuropathischen Schmerzpatienten von dem DFNS. Analog zur Vorgehensweise in der vorliegenden Studie wurde für die statistische Auswertung der sogenannte z-score verwendet, da dieser bezüglich gemessener Körperstelle, Alter und Geschlecht korrigiert ist. Dabei umschließt das 95%ige Konfidenzintervall den Wertebereich von $-1,96$ - $+1,96$; alle Werte außerhalb dieses Bereiches zählen als pathologisch (Rolke et al. 2006a). Von diesen 1236 Patienten besaßen für die MPT 12,8% einen z-score unterhalb von $-1,96$ und 15,4% einen über $+1,96$. Bezüglich der MPS lag der Prozentsatz von pathologisch erniedrigten Werten bei 4,0%; 16,9% der Patienten hatten einen pathologisch erhöhten z-score (Maier et al. 2010).

Mit Hilfe der MPT- bzw. MPS-Werte der RLS-Patienten dieser Studie, kann erstmals eine Aussage über die Häufigkeit von pathologischen MPT- bzw. MPS-Werten beim RLS getroffen werden. Jedoch standen lediglich 17 RLS-Patienten zur Verfügung (siehe Kapitel

5.1.1), sodass die Aussagekraft bezüglich der Häufigkeit beim RLS eher schwach ist [Tabelle 14].

Tabelle 14: Prozentsätze der pathologischen MPT- bzw. MPS-Werte (z-score)

	Patienten mit neuropathischem Schmerz dieser Studie	Patienten mit RLS in dieser Studie	Patienten mit neuropathischem Schmerz bei Maier et al.	Gesunde Kontrollen bei Maier et al.
MPT < -1,96	16,3%	0%	12,8%	1,1%
MPT > 1,96	17,2%	17,6%	15,4%	3,4%
MPS < -1,96	4,7%	0%	4,0%	0,2%
MPS > 1,96	16,8%	11,8%	16,9%	3,7%

(Maier et al. 2010)

Beim Vergleich der Häufigkeiten pathologischer Werte in der gesamten Gruppe der neuropathischen Schmerzpatienten bei Maier et al. und dem Datensatz, der für diese Studie von dem DFSN zu Verfügung gestellt wurde, können nahezu identische Werte festgestellt werden (Maier et al. 2010). Lediglich die Anzahl der ermittelten pathologisch erniedrigten MPT-Werte war im aktuellen Datensatz etwas erhöht. Zusätzlich zu den Daten der Patienten wurden damals die Daten von 1080 gesunden Probanden ausgewertet. Es wurden dabei niedrigere Prozentsätze an pathologischen Werten außerhalb des 95%igen Konfidenzintervalles festgestellt, als die zu erwarteten 5% (Maier et al. 2010).

Zusätzlich wurde in beiden Studien die Prävalenz auffälliger MPT- bzw. MPS-Werte bei den verschiedenen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes ausgewertet. Dazu wurden die Probanden in sieben Gruppen entsprechend ihrer Ätiologie eingeteilt: postzosterische Neuropathie, periphere posttraumatische Neuropathie, Polyneuropathie, zentrale schmerzhaftes Neuropathie, komplexes regionales Schmerzsyndrom und Trigeminalneuralgie. Alle sonstigen Neuropathien wurden in der 7. Gruppe zusammengefasst [Tabelle 15] (Maier et al. 2010).

Tabelle 15: Vergleich der Patientenpopulationen der aktuellen Studie mit der Studie von
Maier et al. 2010

	Patienten dieser Studie	Patienten bei Maier et al.
Gesamtpopulation	615	1236
postzosterische Neuropathie	10,6% (65)	5,8% (72)
periphere posttraumatische Neuropathie	9,1% (56)	12,5% (154)
Polyneuropathie	29,6% (182)	27,8% (343)
zentrale schmerzhafte Neuropathie	7,5% (46)	4,1% (51)
komplexes regionales Schmerzsyndrom	25% (154)	32,6% (403)
Trigeminusneuralgie	8,1% (50)	7,4% (92)
restliche Neuropathien	10,1% (62)	9,8% (121)

(Maier et al. 2010)

Es ist festzustellen, dass in der früheren Studie mit einer etwa doppelt so großen Population (1236 vs. 615 Patienten) wie in dieser Studie, der Anteil der Subgruppen mit postzosterischer Neuropathie sowie der zentralen schmerzhaften Neuropathie geringer war, die Subgruppen der peripheren posttraumatischen Neuropathie und des komplexen regionalen Schmerzsyndroms hingegen stärker vertreten waren. Bei den restlichen Subgruppen war der Unterschied gering (Maier et al. 2010).

Die Prävalenz auffälliger MPT- bzw. MPS-Werte in den unterschiedlichen Gruppen (Ätiologien) des neuropathischen Schmerzes ist zwischen beiden Studien nur bedingt zu vergleichen, da in der früheren Studie nicht, wie in dieser Studie, ausschließlich Daten mit „absolut“ pathologischen Werten in die Rechnung einbezogen wurden, also wenn der z-score über +1,96 bzw. unter -1,96 lag, sondern auch sogenannte „relative“ pathologische Werte. Die „relativen“ Auffälligkeiten wurden dabei wie folgt ermittelt; alle Probanden bekamen zusätzlich zur Messung im betroffenen Areal eine Messung im gegenüberliegenden gesunden Areal (zum Beispiel Fußrücken rechts vs. Fußrücken links). Lagen die Messwerte beider Areale im 95%igen Konfidenzintervall, wurde auch die Seitendifferenz der Messwerte beurteilt. War die Seitendifferenz größer bzw. kleiner als das 95%ige Konfidenzintervall zur Seitendifferenz bei gesunden Probanden, wurden diese Werte

ebenfalls als „relativ“ pathologisch in die Rechnung einbezogen. Folglich war die Prävalenz der auffälligen MPT- bzw. MPS-Werte in den Subgruppen sowie im gesamten Datensatz höher als in dieser Studie (Maier et al. 2010) [Tabelle 16].

Tabelle 16: Prävalenzen der pathologischen MPT- bzw. MPS-Werte (z-score) in den verschiedenen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes

	Patientenzahl		MPT < -1,96		MPT > 1,96		MPS < -1,96		MPS > 1,96	
	aktuell	Maier	aktuell	Maier	aktuell	Maier	aktuell	Maier	aktuell	Maier
postzosterische Neuropathie	65	72	9,2%	26,4%	26,2%	29,2%	6,1%	19,5%	30,8%	36,1%
periphere posttraumatische Neuropathie	56	154	21,4%	25,7%	12,5%	27%	7,2%	21,1%	7,2%	29,6%
Polyneuropathie	182	343	26,9%	21,9%	12,1%	11,1%	3,3%	5%	10,4%	8,5%
zentrale schmerzhafte Neuropathie	46	51	17,4%	23,5%	19,6%	21,6%	8,6%	29,4%	19,6%	23,5%
komplexes regionales Schmerzsyndrom	154	403	5,8%	10%	18,9%	28,7%	2,6%	6,2%	21,4%	46,6%
Trigeminusneuralgie	50	92	12%	12%	12%	15,2%	0%	10,1%	10%	25,8%
restliche Neuropathien	62	121	16,1%	19%	25,8%	22,3%	11,3%	15,8%	21%	30,8%
Gesamtpopulation	615	1236	16,3%	17,8%	17,2%	21,7%	4,7%	10,7%	16,8%	29,2%

(Maier, Baron et al. 2010)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die beiden Studien bezüglich ihrer prozentualen Einteilung der Gesamtpopulation in die Subgruppen und, unter anderem wegen der unterschiedlichen methodischen Vorgehensweise, den Prävalenzen von pathologischen MPT- bzw. MPS-Werten in den verschiedenen Subgruppen unterscheiden. Insbesondere der erste Unterschied wirkt sich erstaunlicherweise kaum auf die Prävalenz absolut pathologischer MPT- bzw. MPS-Werte in der Gesamtpopulation beider Studien aus [Tabelle 14]. Zum jetzigen Zeitpunkt existieren keine weiteren Studien, die sich mit der Verteilung auffälliger QST-Werte bei den verschiedenen Ätiologien des neuropathischen Schmerzes beschäftigt haben, so dass lediglich der Unterschied in beiden Studien festgehalten werden kann. Aufgrund der größeren einbezogenen Patientenpopulation und der genaueren Klassifizierung der QST-Daten in „relative“ und „absolut“ pathologische Werte in der Studie von Maier et al. sind deren Ergebnisse als potentiell valider zu betrachten (Maier et al. 2010).

5.2.2 Regressionsanalysen und die Auswahl der Kovarianten

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die Prävalenz pathologischer MPT- und MPS-Werte bei neuropathischen Schmerzpatienten je nach Ätiologie der Erkrankung unterschiedlich ist. Damit wurden die bestehenden Ergebnisse aus einer früheren Studie bestätigt, in der eine mechanische Hyperalgesie vor allem bei den Erkrankungen periphere posttraumatische Neuropathie sowie komplexes regionales Schmerzsyndrom und postzosterische Neuropathie festgestellt wurde (Maier et al. 2010). Im Gegensatz dazu wurden bei der Polyneuropathie nur wenige pathologisch erhöhte MPT- und MPS-Werte festgestellt, dafür eine hohe Prävalenz für pathologisch erniedrigte Werte. Bei manchen Erkrankungen, wie der peripheren posttraumatischen Neuropathie und der zentralen schmerzhaften Neuropathie, war der Anteil an pathologisch erhöhten und erniedrigten Werte fast identisch (Maier et al. 2010).

Aufgrund dieser Beobachtung wurden Regressionsanalysen zum Ausschluss einer signifikanten Korrelation zwischen den Ätiologien, dem Alter sowie dem Geschlecht und den MPT- und MPS-Werten in der Probandenpopulation dieser Studie durchgeführt.

Die dabei festgestellten signifikanten Korrelationen zwischen den Erkrankungen komplexes regionales Schmerzsyndrom und Polyneuropathie und den MPT- und MPS-Werten lassen sich sehr gut mit der Beobachtung erklären, dass Patienten mit einem komplexen regionalen Schmerzsyndrom häufig eine mechanische Hyperalgesie besitzen, jedoch selten eine mechanische Hypalgesie. Bei den Patienten mit einer Polyneuropathie verhält es sich genau gegensätzlich (Maier et al. 2010). Darüberhinaus stellten diese beiden Subgruppen mit 29,6% und 25,0% den Hauptteil der Patienten dar, haben also den stärksten Effekt auf die Gesamtpopulation. Bei Festlegung eines üblichen Signifikanzniveaus mit 0,05 waren die Erkrankungen postzosterische Neuropathie und die periphere posttraumatische Neuropathie

zwar nicht signifikant, wurden aber als Kovarianten trotzdem in der quantitativen Assoziationsanalyse berücksichtigt, da ihre p -Werte nahe bei dem Signifikanzniveau von 0,05 lagen [Tabelle 10]. Eine Ausnahme bestand bei der postzosterischen Neuropathie; diese korrelierte signifikant mit dem MPS-Wert. Bei der postzosterischen Neuropathie lässt sich diese Beobachtung trotz der zahlenmäßig kleinen Subgruppe durch das häufige Auftreten von pathologisch erhöhten MPT- und MPS-Werten, bis zu 30,8% der Patienten bei MPS bzw. 29,2% bei MPT, gegenüber der sehr niedrigen Prävalenz von pathologisch erniedrigten Werten, 6,1% der Patienten bei MPS und 9,2% bei MPT, erklären. Betrachtet man nur die pathologischen und nicht die einzelnen MPT- und MPS-Werte, ist es bei der peripheren posttraumatischen Neuropathie eher überraschend, dass es zu einer signifikanten Korrelation kommt. Zusätzlich korrelierte in der vorliegenden Studie das Alter mit den MPT- und MPS-Werten signifikant.

Für die quantitative Assoziationsstudie wurden die Parameter Alter, komplexes regionales Schmerzsyndrom und Polyneuropathie als Kovarianten berücksichtigt, sowie die Erkrankungen postzosterische Neuropathie und periphere posttraumatische Neuropathie, um sicherzustellen, dass die berechneten Assoziationen spezifisch für den Zusammenhang zwischen den SNPs und den MPT- und MPS-Werten stehen. Der Einschluss von Kovarianten führt jedoch zu einem Verlust an Teststärke, so dass der Effekt der SNPs auf die MPT- und MPS-Werte bei gleicher Anzahl an Probanden umso höher sein muss, je mehr Kovarianten bei der Kalkulation berücksichtigt werden.

5.2.3 Ergebnisse der quantitativen Assoziationsstudie

Die mechanische Hyperalgesie ist, wie bereits im Kapitel 5.1.4 beschrieben, Kennzeichen einer zentralen Sensibilisierung (Ziegler et al. 1999; Baron 2006a). Es gibt verschiedene Mechanismen, die zur Entstehung dieser zentralen Sensibilisierung beitragen. Bei der quantitativen Assoziationsstudie dieser Studie wurden 14 SNPs, die als Risikovarianten für die Erkrankung RLS identifiziert worden, analysiert und somit deren Einfluss auf die mechanische Hyperalgesie bei Patienten mit neuropathischem Schmerz untersucht (Winkelmann et al. 2007b; Schormair et al. 2008).

Es konnte dabei keine Assoziation zwischen den getesteten 14 SNPs und den MPT-Werten gezeigt werden. Bezüglich der MPS-Werte war der SNP rs4626664 im Gen PTPRD nominal signifikant und der SNP rs9296249 im BTBD9-Gen zeigte einen Trend ($p = 0,082$). Nach Korrektur für multiples Testen war keine Assoziation mit den beiden SNPs mehr nachweisbar. Zusammenfassend ließ sich in dieser Studie kein signifikanter, valider Zusammenhang der RLS-assoziierten SNPs mit den MPT- und MPS-Werten neuropathischer Schmerzpatienten feststellen.

Zur Beurteilung der Aussagekraft der quantitativen Assoziationsstudie wurde die Teststärke berechnet. Diese lag lediglich bei 67%. Die Teststärke einer Studie gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit der Einfluss der untersuchenden Variante auch wirklich identifiziert werden kann. Sie ist abhängig von der Stärke des Effektes und der Anzahl der untersuchten Probanden. Sie wurde in diese Studie mit einem stark vereinfachten Modell für lineare Regression berechnet und gilt bei Approximation für kleine Effekte (Sokal 1995; Hsieh et al. 1998). Das Modell beruht auf der Vorstellung, dass die Varianz des Phänotyps durch viele Faktoren entsteht und der Effekt der Allele bei unterschiedlichen SNPs nur einen sehr geringen Einfluss auf die Varianz hat. Als erklärte Varianz wurde hier 1% verwendet, das heißt es wird angenommen, dass 1% der Varianz des Phänotyps durch den jeweiligen SNP erklärt wird. Eine Teststärke von 67% bedeutet, dass in nur circa 3 von 5 Studien mit diesem Design ein gegebenenfalls vorhandener Effekt der SNPs auf den Phänotypen tatsächlich identifiziert wird. Um die Teststärke aber auf den allgemein anerkannten Standard von 80% zu erhöhen, wäre eine Analyse von mindestens 1408 Patienten notwendig gewesen. Die bisher durchgeführten Assoziationsstudien für SNPs, wie zum Beispiel die genomweite Assoziationsstudie zur Körpergröße der Menschen, haben gezeigt, dass einzelne genetische Varianten in unterschiedlichen Genloci noch einen sehr viel kleineren Teil als 1% der Varianz des Phänotyps erklären. In einer quantitativen Assoziationsstudie zur Größe der Menschen konnten unter Einbeziehung von 183.727 Probanden über 600 genetische Varianten identifiziert werden, die jedoch alle zusammen nur 10% der Varianz des Phänotyps erklären konnten (Lango Allen et al. 2010). Nimmt man folglich eine kleinere für einen SNP erklärte Varianz von 0,1% in dieser Studie an, wären bereits 14.080 Patienten für eine Teststärke von 80% nötig. Da zum Zeitpunkt der Studie aber nur von 615 Patienten die DNA sowie ihre Daten zur Quantitativen Sensorischen Messung existierten und eine Rekrutierung zusätzlicher Patienten in so großer Zahl vermutlich mehrere Jahre gedauert hätte, konnte die Patientenbasis nicht entsprechend erweitert werden und die Validität der Aussage dieser Studie damit nicht erhöht werden.

Geht man davon aus, dass die MPT- und MPS-Werte neuropathischer Schmerzpatienten, wie diese Studie zunächst nahelegt, nicht mit den hier untersuchten 5 Genloci assoziiert sind, so wäre es durchaus interessant, in weiterführenden Studien zu untersuchen, ob andere genetische Varianten assoziiert sind. Eine weitreichende Möglichkeit wäre es dabei, eine genomweite Assoziationsstudie durchzuführen. Allerdings bestünde dann das gleiche statistische Problem wie in dieser Studie beschrieben; da in diesem Fall 10^6 SNPs zu untersuchen wären, bräuchte man mehrere zehntausend Probanden, um mit einer Teststärke von 80% und einem Signifikanzniveau von 5% eine Assoziation zwischen einem der SNPs und den MPT- bzw. MPS-Werten festzustellen (Pe'er et al. 2008). Eine gezielte Auswahl, sich gemäß bekannter oder vermuteter Funktion anbietender „Kandidaten“-Gene,

in eine Assoziationsstudie einzubeziehen, erscheint dabei als eine einfacher zu realisierende Alternative. In jedem Fall muss es Ziel des Deutschen Forschungsbundes für Neuropathischen Schmerz und dessen Beteiligten sein, eine weitaus größere Anzahl an Probanden mit Hilfe der QST zu untersuchen und deren DNA zu gewinnen, um künftig aussagekräftige genetische Studien zur Quantitativen Sensorischen Messung zu ermöglichen.

Ein Ansatz für weiterführende Studien könnte ebenfalls darin bestehen, in einer Gruppe von RLS-Patienten eine quantitative Assoziationsstudie mit den RLS-assoziierten SNPs und den MPT- und MPS-Werten durchzuführen. Damit könnte gezeigt werden, ob die 14 RLS-assoziierten SNPs zumindest bei der Erkrankung des Restless Legs Syndrom einen Einfluss auf den MPT- und MPS-Wert haben. Auch hier wären für eine ausreichend hohe Teststärke deutlich mehr Probanden notwendig, als die im Rahmen dieser Studie rekrutierten 17 Patienten.

6 Zusammenfassung

Das Restless Legs Syndrom (RLS) ist eine häufige neurologische Erkrankung, bei der die Patienten über einen intensiven Bewegungsdrang der Beine berichten. Nahezu immer treten dabei Missempfindungen in den Beinen insbesondere in Ruhe und abends bzw. nachts auf, die viele Patienten als schmerzhaft empfinden (Winkelmann et al. 2000). Die beim RLS beschriebenen Dysästhesien kommen auch bei anderen Erkrankungen wie der Neuropathie vor (Sommer 2003; Baron 2006b). Ferner konnte in einigen Studien ein gehäuftes Auftreten des RLS mit einer peripheren Neuropathie gezeigt werden (Iannaccone et al. 1995; Gemignani et al. 2006). Im somatosensorischen Profil von Patienten mit neuropathischem Schmerz oder RLS, konnte eine mechanische Hyperalgesie durch eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle (mechanical pain threshold, MPT) und eine erhöhte mechanische Schmerzsensitivität (mechanical pain sensitivity, MPS) festgestellt werden (Baron 2006a; Bachmann et al. 2010).

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde ein RLS-Patientenkollektiv hinsichtlich einer möglichen mechanischen Hyperalgesie untersucht. Hierzu wurden 17 primäre RLS-Patienten (Alter: $57,12 \pm 11,54$ Jahre) und 25 gesunde Probanden (Alter: $52,68 \pm 8,33$ Jahren) mit Bestandteilen der Quantitativen Sensorischen Testung (QST) untersucht und mit 180 gesunden Kontrollen des Normkollektives des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz (DFNS) verglichen. Die QST wurde vom DFNS entwickelt, um die thermische und mechanische Empfindung an der Haut zu testen (Rolke et al. 2006a). Die Messungen erfolgten abends zwischen 18:00 und 22:00 am Fußrücken und Handaußenseite, die RLS-spezifischen Medikamente wurden für die 5-fache Halbwertszeit vorher abgesetzt. Der Hinweis auf eine statisch mechanische Hyperalgesie bei RLS-Patienten konnten in dieser Studie bestätigt werden. Zusätzlich konnte eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle gegenüber stumpfen mechanischen Stimulatoren bei normaler taktiler Detektionsschwelle festgestellt werden. Die thermische Unterscheidungsschwelle war bei den RLS-Patienten unauffällig. Die mechanische Hyperalgesie ist Kennzeichen der sekundären Hyperalgesie und spricht für den Pathomechanismus der zentralen Sensibilisierung (LaMotte et al. 1991; Ziegler et al. 1999; Sandkuhler 2009). Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde eine quantitative Assoziationsanalyse mit neuropathischen Schmerzpatienten mit einer mechanischen Hyperalgesie durchgeführt. Dabei sollte der Einfluss der RLS-assoziierten Einzel-Nukleotid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphism, SNP) hinsichtlich der beim RLS auffälligen Werte der QST (MPT- bzw. MPS-Werte) in diesem Patientenkollektiv untersucht werden. Die Genotypisierung der SNPs wurde mittels der Massenspektroskopie durchgeführt. Nach den Qualitätskontrollen konnten 14 SNPs in 609 DNA-Proben analysiert werden. Nach Korrektur für multiples Testen

nach Bonferroni konnte keine Assoziation zwischen den SNPs und den MPT- bzw. MPS-Werten im untersuchten Patientenkollektiv festgestellt werden. Die Teststärke der quantitativen Assoziationsstudie lag allerdings nur bei 67% und konnte aufgrund der kleinen Stichprobe nicht auf den allgemein anerkannten Standard von 80% erhöht werden. Um die Teststärke zukünftiger genetischer Studien zu erhöhen bzw. um genomweite Assoziationsstudien zur QST überhaupt möglich zu machen, muss das Probandenkollektiv neuropathischer Schmerzpatienten um ein Vielfaches vergrößert werden. Es ist davon auszugehen, dass in zukünftigen genomweiten Assoziationsstudien neue RLS-Risikovarianten identifiziert werden können, die die Voraussetzung bilden, die pathophysiologischen Grundlagen der mechanischen Hyperalgesie bei RLS-Patienten aufzuklären.

7 Literaturverzeichnis

Allen, R. P. and Earley, C. J. "Defining the phenotype of the restless legs syndrome (RLS) using age-of-symptom-onset." *Sleep Med*, 1, (2000), 11-19.

Allen, R. P. and Earley, C. J. "Restless legs syndrome: a review of clinical and pathophysiologic features." *J Clin Neurophysiol*, 18, (2001), 128-47.

Allen, R. P. and Earley, C. J. "The role of iron in restless legs syndrome." *Mov Disord*, 22 Suppl 18, (2007), S440-8.

Allen, R. P., La Buda, M. C., Becker, P. and Earley, C. J. "Family history study of the restless legs syndrome." *Sleep Med*, 3 Suppl, (2002), S3-7.

Allen, R. P., Picchiatti, D., Hening, W. A., Trenkwalder, C., Walters, A. S. and Montplaisir, J. "Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the National Institutes of Health." *Sleep Med*, 4, (2003), 101-19.

Allen, R. P., Walters, A. S., Montplaisir, J., Hening, W., Myers, A., Bell, T. J. and Ferini-Strambi, L. "Restless legs syndrome prevalence and impact: REST general population study." *Arch Intern Med*, 165, (2005), 1286-92.

Bachmann, C. G., Rolke, R., Scheidt, U., Stadelmann, C., Sommer, M., Pavlakovic, G., Happe, S., Treede, R. D. and Paulus, W. "Thermal hypoaesthesia differentiates secondary restless legs syndrome associated with small fibre neuropathy from primary restless legs syndrome." *Brain*, 133, (2010), 762-70.

Balding, D. J. "A tutorial on statistical methods for population association studies." *Nat Rev Genet*, 7, (2006), 781-91.

Bara-Jimenez, W., Aksu, M., Graham, B., Sato, S. and Hallett, M. "Periodic limb movements in sleep: state-dependent excitability of the spinal flexor reflex." *Neurology*, 54, (2000), 1609-16.

Baron, R. "Mechanisms of disease: neuropathic pain--a clinical perspective." *Nat Clin Pract Neurol*, 2, (2006a), 95-106.

Baron, R. "Diagnostik und Therapie neuropatischer Schmerzen." *Deutsche Aerzteblatt*, 103, (2006b), 2720-30.

- Baron, R. and Toelle, T. R. "Assessment and diagnosis of neuropathic pain." *Curr Opin Support Palliat Care*, 2, (2008), 1-8.
- Bassetti, C. L., Mauerhofer, D., Gugger, M., Mathis, J. and Hess, C. W. "Restless legs syndrome: a clinical study of 55 patients." *Eur Neurol*, 45, (2001), 67-74.
- Baumgartner, U., Magerl, W., Klein, T., Hopf, H. C. and Treede, R. D. "Neurogenic hyperalgesia versus painful hypoalgesia: two distinct mechanisms of neuropathic pain." *Pain*, 96, (2002), 141-51.
- Benes, H., Kurella, B., Kummer, J., Kazenwadel, J., Selzer, R. and Kohnen, R. "Rapid onset of action of levodopa in restless legs syndrome: a double-blind, randomized, multicenter, crossover trial." *Sleep*, 22, (1999), 1073-81.
- Berger, K. and Kurth, T. "RLS epidemiology--frequencies, risk factors and methods in population studies." *Mov Disord*, 22 Suppl 18, (2007), S420-3.
- Berger, K., Luedemann, J., Trenkwalder, C., John, U. and Kessler, C. "Sex and the risk of restless legs syndrome in the general population." *Arch Intern Med*, 164, (2004), 196-202.
- Bucher, S. F., Seelos, K. C., Oertel, W. H., Reiser, M. and Trenkwalder, C. "Cerebral generators involved in the pathogenesis of the restless legs syndrome." *Ann Neurol*, 41, (1997), 639-45.
- Catoire, H., Dion, P. A., Xiong, L., Amari, M., Gaudet, R., Girard, S. L., Noreau, A., Gaspar, C., Turecki, G., Montplaisir, J. Y., Parker, J. A. and Rouleau, G. A. "Restless legs syndrome-associated MEIS1 risk variant influences iron homeostasis." *Ann Neurol*, 70, (2011), 170-5.
- Cavanaugh, J. E., Jaumotte, J. D., Lakoski, J. M. and Zigmond, M. J. "Neuroprotective role of ERK1/2 and ERK5 in a dopaminergic cell line under basal conditions and in response to oxidative stress." *J Neurosci Res*, 84, (2006), 1367-75.
- Chan, A. W., MacFarlane, I. A., Bowsher, D. and Campbell, J. A. "Weighted needle pinprick sensory thresholds: a simple test of sensory function in diabetic peripheral neuropathy." *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 55, (1992), 56-9.
- Cheng, L., Samad, O. A., Xu, Y., Mizuguchi, R., Luo, P., Shirasawa, S., Goulding, M. and Ma, Q. "Lbx1 and Tlx3 are opposing switches in determining GABAergic versus glutamatergic transmitter phenotypes." *Nat Neurosci*, 8, (2005), 1510-5.
- Clemens, S., Rye, D. and Hochman, S. "Restless legs syndrome: revisiting the dopamine hypothesis from the spinal cord perspective." *Neurology*, 67, (2006), 125-30.

Comella, C. L. "Restless legs syndrome: treatment with dopaminergic agents." *Neurology*, 58, (2002), S87-92.

Connor, J. R., Boyer, P. J., Menzies, S. L., Dellinger, B., Allen, R. P., Ondo, W. G. and Earley, C. J. "Neuropathological examination suggests impaired brain iron acquisition in restless legs syndrome." *Neurology*, 61, (2003), 304-9.

Cruccu, G., Anand, P., Attal, N., Garcia-Larrea, L., Haanpaa, M., Jorum, E., Serra, J. and Jensen, T. S. "EFNS guidelines on neuropathic pain assessment." *Eur J Neurol*, 11, (2004), 153-62.

D'Mello, R. and Dickenson, A. H. "Spinal cord mechanisms of pain." *Br J Anaesth*, 101, (2008), 8-16.

DeAndrade, M. P., Johnson, R. L., Jr., Unger, E. L., Zhang, L., van Groen, T., Gamble, K. L. and Li, Y. "Motor restlessness, sleep disturbances, thermal sensory alterations and elevated serum iron levels in Btd9 mutant mice." *Hum Mol Genet*, 21, (2012), 3984-92.

Desautels, A., Turecki, G., Montplaisir, J., Sequeira, A., Verner, A. and Rouleau, G. A. "Identification of a major susceptibility locus for restless legs syndrome on chromosome 12q." *Am J Hum Genet*, 69, (2001), 1266-70.

Diatchenko, L., Nackley, A. G., Tchivileva, I. E., Shabalina, S. A. and Maixner, W. "Genetic architecture of human pain perception." *Trends Genet*, 23, (2007), 605-13.

Dib-Hajj, S. D., Rush, A. M., Cummins, T. R., Hisama, F. M., Novella, S., Tyrrell, L., Marshall, L. and Waxman, S. G. "Gain-of-function mutation in Nav1.7 in familial erythromelalgia induces bursting of sensory neurons." *Brain*, 128, (2005), 1847-54.

Dworkin, R. H., Backonja, M., Rowbotham, M. C., Allen, R. R., Argoff, C. R., Bennett, G. J., Bushnell, M. C., Farrar, J. T., Galer, B. S., Haythornthwaite, J. A., Hewitt, D. J., Loeser, J. D., Max, M. B., Saltarelli, M., Schmader, K. E., Stein, C., Thompson, D., Turk, D. C., Wallace, M. S., Watkins, L. R. and Weinstein, S. M. "Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations." *Arch Neurol*, 60, (2003), 1524-34.

Ekbom, K. "Restless legs: a clinical study." *Acta Med Scand Suppl*, (1945), 1-123.

Ekbom, K. and Ulfberg, J. "Restless legs syndrome." *J Intern Med*, 266, (2009), 419-31.

Freyenhagen, R., Rolke, R., Baron, R., Tölle, T. R., Rutjes, A. K., Schu, S. and Treede, R. D. "Pseudoradicular and radicular low-back pain--a disease continuum rather than different entities? Answers from quantitative sensory testing." *Pain*, 135, (2008), 65-74.

- Fruhstorfer, H., Gross, W. and Selbmann, O. "von Frey hairs: new materials for a new design." *Eur J Pain*, 5, (2001), 341-2.
- Gabriel, S., Ziaugra, L. and Tabbaa, D. "SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform." *Curr Protoc Hum Genet*, Chapter 2, (2009), Unit 2 12.
- Garcia-Borreguero, D., Egatz, R., Winkelmann, J. and Berger, K. "Epidemiology of restless legs syndrome: the current status." *Sleep Med Rev*, 10, (2006), 153-67.
- Gemignani, F., Brindani, F., Negrotti, A., Vitetta, F., Alfieri, S. and Marbini, A. "Restless legs syndrome and polyneuropathy." *Mov Disord*, 21, (2006), 1254-7.
- Gemignani, F. and Vitetta, F. "Sensory profile in primary restless legs syndrome and restless legs syndrome associated with small fibre neuropathy." *Brain*, 134, (2010), e167.
- Gross, M. K., Dottori, M. and Goulding, M. "Lbx1 specifies somatosensory association interneurons in the dorsal spinal cord." *Neuron*, 34, (2002), 535-49.
- Hadjigeorgiou, G. M., Stefanidis, I., Dardiotis, E., Aggelakis, K., Sakkas, G. K., Xiomerisiou, G., Konitsiotis, S., Paterakis, K., Poultzidi, A., Tsimourtou, V., Ralli, S., Gourgoulisanis, K. and Zintzaras, E. "Low RLS prevalence and awareness in central Greece: an epidemiological survey." *Eur J Neurol*, 14, (2007), 1275-80.
- Hanson, M., Honour, M., Singleton, A., Crawley, A., Hardy, J. and Gwinn-Hardy, K. "Analysis of familial and sporadic restless legs syndrome in age of onset, gender, and severity features." *J Neurol*, 251, (2004), 1398-401.
- Hening, W., Allen, R., Earley, C., Kushida, C., Picchietti, D. and Silber, M. "The treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder. An American Academy of Sleep Medicine Review." *Sleep*, 22, (1999a), 970-99.
- Hening, W. A., Walters, A. S., Wagner, M., Rosen, R., Chen, V., Kim, S., Shah, M. and Thai, O. "Circadian rhythm of motor restlessness and sensory symptoms in the idiopathic restless legs syndrome." *Sleep*, 22, (1999b), 901-12.
- Hogl, B., Kiechl, S., Willeit, J., Saletu, M., Frauscher, B., Seppi, K., Muller, J., Rungger, G., Gasperi, A., Wenning, G. and Poewe, W. "Restless legs syndrome: a community-based study of prevalence, severity, and risk factors." *Neurology*, 64, (2005), 1920-4.
- Hsieh, F. Y., Bloch, D. A. and Larsen, M. D. "A simple method of sample size calculation for linear and logistic regression." *Stat Med*, 17, (1998), 1623-34.

Iannaccone, S., Zucconi, M., Marchettini, P., Ferini-Strambi, L., Nemni, R., Quattrini, A., Palazzi, S., Lacerenza, M., Formaglio, F. and Smirne, S. "Evidence of peripheral axonal neuropathy in primary restless legs syndrome." *Mov Disord*, 10, (1995), 2-9.

Illig, T., Vollmert, C., Gohlke H. and Klopp, N. (2004) "Hochdurchsatz SNP Genotypisierung mit MALDI TOF MS (http://epi.gsf.de/kora-gen/seiten/biospektrum_200405.pdf)." (Retrieved 18.05.2011)

Jensen, T. S. and Baron, R. "Translation of symptoms and signs into mechanisms in neuropathic pain." *Pain*, 102, (2003), 1-8.

Kosek, E., Ekholm, J. and Hansson, P. "Pressure pain thresholds in different tissues in one body region. The influence of skin sensitivity in pressure algometry." *Scand J Rehabil Med*, 31, (1999), 89-93.

LaMotte, R. H., Shain, C. N., Simone, D. A. and Tsai, E. F. "Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms." *J Neurophysiol*, 66, (1991), 190-211.

Lango Allen, H., Estrada, K., Lettre, G., Berndt, S. I., Weedon, M. N., Rivadeneira, F., Willer, C. J., Jackson, A. U., Vedantam, S., Raychaudhuri, S., Ferreira, T., Wood, A. R., Weyant, R. J., Segre, A. V., Speliotes, E. K., Wheeler, E., Soranzo, N., Park, J. H., Yang, J., Gudbjartsson, D., Heard-Costa, N. L., Randall, J. C., Qi, L., Vernon Smith, A., Magi, R., Pastinen, T., Liang, L., Heid, I. M., Luan, J., Thorleifsson, G., Winkler, T. W., Goddard, M. E., Sin Lo, K., Palmer, C., Workalemahu, T., Aulchenko, Y. S., Johansson, A., Zillikens, M. C., Feitosa, M. F., Esko, T., Johnson, T., Ketkar, S., Kraft, P., Mangino, M., Prokopenko, I., Absher, D., Albrecht, E., Ernst, F., Glazer, N. L., Hayward, C., Hottenga, J. J., Jacobs, K. B., Knowles, J. W., Kutalik, Z., Monda, K. L., Polasek, O., Preuss, M., Rayner, N. W., Robertson, N. R., Steinthorsdottir, V., Tyrer, J. P., Voight, B. F., Wiklund, F., Xu, J., Zhao, J. H., Nyholt, D. R., Pellikka, N., Perola, M., Perry, J. R., Surakka, I., Tammesoo, M. L., Altmaier, E. L., Amin, N., Aspelund, T., Bhangale, T., Boucher, G., Chasman, D. I., Chen, C., Coin, L., Cooper, M. N., Dixon, A. L., Gibson, Q., Grundberg, E., Hao, K., Juhani Juntila, M., Kaplan, L. M., Kettunen, J., König, I. R., Kwan, T., Lawrence, R. W., Levinson, D. F., Lorentzon, M., McKnight, B., Morris, A. P., Müller, M., Suh Ngwa, J., Purcell, S., Rafelt, S., Salem, R. M., Salvi, E., Sanna, S., Shi, J., Sovio, U., Thompson, J. R., Turchin, M. C., Vandenput, L., Verlaan, D. J., Vitart, V., White, C. C., Ziegler, A., Almgren, P., Balmforth, A. J., Campbell, H., Citterio, L., De Grandi, A., Dominiczak, A., Duan, J., Elliott, P., Elosua, R., Eriksson, J. G., Freimer, N. B., Geus, E. J., Glorioso, N., Haiqing, S., Hartikainen, A. L., Havulinna, A. S., Hicks, A. A., Hui, J., Igl, W., Illig, T., Jula, A., Kajantie, E., Kilpelainen, T. O., Koiranen, M., Kolcic, I., Koskinen, S., Kovacs, P., Laitinen, J., Liu, J., Lokki, M. L., Marusic, A., Maschio, A., Meitinger, T., Mulas, A., Pare, G., Parker, A. N., Peden, J. F., Petersmann, A., Pichler, I.,

Pietilainen, K. H., Pouta, A., Ridderstrale, M., Rotter, J. I., Sambrook, J. G., Sanders, A. R., Schmidt, C. O., Sinisalo, J., Smit, J. H., Stringham, H. M., Bragi Walters, G., Widen, E., Wild, S. H., Willemsen, G., Zagato, L., Zgaga, L., Zitting, P., Alavere, H., Farrall, M., McArdle, W. L., Nelis, M., Peters, M. J., Ripatti, S., van Meurs, J. B., Aben, K. K., Ardlie, K. G., Beckmann, J. S., Beilby, J. P., Bergman, R. N., Bergmann, S., Collins, F. S., Cusi, D., den Heijer, M., Eiriksdottir, G., Gejman, P. V., Hall, A. S., Hamsten, A., Huikuri, H. V., Iribarren, C., Kahonen, M., Kaprio, J., Kathiresan, S., Kiemenev, L., Kocher, T., Launer, L. J., Lehtimäki, T., Melander, O., Mosley, T. H., Jr., Musk, A. W., Nieminen, M. S., O'Donnell, C. J., Ohlsson, C., Oostra, B., Palmer, L. J., Raitakari, O., Ridker, P. M., Rioux, J. D., Rissanen, A., Rivolta, C., Schunkert, H., Shuldiner, A. R., Siscovick, D. S., Stumvoll, M., Tonjes, A., Tuomilehto, J., van Ommen, G. J., Viikari, J., Heath, A. C., Martin, N. G., Montgomery, G. W., Province, M. A., Kayser, M., Arnold, A. M., Atwood, L. D., Boerwinkle, E., Chanoock, S. J., Deloukas, P., Gieger, C., Gronberg, H., Hall, P., Hattersley, A. T., Hengstenberg, C., Hoffman, W., Lathrop, G. M., Salomaa, V., Schreiber, S., Uda, M., Waterworth, D., Wright, A. F., Assimes, T. L., Barroso, I., Hofman, A., Mohlke, K. L., Boomsma, D. I., Caulfield, M. J., Cupples, L. A., Erdmann, J., Fox, C. S., Gudnason, V., Gyllenstein, U., Harris, T. B., Hayes, R. B., Jarvelin, M. R., Mooser, V., Munroe, P. B., Ouwehand, W. H., Penninx, B. W., Pramstaller, P. P., Quertermous, T., Rudan, I., Samani, N. J., Spector, T. D., Volzke, H., Watkins, H., Wilson, J. F., Groop, L. C., Haritunians, T., Hu, F. B., Kaplan, R. C., Metspalu, A., North, K. E., Schlessinger, D., Wareham, N. J., Hunter, D. J., O'Connell, J. R., Strachan, D. P., Wichmann, H. E., Borecki, I. B., van Duijn, C. M., Schadt, E. E., Thorsteinsdottir, U., Peltonen, L., Uitterlinden, A. G., Visscher, P. M., Chatterjee, N., Loos, R. J., Boehnke, M., McCarthy, M. I., Ingelsson, E., Lindgren, C. M., Abecasis, G. R., Stefansson, K., Frayling, T. M. and Hirschhorn, J. N. "Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height." *Nature*, 467, (2010), 832-8.

Levchenko, A., Montplaisir, J. Y., Asselin, G., Provost, S., Girard, S. L., Xiong, L., Lemyre, E., St-Onge, J., Thibodeau, P., Desautels, A., Turecki, G., Gaspar, C., Dube, M. P. and Rouleau, G. A. "Autosomal-dominant locus for Restless Legs Syndrome in French-Canadians on chromosome 16p12.1." *Mov Disord*, 24, (2009), 40-50.

Luo, Z. D., Chaplan, S. R., Higuera, E. S., Sorkin, L. S., Stauderman, K. A., Williams, M. E. and Yaksh, T. L. "Upregulation of dorsal root ganglion ($\alpha_2(\delta)$ calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats." *J Neurosci*, 21, (2001), 1868-75.

Magerl, W., Krumova, E. K., Baron, R., Tölle, T., Treede, R. D. and Maier, C. "Reference data for quantitative sensory testing (QST): refined stratification for age and a novel method for statistical comparison of group data." *Pain*, 151, (2010), 598-605.

Maier, C., Baron, R., Tölle, T. R., Binder, A., Birbaumer, N., Birklein, F., Gierthmühlen, J., Flor, H., Geber, C., Hüge, V., Krumova, E. K., Landwehrmeyer, G. B., Magerl, W., Maihofner, C., Richter, H., Rolke, R., Scherens, A., Schwarz, A., Sommer, C., Tronnier, V., Uceyler, N., Valet, M., Wasner, G. and Treede, R. D. "Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): somatosensory abnormalities in 1236 patients with different neuropathic pain syndromes." *Pain*, 150, (2010), 439-50.

Manconi, M., Govoni, V., De Vito, A., Economou, N. T., Cesnik, E., Mollica, G. and Granieri, E. "Pregnancy as a risk factor for restless legs syndrome." *Sleep Med*, 5, (2004), 305-8.

Meßlinger, K. "Somatoviszzerale Sensibilität". *Physiologie*. R. Klinke, H. S. Pape and S. Sibernagl. Georg Thieme Verlag KG Stuttgart (2005). 5. Auflage 627-656.

Mignot, E. "A step forward for restless legs syndrome." *Nat Genet*, 39, (2007), 938-9.

Monforte, J. A. and Becker, C. H. "High-throughput DNA analysis by time-of-flight mass spectrometry." *Nat Med*, 3, (1997), 360-2.

Montplaisir, J., Boucher, S., Nicolas, A., Lesperance, P., Gosselin, A., Rompre, P. and Lavigne, G. "Immobilization tests and periodic leg movements in sleep for the diagnosis of restless leg syndrome." *Mov Disord*, 13, (1998), 324-9.

Montplaisir, J., Boucher, S., Poirier, G., Lavigne, G., Lapierre, O. and Lesperance, P. "Clinical, polysomnographic, and genetic characteristics of restless legs syndrome: a study of 133 patients diagnosed with new standard criteria." *Mov Disord*, 12, (1997), 61-5.

Moore, K. A., Kohno, T., Karchewski, L. A., Scholz, J., Baba, H. and Woolf, C. J. "Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord." *J Neurosci*, 22, (2002), 6724-31.

O'Keeffe, S. T., Gavin, K. and Lavan, J. N. "Iron status and restless legs syndrome in the elderly." *Age Ageing*, 23, (1994), 200-3.

Ondo, W. and Jankovic, J. "Restless legs syndrome: clinicoetiologic correlates." *Neurology*, 47, (1996), 1435-41.

Ondo, W. G., He, Y., Rajasekaran, S. and Le, W. D. "Clinical correlates of 6-hydroxydopamine injections into A11 dopaminergic neurons in rats: a possible model for restless legs syndrome." *Mov Disord*, 15, (2000), 154-8.

Paulus, W., Dowling, P., Rijsman, R., Stiasny-Kolster, K. and Trenkwalder, C. "Update of the pathophysiology of the restless-legs-syndrome." *Mov Disord*, 22 Suppl 18, (2007a), S431-9.

- Paulus, W., Dowling, P., Rijsman, R., Stiasny-Kolster, K., Trenkwalder, C. and de Weerd, A. "Pathophysiological concepts of restless legs syndrome." *Mov Disord*, 22, (2007b), 1451-6.
- Pe'er, I., Yelensky, R., Altshuler, D. and Daly, M. J. "Estimation of the multiple testing burden for genomewide association studies of nearly all common variants." *Genet Epidemiol*, 32, (2008), 381-5.
- Pertovaara, A. "A neuronal correlate of secondary hyperalgesia in the rat spinal dorsal horn is submodality selective and facilitated by supraspinal influence." *Exp Neurol*, 149, (1998), 193-202.
- Polydefkis, M., Allen, R. P., Hauer, P., Earley, C. J., Griffin, J. W. and McArthur, J. C. "Subclinical sensory neuropathy in late-onset restless legs syndrome." *Neurology*, 55, (2000), 1115-21.
- Purcell, S., De Bakker, P., Bender, D., Daly, M., Maller, J., Neale, B., Plenge, R., Thomas, L., Todd-Brown, K. and Sham, P. (2007a) "PLINK v1.07: Quantitative trait association (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/anal.shtml#qt>)." (Retrieved) 04.02.2012
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I., Daly, M. J. and Sham, P. C. "PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses." *Am J Hum Genet*, 81, (2007b), 559-75.
- Rolke, R., Andrews, K., Magerl, W. and Treede, R.-D. "Handlungsanweisung für den Untersucher: Eine standardisierte Testbatterie für die sensorische Testung." Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Universität Mainz, Mainz, 2002.
- Rolke, R., Baron, R., Maier, C., Tölle, T. R., Treede, R. D., Beyer, A., Binder, A., Birbaumer, N., Birklein, F., Botefur, I. C., Braune, S., Flor, H., Hüge, V., Klug, R., Landwehrmeyer, G. B., Magerl, W., Maihofner, C., Rolko, C., Schaub, C., Scherens, A., Sprenger, T., Valet, M. and Wasserka, B. "Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values." *Pain*, 123, (2006a), 231-43.
- Rolke, R., Magerl, W., Campbell, K. A., Schalber, C., Caspari, S., Birklein, F. and Treede, R. D. "Quantitative sensory testing: a comprehensive protocol for clinical trials." *Eur J Pain*, 10, (2006b), 77-88.
- Rothdach, A. J., Trenkwalder, C., Haberstock, J., Keil, U. and Berger, K. "Prevalence and risk factors of RLS in an elderly population: the MEMO study. Memory and Morbidity in Augsburg Elderly." *Neurology*, 54, (2000), 1064-8.

Rottach, K. G., Schaner, B. M., Kirch, M. H., Zivotofsky, A. Z., Teufel, L. M., Gallwitz, T. and Messer, T. "Restless legs syndrome as side effect of second generation antidepressants." *J Psychiatr Res*, 43, (2008), 70-5.

Ruß, A. and von Stuckrad-Barre, S. "Antiparkinsonmittel". *Arzneimittel pocket*. A. Ruß. Börm Bruckmeier Verlag GmbH. Grünwald. (2008). 14. Auflage: S. 232-234.

Sandkuhler, J. "Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia." *Physiol Rev*, 89, (2009), 707-58.

Schattschneider, J., Bode, A., Wasner, G., Binder, A., Deuschl, G. and Baron, R. "Idiopathic restless legs syndrome: abnormalities in central somatosensory processing." *J Neurol*, 251, (2004), 977-82.

Schormair, B., Kemlink, D., Roeske, D., Eckstein, G., Xiong, L., Lichtner, P., Ripke, S., Trenkwalder, C., Zimprich, A., Stiasny-Kolster, K., Oertel, W., Bachmann, C. G., Paulus, W., Hogl, B., Frauscher, B., Gschliesser, V., Poewe, W., Peglau, I., Vodicka, P., Vavrova, J., Sonka, K., Nevsimalova, S., Montplaisir, J., Turecki, G., Rouleau, G., Gieger, C., Illig, T., Wichmann, H. E., Holsboer, F., Muller-Myhsok, B., Meitinger, T. and Winkelmann, J. "PTPRD (protein tyrosine phosphatase receptor type delta) is associated with restless legs syndrome." *Nat Genet*, 40, (2008), 946-8.

Sevim, S., Dogu, O., Camdeviren, H., Bugdayci, R., Sasmaz, T., Kaleagasi, H., Aral, M. and Helvaci, I. "Unexpectedly low prevalence and unusual characteristics of RLS in Mersin, Turkey." *Neurology*, 61, (2003), 1562-9.

Silber, M. H., Ehrenberg, B. L., Allen, R. P., Buchfuhrer, M. J., Earley, C. J., Hening, W. A. and Rye, D. B. "An algorithm for the management of restless legs syndrome." *Mayo Clin Proc*, 79, (2004), 916-22.

Sokal, R. *Biometry*. S. R. a. R. F.J. W.H. Freeman and Company New York (1995). 578.

Sommer, C. "Painful neuropathies." *Curr Opin Neurol*, 16, (2003), 623-8.

Stefansson, H., Rye, D. B., Hicks, A., Petursson, H., Ingason, A., Thorgeirsson, T. E., Palsson, S., Sigmundsson, T., Sigurdsson, A. P., Eiriksdottir, I., Soebach, E., Bliwise, D., Beck, J. M., Rosen, A., Waddy, S., Trotti, L. M., Iranzo, A., Thambisetty, M., Hardarson, G. A., Kristjansson, K., Gudmundsson, L. J., Thorsteinsdottir, U., Kong, A., Gulcher, J. R., Gudbjartsson, D. and Stefansson, K. "A genetic risk factor for periodic limb movements in sleep." *N Engl J Med*, 357, (2007), 639-47.

- Stiasny-Kolster, K., Kohlen, R., Moller, J. C., Trenkwalder, C. and Oertel, W. H. "Validation of the "L-DOPA test" for diagnosis of restless legs syndrome." *Mov Disord*, 21, (2006), 1333-9.
- Stiasny-Kolster, K., Magerl, W., Oertel, W. H., Moller, J. C. and Treede, R. D. "Static mechanical hyperalgesia without dynamic tactile allodynia in patients with restless legs syndrome." *Brain*, 127, (2004), 773-82.
- Tan, E. K., Seah, A., See, S. J., Lim, E., Wong, M. C. and Koh, K. K. "Restless legs syndrome in an Asian population: A study in Singapore." *Mov Disord*, 16, (2001), 577-9.
- Tergau, F., Wischer, S. and Paulus, W. "Motor system excitability in patients with restless legs syndrome." *Neurology*, 52, (1999), 1060-3.
- Tison, F., Crochard, A., Leger, D., Bouee, S., Lainey, E. and El Hasnaoui, A. "Epidemiology of restless legs syndrome in French adults: a nationwide survey: the INSTANT Study." *Neurology*, 65, (2005), 239-46.
- Toelle, T. R. "Mit neuer Diagnostik zu einer neuen Klassifikation." *Neuro aktuell*, (2010), 27-28.
- Toelle, T. R. and Baron, R. "Neuropathische Schmerzen: Auf dem Weg vom Mechanismus zur Therapie." *Fortschritte der Medizin*, 120, (2002a), 49-59.
- Toelle, T. R. and Baron, R. (2002b) "DFNS Portrait: Aufgaben und Ziele (<http://www.neuro.med.tu-muenchen.de/dfns/uns/portrait.html>)." (Retrieved) 11.06.2012
- Toelle, T. R. and Baron, R. "Standardisierung der QST-Untersuchung schafft Basis für gezielte Therapie." *Angewandte Schmerztherapie und Palliativmedizin*, (2008), 47-51.
- Toelle, T. R., Baron, R., Maier, C. and Treede, R. D. "Neuropathische Schmerzen messbar machen." *Deutsche Zeitschrift für Klinische Forschung*, 3/4-2007, (2007), 58-62.
- Treede, R. D., Jensen, T. S., Campbell, J. N., Cruccu, G., Dostrovsky, J. O., Griffin, J. W., Hansson, P., Hughes, R., Nurmikko, T. and Serra, J. "Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes." *Neurology*, 70, (2008), 1630-5.
- Trenkwalder, C., Hening, W. A., Walters, A. S., Campbell, S. S., Rahman, K. and Chokroverty, S. "Circadian rhythm of periodic limb movements and sensory symptoms of restless legs syndrome." *Mov Disord*, 14, (1999), 102-10.

- Trenkwalder, C. and Paulus, W. "Why do restless legs occur at rest?--pathophysiology of neuronal structures in RLS. Neurophysiology of RLS (part 2)." *Clin Neurophysiol*, 115, (2004), 1975-88.
- Turjanski, N., Lees, A. J. and Brooks, D. J. "Striatal dopaminergic function in restless legs syndrome: 18F-dopa and 11C-raclopride PET studies." *Neurology*, 52, (1999), 932-7.
- Uetani, N., Chagnon, M. J., Kennedy, T. E., Iwakura, Y. and Tremblay, M. L. "Mammalian motoneuron axon targeting requires receptor protein tyrosine phosphatases sigma and delta." *J Neurosci*, 26, (2006), 5872-80.
- Vanegas, H. and Schaible, H. G. "Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory?" *Brain Res Brain Res Rev*, 46, (2004), 295-309.
- Vilarino-Guell, C., Farrer, M. J. and Lin, S. C. "A genetic risk factor for periodic limb movements in sleep." *N Engl J Med*, 358, (2008), 425-7.
- von Spiczak, S., Whone, A. L., Hammers, A., Asselin, M. C., Turkheimer, F., Tings, T., Happe, S., Paulus, W., Trenkwalder, C. and Brooks, D. J. "The role of opioids in restless legs syndrome: an [11C]diprenorphine PET study." *Brain*, 128, (2005), 906-17.
- Walters, A. S. "Toward a better definition of the restless legs syndrome. The International Restless Legs Syndrome Study Group." *Mov Disord*, 10, (1995), 634-42.
- Walters, A. S., LeBrocq, C., Dhar, A., Hening, W., Rosen, R., Allen, R. P. and Trenkwalder, C. "Validation of the International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome." *Sleep Med*, 4, (2003), 121-32.
- Walters, A. S., Winkelmann, J., Trenkwalder, C., Fry, J. M., Kataria, V., Wagner, M., Sharma, R., Hening, W. and Li, L. "Long-term follow-up on restless legs syndrome patients treated with opioids." *Mov Disord*, 16, (2001), 1105-9.
- Wei, F., Dubner, R. and Ren, K. "Dorsolateral funiculus-lesions unmask inhibitory or disfacilitatory mechanisms which modulate the effects of innocuous mechanical stimulation on spinal Fos expression after inflammation." *Brain Res*, 820, (1999), 112-6.
- Wetter, T. C., Brunner, J. and Bronisch, T. "Restless legs syndrome probably induced by risperidone treatment." *Pharmacopsychiatry*, 35, (2002), 109-11.
- Wetter, T. C., Eisensehr, I. and Trenkwalder, C. "Functional neuroimaging studies in restless legs syndrome." *Sleep Med*, 5, (2004), 401-6.

Whitton, S., Dauvilliers, Y., Pennestri, M. H., Vercauteren, F., Molinari, N., Petit, D. and Montplaisir, J. "Age-at-onset in restless legs syndrome: a clinical and polysomnographic study." *Sleep Med*, 9, (2007), 54-9.

Winkelman, J. W. "Considering the causes of RLS." *Eur J Neurol*, 13 Suppl 3, (2006), 8-14.

Winkelman, J. W., Chertow, G. M. and Lazarus, J. M. "Restless legs syndrome in end-stage renal disease." *Am J Kidney Dis*, 28, (1996), 372-8.

Winkelman, J. W., Shahar, E., Sharief, I. and Gottlieb, D. J. "Association of restless legs syndrome and cardiovascular disease in the Sleep Heart Health Study." *Neurology*, 70, (2008), 35-42.

Winkelmann, J. "Genetics of restless legs syndrome." *Curr Neurol Neurosci Rep*, 8, (2008), 211-6.

Winkelmann, J., Czamara, D., Schormair, B., Knauf, F., Schulte, E. C., Trenkwalder, C., Dauvilliers, Y., Polo, O., Hogl, B., Berger, K., Fuhs, A., Gross, N., Stiasny-Kolster, K., Oertel, W., Bachmann, C. G., Paulus, W., Xiong, L., Montplaisir, J., Rouleau, G. A., Fietze, I., Vavrova, J., Kemlink, D., Sonka, K., Nevsimalova, S., Lin, S. C., Wszolek, Z., Vilarino-Guell, C., Farrer, M. J., Gschliesser, V., Frauscher, B., Falkenstetter, T., Poewe, W., Allen, R. P., Earley, C. J., Ondo, W. G., Le, W. D., Spieler, D., Kaffe, M., Zimprich, A., Kettunen, J., Perola, M., Silander, K., Cournu-Rebeix, I., Francavilla, M., Fontenille, C., Fontaine, B., Vodicka, P., Prokisch, H., Lichtner, P., Peppard, P., Faraco, J., Mignot, E., Gieger, C., Illig, T., Wichmann, H. E., Muller-Myhsok, B. and Meitinger, T. "Genome-wide association study identifies novel restless legs syndrome susceptibility loci on 2p14 and 16q12.1." *PLoS Genet*, 7, (2011), e1002171.

Winkelmann, J., Lichtner, P., Schormair, B., Uhr, M., Hauk, S., Stiasny-Kolster, K., Trenkwalder, C., Paulus, W., Peglau, I., Eisensehr, I., Illig, T., Wichmann, H. E., Pfister, H., Golic, J., Bettecken, T., Putz, B., Holsboer, F., Meitinger, T. and Muller-Myhsok, B. "Variants in the neuronal nitric oxide synthase (nNOS, NOS1) gene are associated with restless legs syndrome." *Mov Disord*, 23, (2008), 350-8.

Winkelmann, J., Polo, O., Provini, F., Nevsimalova, S., Kemlink, D., Sonka, K., Hogl, B., Poewe, W., Stiasny-Kolster, K., Oertel, W., de Weerd, A., Strambi, L. F., Zucconi, M., Pramstaller, P. P., Arnulf, I., Trenkwalder, C., Klein, C., Hadjigeorgiou, G. M., Happe, S., Rye, D. and Montagna, P. "Genetics of restless legs syndrome (RLS): State-of-the-art and future directions." *Mov Disord*, 22 Suppl 18, (2007a), S449-58.

Winkelmann, J., Schormair, B., Lichtner, P., Ripke, S., Xiong, L., Jalilzadeh, S., Fulda, S., Putz, B., Eckstein, G., Hauk, S., Trenkwalder, C., Zimprich, A., Stiasny-Kolster, K., Oertel, W., Bachmann, C. G., Paulus, W., Peglau, I., Eisensehr, I., Montplaisir, J., Turecki, G., Rouleau, G., Gieger, C., Illig, T., Wichmann, H. E., Holsboer, F., Muller-Myhsok, B. and Meitinger, T. "Genome-wide association study of restless legs syndrome identifies common variants in three genomic regions." *Nat Genet*, 39, (2007b), 1000-6.

Winkelmann, J., Stautner, A., Samtleben, W. and Trenkwalder, C. "Long-term course of restless legs syndrome in dialysis patients after kidney transplantation." *Mov Disord*, 17, (2002), 1072-6.

Winkelmann, J. and Trenkwalder, C. "[Pathophysiology of restless-legs syndrome. Review of current research]." *Nervenarzt*, 72, (2001), 100-7.

Winkelmann, J., Wetter, T. C., Collado-Seidel, V., Gasser, T., Dichgans, M., Yassouridis, A. and Trenkwalder, C. "Clinical characteristics and frequency of the hereditary restless legs syndrome in a population of 300 patients." *Sleep*, 23, (2000), 597-602.

Xiong, L., Jang, K., Montplaisir, J., Levchenko, A., Thibodeau, P., Gaspar, C., Turecki, G. and Rouleau, G. A. "Canadian restless legs syndrome twin study." *Neurology*, 68, (2007), 1631-3.

Yarnitsky, D. and Sprecher, E. "Thermal testing: normative data and repeatability for various test algorithms." *J Neurol Sci*, 125, (1994), 39-45.

Yuan, S. H., Qiu, Z. and Ghosh, A. "TOX3 regulates calcium-dependent transcription in neurons." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, (2009), 2909-14.

Ziegler, E. A., Magerl, W., Meyer, R. A. and Treede, R. D. "Secondary hyperalgesia to punctate mechanical stimuli. Central sensitization to A-fibre nociceptor input." *Brain*, 122 (1999), 2245-57.

Zieglgansberger, W., Berthele, A. and Tölle, T. R. "Understanding neuropathic pain." *CNS Spectr*, 10, (2005), 298-308.

8 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Winkelmann für die Bereitstellung des spannenden Themas meiner Doktorarbeit und die exzellente Betreuung. Sie leitete mich zu wissenschaftlicher Diskussion an und unterstützte mich jederzeit durch konstruktive fachliche Kritik. Ihre stets professionelle und freundliche Unterstützung trug wesentlich zur Erstellung dieser Arbeit bei.

Herrn Prof. Dr. Dr. Tölle, der mir gemeinsam mit Frau Prof. Dr. Winkelmann das Thema meiner Doktorarbeit überließ, danke ich für die freundliche Unterstützung. Er stand mir bei allen meinen Fragen mit fachlichem Rat zur Seite.

Herrn PD. Dr. Oexle möchte ich gleichermaßen für die Betreuung danken. Durch seine zahlreichen Denkanstöße lernte ich nicht nur wissenschaftliches Arbeiten und Denken, sondern erhielt auch Anregungen für meine berufliche Entwicklung.

Herrn Univ.-Prof. Dr. Meitinger und Herrn Univ.-Prof. Dr. Hemmer darf ich für die hervorragenden Arbeitsbedingungen danken, die das Zustandekommen dieser Arbeit erst ermöglicht haben.

Herrn Prof. Dr. Berthele und Herrn PD. Dr. Valet danke ich dafür, dass sie mich jederzeit mit viel Hingabe bei der Durchführung der Quantitativ Sensorischen Testung unterstützt haben.

Frau Dr. Schormair danke ich für die hilfsreiche Begleitung während den Arbeiten im Helmholtz Zentrum München. Ihre fachliche Expertise war mir stets eine wichtige Quelle.

Bei der Auswertung sowie Methodik der Genotypisierung stand mir Herr Dr. Lichtner zuverlässig und hilfsbereit zur Seite; dafür möchte ich Ihm danken.

Allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Neurogenetik, Restless Legs Syndrom, im Helmholtz Zentrum, insbesondere aber Frau Golic und Frau Feldmann danke ich für die bereitwillige und umfangreiche Hilfestellung im Labor.

Den Mitarbeitern des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz und insbesondere Herrn Prof. Dr. Maier danke ich für die Bereitstellung der Daten und der DNA-Proben von Patienten mit neuropathischem Schmerz.

Nicht zuletzt möchte ich Frau Dr. Schulte danken. Gemeinsam mit ihr hat es mir sehr viel Freude bereitet, Probanden für die unterschiedlichen Studien zu rekrutieren.

Ein ganz besonderer Dank gebührt allen gesunden Probanden und insbesondere den Patienten mit Restless Legs Syndrom, die mit ihrem Interesse und persönlichen Engagement diese Arbeit unterstützt haben. Ohne Sie hätte diese Arbeit nicht in der vorliegenden Form durchgeführt werden können.

Zuletzt möchte ich noch meiner Familie, insbesondere meinen Eltern danken für ihre Unterstützung nicht nur während der Entstehung dieser Doktorarbeit sondern darüber hinaus während meines gesamten Medizinstudiums.

9 Lebenslauf

Name: Berger
Vorname: Hannah Sophie
Geburtsdatum: 20.03.1987
Geburtsort: Gießen
Familienstand: ledig

Berufserfahrung

Seit 04.2013 Assistenzärztin im Notfallzentrum Salem Spital Bern, Schweiz

Studium

16.11.2012 Staatsexamen
10.2008 - 11.2012 Studium Humanmedizin, klinischer Abschnitt
Technische Universität München
20.08.2008 Physikum
10.2006 - 09.2008 Studium Humanmedizin, vorklinischer Abschnitt
Ludwig-Maximilians-Universität München

Schulbildung

30.06.2006 Allgemeine Hochschulreife
01.2004 - 04.2004 Auslandsaufenthalt: Birkenhead College in Auckland
(Neuseeland)
09.1997 – 06.2006 Gymnasium, Penzberg
09.1993 – 07.1997 Grundschule, Penzberg

Zusätzliche qualifizierende Tätigkeiten

10.2008 - 12.2008 Hilfsassistentin in der Neurophysiologie, LMU
05.2007 - 08.2011 Studentische Mitarbeiterin in der Dialysepraxis Dr. med. Heller

10 Anhang

Anhang 1: Anschreiben zur Teilnahme an der Studie

Anhang 2: Schweregrad-Skala der IRLSSG

Anhang 3: Abbild zum Einzeichnen der betroffenen Körperstellen

3a. weibliche Person

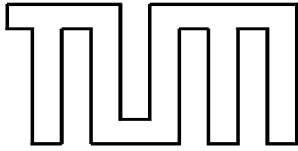
3b. männliche Person

Anhang 4: Patientenaufklärung und Einverständniserklärung für die QST

Anhang 5: Gel zur qualitativen Kontrolle der DNA

Anhang 6: Liste der verwendeten SNPs und Primersequenzen

Anhang 7: Gel zur qualitativen Kontrolle der PCR



Neurologische Klinik und Poliklinik
Technische Universität München

Klinikum rechts der Isar
Direktor: Prof. Dr. B. Hemmer
Anstalt des öffentlichen Rechts



Neurologische Klinik und Poliklinik, rechts der Isar, Ismaninger Str. 22, 81675 München

Prof. Dr. med. Juliane Winkelmann
Oberärztin & Leiterin der RLS Ambulanz
Tel.: 089/4140-4606
Email: winkelmann@lrz.tum.de

München, den 26.11.2010

Sehr geehrte Frau/Herr

wie Sie sich vielleicht erinnern, haben Sie vor einiger Zeit an einer in unserer RLS-Ambulanz am Klinikum rechts der Isar durchgeführten Studie zur genetischen Ursache des Restless Legs Syndroms teilgenommen. Für Ihr Engagement diesbezüglich möchten wir Ihnen an dieser Stelle nochmals herzlich danken.

In den vergangenen Jahren konnten durch Ihre Mithilfe und die vieler weiterer RLS Patienten genetische Risikovarianten für das Restless Legs Syndrom identifiziert werden. Dadurch wurde erstmals die Voraussetzung geschaffen, die Entstehung der Erkrankung zu erforschen.

Aktuell befassen wir uns mit einer neuen Studie, in der Stoffwechseleränderungen bei Patienten mit RLS untersucht werden sollen. Diese Untersuchungen sollen in Zukunft eine gezieltere und spezifischere Diagnostik und Therapie ermöglichen. Wir möchten Sie hiermit zur Teilnahme einladen und würden Sie gerne zu einem einmaligen Termin zur Blutentnahme in unsere Ambulanz bitten. Hierzu möchten wir Ihnen folgende Termine zur Auswahl anbieten:

Donnerstag, den 9.12.2010
Montag, den 13.12.2010
Dienstag, den 14.12.2010
Freitag, den 17.12.2010
Montag, den 20.12.2010

Dienstag, den 11.01.2010
Donnerstag, den 13.01.2010
Samstag, den 15.01.2010
Sonntag, den 16.01.2010
Dienstag, den 18.01.2010
Donnerstag, den 20.01.2010

Die Blutentnahme soll jeweils zwischen 7:00 Uhr und 10:00 Uhr **nüchtern** erfolgen. Es handelt sich dabei um einen Termin zur einmaligen Blutentnahme. Einen Ambulanztermin können Sie bei Bedarf jederzeit zusätzlich unter 089/4140-4630 vereinbaren.

Darüber hinaus haben Sie die Möglichkeit an einer Messung der kleinen Nervenfasern an den Füßen teilzunehmen. Hierbei handelt es sich um eine 20 minütige Messung am Abend, bei der leichte Reize (z.B. zum Unterscheiden von spitz/stumpf) auf der Hautoberfläche ausgelöst werden.

Zur Beantwortung Ihrer Fragen bezüglich der Studien können Sie uns selbstverständlich jederzeit anrufen oder mailen. (Fr. Dr. Schulte (Tel. 089/3187-4453, Email: schulte@lrz.tum.de) oder Fr. Berger (Tel.: 0163/6077261, Email: HannahBerger@gmx.net))

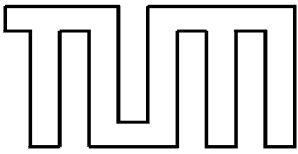
Über eine Unterstützung unserer Forschung würden wir uns sehr freuen und bitten Sie das beigefügte bereits frankierte Rückschreiben wenn möglich bis Anfang Dezember zurückzuschicken.

Mit freundlichen Grüßen und herzlichem Dank für Ihre Unterstützung,

Prof. Dr. med. Juliane Winkelmann
Oberärztin & Leiterin der RLS Ambulanz

Dr.med. Eva Schul
Assistenzärztin

cand. med. Hannah Berger
Doktorantin



Neurologische Klinik und Poliklinik
Technische Universität München
Klinikum rechts der Isar
Direktor: Prof. Dr. B. Hemmer
Anstalt des öffentlichen Rechts



Neurologische Klinik und Poliklinik, rechts der Isar, Ismaninger Str. 22, 81675 München

An

Dr. med. Eva Schulte
Neurologische Klinik und Poliklinik
Klinikum rechts der Isar
Ismaningerstr. 22
81675 München

RÜCKANTWORT

Name, Vorname: _____

Geburtsdatum: _____

Aktuelle Medikamente: _____

- Ich möchte das oben beschriebene Forschungsprojekt zu Stoffwechselveränderungen beim Restless Legs Syndrom unterstützen und würde zu folgendem Termin zur Blutentnahme in die **Ambulanz der Neurologischen Klinik des Klinikums rechts der Isar, Neuro-Kopf-Zentrum, Ismaningerstr. 22, 81675 München** kommen

- Donnerstag, den 9.12.2010 von 7:00 bis 8:30
 Donnerstag, den 9.12.2010 von 8:30 bis 10:00

- Dienstag, den 11.01.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Dienstag, den 11.01.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Montag, den 13.12.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Montag, den 13.12.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Donnerstag, den 13.01.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Donnerstag, den 13.01.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Dienstag, den 14.12.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Dienstag, den 14.12.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Samstag, den 15.01.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Samstag, den 15.01.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Freitag, den 17.12.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Freitag, den 17.12.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Sonntag den 16.01.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Sonntag, den 16.01.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Montag, den 20.12.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Montag, den 20.12.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Dienstag, den 18.01.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Dienstag, den 18.01.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Donnerstag den 20.01.2010 von 7:00 bis 8:30 Uhr
 Donnerstag, den 20.01.2010 von 8:30 bis 10:00 Uhr

- Ich möchte an der Messung der kleinen Nervenfasern teilnehmen und würde gerne genauer Informationen bekommen.

- Ich habe weitere Fragen zum oben beschriebenen Forschungsprojekt bzw. leider keine Zeit zu den angegebenen Tagen und bitte daher um Kontaktaufnahme.

(Telefonnummer/Email-Adresse: _____)

(Ich bin am besten erreichbar: (Wochentag/ Uhrzeit) _____)

- Ich bin **nicht** an einer Studienteilnahme interessiert.

Schweregradskala für das Restless Legs Syndrom (RLS)

Name _____ Vorname _____

Heutiges Datum: ____/____/____

Geburtsdatum ____/____/____

Medikation:

1. Wie beurteilen Sie Ihre Beschwerden in Beinen oder Armen aufgrund des Syndroms der unruhigen Beine insgesamt?

- (0) nicht vorhanden
- (1) gering
- (2) mäßig
- (3) stark
- (4) sehr stark

6. Wie schwer ist Ihr Syndrom der unruhigen Beine insgesamt?

- (0) nicht vorhanden
- (1) gering
- (2) mäßig
- (3) stark
- (4) sehr stark

2. Wie stark empfinden Sie insgesamt den Zwang, sich wegen des Syndroms der unruhigen Beine bewegen zu müssen?

- (0) nicht vorhanden
- (1) gering
- (2) mäßig
- (3) stark
- (4) sehr stark

7. Wie oft treten bei Ihnen Symptome des Syndroms der unruhigen Beine auf?

- (0) nicht vorhanden
- (1) gering (an 1 Tag pro Woche oder seltener)
- (2) mäßig (an 2-3 Tagen pro Woche)
- (3) stark (an 4-5 Tagen pro Woche)
- (4) sehr stark (an 6-7 Tagen pro Woche)

3. Wie stark bessern sich insgesamt Ihre durch das Syndrom der unruhigen Beine bedingten Beschwerden in Armen oder Beinen durch Herumlaufen?

- (0) keine Beschwerden, Frage nicht zutreffend
- (1) (nahezu) völlige Besserung
- (2) mäßige Besserung
- (3) geringe Besserung
- (4) keine Besserung

8. Wenn bei Ihnen die Symptome des Syndroms der unruhigen Beine auftreten, wie schwer sind diese an einem durchschnittlichen Tag?

- (0) nicht vorhanden
- (1) gering (weniger als 1 Std. pro 24 Std.)
- (2) mäßig (1-3 Std. pro 24 Std.)
- (3) stark (3-8 Std. pro 24 Std.)
- (4) sehr stark (8 Std. oder mehr pro 24 Std.)

4. Wie stark sind Ihre Schlafstörungen aufgrund der Symptome des Syndroms der unruhigen Beine insgesamt?

- (0) nicht vorhanden
- (1) gering
- (2) mäßig
- (3) stark
- (4) sehr stark

9. Wie stark wirken sich die Symptome Ihres Syndroms der unruhigen Beine insgesamt auf Ihre Alltagsaktivitäten aus, etwa auf Ihr Familienleben, Ihr häusliches Umfeld, Ihre Kontakte zu Freunden und Bekannten oder Ihre berufliche Arbeit?

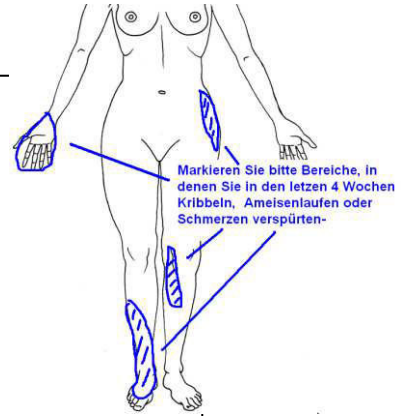
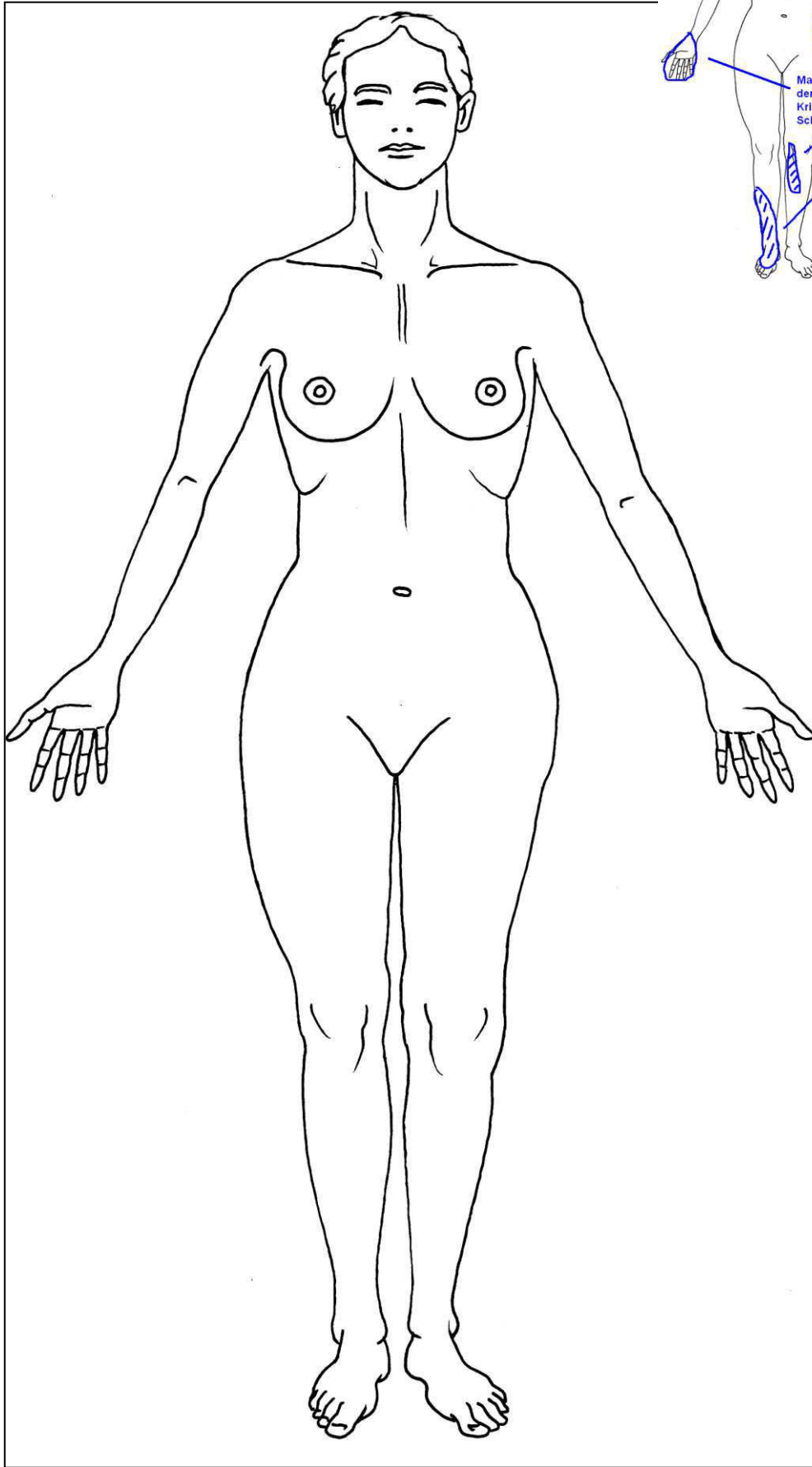
- (0) überhaupt nicht
- (1) gering
- (2) mäßig
- (3) stark
- (4) sehr stark

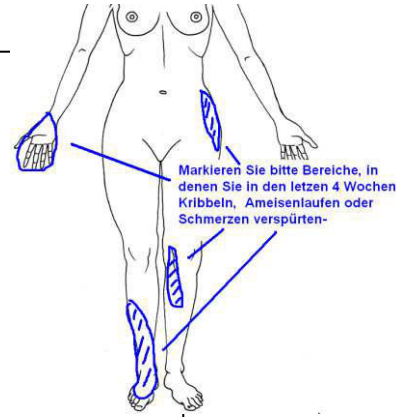
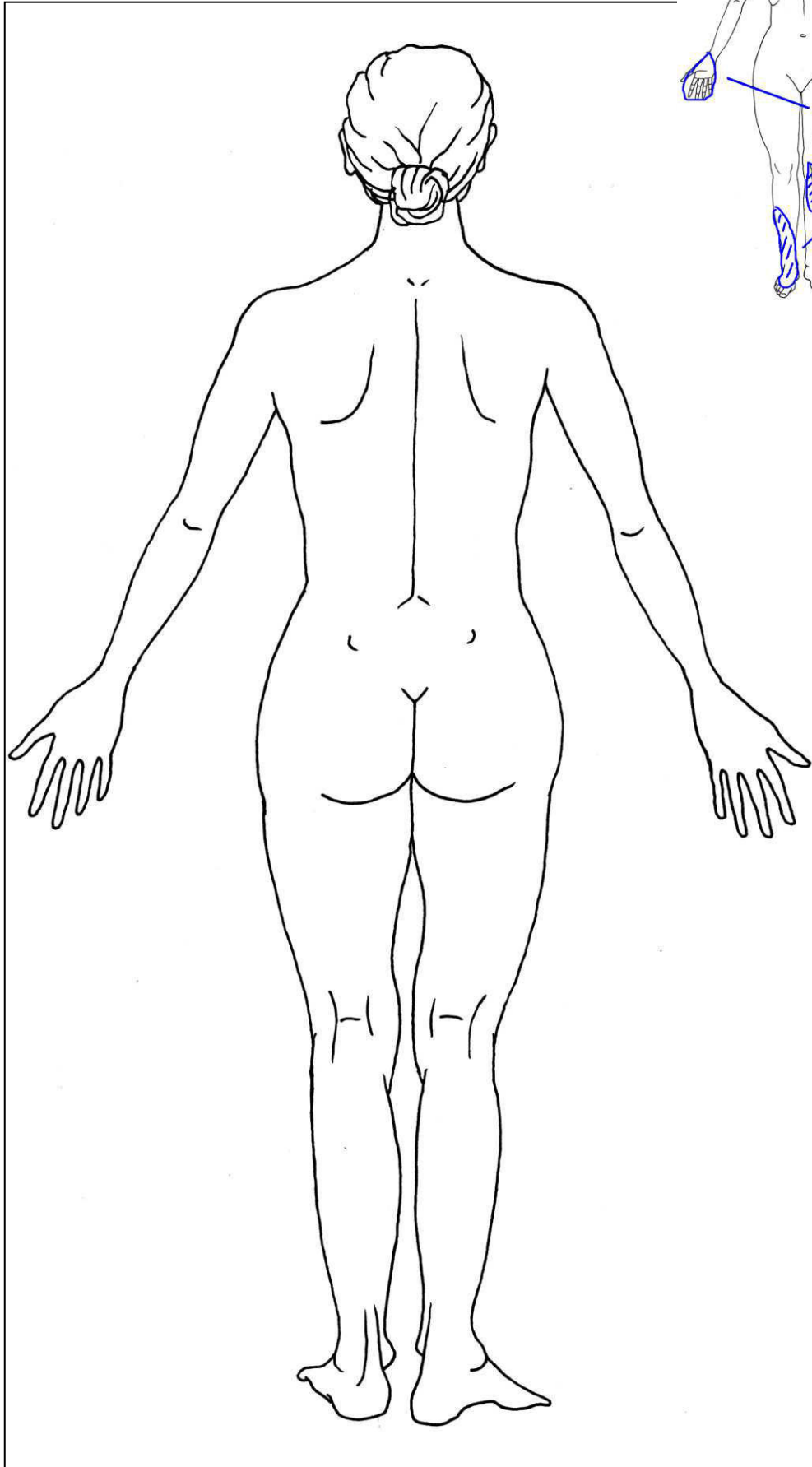
5. Wie ausgeprägt ist Ihre Müdigkeit oder Schläfrigkeit aufgrund Ihrer Symptome des Syndroms der unruhigen Beine?

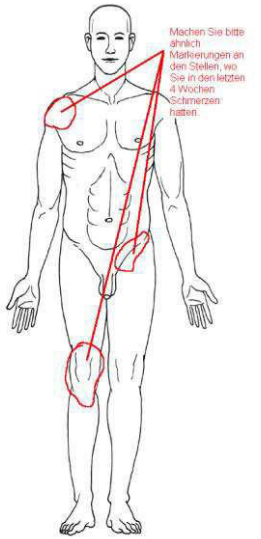
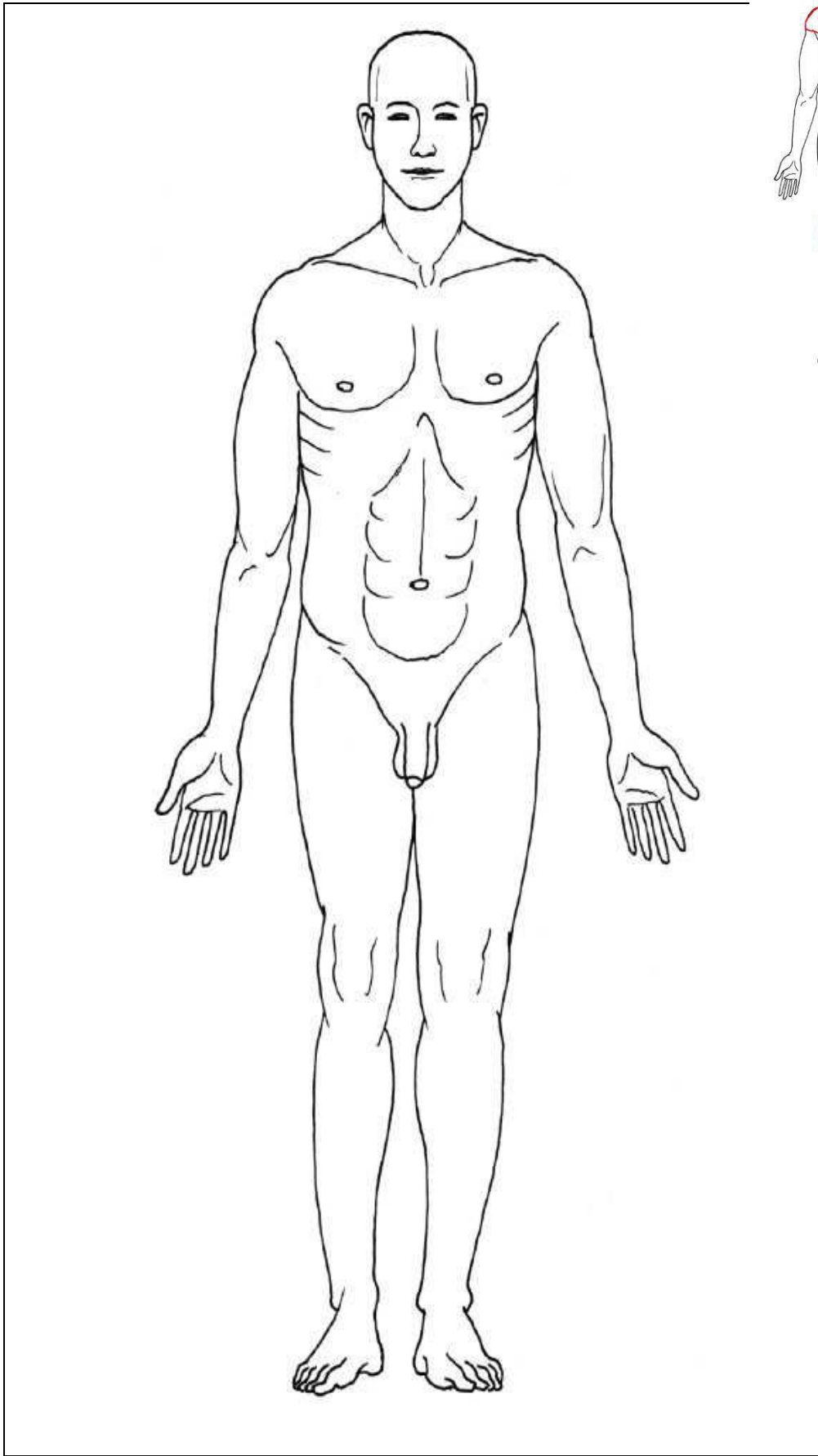
- (0) nicht vorhanden
- (1) gering
- (2) mäßig
- (3) stark
- (4) sehr stark

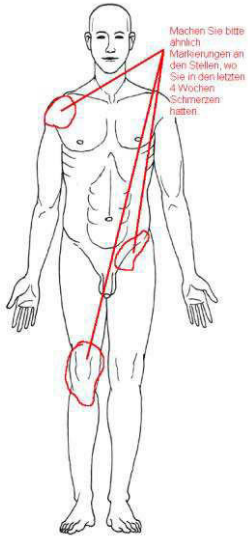
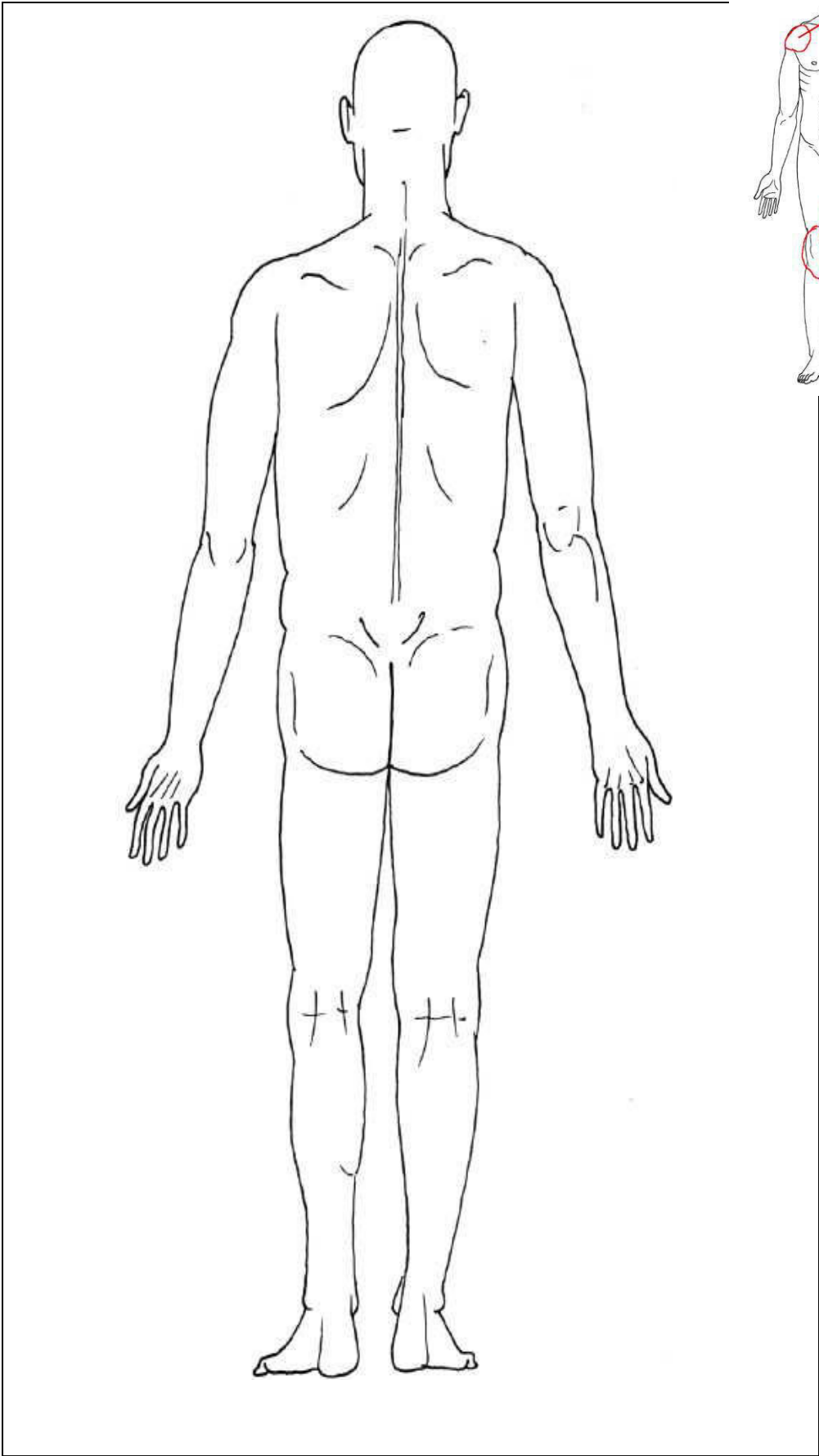
10. Wie stark wird Ihre Stimmungslage von dem Syndrom der unruhigen Beine beeinflusst, z.B. Verärgerung, Niedergeschlagenheit, Traurigkeit, Ängstlichkeit oder Gereiztheit?

- (0) überhaupt nicht
- (1) gering
- (2) mäßig
- (3) stark
- (4) sehr stark



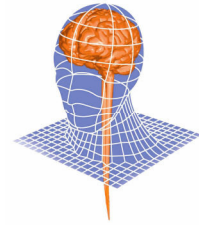








Neurologische Klinik und Poliklinik
Klinikum rechts der Isar der
Technischen Universität München
Direktor: Prof. Dr. B. Hemmer
Ismaninger Str. 22
81675 München



Patientenaufklärung

Untersuchung der Funktion und Eigenschaften des somatosensorischen Nervensystems an Patienten mit neuropathischen Schmerzsyndromen im Rahmen des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz (DFNS), gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

Wir möchten Sie bitten, an einer wissenschaftlichen Untersuchung teilzunehmen, die die Ursachen von Schmerzen infolge von Nervenverletzungen (neuropathische Schmerzen) erforschen soll.

Minderjährige Patienten sind grundsätzlich von den Untersuchungen ausgeschlossen.

1. Ziele der Untersuchung

Es soll untersucht werden, welche einzelnen Symptome (Einzelbeschwerden) neuropathischer Schmerzen bei Ihnen vorliegen. Hierzu möchten wir Sie mittels standardisierter Untersuchungsmethoden genau untersuchen.

2. Der Deutsche Forschungsverbund Neuropathischer Schmerz (DFNS)

Der DFNS ist ein Verbund aus 27 deutschen Universitätskliniken, Städtischen Kliniken, Rehabilitationskliniken und Instituten. Die Hauptziele des DFNS sind, das Wissen auf dem Gebiet der Schmerzen, die nach einer Nervenverletzung entstehen (neuropathische Schmerzen, z.B. Schmerzen nach einer Gürtelrose, schmerzhafte Polyneuropathie) in Deutschland zugänglicher zu machen und die klinische und experimentelle Forschung durch Koordination, Kooperation und verbesserte Kommunikation entscheidend zu verbessern. Dieses Projekt wird hierbei vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert. Mit ihrer Teilnahme unterstützen Sie dieses Projekt und leisten einen Beitrag zur angestrebten Verbesserung der Situation aller Patienten mit neuropathischen Schmerzen.

3. Ablauf der Untersuchungen

Die Untersuchungsdauer beträgt ca. 120 min.

(A) Untersuchung der Symptome neuropathischer Schmerzen

Zu Beginn werden Sie körperlich auf neurologische Symptome hin untersucht. Darauf folgt eine Untersuchung der einzelnen Symptome Ihres neuropathischen Schmerzes mittels im folgenden beschriebener Methoden. Diese sind nicht-invasiv und werden sowohl in dem schmerzhaften Körperbereich als auch im spiegelbildlich nichtbetroffenen Körperbereich

angewendet. Zunächst wird Ihre Warm- und Kalttempfindung sowie Ihre Wahrnehmung von Kälte- und Hitzeschmerzreizen geprüft. Hierfür wird Ihnen eine ca. 13cm² große Metallfläche auf die Haut gelegt. Diese hat eine Ausgangstemperatur von 32°C, die in einer festgelegten Reihenfolge ansteigt oder abfällt. Sobald Sie Temperaturveränderungen oder Schmerzempfindungen an der Auflagefläche wahrnehmen, bitten wir Sie einen Stop-Knopf zu drücken, woraufhin die Metallfläche ihre Ausgangstemperatur wieder erreicht. Dieser Vorgang wiederholt sich insgesamt 10 mal für jede Temperaturänderung. Es folgt die Prüfung Ihrer Wahrnehmungsschwellen für Berührungsreize und Nadelreize, die mittels eines Haars und einer Nadel unterschiedlichen Aufgedruckes auf der Haut geprüft wird. Darauffolgend wird untersucht, ob bei Ihnen Schmerzen durch Berührung, eine sogenannte Allodynie, bestehen. Hierzu wird mit einem Wattebausch, einem Q-tip sowie einem weichen Make-up Pinsel die Haut bestrichen bzw. leichter Druck auf die Haut ausgeübt. In einer weiteren Untersuchung wird ein Einzelreiz mit einer Nadel appliziert. Im Abstand von zehn Sekunden folgt eine Serie von zehn identischen Nadelreizen innerhalb desselben Hautareals. Unmittelbar nach dem Einzelreiz sowie erneut im Anschluss an die nachfolgende Reizserie erfolgt eine zusammenfassende Beurteilung der Empfindungsstärke mit Hilfe einer numerischen Skala. Zur Untersuchung der Vibrationsschwelle wird eine Stimmgabel an den Füßen über Innenknöchel, an den Händen über dem Handgelenk, am Kopf seitlich über der Schläfe platziert. Zur Prüfung der Wahrnehmung der Druckempfindlichkeit der Muskulatur wird über definierten Muskeln ein Druckstimulator aufgesetzt (an den Füßen über der Fußinnenmuskulatur, an den Händen über dem Thenar, am Gesicht über der Schläfenregion). Mittels einer aufsteigenden Druckintensität kann die Druckschmerzschwelle über den entsprechenden Muskeln bestimmt werden.

(B) Erfassung krankheitsspezifischer Daten mittels Fragebögen

Sie werden gebeten, verschiedene Fragebögen auszufüllen. Diese erfassen Informationen hinsichtlich Ihres neuropathischen Schmerzes, aber auch Informationen zu der Beeinträchtigung Ihres Alltagslebens und Ihre allgemeinen Befindlichkeit.

5. Versicherungsschutz

Für die beschriebenen Untersuchungen besteht kein besonderer Versicherungsschutz.

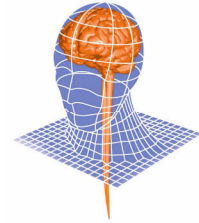
Datenschutzrechtliche Einwilligung

Die im Rahmen dieser Studie bei Ihnen erhobenen Daten werden auf einer mit Ihren persönlichen Daten versehenen Krankenakte in der Neurologischen Klinik der TUM gespeichert. Zur Auswertung der erhobenen Daten können diese Daten anonymisiert, d.h. ohne Namensnennung, innerhalb des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz an die beteiligten Institutionen für wissenschaftliche Zwecke weitergeleitet werden. Alle im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und werden strikt vertraulich gemäß dem Datenschutz behandelt.

Ihre Daten sollten für die Durchführung des Projektes langfristig gespeichert werden. Sie können aber jederzeit ohne Angabe von Gründen Ihr Einverständnis widerrufen und die Löschung Ihrer Daten verlangen. Ihr Ansprechpartner ist in diesem Fall Ihr behandelnder Arzt, den Sie über die Telefonnummer 089-4140-4670 erreichen.



Neurologische Klinik und Poliklinik
Klinikum rechts der Isar der
Technischen Universität München
Direktor: Prof. Dr. B. Hemmer
Ismaninger Str. 22
81675 München



Einverständniserklärung

Ich, _____, wurde vollständig über das Wesen und die Bedeutung der Studie:

Untersuchung der Funktion und Eigenschaften des somatosensorischen Nervensystems an Patienten mit neuropathischen Schmerzsyndromen im Rahmen des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz (DFNS), gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)

aufgeklärt.

Ich hatte die Möglichkeit, den aufklärenden Arzt ausführlich zu befragen.

Ich weiß, dass ich jederzeit meine Einwilligung ohne Angaben von Gründen widerrufen kann, ohne dass in irgendeiner Weise ein Nachteil für mich entsteht.

Ich bestätige durch meine Unterschrift, dass ich mich mit der vorgenannten Prüfung und ihrer Durchführung einschließlich der dafür notwendigen ärztlichen Untersuchungen einverstanden erkläre.

Ich bin mit der im Rahmen der Studie erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten und ihrer Weitergabe entsprechend der Patienteninformation einverstanden.

Datenschutzrechtliche Einwilligung

Die im Rahmen dieser Studie bei mir erhobenen Daten werden auf einer mit meinen persönlichen Daten versehenen Krankenakte in der Neurologischen Klinik der TUM gespeichert. Zur Auswertung der erhobenen Daten können diese Daten anonymisiert, d.h. ohne Namensnennung, innerhalb des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz an die beteiligten Institutionen für wissenschaftliche Zwecke weitergeleitet werden. Alle im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und werden strikt vertraulich gemäß dem Datenschutz behandelt.

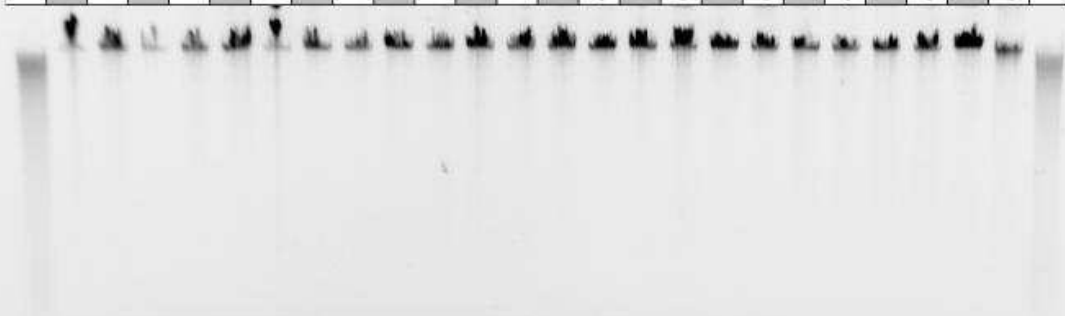
Meine Daten sollen für die Durchführung des Projektes langfristig gespeichert werden. Ich kann jedoch jederzeit ohne Angabe von Gründen mein Einverständnis widerrufen und die Löschung der Daten verlangen. Ansprechpartner ist in diesem Fall der behandelnde Arzt, der über die Telefonnummer 089-4140-4670 zu erreichen ist.

München, den _____

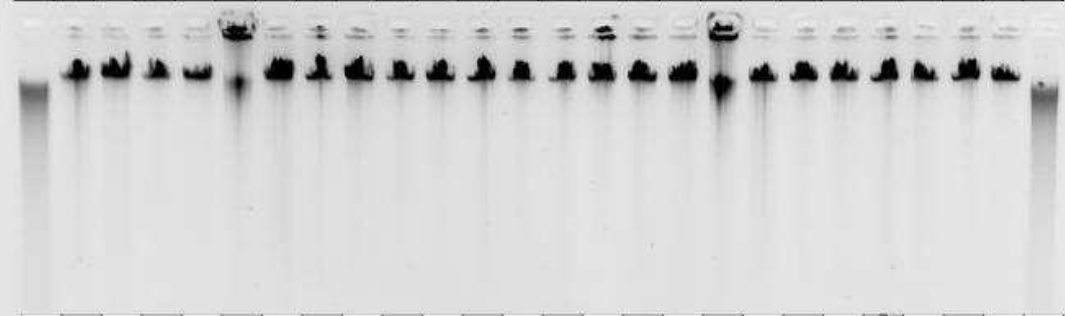
Unterschrift des Patienten

Unterschrift des Arztes

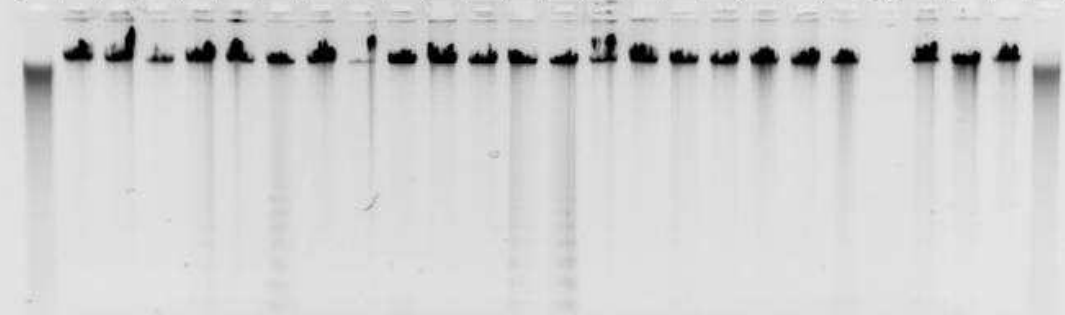
Ko 110 A919 A954 A913 A953 A922 A994 A918 A989 A914 A985 A917 A986 A920 A1011 A989 A1033 A960 A1034 A957 A1032 A958 A1031 A955 A1030 Ko 110



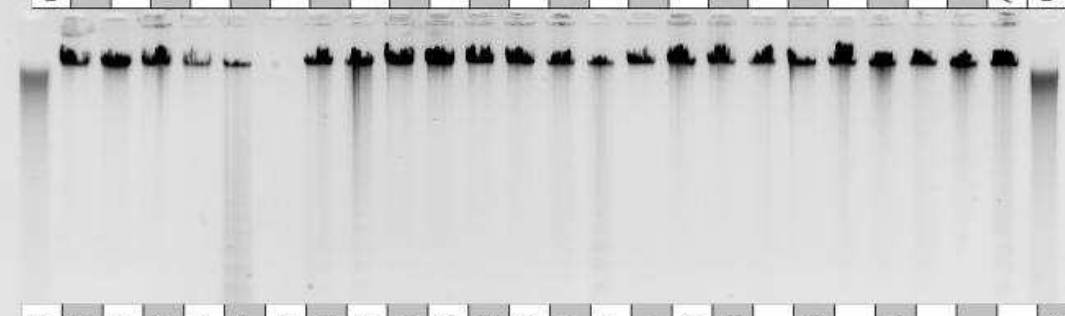
Ko 110 A1028 A876 A1027 A877 A1029 A878 A1026 A879 A1025 A880 A1024 A883 A1043 A882 A1044 A881 A883 A884 A864 A885 A882 A887 A880 A886 Ko 110



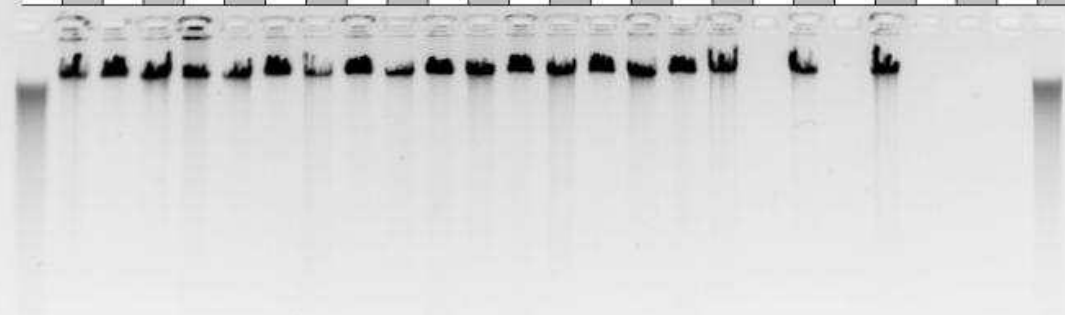
Ko 110 A888 A904 A869 A925 A890 A926 A891 A927 A892 A928 A893 A929 A895 A930 A896 A931 A897 A933 A898 A932 Leenwei A934 A899 A935 Ko 110



Ko 110 A936 A961 A937 A962 A938 LW A939 A963 A941 A965 A942 A964 A943 A966 A944 A967 A945 A969 A946 A970 A947 A971 A948 A1047 Ko 110



Ko 110 A972 56475 A1048 55234 A1049 56349 A1050 56418 A1051 56873 A1052 55942 A924 56388 A921 56871 A916 A923 A915 Ko 110



Chromosom (Gen)	SNP	Forward-Primersequenze	Reverse-Primersequenze	Extensions-Primersequenze
2 (MEIS1)	rs11683508	rs11683508_F	rs11683508_R	ext_rs11683508_E
	rs6710341	rs6710341_F	rs6710341_R	ext_rs6710341_E
	rs12469063	rs12469063_F	rs12469063_R	ext_rs12469063_E
6 (BTBD9)	rs2300478	rs2300478_F	rs2300478_R	ext_rs2300478_E
	rs9296249	rs9296249_F	rs9296249_R	ext_rs9296249_E
	rs3923809	rs3923809_F	rs3923809_R	ext_rs3923809_E
9 (PTPRD)	rs4236060	rs4236060_F	rs4236060_R	ext_rs4236060_E
	rs11788684	rs11788684_F	rs11788684_R	ext_rs11788684_E
	rs4626664	rs4626664_F	rs4626664_R	ext_rs4626664_E
15 (MAP2K5/SKOR1)	rs1975197	rs1975197_F	rs1975197_R	ext_rs1975197_E
	rs11635424	rs11635424_F	rs11635424_R	ext_rs11635424_E
	rs3784709	rs3784709_F	rs3784709_R	ext_rs3784709_E
16 (TOX3)	rs1026732	rs1026732_F	rs1026732_R	ext_rs1026732_E
	rs6494696	rs6494696_F	rs6494696_R	ext_rs6494696_E
	rs3104788	rs3104788_F	rs3104788_R	ext_rs3104788_E
Geschlecht	rs3104767	rs3104767_F	rs3104767_R	ext_rs3104767_E
	GYG2_SNPE08_GSF	GYG2_SNPE08_GSF_F	GYG2_SNPE08_GSF_R	ext_GYG2_SNPE08_GSF_E

(SNP-Bezeichnungen aus der dpSNP-Datenbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>))

(Forward-Primer und Reverse-Primer für PCR-Amplifikation, Extensions-Primer für iPlex-Reaktion)

