

**Aus der Neurologischen Universitätsklinik Tübingen/
Hertie-Institut für klinische Hirnforschung
Abteilung für Neurologie mit Schwerpunkt Neurodegenerative
Erkrankungen
Direktor: Professor Dr. T. Gasser**

**Entwicklung einer Regressionsgleichung zur
Bestimmung der Wahrscheinlichkeit des Vorliegens
einer Mutation im *SGCE*-Gen bei Patienten mit
hyperkinetischer Bewegungsstörung im Sinne einer
Myoklonus-Dystonie anhand klinischer Kriterien**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Sarah Laura Böhmer
aus
Ludwigsburg**

2013

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1.Berichterstatter: Privatdozent Dr. F. Asmus

2.Berichterstatter: Professor Dr. I. Krägerloh-Mann

Widmung

An meine Eltern Gertraude und Dieter, meine Freunde Julie und Lisa und meinen Freund Julian, die mich schon lange Zeit begleiten und die ich über alles liebe.

Inhaltsverzeichnis

Widmung	3
Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	9
1.1. Die Dystonie	9
1.2. Der Myoklonus	11
1.3. Die Myoklonus-Dystonie (M-D)	12
1.3.1. Genetik der Myoklonus-Dystonie	14
1.3.2. Das Epsilon-Sarkoglykan	16
1.3.3. Mutationsspektrum im <i>SGCE</i> bei M-D	21
1.3.4. Erbgang der Myoklonus-Dystonie und maternale Prägung des <i>SGCE</i> -Gens	23
1.3.5. Der Phänotyp der M-D	24
2. Fragestellung	27
3. Probanden und Methoden	29
3.1. Probanden	29
3.2. Extraktion und Zusammenfassung der Daten	34
3.3. Molekulargenetische Untersuchungen	34
3.3.1. DNA-Isolierung aus Leukozyten	35
3.3.2. Polymerasekettenreaktion zur Amplifikation von Zielsequenzen des <i>SGCE</i> -Gens	36
3.3.3. Sequenzierung nach der Dideoxy-Methode	37
3.3.4. Bestimmung von Veränderungen der Gendosis durch quantitative PCR	38
3.3.5. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) als Alternative zur qPCR	39
3.4. Methoden der statistischen Auswertung	41
3.4.1. Statistische Methoden für verhältnisskalierte nicht-normalverteilte Variablen	41

3.4.2. Angewandte statistische Methoden für nominalskalierte Variablen .	42
3.4.3. Festlegung des Signifikanzniveaus.....	43
3.4.4. Erstellung einer Regressionsgleichung.....	44
4. Ergebnisse	46
4.1. Herkunft der Probanden.....	48
4.2. Geschlecht	51
4.3. Alter bei Erkrankungsbeginn	51
4.3.1 Alter bei Erkrankungsbeginn bezogen auf das Geschlecht.....	53
4.4. Zeitliche Abfolge der Erstmanifestation von Myoklonus und Dystonie ...	54
4.5. Verteilung von Myoklonus und Dystonie	57
4.5.1. Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung	57
4.5.2. Manifestation des Myoklonus an den unteren Extremitäten.....	61
4.5.3. Verteilung der Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung.....	62
4.5.4. Art der fokalen Dystonie.....	64
4.6. Familienanamnese	66
4.6.1. Probanden mit von M-D betroffener Mutter.....	67
4.7. Alkoholresponse.....	68
4.8. Aktionsinduzierbarkeit der Myoklonien.....	68
4.9. Psychiatrische Symptome	69
4.10. Reduzierte Penetranz	69
4.11. Erstellung einer Regressionsgleichung	70
4.11.1. Das Modell.....	70
4.11.2. Beurteilung der Modellgüte	71
4.11.3. Bedeutung der unabhängigen Variablen.....	73
5. Diskussion	75
5.1. Kritikpunkte der Methodik.....	75
5.2. Diskussion der Ergebnisse.....	77
5.2.1. Anteil der <i>SGCE</i> -Mutationsträger unter M-D Patienten und Gründe für eine relativ niedrige Detektionsrate	77

5.2.2. Analyse phänotypischer Merkmale in Abhängigkeit vom <i>SGCE</i> - Mutationsstatus.....	80
5.3. Erstellen einer Regressionsgleichung	91
5.4. Praktische Anwendung der gefundenen Regressionsgleichung	93
5.5. Schlussfolgerung.....	95
6. Zusammenfassung.....	97
7. Literaturverzeichnis	99

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bp	Basenpaar
bzw.	beziehungsweise
CA	Kalifornien
CK	Creatin-Kinase
cM	centimorgan
cm	Centimeter
CpG	Cytosin-phosphatidyl-Guanin
CT	Connecticut
DGC	Dystrophin-Glykoprotein-Komplex
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
<i>DRD2</i>	D2-Dopaminrezeptor
DYT	Dystonie (Abkürzung)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyogramm
ϵ -SG	Epsilon-Sarkoglykan (Protein)
FRET	fluorescence resonance energy transfer technique
GCH1	Guanosintriphosphat cyclohydrolase 1
GTP	Guanosintriphosphat
H	Wasserstoff
HGVS	Human Genome Variation Society
Ile	Isoleucin

LOD	Logarithm of the odds
Mb	Megabasen
M-D	Myoklonus Dystonie
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunden
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nm	Nanometer
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
PASW	Predictive Analysis Software
PCR	Polymerasekettenreaktion
SG	Sarkoglykan (Protein)
SGCE	Epsilon-Sarkoglykan (humanes Gen)
sgce	Epsilon-Sarkoglykan (murines Gen)
sog.	sogenannt/e/en/er/es
TH	Tyrosinhydroxylase
THAP1	Thanatos-associated domain-containing apoptosis-associated protein 1
USA	United States of America
Val	Valin
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Bei der Myoklonus-Dystonie (M-D) handelt es sich um eine seltene genetische Bewegungsstörung, die durch eine Kombination von schnellen, kurzen Muskelzuckungen (Myoklonus) und anhaltenden, repetitiven, verzerrenden Muskelkontraktionen (Dystonie) gekennzeichnet ist (Raymond und Ozelius, 1993).

Zum besseren Verständnis der M-D sollen im Rahmen dieser Einleitung zunächst deren symptomatologische Einzelbausteine -die Dystonie und der Myoklonus- für sich erläutert und definiert werden, um schließlich auf die speziellen Aspekte der M-D als eigenes Krankheitsbild zurückzukommen.

1.1. Die Dystonie

1908 veröffentlichte Gustav Schwalbe unter der Anleitung durch seinen Doktorvater Theodor Ziehen seine Dissertation über Dystonien bei drei Geschwistern, die er als „eine eigentümliche tonische Krampfform mit hysterischen Symptomen“ bezeichnete. Ziehen selbst beschrieb die Dystonie später als „Torsionsneurose“. Diese Namensgebungen verdeutlichen, dass zu Beginn der Medizingeschichte der Dystonie eine psychische Genese von Bewegungsstörungen -trotz der bereits beobachteten Erblichkeit- favorisiert wurde.

Hermann Oppenheim führte 1911 schließlich den Begriff „Dystonie“ ein, da er von einer organischen Genese der besagten Bewegungsstörung überzeugt war und daher die Bezeichnung „Torsionsneurose“ ablehnte. Er postulierte eine generalisierte Störung des Muskeltonus (=Dys-tonie) mit nebeneinander bestehenden Muskelhyper- und hypotonien. Flatau und Sterling betonten hingegen 1911 die *Torsionsspasmen* (Verdrehungen) als besonders charakteristisches Symptom der Dystonie (Flatau und Sterling, 1911). So entwickelte sich der heutige Begriff (Torsions-)Dystonie.

Ende des zwanzigsten Jahrhunderts konnte vor dem Hintergrund der Identifizierung von Mutationen in von Dystonie betroffenen Familien (Ozelius et

al., 1989, 1997), sowie der Erkenntnis, dass die Basalganglien häufig kontralateral einer von Hemidystonie betroffenen Seite Läsionen aufwiesen (Narbona et al., 1984; Mardsen et al., 1985; Pettigrew and Jankovic, 1985), eine organische Genese der Dystonie beim weitaus überwiegenden Teil der Patienten endgültig belegt werden.

Heute wird Dystonie als „Zustand anhaltender unwillkürlicher Muskelkontraktionen, welche repetitive oder verzerrende Bewegungen oder eine abnorme Körperhaltung verursachen“ (Fahn et al., 1998) definiert. Diese breite Definition bedingt, dass als Dystonien klinisch wie ätiologisch sehr heterogene Störungsbilder subsummiert werden, für deren Klassifizierung bereits etliche Schemata entworfen wurden. Das gängigste beruht auf der Einteilung nach drei Kategorien: Erkrankungsalter (früher oder später Beginn), Verteilungsmuster der betroffenen Körperregionen (fokal, segmental, multifokal, generalisiert) und Ätiologie (primär-idiopathisch oder sekundär, wie z.B. Dystonie als Symptom nach Schädeltrauma, Hirntumor, beim Morbus Parkinson, im Rahmen hereditärer Erkrankungen oder als sogenannte Dystonie-Plus Syndrome, wenn andere Bewegungsstörungselemente zur Dystonie hinzutreten).

Die M-D zählt neben der DOPA-responsiven Dystonie und dem Rapid-Onset-Dystonia-Parkinsonismus zu den hereditären Dystonie-Plus Syndromen. Diese meist genetisch verursachten Krankheitsentitäten werden von den sekundären Dystonieformen durch die Einordnung in die separate Untergruppe der Dystonie-Plus Syndrome abgegrenzt. Klinisch sind Dystonie-Plus Syndrome mit positiver Familienanamnese häufig nicht von primären, idiopathischen oder neurodegenerativen Formen zu unterscheiden. Dies gilt beispielsweise für den Myoklonus bei der M-D oder das Parkinson-Syndrom bei der DOPA-responsiven Dystonie. (S.B. Bressman, 2000; Bhidayasiri R., 2006)

1.2. Der Myoklonus

Beim Myoklonus handelt es sich um kurze Muskelzuckungen, die im Gegensatz zu Tics willkürlich nicht zu unterdrücken sind und ihren Ursprung im zentralen Nervensystem nehmen. Er kann sich als positiver oder negativer Myoklonus manifestieren. Der positive Myoklonus resultiert aus kurzen Muskelkontraktionen, wohingegen der negative Myoklonus durch einen plötzlichen Verlust des Muskeltonus von 50-200 ms charakterisiert ist (Adams and Foley, 1953).

Der Begriff Myoklonus wurde von Nikolaus Friedreich (1825-1882) geprägt, der 1881 einen 50-jährigen Mann mit multifokalen, 10-50 mal pro Minute auftretenden Muskelzuckungen beschrieb. Friedreich nannte das damals von ihm beobachtete Syndrom „Paramyoclonus multiplex“, um die schnellen symmetrisch asynchronen Zuckungen zu beschreiben, die verschiedene Teile des Körpers betrafen. Diese Bezeichnung wurde später in gekürzter Form als „Myoklonus“ für derartige Krankheitsbilder übernommen.

1949 beschrieben Raymond Adams und Joseph Foley bei Patienten mit fortgeschrittener hepatischer Enzephalopathie eine hyperkinetische Bewegungsstörung, den sog. Halte- oder Flattertremor (flapping tremor), der elektrophysiologisch nicht Charakteristika eines Tremors aufwies sondern durch negative Myoklonien verursacht ist. So resultierte die Bewegungsstörung aus einem intermittierenden Fehlen der Halteinnervation, die sich als fehlende elektromyographische Aktivität darstellt. Die Erstbeschreiber gaben dem Phänomen den Namen „Asterixis“ (griechisch: nicht stillhaltend), der bis heute für diese Form negativer Myoklonien in Gebrauch ist. (Adams und Foley, 1953; Lanska, 2010)

Das Ursachenspektrum von Myoklonien reicht von physiologischen Myoklonien, wie zum Beispiel Einschlaf-/Aufwachmyoklonien oder Schluckauf, über sporadisch idiopathische Myokloniesyndrome, sekundäre/symptomatische Myoklonien, epileptische Myoklonien bis hin zu hereditären Myokloniesyndromen, zu denen auch die hereditäre M-D zählt.

Myoklonien können spontan, reflektorisch oder aktionsinduziert auftreten und dabei von fokal bis generalisiert alle Verteilungsmuster aufweisen. Außerdem kann der Grad ihrer Synchronisation in voneinander unabhängigen Muskelgruppen von synchron bis asynchron stark variieren und sie können sowohl rhythmisch (z.B. Asterixis) als auch irregulär vorkommen.

Elektrophysiologisch lassen sich kortikale, d.h. in der Hirnrinde generierte und daher mit EEG-Veränderungen einhergehende, von subkortikalen, d.h. nicht in der Hirnrinde generierte und daher häufig nicht direkt mit EEG-Veränderungen einhergehenden Myoklonien unterscheiden. Hilfreich für die Klassifikation ist auch, wenn sich im EEG weitere typische Veränderungen zeigen, die für eine Ätiologie der Myoklonien im Rahmen eines Epilepsiesyndroms sprechen.

Differentialdiagnostisch sind die Myoklonien von Spasmen, Tics und Tremores abzugrenzen. Im Gegensatz zu den nur Millisekunden dauernden ruckartigen Myoklonien zeigen Spasmen im Rahmen eines Syndroms des 1. Motorneurons ein langsames komplexes stereotypisches Bewegungsmuster in den von einer Spastik betroffenen Körperregionen, das rasch ein Intensitätsmaximum erreicht und dann eher langsam in Sekunden bis Minuten abklingt. Motorische Tics können zwar Myoklonien ähneln, sind aber, im Unterschied zu diesen, willkürlich für einen gewissen Zeitraum unterdrückbar. Beim Tremor ist im EMG typischerweise ein rhythmisch alternierendes Innervationsmuster von Antagonistenpaaren zu beobachten, das bei Myoklonien nie vorkommt. Dennoch wird der negative, rhythmische Myoklonus der oben beschriebenen Asterixis, dem klinischen Aspekt folgend -aber elektrophysiologisch nicht zutreffend- auch als Flattertremor (flapping tremor) bezeichnet (Meinck, 2007).

1.3. Die Myoklonus-Dystonie (M-D)

Vor der Identifizierung genauer genetischer Ursachen, war die M-D (DYT11; OMIM 159900; Lang 1997) auch unter Bezeichnungen wie „myoklonische Dystonie“, „hereditärer essentieller Myoklonus“ oder auch, „hereditäre alkoholresponsive Dystonie mit blitzartigen Zuckungen“ bekannt und sorgte für einige diagnostische und terminologische Verwirrung.

Die Bezeichnung „myoklonische Dystonie“ wurde 1926 erstmals von Davidenkow zur Beschreibung zweier Geschwister verwendet, die unter einer Rumpf- und Nackendystonie kombiniert mit myoklonischen Zuckungen im Nacken- und Gesichtsbereich litten (Davidenkow, 1926). Phänomenologisch ähnelt diese Beschreibung stark dem Krankheitsbild, welches wir aktuell als M-D klassifizieren und das Gegenstand der vorliegenden Dissertation ist.

Obeso et al. schilderten 1983 mit dem Begriff „Myoclonic Dystonia“ eine Kombination aus myoklonischen Muskelzuckungen von 50-250ms Dauer mit idiopathischer Dystonie und stellten die Hypothese auf, dass diese „myoklonische Dystonie“ eine Manifestationsform bzw. klinische Variante der idiopathischen Torsionsdystonie (*DYT 1*) sei. Klinisch wurde hiermit erstmals dokumentiert, dass es ein Spektrum klinischer Formen der M-D gibt: Am einen Ende stehen Patienten, die die Myoklonien in von Dystonie mittelgradig bis schwer betroffenen Körperpartien aufweisen („myoklonische Dystonie“), am anderen Ende Patienten, bei denen nur geringe, oftmals zeitweise ganz fehlende Dystoniesymptome, dafür aber erhebliche Myoklonien beobachtet werden können („essentielle Myokloniesyndrome“).

In anderen Studien wurde der Begriff myoklonische Dystonie aber durchaus auch für das Krankheitsbild, das man heute als M-D bezeichnet verwendet (Kyllermann et al, 1990; Gasser et al, 1996).

Unter der Bezeichnung „hereditärer essentieller Myoklonus“ definierten Mahloudji und Pikielny 1967 bereits folgende diagnostische Kriterien anhand von 6 betroffenen Familienmitgliedern (Mahloudji und Pikielny, 1967):

1. Erkrankungsbeginn im ersten oder zweiten Lebensjahrzehnt.
2. Frauen und Männer sind gleich häufig und gleich schwer betroffen.
3. Gutartiger, häufig variabler, Verlauf, der aber mit einer aktiven Lebensführung und normaler Lebenserwartung vereinbar ist.
4. Dominanter Erbgang mit variablem Schweregrad.
5. Keine Anfallsleiden, Demenz, Ataxie oder andere neurologische Defizite zu verzeichnen.
6. Normales EEG.

Über zusätzliche dystone Symptome wurden nicht explizit berichtet. Lediglich eine "Tendenz den Kopf nach rechts zu drehen, insbesondere bei Konzentration", wurde bei einem der 6 Probanden beschrieben. So verstand man unter dem hereditären essentiellen Myoklonus zunächst eine Störung unbestimmter Ätiologie mit Myoklonien als einziges neurologisches Defizit.

Jedoch konnte bald bei einigen Individuen mit diagnostiziertem hereditären essentiellen Myoklonus auch eine Dystonie beobachtet werden (Quinn et al., 1988), woraufhin Quinn bereits 1996 den Verdacht äußerte, dass es sich bei der hereditären alkoholresponsiven myoklonischen Dystonie und dem hereditären essentiellen Myoklonus um genetisch ein und dieselbe Erkrankung handeln könnte. Klarheit konnte aber nur die Identifizierung der genetischen Ursache für diese Erkrankung(en) bringen.

1.3.1. Genetik der Myoklonus-Dystonie

Basierend auf der Arbeit von Obeso (Obeso et al. 1983, siehe auch Kapitel 1.3.) zur „myoklonischen Dystonie“ wurde zunächst genetisch getestet, ob es sich bei der M-D nicht doch um eine Manifestationsform der idiopathischen oder primär generalisierten Torsionsdystonie mit frühem Erkrankungsbeginn (DYT 1, ausgelöst durch Mutationen im *TorsinA*-Gen) handelte. Durch Kopplungs- und direkte Mutationsanalysen konnte jedoch eine Verursachung der M-D durch Mutationen im *TorsinA*-Gen ausgeschlossen werden (Gasser et al., 1996; Wahlström et al., 1994). Die für die primär generalisierte Torsionsdystonie typische 3bp-GAG-Deletion in Exon 5 des *TorsinA*-Gens wurde in M-D Familien nicht gefunden (Ozelius et al., 1997). Bisher wies lediglich in einer Familie das Exon 5 des *TorsinA*-Gen eine 18bp-Deletion auf, die jedoch zusammen mit einer *SGCE*-Gen Mutation (siehe unten) auftrat und somit als alleiniger oder wesentlicher Verursacher der M-D unwahrscheinlich ist (Klein et al., 2002b; Leung et al., 2001).

Klein et al. gelang es 1999 bei einer Familie mit 8 von einer hereditären alkoholresponsiven M-D betroffenen Mitgliedern über eine genomweite Kopplungsanalyse eine 23 centimorgan (cM) große Region auf Chromosom

11q23 zu lokalisieren, die mit dem Erkrankungsstatus cosegregierte (Klein et al., 1999). Diese chromosomale Region beinhaltet einige Gene mit schon damals bekannter Funktion im ZNS. Unter diesen zeigte das Gen für den D2-Dopaminrezeptor (*DRD2*) bei allen Betroffenen heterozygot eine Missense Mutation im Exon 3, die zu einem Austausch von Valin gegen Isoleucin an Position 154 des Proteins führte (Val154Ile). Die Verursachung der M-D durch diese Sequenzänderung war damals sehr wahrscheinlich, da das *DRD2*-Gen insgesamt -und insbesondere die Region der Mutation- evolutionär hochkonserviert sind. Außerdem konnte weder bei den nicht betroffenen Familienmitgliedern noch bei 250 Kontrollchromosomen eine derartige Sequenzveränderung gefunden werden (Klein et al., 1999b).

Trotzdem konnte in Zellkulturexperimenten keine funktionelle Auswirkung der *DRD2*-Mutation im Hinblick auf Rezeptoraffinität und Dissoziation oder Signaltransduktion festgestellt werden (Klein et al., 2000a). 2002 entdeckten Klein et al. bei dieser Familie auch eine *SGCE*-Mutation, die ebenfalls mit der Krankheit cosegregierte (Klein et al., 2002). Außerdem wurden bisher bei keiner weiteren M-D Familie Mutationen im *DRD2*-Gen ausfindig gemacht. All dies lässt an der Bedeutung der bekannten *DRD2*-Mutation als wesentliche genetische Ursache der M-D zweifeln.

Ebenfalls 1999 gelang es Nygaard et al. durch eine genomweite Kopplungsanalyse bei einer großen, neu identifizierten nordamerikanischen M-D Familie mit 10 Betroffenen eine 28cM große Kandidatenregion auf dem langen Arm des Chromosom 7 (7q21-q31) für das M-D Krankheitsgen zu identifizieren, deren Kopplung an die Erkrankung auch bei weiteren M-D Familien von anderen Arbeitsgruppen gefunden werden konnte (Nygaard et al., 1999; Klein et al., 2000b; Vidailhet et al., 2001).

Von Asmus et al. wurde dieser Genlocus zunächst durch Kopplungsanalysen mit polymorphen CA-Repeat-Markern auf eine 7,2 cM große Region zwischen den Markern D7S652 und D7S2480 eingegrenzt, was einen Multipoint-LOD-Score von 5,99 für die Region 7q21 ergab (Asmus et al., 2001). Kopplungsanalysen bei weiteren 8 M-D Familien ergaben eine Kopplung in ein 14 cM Intervall zwischen den Markern D7S2212 und D7S821 (Klein et al.,

2000b). Da die chromosomalen Regionen in den Publikationen von Asmus und Klein nur teilweise überlappten, konnte die Region für das Krankheitsgen der M-D auf 3,2 Megabasen (Mb) eingeeengt werden. Durch Sequenzierung bekannter Gene in dieser chromosomalen Region mit Priorisierung von ZNS exprimierten Kandidatengenen, konnten schließlich bei sechs deutschen von M-D betroffenen Familien fünf verschiedene Funktionsverlust-Mutationen im ϵ -Sarkoglykanen als Krankheitsursache für M-D nachgewiesen werden (Zimprich et al., 2001).

Eine Mutation im *DRD2*-Gen wurde in den untersuchten Familien bei allen genannten Arbeitsgruppen ausgeschlossen.

Bei einer großen kanadischen Familie mit fünf Generationen, die denselben Phänotyp der M-D zeigten, wie die Patienten mit nachgewiesener *SGCE*-Mutation, konnten Grimes et al. 2002 einen zusätzlichen Genort für M-D identifizieren. Mutationen im *SGCE*- und *DRD2*-Gen waren auch in dieser Familie ausgeschlossen worden (Grimes et al., 2002). Es handelt sich um eine 17cM große Region auf Chromosom 18p11 (*DYT15*). Schon zuvor wurde in Assoziationsanalysen, bzw. durch den Nachweis von Dystonien bei Patienten mit partiellen 18p-Deletionen, das Chromosom 18p mit dystonen Symptomen in Verbindung gebracht (Leube et al., 1996; Klein et al., 1999a). Bisher konnte der 18p-Locus der Arbeitsgruppe von Grimes jedoch bei keiner weiteren M-D Familie bestätigt werden. Damit bleiben Mutationen im Epsilon- Sarkoglykanen die weitaus häufigste und wichtigste bekannte genetische Ursache der Myoklonus-Dystonie.

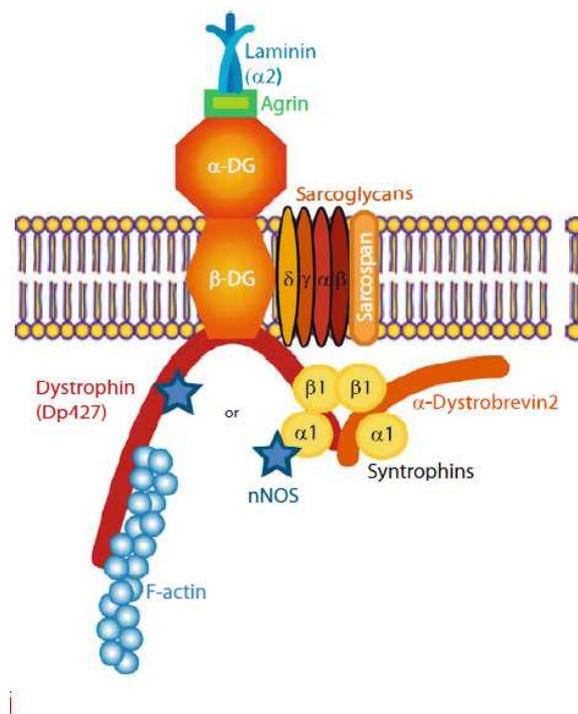
1.3.2. Das Epsilon-Sarkoglykan

Sarkoglykane (SGs) sind N-glykosylierte Transmembranproteine und gehören zum Dystrophin-Glykoprotein-Komplex (DGC), der das Aktin-Zytoskelett von Muskelzellen mit der Extrazellulärmatrix verbindet und so deren Membranstabilität dient (Sunada, 1995; Ohlendieck, 1996).

Neben den Alpha-, Beta-, Gamma-, und Delta-SGs und dem Sarkospan, die einen Subkomplex des DGC bilden, besteht dieser aus einem weiteren

Subkomplex- den Dystroglykanen, Alpha und Beta-, sowie aus verschiedenen zyttoplasmatischen Proteinen, wie dem Dystrophin, den Dystrobrevinen und den Syntrophinen (siehe Abbildung 1). (Ettinger 1997; Yoshida, 1994)

Abbildung1: Schematische Darstellung des Dystrophin- Glykoprotein-Komplexes im Sarkolemm des Skelettmuskels aus Pilgram, G. S., 2010. α -DG= α - Dystroglykan; β - DG= β - Dystroglykan



Beim Menschen wurden bislang insgesamt sechs verschiedene Sarkoglykan-Gene entdeckt: Alpha-, Beta-, Gamma-, Delta-, Epsilon- und Zeta-Sarkoglykan (SGCA – SGCZ).

Mutationen in alpha bis delta Sarkoglykan-Genen sind dafür bekannt autosomal rezessiv vererbte Gliedergürtel-Muskeldystrophien (Sarkoglykanopathien) zu verursachen. Diese nahezu ausschließlich pädiatrischen Muskeldystrophien (LGMD Typ 2C-2F) verlaufen unterschiedlich schwer (Lim et al., 1998). Umso erstaunlicher war die Erkenntnis, dass Träger einer Mutation im ϵ -SG nun

überhaupt keinen klinischen Muskelphänotyp sondern eine autosomal-dominant vererbte Bewegungsstörung aufwiesen, nämlich die M-D.

Im Unterschied zu den α -, β -, γ - und δ -SGs, die vorwiegend oder ausschließlich gewebespezifisch in quergestreifter Muskulatur exprimiert werden, wird das ϵ -SG ubiquitär sowohl in embryonalem als auch in adultem Gewebe exprimiert mit der stärksten Expression auf mRNA-Ebene in Lunge und Herz (Ettinger et al., 1997; Esapa et al., 2006).

Alpha-SG (früher auch Adhalin von arabisch „adhal“ für Muskel) wird nur in quergestreifter, also Herz- und Skelettmuskulatur exprimiert (Roberds et al., 1993).

Gamma-SG findet man zusätzlich noch als Bestandteil des DGC in der glatten Muskulatur von Gefäßen und Eingeweiden, genauso wie Beta- und Delta-SG (Barresi et al., 2000), die zudem noch in geringem Maße in der Lunge, in peripheren Nerven, im Gehirn und in anderen Geweben exprimiert sind (Nigro et al., 1996; Lim et al., 1995).

Delta-SG hat sehr große Ähnlichkeit mit Gamma- (67% Homologie auf Aminosäureebene) sowie Zeta-SG (74,8% Homologie auf Aminosäureebene bei der Maus) und geringere Ähnlichkeit mit Beta-SG. Bei den genannten vier Proteinen handelt es sich um Singlepass Transmembranproteine vom Typ II, das heißt sie durchqueren die Membran nur einmal und haben einen intrazellulären N-Terminus (Wheeler et al. 2002; Hack, 2000; siehe Abb.1)

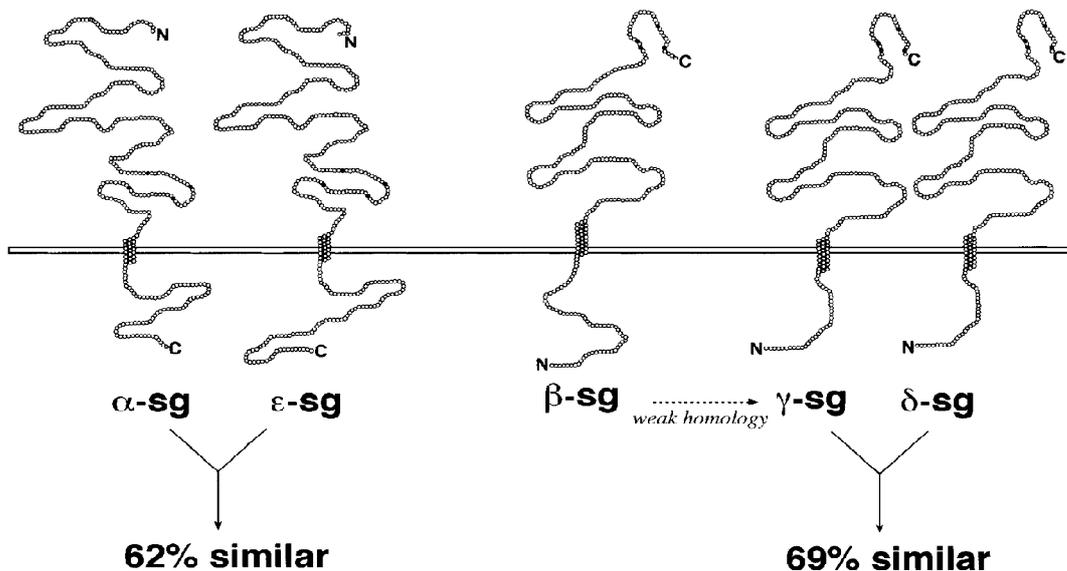
Das Epsilon-SG wurde von Ettinger und McNally auf der Suche nach SG-Homologen entdeckt, da es eine dem Alpha-SG nahezu identische Intron-Exon Struktur aufweist. Jedoch besitzt es bedeutend größere Intronstrecken, was einen beträchtlichen Größenunterschied der beiden Gene zur Folge hat (SGCA: ca. 10kbp, SGCE: 50-100kbp) (Mc Nally, 1998).

Auf Nukleotidebene entspricht das SGCE zu 47% dem SGCA und weist auf Proteinebene eine 62% Ähnlichkeit auf (zu 43% identisch auf Proteinebene). SGCE besitzt 12 Exons und befindet sich auf dem Chromosom 7q21 zwischen den Markern D7S644 und WI-5810. Aus dem Gen wird eine 1,7 kbp große mRNA gebildet (McNally, 1998). Das Protein Epsilon-SG gehört, wie das

Alpha-SG zu den Typ I Transmembranproteinen mit extrazellulärem N-Terminus und besteht aus 438 Aminosäuren.

Abbildung 2: Schematische Darstellung der 5 Sarkoglykane aus Hack et al. 2000; Zeta-SG fehlt. Es weist eine große Homologie zu Delta- und Gamma-SG auf. Alpha- und Epsilon-SG haben auf Aminosäureebene eine 62% Ähnlichkeit, Gamma- und Delta-SG eine 69%ige. Beta-SG hat eine geringe Ähnlichkeit mit Gamma- und Delta-SG. Alpha und Epsilon SG sind Typ I, alle anderen Typ II Transmembranproteine.

α -sg: Alpha-Sarkoglykan, β -sg: Beta-Sarkoglykan, γ -sg: Gamma-Sarkoglykan
 δ -sg: Delta-Sarkoglykan, ϵ -sg: Epsilon-Sarkoglykan.



Wie das Alpha-SG kann auch das Epsilon-SG im Komplex mit dem β -, γ - und δ -SG mit spezifischen Antikörpern im Sarkolemm von Skelettmuskelzellen detektiert werden (Liu, 1999), jedoch scheint es dort im Gegensatz zu diesem und den anderen genannten keine essentielle Rolle zu spielen, da bei M-D Patienten mit nachgewiesener SGCE-Mutation bisher keine Anzeichen einer Muskeldystrophie gefunden werden konnten. Sowohl die Kraft also auch das CK im Blutplasma und die Morphologie der Muskelzellen waren laborchemisch bzw. in Muskelbiopsien normal (Hjermind et al., 2008).

Im Sarkoglykankomplex glatter Muskelzellen soll das Epsilon-SG die Rolle des dort nicht nachweisbaren Alpha-SG einnehmen (Straub et al., 1999). Jedoch zeigen M-D Patienten mit *SGCE*-Mutationen auch keine klinischen oder histologischen Veränderungen für eine Pathologie der glatten Muskulatur.

Auch in der Membran peripherer Nerven liegt das Epsilon-SG in einem Komplex vor. Dort jedoch, anders als in Muskelzellen, mit Beta- und Delta-SG, sowie den beiden Dystroglykanen und Utrophin oder Dp11 (beides Dystrophin-Homologa) (Imamura et al., 2000). Wiederum konnten auch hier in elektrophysiologischen Untersuchungen bei *SGCE*-Mutationsträgern keine pathologischen Auswirkungen beobachtet werden (Asmus et al., 2002).

Warum und wie genau Mutationen im *SGCE* eine M-D auslösen ist im Detail noch unbekannt.

Im Gehirn der Maus wird das *sgce* am stärksten in den Mitralzellen des Bulbus olfactorius, in den Purkinje-Zellen des Cerebellums und in den monoaminergen Neuronen des Hirnstamms exprimiert (Chan et al., 2005). Sowohl das Cerebellum als auch die Hirnstammneurone können an der Genese von Bewegungsstörungen beteiligt sein. Desweiteren wurden bei der Maus zwei Spleissvarianten von *sgce*-Transkripten gefunden (eine vorbeschriebene mRNA-Variante mit Exon 8 und eine neue Variante ohne Exon 8, dafür aber mit einem bisher unbekanntem Exon 11b), die dort unter anderem auch in prä- und postsynaptischen Membranen vorkommen, wo sie eine Rolle bei der Signalübertragung im ZNS und somit eventuell auch bei der Pathogenese der M-D spielen könnten (Nishiyama et al., 2004).

In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass das durch eine Missense-Mutation veränderte *SGCE* nicht zur Membran transportiert werden kann und, dass *TorsinA* sowie das Ubiquitin Proteasom System eine Rolle in der Wiedererkennung und Verarbeitung von falsch gefaltetem Epsilon-SG spielen könnten. Daraus könnte man schließen, dass die M-D eventuell durch den Verlust der Funktionen, die das Epsilon-SG an Plasmamembranen erfüllt, hervorgerufen wird, wo es zum Beispiel zusammen mit anderen Membranproteinen die Aktivität von Neuronen in den Basalganglien und im Cerebellum modulieren könnte (Esapa et al., 2007).

Passend zu dieser Theorie konnte bei Mäusen mit Doppelmutationen im *sgce* sowie *tor1a* (*TorsinA-Gen*), ein früherer Erkrankungsbeginn beobachtet werden (Yokoi et al., 2010).

1.3.3. Mutationsspektrum im *SGCE* bei M-D

Bekannte Mutationen im *SGCE* umfassen Nonsense-, Missense-, und Spleißstellen-Mutationen, sowie Deletionen, Insertionen und Genumlagerungen. Tabelle 1 gibt einen Überblick über bisher publizierte Mutationen (ausgenommen derer, die Mikrodeletionen darstellen und zusätzlich noch angrenzende Gene betreffen).

Eine Assoziation zwischen dem Mutationstyp und dem Phänotyp der M-D konnte bisher nicht festgestellt werden (ausgenommen oben genannter Mikrodeletionen). So war der Phänotyp in Familien mit Missense-Mutationen, die zur Synthese eines kompletten Proteins mit nur einer ausgetauschten Aminosäure führten, nicht milder ausgeprägt als in Familien mit trunzierenden Stopp- oder Spleißstellenmutationen (Raymond et al., 2008; Grünewald et al., 2008).

Die meisten bisher bekannten Mutationen betreffen die Exons 1-7, die für die Extrazellulär- und Transmembrandomäne des ϵ -SGs codieren. In den restlichen, für die Intrazellulärdomäne codierenden Exons, sind nur bei den Exons 9 und 10 ganz wenige Mutationen bekannt. In 8, 11 und 12 wurden bisher gar keine Mutationen beschrieben (siehe auch Tabelle 1).

Tabelle 1: Publierte Mutationen im SGCE-Gen (HGVS 2007 Nomenklatur)

Tabelle modifiziert und ergänzt nach Kinugawa 2008.

Mutationstyp	Genort	Mutation im SGCE- Gen*	Vorhergesagtes Protein	Herkunft	Referenzen	
Nonsense Mutationen	Exon 2	c.208G>T	p.Glu70X	F	du Montcel et al., 2006	
	Exon 3	c.289C>T	p.Arg97X	F/G	Valente et al., 2003; Valente et al., 2005; Zimprich et al., 2001; Hess et al., 2007; O Riordan et al., 2004	
	Exon 3	c.300G>A	p.Trp100X	F	du Montcel et al., 2006	
	Exon 3	c.304C>T	p.Arg102X	F/G/C/D/I	Zimprich et al., 2001; Han et al., 2003; Nardocci et al., 2008; Gerrits et al., 2006; Hedrich et al., 2004; Asmus et al., 2002	
	Exon 4	c.402C>A	p.Tyr134X	I	Nardocci et al., 2008	
	Exon 5	c.481C>T	p.Gln161X	B	Borges et al., 2007	
	Exon 6	unbekannt	p.Gly227Val	unbekannt	Asmus et al., 2007	
	Exon 6	c.709C>T	p.Arg237X	H	Grünewald et al., 2008; Koukouni et al., 2008; Doherty et al., 2002	
	Exon 6	c.810G>A	p.Trp270X	I	Nardocci et al., 2008	
	Exon 7	c.841C>T	p.Gln281X	Irish	Asmus et al., 2009	
	Exon 7	c.856C>T	p.Gln286X	F/D	Gerrits et al., 2006; Asmus et al., 2002; Zimprich et al., 2001	
	Exon 7	c.942C>A	p.Tyr314X	F	Thümmler et al., 2009	
	Exon 9	c.1114C>T	p.Arg372X	F/I	Valente et al., 2005; du Montcel et al., 2006; Grünewald et al., 2008	
	Missense Mutationen	Exon 1	c.107C>G	p.Thr36Arg	unbekannt	Raymond et al., 2008
		Exon 2	c.179A>C	p.His60Pro	G/D/S	Hedrich et al., 2004; Gerrits et al., 2006
Exon 2		c.179A>G	p.His60Arg	S	Schüle et al., 2004	
Exon 3		c.275T>C	p.Met92Thr	F	du Montcel et al., 2006	
Exon 3		c.298T>G	p.Trp100Gly	F	Roze et al., 2008	
Exon 3		c.334G>A	p.Gly112Arg	I	Nardocci et al., 2008	
Exon 3		c.344A>G	p.Tyr115Cys	F	du Montcel et al., 2006	
Exon 5		c.524T>C;	p.Leu175Ser;	D	Ritz et al., 2009	
Exon 5		c.529A>T	p.Ser177Cys			
Exon 5		c.551T>C	p.Leu184Pro	unbekannt/D	Raymond et al., 2008; Quinn et al., 1996	
Exon 5		c.587T>G	p.Leu196Arg	G/W/UK	Klein et al., 2002	
Exon 5		c.662G>A	p.Gly221Asp	UK	Misbahuddin et al., 2007	
Exon 6		c.808T>C	p.Trp270Arg	D	Gerrits et al., 2006	
Exon 6		c.812G>A	p.Cys271Tyr	F	du Montcel et al., 2006	
Deletionen		Exons 1 to 12	kein Transkript	kein Protein	Caucasian	de Berardinis et al., 2003; Grünewald et al. 2008
	Exon 2	c.110-?_2321?del	unbekannt	unbekannt	Grünewald et al., 2008	
	Exons 2 to 3	c.110-?_3901?del	unbekannt	unbekannt	Han et al., 2008	
	Exons 2 to 5	c.110-?_6621?del	unbekannt	unbekannt	Han et al., 2008	
	Exon 2	c.164delG	p.Gly55ValfsX31	W/CZ	Hedrich et al., 2004	
	Exon 2	c.221delA	p.Tyr74SerfsX12	F	du Montcel et al., 2006	
	Exon 3	c.256delA	p.Tyr86HisfsX91	D	Ritz et al., 2009	
	Exon 3	c.276delG	p.Gly93ValfsX39	G	Asmus et al., 2002	
	Exon 4	c.391_405del	p.Ile131_Asn135del	G	Zimprich et al., 2001	
	Exon 4	c.444_447del	p.Asn149X	F	Marechal et al., 2003; du Montcel et al., 2006	
	Exon 5	c.464-?_6621?del	unbekannt	G	Asmus et al., 2005	
	Exon 5	c.483delA	p.Ala162GlnfsX8	G	Zimprich et al., 2001	
	Exon 5	c.488_497del	p.Glu163ValfsX4	G	Zimprich et al., 2001	
	Exon 5	c.539_593del	p.Leu180ProfsX2	W	Wong et al., 2010	
	Exon 5	c.564_576del	p.Lys188AsnfsX5	NK	Valente et al., 2005	
	Exon 5	c.565delA	p.Asn189MetfsX8	G	Zimprich et al., 2001	
	Exon 5	c.619_620del	p.Arg207GlyfsX9	D	Gerrits et al., 2006	
	Exons 6 to 9	c.exon6-9del	?	D	Ritz et al., 2009	
	Exon 6	c.663-?_8251?del	unbekannt	G	Asmus et al., 2005	
	Exon 6	c.733_737del	p.Gln245ArgfsX10	F	Asmus et al., 2002	
	Exon 6	c.771_772del	p.Cys258X	?	Grünewald et al., 2008; Raymond et al., 2008; Nardocci et al., 2008; Hess et al., 2007	
	Exon 6	c.783delA	p.fs269X	Irland	Asmus et al., 2009	
	Exon 6	c.795delA	p.Gln265HisfsX24	unbekannt	Raymond et al., 2008; Hess et al., 2007	
	Exon 7	c.832_836del	p.Thr279AlafsX17	C	Han et al., 2003	
	Exon 7	c.835_839del	p.Thr279AlafsX17	F/C/W/G	Doherty et al., 2002; Han et al., 2003; du Montcel et al., 2006; Hess et al., 2007; Klein et al. 2002	
Exon 7	c.946delG	p.D316IfsX318?	D	Ritz et al., 2009		
Exon 7	c.966delT	p.Val323CysfsX11	G/S	Müller et al., 2002; Schüle et al., 2004		
Exon 7	c.974delC	p.Ser325TrpfsX9	D	Hjermind et al., 2003		
Exon 7	c.974_977delCGGC	p.Ser325X	D	Ritz et al., 2009		
Exon 9	c.1151delT	p.Leu384ArgfsX10	D	Raymond et al., 2008		
Exon10	c.del_ex10	fs421X	Irish	Asmus et al., 2009		
Insertion	Exon 5	c.625insG	?	G	Müller et al., 2002	
	Exon 6	c.745_746insTGTA	p.Ser249fsX250	F	du Montcel et al., 2006	
Duplikation	Exon 7	c.885_886insT	p.Pro296SerfsX2	G/D	Gerrits et al., 2006; Foncke et al., 2003	
	Exon 5 ¹	c.626dupG	p.Arg210GlnfsX7	G	Müller et al., 2002	
Splice Stellen- Mutationen	Exon 5 ²	c.662+1dup	unbekannt	Ch	Chen et al., 2008	
	Exon 6 ³	c.742_745dup	p.Ser249MetfsX2	F	du Montcel et al., 2006	
	Intron 1	c.109+1G>T	Possible skipping exon 1	K	Chung et al., 2007	
	Intron 1	c.109+1G>A	Possible skipping exon 1	unbekannt	Raymond et al., 2008; Hess et al., 2007	
	Intron 2	c.232+1G>A	Possible skipping exon 2	B/F	du Montcel et al., 2006; Borges et al., 2007	
	Intron 2	c.232+1G>T	Possible skipping exon 2	unbekannt	Raymond et al., 2008	
	Intron 2	c.232+2T>C	Possible skipping exon 2	F	du Montcel et al., 2006	
	Intron 2	c.233-1G>T	Skipping exon 3	F/I	du Montcel et al., 2006; Nardocci et al., 2008	
	Intron 2	c.233-1G>A	Skipping exon 3	F	Asmus et al., 2002; Cif et al., 2004	
	Intron 3	c.391-3T>C	unbekannt	I/F	Valente et al., 2005; Roze et al., 2008	
	Intron 3	c.391-43A>C	unbekannt	unbekannt	Kock et al., 2004	
	Intron 4	c.463+6T>C	unbekannt	UK	Asmus et al., 2002	
	Intron 5	c.662+5G>A	?	G	Asmus et al., 2002	

Intron 5	c.663-1G>A	Possible skipping exon 6	I	Nardocci et al., 2008
Intron 6	c.825+1G>A	Possible skipping exon 6	G	Zimprich et al., 2001
Intron 6	c.826-1G>A	Possible skipping exon 7	I	Nardocci et al., 2008
Intron 7	c.1037+2T>C	Possible skipping exon 7	D	Gerrits et al., 2006
Intron 7	c.1037+5G>A	unbekannt	G	Asmus et al., 2002

*Nummerierung Entsprechend des größten SGCE Transkripts (Genbank reference sequence: NM_001099401.1).

¹als c.625insG beschrieben

²als c.662+1insG beschrieben

³als c.745-746insTGTA beschrieben

B, Brasilien; C, Kanada; Ch, China; CZ, Tschechien; D, Dutch; F, Frankreich; G, Deutschland; H, Ungarn; I, Italien; K, Korea; S, Serbien; UK, United Kingdom; W, Wales

1.3.4. Erbgang der Myoklonus-Dystonie und maternale Prägung des *SGCE*-Gens

Die M-D folgt einem autosomal dominanten Erbgang mit verminderter Penetranz im Falle maternalen Transmission des Gens. Bereits bei der Identifizierung von *SGCE* als krankheitsverursachend für die M-D, führte dieser Befund zur Annahme, dass das *SGCE* auch beim Menschen einem maternalen Prägungsmechanismus (maternales Imprinting) unterliegt (Zimprich et al., 2001). Maternales Imprinting war zuvor schon bei der Maus für *sgce* nachgewiesen worden (Piras et al., 2000).

Bei der genomischen Prägung wird nur das nicht geprägte, in diesem Fall väterliche, Allel exprimiert. Die Transkription des geprägten Allels hingegen wird unterdrückt. Methylierungen von CpG-Dinukleotiden (meist in Promotorregionen) korrelieren mit einer solchen Unterdrückung der Transkription von entsprechenden Genen (Reik und Murrell, 2000). Untersuchungen zum Methylierungsmuster von CpG Dinukleotiden der CpG-Inseln des *SGCE*, die dessen Promotorregion sowie das Exon 1 beinhalten, ergaben eine Methylierung des mütterlichen Allels in Blutzellen, während bei dem entsprechenden Allel väterlichen Ursprungs keine Methylierung nachzuweisen war. Auch in Hirngewebe konnte eine solche Inaktivierung des mütterlichen Allels durch Methylierung nachgewiesen werden (Grabowski et al., 2003; Müller et al., 2002). Zusammen mit dem an Stammbäumen beobachteten Vererbungsmuster der M-D kann also von einer maternalen Prägung des *SGCE* ausgegangen werden.

Dennoch wurde bei bis zu 6% der Mutationsträger, die diese von ihrer Mutter erbt hatten, ein typischer M-D Phänotyp beobachtet. Andererseits können auch Individuen mit Übertragung der Mutation durch den Vater in Einzelfällen asymptomatisch sein (Zimprich et al., 2001). Wie genau diese Ausnahmen zustande kommen ist bisher ungeklärt.

Die maternale Übertragung des mutierten Gens über Generationen hinweg, kann eine negative Familienanamnese vortäuschen, jedoch wurden auch *de novo* Mutationen beschrieben (Hedrich et al., 2004; Borges et al., 2007). Eine negative Familienanamnese schließt also eine M-D mit *SGCE*-Mutation nicht aus.

Desweiteren kann, aufgrund der maternalen Prägung, eine M-D auch dann vorliegen, wenn keine Mutation im *SGCE* vorhanden ist. Dies nämlich im Falle, dass beide Chromosomen 7 von der Mutter stammen (= maternale uniparentale Disomie). Unter diesen Umständen sind beide vorhandenen Allele durch Methylierung stillgelegt. Allerdings findet sich bei diesen Patienten zusätzlich das Silver-Russel-Syndrom (angeborenes Fehlbildungssyndrom, das vorwiegend mit Kleinwuchs einhergeht), das durch den Ausfall weiterer maternal geprägter Gene auf Chromosom 7 zustande kommt (Guettard et al., 2008).

1.3.5. Der Phänotyp der M-D

Die Erkrankung beginnt in der Regel bereits im Kindes- oder Jugendalter. Jungen und Mädchen sind gleich häufig betroffen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt zwischen 4 und 6 Jahren (Nardocci et al., 2008; Asmus et al., 2002; Roze et al., 2008). Mädchen erkranken im Mittel etwas früher als Jungen (5 versus 8 Jahre mittleren Erkrankungsalters) (Raymond et al., 2008). Ein Beginn der Erkrankung nach dem 20. Lebensjahr ist sehr selten. Dennoch wurde in einer niederländischen M-D Familie eine Patientin mit einem Erkrankungsalter von angeblich bereits 75 Jahren gefunden (Foncke et al., 2006).

Das vorherrschende Symptom bei Beginn und auch im Verlauf der Erkrankung ist der Myoklonus, der durch sehr kurze, „blitzartige“ Zuckungen gekennzeichnet ist. Er betrifft hauptsächlich die Nacken- und Rumpfmuskulatur, aber auch die Extremitäten, wobei die obere häufiger als die untere Extremität und die proximalen stärker als die distalen Muskeln betroffen sind. Er kann durch Halteversuche (zum Beispiel horizontales Vorhalten der Arme), Bewegung und psychischen Stress ausgelöst oder verstärkt werden, kommt aber auch in Ruhe vor (hier jedoch meist deutlich seltener und schwächer). Er zeigt keine Sensitivität auf somatosensorische Stimuli (Roze et al., 2008).

Eine zusätzliche Dystonie kann in circa zwei Drittel der Fälle beobachtet werden und manifestiert sich am häufigsten als Schreibkrampf oder zervikale Dystonie. Die Erstmanifestation einer Dystonie ist meist später als die des Myoklonus. Das mittlere Alter bei Manifestation der Dystonie liegt bei 8,8 Jahren. Dystonien sind nur sehr selten alleiniges Symptom einer M-D mit *SGCE*-Mutation (Asmus et al., 2002; Asmus und Gasser 2004).

In manchen Fällen können auch die Beine von der Dystonie und/oder dem Myoklonus betroffen sein, was Gangstörungen und Stürze zur Folge hat. Besonders bei sehr jungen Patienten (unter 2 Jahren) kann dies sogar zunächst das vorherrschende klinische Bild der Erkrankung sein (Asmus et al. 2009; Koukouni, 2008). Da Aktion die Extremitätendystonien bei einer M-D meist verschlechtert und zusätzlich durch Bewegung Myoklonien getriggert werden können, können im Alltag schwer beeinträchtigende Beschwerdebilder entstehen.

Sowohl der Myoklonus als auch die Dystonie sind in vielen aber nicht allen Fällen alkoholresponsiv (Roze et al., 2008; Asmus et al., 2002).

In einigen M-D Familien wurde von vermehrten psychiatrischen Störungen, wie unter anderen Zwangs-, Panik- und Persönlichkeitsstörungen sowie Alkoholabhängigkeit bei Patienten mit *SGCE*-Mutation berichtet (Asmus et al., 2002; Klein et al., 1999; Saunders-Pullman, 2002). Jedoch konnte bisher noch kein eindeutiger kausaler Zusammenhang zwischen *SGCE*-Mutationen und psychiatrischen Störungen bewiesen werden. Die Alkoholabhängigkeit steht häufig auch im Zusammenhang mit einer Eigetherapie der Bewegungsstörung

bei Patienten mit alkoholresponsiver M-D, da sie bei motorisch asymptomatischen Mutationsträgern nicht vermehrt auftritt. Am ehesten ist noch die Zwangsstörung mit der Mutation assoziiert (Saunders-Pullman et al., 2002; Hess et al., 2007), wobei jedoch auch hierüber noch Unklarheit herrscht (Foncke et al., 2009).

Der Krankheitsverlauf variiert beträchtlich, ist jedoch in der Regel mit einer aktiven Lebensführung und normalen Lebenserwartung vereinbar (Nygaard et al., 1999). Oft verschlimmern sich die Symptome bis zur Pubertät, schreiten danach jedoch nicht weiter fort oder bessern sich sogar. Dennoch kann der Myoklonus zu jeder Zeit im Krankheitsverlauf an Intensität oder Frequenz zunehmen (Roze et al., 2008; Asmus et al., 2002).

Bildgebende Verfahren, Laborparameter und EEG zeigen typischerweise keine Auffälligkeiten.

Da bei wenigen Patienten EEG-Veränderungen mit meist fokalen Epilepsien aufgetreten sind, sollten diese jedoch nicht mehr als Ausschlusskriterium einer M-D herangezogen werden (Foncke et al., 2003; O’Riordan et al., 2004).

2. Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es

1. Von einem Kollektiv von Patienten, die im Zeitraum von 2001 bis 2009 für die genetische Diagnostik einer hyperkinetischen Bewegungsstörung mit im Vordergrund stehendem Myoklonus und/oder einer Dystonie überwiesen worden waren, die vorliegenden klinischen Daten zunächst zusammenzufassen. Mit diesen Phänotypdaten sollten die Patienten retrospektiv nach aktuellen Diagnosekriterien für eine Myoklonus-Dystonie (Asmus et al., 2004, Grünewald et al., 2008) kategorisiert werden. Diese Kriterien waren:

1. Früher Erkrankungsbeginn (<20 Jahre)
2. Kurze „blitzartige“ Myoklonien vor allem in oberen Körperregionen, entweder isoliert oder zusammen mit einer fokalen oder segmentalen Dystonie auftretend
3. Myoklonus durch Bewegung auszulösen oder zu verstärken
4. Positive Familienanamnese, die auf einen maternalen Imprintingmechanismus hinweist
5. Positives Ansprechen der Bewegungsstörung auf Alkoholzufuhr

2. Es sollte überprüft werden, ob es in der Ausprägung dieser klinischen Daten signifikante Unterschiede zwischen *SGCE*-Mutationsträgern und *SGCE*-Mutationsnegativen gab. So sollten die Parameter identifiziert werden, die das Potential hatten die beiden Gruppen voneinander zu trennen und somit den *SGCE*-Mutationsstatus vorherzusagen.

3. Aus den so identifizierten Parametern, sollte eine logistische Regressionsgleichung erstellt werden, die eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit, mit der eine Mutation im *SGCE*-Gen im speziellen Fall gefunden werden kann, möglich machen sollte.

Damit könnte der Phänotyp der auf einer *SGCE*-Mutation basierenden M-D in Zukunft besser gegen andere hyperkinetische Bewegungsstörungen abgegrenzt werden. Somit könnten auch *SGCE*-Mutationsscreenings in Zukunft gezielter bei den Patienten eingesetzt werden, die auch eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für eine positive Testung haben.

3. Probanden und Methoden

3.1. Probanden

In die Studie einbezogen wurden 151 Probanden. Dabei handelt es sich um alle Probanden, deren Blut- oder DNA-Proben zwischen den Jahren 2001 und 2009 zur genetischen Testung auf *SGCE*-Mutationen bei der Arbeitsgruppe Neurogenetik, Prof. Thomas Gasser, Klinikum Großhadern in München und später nach Umzug dieser Arbeitsgruppe- am Universitätsklinikum Tübingen, Zentrum für Neurologie, Hertie-Institut für klinische Hirnforschung eingegangen und getestet worden waren. Ergänzend wurden diese Probanden auch auf *DYT1*-Mutationen im Exon 5 des *Tor1A* und ab 2009 (auch rückwirkend für das gesamte Kollektiv, d.h. auch für Proben, die zwischen 2001 und 2009 eingegangen sind) auf *DYT6*-Mutationen (*THAP1*-Gen) getestet. Die drei genannten Gene stellten im Untersuchungszeitraum die Gesamtheit bekannter Gene für idiopathische Torsionsdystonien bzw. M-D dar. Da auch andere Arbeitsgruppen nie weitere Mutationen im *DRD2* bei M-D finden konnten, wurde diese Analyse bereits 2003 eingestellt und nur für eine kleine Zahl der hier dargestellten Patienten durchgeführt. Diese Teilanalyse wurde jedoch im Rahmen der hier vorliegenden Dissertation nicht weitergehend analysiert.

Für den Einschluss in die vorliegende Untersuchung mussten verwertbare klinische Informationen zum Phänotyp bzw. zum Krankheitsverlauf zur Verfügung stehen. Zu diesen verwertbaren klinischen Informationen gehörten Alter bei Beginn der M-D, Familiengeschichte im Hinblick auf die M-D mit Stammbaum, Verteilung des Myoklonus/der Dystonie bei Beginn der Erkrankung und zum Zeitpunkt der Untersuchung, Alkoholrespons der Symptomatik, Aktionstriggerung des Myoklonus/der Dystonie und psychiatrische Begleiterkrankungen.

Zur Erhebung dieser Daten wurden alle einsendenden Ärzte zum Zeitpunkt der Einsendung der Probe gebeten, neben dem Anforderungsschein für die DNA-Untersuchung, einen kurzen klinischen Fragebogen (siehe Abb.3) auszufüllen. Außerdem wurden in einigen Fällen zusätzlich Arztbriefe der betreffenden Probanden mitgeschickt, anhand derer die Daten ergänzt bzw. weitere Daten

erhoben werden konnten, wie zum Beispiel die Aktionstriggerung der Myoklonien, die nicht im Fragebogen vorkam.

Probanden, von denen keine klinischen Informationen dokumentiert waren, konnten selbstverständlich nicht in die Auswertung und statistische Analyse mit einbezogen werden.

Einschlußkriterien der genetischen Analysen waren:

1. Das Vorliegen einer primären, hyperkinetischen Bewegungsstörung (phasische Dystonie und/ oder Myoklonus, inklusive essentieller Myoklonus (Mahloudji et al. 1967)).
2. Ausschluss einer symptomatischen Ursache, wie strukturelle Hirnläsionen, z. B. durch eine normale MRT-Bildgebung des Gehirns.
3. Ausschluss anderer neurologischer Störungen wie Myoklonien bei Epilepsie, zerebelläre Ataxie oder reiner Halte- oder Aktionstremor ohne Myoklonus oder reine Dystonie.
4. Ein nicht chronisch progredienter („gutartiger“¹) Verlauf der Symptomatik von mindestens 3 Jahren, um chronisch progrediente Erkrankungen, wie kindliche/juvenile Parkinson-Syndrome oder andere komplexe neurodegenerative oder metabolisch degenerative Erkrankungen, als Ursache auszuschließen.

Im Falle der Probanden, die nicht vom Studienleiter (Dr. Friedrich Asmus) selbst rekrutiert und/oder untersucht wurden, erfolgte die Sicherung der Verdachtsdiagnose nach oben genannten Einschlußkriterien in Rücksprache mit dem rekrutierenden Arzt und dem Studienleiter. Akzeptiert wurden nur klinische Diagnosen von Ärzten, die sich auf Bewegungsstörungen spezialisiert hatten.

Asymptomatischen Blutsverwandten von *SGCE*-Mutationsträgern wurde ebenfalls unter Einhaltung der zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt im entsprechenden Land des Einsenders geltenden Richtlinien zur genetischen Diagnostik die Testung auf *SGCE*-Mutationen angeboten. So gefundene asymptotische *SGCE*-Mutationsträger, die ihre Mutation fast ausschließlich

¹ „gutartig“ wird hier zur Abgrenzung gegen chronisch progrediente hereditäre degenerative Erkrankungen, wie Chorea Huntington verwendet. Der Begriff beschreibt nicht die doch teilweise erheblichen Auswirkungen der Bewegungsstörung auf Alltagstätigkeiten bei einigen Patienten.

von der Mutter ererbt hatten, wurden nicht im Datensatz belassen und nicht in die Studie mit einbezogen.

Auch Probanden, die ihre *SGCE*-Mutation vom Vater ererbt hatten aber trotzdem klinisch asymptomatisch waren (unvollständige Penetranz), wurden nicht in die statistische Analyse zur Vorbereitung und Erstellung einer Regressionsgleichung integriert. Probanden der beiden letztgenannten Szenarien können nämlich (da klinisch asymptomatisch) keinen Beitrag zu Diagnosevorhersage anhand *klinischer* Kriterien in Bezug auf den *SGCE*-Mutationsstatus leisten. Die Basisdaten der „asymptomatischen“ *SGCE*-Mutationsträger sind jedoch unter Punkt 4.9. beschrieben.

Da eine Dystonie in seltenen Fällen auch als einziges Symptom einer M-D auftritt (Asmus und Gasser, 2004), wurden Probanden, bei denen nach elektrophysiologischen Kriterien kein Myoklonus, dafür aber eine Dystonie mit stark phasischen („myoklonischen“) Elementen, vorlag, ebenfalls auf *SGCE*-Mutationen getestet.

Bei allen Probanden wurden *DYT1*-Mutationen (nur Exon 5) sowie *DYT6*-Mutationen ausgeschlossen.

Von allen Probanden liegt eine schriftliche Einverständniserklärung zur Untersuchung derer DNA zu Forschungszwecken vor.

Die vorliegende Studie wurde von der örtlichen Ethikkommission bewilligt.

Abb. 3: Fragebogen anhand dessen neben Arztbriefen die Datenerhebung erfolgte

Myoklonus-Dystonie Erfassungsbogen

Großer Patientenaufkleber oder Stammdaten:	Geschlecht: <input type="checkbox"/> männlich <input type="checkbox"/> weiblich
Name (Nachname, Vorname):	Status: <input type="checkbox"/> betroffen <input type="checkbox"/> gesund
ID#:	Dystonie: <input type="checkbox"/> sicher <input type="checkbox"/> wahrscheinlich <input type="checkbox"/> möglich <input type="checkbox"/> keine Dystonie
Geburtsdatum:	

Verteilung bei Untersuchung(bitte kreuzen Sie alle betroffenen Bereiche auf der Figur an)

Myoklonus	Dystonie

Symptome zu Krankheitsbeginn:

Myoklonus	Dystonie
Lokalisation: Alter:	Lokalisation: Alter:

Verteilung bei Untersuchung:(Wählen Sie bitte eines der unten stehenden Kästchen und kreuzen Sie alle betroffenen Körperregionen auf den Abbildungen an)

Myoklonus	Dystonie
<input type="checkbox"/> Generalisiert (=2 oder mehr Körpersegmente incl. der unteren Extremität) <input type="checkbox"/> Hemimyoklonus (=streng begrenzt auf eine Körperhälfte) <input type="checkbox"/> Multifokal (=zwei oder mehr nicht zusammenhängende Körperregionen) <input type="checkbox"/> Segmental (=zwei oder mehr zusammenhängende Körperregionen) <input type="checkbox"/> Fokal (=eine betroffene Körperregion)	<input type="checkbox"/> Generalisiert (=2 oder mehr Körpersegmente incl. der unteren Extremität) <input type="checkbox"/> Hemidystonie (=streng begrenzt auf eine Körperhälfte) <input type="checkbox"/> Multifokal (=zwei oder mehr nicht zusammenhängende Körperregionen) <input type="checkbox"/> Segmental (=zwei oder mehr zusammenhängende Körperregionen) <input type="checkbox"/> Fokal (=eine betroffene Körperregion)

Krankengeschichte mit möglichem Einfluss auf die Entstehung eines Krankheitsbilds ähnlich M-D(Mehrfachauswahl möglich!)

<input type="checkbox"/> Anoxie/Schwangerschafts-oder Geburtskomplikation	<input type="checkbox"/> Trauma-Schädel
<input type="checkbox"/> CVA(zerebrovaskulärer Schaden)	<input type="checkbox"/> Trauma-peripher
<input type="checkbox"/> Infektion	<input type="checkbox"/> Neuropathie im Bereich der Dystonie(z.B. ulnar)
<input type="checkbox"/> Tumor	<input type="checkbox"/> Allgemeinanästhesie
<input type="checkbox"/> Mitochondriale Störung	<input type="checkbox"/> Neuroleptika/Dopamin-Antagonisten-Exposition(falls möglich, bitte Medikament/Wirkstoff angeben)
<input type="checkbox"/> Heredodegenerative/metabolische Störung(bitte angeben)	

Familienanamnese für Bewegungsstörungen (z.B. Dystonie, Myoklonus, Tremor, Parkinson, etc.)

<input type="checkbox"/> positiv	<input type="checkbox"/> möglich	<input type="checkbox"/> negativ	<input type="checkbox"/> nicht bekannt
Bitte fügen Sie hier einen Stammbaum der Familie ein und geben Sie bitte die betreffenden Beschwerden der Verwandten an:			

Psychiatrische Symptome:

<input type="checkbox"/> keine psychiatrischen Auffälligkeiten	<input type="checkbox"/> nicht untersucht
<input type="checkbox"/> Zwangsstörung (bitte Symptome angeben)	<input type="checkbox"/> Angststörung (bitte Symptome angeben)
<input type="checkbox"/> Alkoholmissbrauch <u>ohne</u> Abhängigkeit	<input type="checkbox"/> Alkoholmissbrauch <u>mit</u> Abhängigkeit
<input type="checkbox"/> Depression	<input type="checkbox"/> Andere(bitte genaue Angaben)

Klassifikation des Myoklonus-Dystonie Syndroms:

<input type="checkbox"/> Myoklonus-Dystonie	
<input type="checkbox"/> Essentieller Myoklonus (=Myoklonus als alleiniges Symptom)	<input type="checkbox"/> Sekundärer Myoklonus <input type="checkbox"/> Tardiv <input type="checkbox"/> Andere(bitte angeben)
<input type="checkbox"/> Primäres Dystonie Plus Syndrom <input type="checkbox"/> Dopa-responsive Dystonie <input type="checkbox"/> Dystonie-Parkinsonismus <input type="checkbox"/> Paroxysmale Dystonie <input type="checkbox"/> Andere (bitte angeben)	<input type="checkbox"/> Heredodegenerativ(bitte angeben, falls bekannt)
<input type="checkbox"/> nicht definitiv klassifizierbares Syndrom	<input type="checkbox"/> asymptomatischer Verwandter

Zugewiesen durch:

Name, Vorname	Institution/Klinik	Datum, Unterschrift

3.2. Extraktion und Zusammenfassung der Daten

Die Extraktion der Daten erfolgte aus dem in Abbildung 3 gezeigten Fragebogen und, falls vorhanden, aus Arztbriefen. Hier wurde zunächst überprüft, ob die unter 3.1. genannten Einschlusskriterien für die vorliegende Studie erfüllt wurden. War dies der Fall erfolgte die Übertragung der Daten in das Statistikprogramm PASW (Predictive Analysis SoftWare) Statistics 18. Zur Anonymisierung der Daten erhielt jeder Proband eine Nummer. Als nominalskalierte dichotome Variablen wurden anhand der Informationen aus dem Fragebogen erfasst: Das Geschlecht (männlich oder weiblich), die cervikale Dystonie (vorhanden oder nicht vorhanden; aus dem Schaubild im Fragebogen zu entnehmen), die Manifestation des Myoklonus an den unteren Extremitäten (ja oder nein), die Verteilung des Myoklonus/der Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung (fokal, ja oder nein, segmental ja oder nein und so weiter), die Familienanamnese (positiv oder negativ), der betroffene Vater (ja oder nein), die betroffene Mutter (ja oder nein), die psychiatrische Begleiterkrankung (ja oder nein), der Alkoholmissbrauch (ja oder nein). Als nominalskalierte dichotome Variablen wurden anhand der Informationen aus Arztbriefen erfasst: Die Alkoholresponse (positiv oder negativ) und die Aktionsinduzierbarkeit der Myoklonien (ja oder nein). Als verhältnisskalierte Variable wurde das Alter bei Erkrankungsbeginn mit Hilfe des Fragebogens und der Arztbriefe erfasst. Außerdem wurde anhand des Fragebogens (zugewiesen durch Institution oder Klinik) und der Arztbriefe die Herkunft der Probanden erfasst.

3.3. Molekulargenetische Untersuchungen

Die Grundlage der vorliegenden Arbeit war zunächst die Untersuchung der eingehenden Patientenproben auf Mutationen im *SGCE* (Zimprich et al., 2001), im Exon 5 des *Tor1A* (Analyse der GAG-Deletion im Exon 5) und ab 2009 rückwirkend für alle Proben im *THAP1* durch Sequenzierung der kodierenden Sequenzen des Gens (Fuchs et al., 2009). Diese Untersuchungen wurden von

der Dystonie Arbeitsgruppe in München und später am Hertie-Institut in Tübingen durchgeführt. Sie waren somit nicht Teil dieser Arbeit. Trotzdem soll die Methodik dieser Untersuchungen hier kurz erläutert werden, um die Grundlagen auf denen die vorliegende Dissertation basiert darzulegen. Detaillierte Informationen zu verwendeten Verbrauchsmaterialien etc., die den Rahmen dieser Arbeit sprengen würden, sind von Dr. Friedrich Asmus zu erhalten: friedrich.asmus@dystonia-genetics.com

3.3.1. DNA-Isolierung aus Leukozyten

Die DNA für die Mutationsanalyse wurde aus Leukozyten des peripheren Blutes gewonnen. Zu diesem Zweck wurde jedem Probanden 20ml EDTA-Blut aus einer peripheren Vene abgenommen und bei Raumtemperatur noch am Tag der Abnahme ins Analyselabor versandt. Hier erfolgte zunächst die Lagerung der Proben bei 4°C im Kühlschrank bis zur zeitnahen DNA-Extraktion. Die DNA wurde dann innerhalb eines Zeitraumes von einem bis maximal drei Tagen mit der Aussalzmethode (Miller et al., 1988) oder dem DNeasy Kit (Proteinase-K-Verdau, Firma Qiagen, USA) präpariert. Konzentration und Reinheit der gewonnenen DNA wurden spektralphotometrisch, z.B. mit dem NanoDrop Spectrophotometer (ND-1000 V.3.1.2), bestimmt. Dabei erfolgte die Konzentrationsbestimmung durch Messung der Absorption der Probe bei einer Wellenlänge von 260nm in einer 1cm dicken Küvette gegen einen Leerwert. Eine Absorption von 1 entspricht einer Konzentration von 50ug/ml. Die Reinheit wurde durch die zusätzliche Absorptionsmessung bei 280nm und Bildung des Quotienten (Absorption bei 260nm)/(Absorption bei 280nm) ermittelt. Ein Quotient von circa 1,8 zeigt hierbei geringe Verunreinigungen und Proteinrückstände an und wird somit bei einer nahezu reinen DNA-Isolierung erreicht (>2,0: Indiz für Verunreinigung mit RNA; <1,7: Indiz für Proteinrückstände).

3.3.2. Polymerasekettenreaktion zur Amplifikation von Zielsequenzen des SGCE-Gens

Um eine Mutationsanalyse durchführen zu können, wurden zunächst die Zielsequenzen (Exone + circa 50bp beidseits intronisch zur Analyse auf Spleißstellen-Mutationen oder kleinere Deletionen) des zu untersuchenden Gens mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) *in vitro* vervielfältigt.

Dabei spielt die Wahl der Primer eine wichtige Rolle. Bei den Primern handelt es sich um Oligonukleotide, die aus 15-30 Nukleotiden zusammengesetzt sind. Ihre Nukleotidsequenz wird so gewählt, dass sie komplementär zur gewünschten Bindungsstelle ist. Der sogenannte forward-Primer wird benötigt, um auf einem der DNA-Einzelstränge den Startpunkt A der DNA-Synthese festzulegen, der reverse-Primer hingegen legt dann den Startpunkt B auf dem komplementären Einzelstrang fest. So wird der zu vervielfältigende DNA-Bereich von beiden Seiten her begrenzt. Auf diese Weise wird in mehreren Reaktionszyklen genau die gewünschte Zielsequenz vervielfacht, dessen eines Ende dann durch den Startpunkt A und dessen anderes Ende durch den Startpunkt B begrenzt ist. Die beiden Primer sollten keine zueinander komplementären Nukleotidsequenzen enthalten, um eine Anlagerung aneinander zu vermeiden. Des Weiteren sollten sie eine ähnliche Schmelztemperatur (Temperatur, bei der sich die Primer von den DNA-Einzelsträngen ablösen) besitzen. Diese ist wichtig für die Auswahl der Hybridisierungstemperatur (Temperatur bei der sich die Primer an die DNA-Einzelstränge anlagern). Sie sollte ca. 5 °C unter der Schmelztemperatur der Primer liegen, dabei jedoch so hoch wie möglich sein. Bei zu niedrigen Hybridisierungstemperaturen kann es sonst zu unspezifischen Anlagerungen der Primer kommen. Die PCR Bedingungen samt Einstellungen des Thermocyclers und Primersequenzen für den vorliegenden Fall wurden bereits publiziert (Asmus et al., 2002). Die Sequenzen der Primer für die 12 Exons des SGCE-Gens wurden zum Beispiel anhand der Einträge für das genannte Gen im „Human Genome Browser“ (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>) bestimmt und mit Hilfe des Webprogramms „Primer 3“(<http://frodo.wi.mit.edu/>) designt.

3.3.3. Sequenzierung nach der Dideoxy-Methode

Nach der Vervielfältigung und Aufreinigung (z.B. mit dem Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen, Chatsworth, CA)) der einzelnen Exone des *SGCE* wurden diese einer Mutationsanalyse unterzogen. Dazu musste zunächst ihre genaue Basenabfolge durch Sequenzierung ermittelt und dann mit der in der Literatur angegebenen Sequenz des nicht mutierten *SGCE* verglichen werden (NCBI Entrez Gene, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene>). Für die Probanden dieser Arbeit erfolgte die Sequenzanalyse nach der Standardmethode der Dideoxy-Amplifikation nach Sanger (Sanger et al., 1977) mit Hilfe des AmpliSequence Kit (Perkin-Elmer, Norwalk, CT). Bei dieser Methode wird im Grunde eine für die Sequenzierung modifizierte PCR durchgeführt. Im Reaktionsansatz befinden sich die Kopien des zu sequenzierenden DNA-Stranges, der hierfür passende Primer, die Taq-Polymerase, 2'-Desoxynukleotide und im Unterschied zu einer normalen PCR die 2'-3'-Dideoxynukleotide. Diese 2'-3'-Dideoxynukleotide, besitzen an der Position 3 anstelle der für die Elongation notwendigen Hydroxy-Gruppe ein H-Atom. Somit wird immer dann, wenn ein solches abgeändertes Nukleotid anstelle eines normalen Nukleotids in die Kette eingebaut wird, die Synthese des betreffenden Stranges abgebrochen. Demnach entstehen so viele unterschiedlich lange DNA-Fragmente, wie es Basen in dem zu sequenzierenden Strang gibt (minus der Basen, an die der Primer bindet). Die Größe der DNA-Fragmente zeigt die Position der jeweiligen Nukleotidbase in der Sequenz an. Außerdem sind die 2'-3'-Dideoxynukleotide fluoreszenzmarkiert und zwar jede der 4 codierenden Basen mit einem anderen Farbstoff. Die bei der Reaktion entstehenden verschieden großen DNA-Fragmente werden schließlich kapillarelektrophoretisch ihrer Größe nach getrennt (ABI PRISM 3100 DNA Sequencer, ABI, USA). Die farbcodierten End-Nukleotide können der Reihe nach abgelesen werden und zeigen so die Sequenz des Vorlagen-Stranges an.

Der Vergleich der erhaltenen Sequenz mit der in der Literatur angegebenen nicht mutierten Sequenz des *SGCE* erfolgte dann entweder manuell oder mit

Hilfe des als Freeware verfügbaren Software-Programms Staden-Paket (<http://staden.sourceforge.net/>).

3.3.4. Bestimmung von Veränderungen der Gendosis durch quantitative PCR

Auch Veränderungen der Gendosis, wie zum Beispiel Deletionen ganzer Exons, können eine M-D verursachen (Asmus et al., 2005; Asmus et al., 2007). Mit den oben beschriebenen Methoden der direkten Sequenzierung können diese jedoch nicht detektiert werden, da, zum Beispiel bei einer heterozygoten Deletion des kompletten Exon 5, das Exon 5 des nicht deletierten Allels immer noch per PCR vervielfältigbar und sequenzierbar ist und in der Sanger-Sequenzierung somit ein Normalbefund zu erheben ist.

Der einzige Unterschied bei größeren Deletionen liegt in der Menge der vervielfältigten Exons 5. Mit der quantitativen PCR ist es möglich auch solche Veränderungen der Gendosis zu finden, die einem Unterschied von 50% entsprechen. Bei Probanden dieser Studie wurde dazu die quantitative oder auch Echtzeit-PCR (Realtime-PCR) im Light Cycler (Roche Diagnostics) mit der FRET-Technik (fluorescence resonance energy transfer technique) mit Hybridisierung von fluoreszenz-markierten Sonden pro Extensionszyklus an die Ziel-DNA durchgeführt. Dabei werden zur Quantifizierung von Nukleinsäuren Fluorochrom-markierte Sonden eingesetzt. Fluorochrome sind polyaromatische Kohlenwasserstoffe oder Heterocyclen, die nach Anregung durch Licht einer bestimmten Wellenlänge wiederum Licht einer größeren Wellenlänge emittieren, d.h. fluoreszieren. Bei der FRET-Technik wird ein sogenanntes Donor-Fluorochrom zunächst durch eine Lichtquelle zum fluoreszieren angeregt. Befindet sich in ausreichender Nähe ein Akzeptor-Fluorochrom, so findet ein Energietransfer vom Donor- zum Akzeptor-Fluorochrom statt, das Fluoreszenzsignal des Donors nimmt ab, das des Rezeptors hingegen zu. Umgekehrt nimmt bei zunehmender Entfernung von Donor und Akzeptor das Fluoreszenzsignal des Donors wieder zu und das des Akzeptors ab. In diesem Fall wurden Hybridisierungssonden mit Fluoreszenzfarbstoffen, die durch den Light Cycler detektiert werden können, verwendet. Hierbei handelt es sich um

zwei verschiedene mit einem Donor bzw. Akzeptor-Fluorochrom (hier Light Cycler Red und Fluorescein) markierte Oligonukleotide, die nach jedem Amplifikationszyklus nebeneinander an ihre jeweiligen Zielsequenzen auf den DNA-Einzelsträngen des *SGCE*-Gens binden. Gemäß dem oben erläuterten Prinzip des FRET wird nun durch die direkte Nachbarschaft von Donor und Akzeptor ein bestimmtes Fluoreszenzsignal emittiert, das mit dem Lightcycler v.1.0 gemessen werden kann. Diese Messungen werden stets gegen ein Standardgen (hier *beta-Globin*, das bei heterozygoter Deletion einen auffälligen Phänotyp, nämlich die β -Thalassämie verursachen würde) durchgeführt und ins Verhältnis gesetzt. *SGCE/beta-Globin* Ratios zwischen 0,8 und 1,2 wurden als Normalbefund, Ratios zwischen 0,4 und 0,6 als Hinweis auf heterozygote Deletionen und Ratios über 1,2 als verdächtig auf eine heterozygote Duplikation gewertet.

Alle kodierenden Exons des *SGCE* wurden auf diese Weise einzeln analysiert. Das geschilderte Vorgehen wurde analog zur 2005 publizierten Deletionsanalyse durchgeführt (Asmus et al., 2005).

3.3.5. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) als Alternative zur qPCR

Zur Bestimmung der Gendosis wurde bei unseren Probanden alternativ zur oben beschriebenen quantitativen PCR auch die Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) angewandt. Die Funktionsweise soll hier kurz erläutert werden findet sich im Detail aber auch auf folgender Homepage: www.mrc-holland.com.

Die MLPA ist eine Variante der PCR, die es ermöglicht viele verschiedene Zielsequenzen mit einem einzigen Paar von Primern zu vervielfältigen. Dazu binden zunächst zweiteilige MLPA-Sonden (sog. MLPA-Probe oder MLPA-Sonde) an die zu untersuchende DNA. Jedes MLPA-Sondenpaar besteht aus zwei Oligonukleotiden, die so gewählt werden, dass sie komplementär zu unmittelbar nebeneinander liegenden Zielsequenzen auf der zu analysierenden DNA sind. Nach der korrekten Hybridisierung der beiden Sonden werden diese

durch eine im Reaktionsgemisch befindliche Ligase miteinander verknüpft. Die eine Sonde beinhaltet die Bindungssequenz für den forward-Primer, die andere die für den reverse-Primer. Nur wenn beide Sonden an ihre Zielsequenzen binden, können sie von der Ligase zu einer vollständigen Sonde mit Primersequenzen an beiden Enden verbunden werden und auch nur dann werden sie in der folgenden PCR-Reaktion exponentiell amplifiziert. Fehlt auf einem Allel eine der Zielsequenzen für die Sonden aufgrund von Deletionen, so ist die Zahl der Amplifikationsprodukte geringer. Fehlt die entsprechende Zielsequenz auf beiden Allelen, so ist kein Amplifikationsprodukt nachweisbar. Nicht verbundene Sonden haben nur an einem Ende eine Primersequenz und können deshalb nicht exponentiell vervielfältigt werden.

In einem Reaktionsansatz können bis zu 50 Sondenpaare mit unterschiedlichen Zielsequenzen eingesetzt werden. Jedes Sondenpaar hat nach dessen Verknüpfung eine andere Länge. So können die Amplifikationsprodukte der verknüpften Sonden durch Kapillarelektrophorese getrennt und identifiziert werden. Durch die Verwendung fluoreszenzmarkierter Primer können nach der kapillarelektrophoretischen Auftrennung die verschiedenen Amplifikationsprodukte anhand eines Vergleichs ihrer Fluoreszenz-Peaks mit den Peaks von Referenzproben quantifiziert werden.

Bei den Probanden dieser Arbeit wurde der MLPA mit dem SALSA MLPA kit P099 *GCH1-TH-SGCE* von MRC-Holland (www.mrc-holland.com) durchgeführt. In diesem Reaktionskit werden neben dem *SGCE*-Gen auch das *GTP-cyclohydrolase I (GCH1)*-Gen und das *Tyrosin Hydroxylase (TH)*-Gen auf Gendosisveränderungen getestet. Mutationen im *GCH1*-Gen sind für die autosomal dominant vererbte Form der Dopa-Responsiven-Dystonie verantwortlich. Mutationen im *TH*-Gen hingegen können die autosomal rezessive Form der genannten Erkrankung hervorrufen. Der Hersteller kombinierte Sonden für die Exone der drei Gene in einem MLPA-Reaktionsansatz, aufgrund der phänotypischen Ähnlichkeit dieser Erkrankungen.

3.4. Methoden der statistischen Auswertung

Bei den Variablen dieser Studie handelt es sich nur beim Alter bei Erkrankungsbeginn/Beginn der Dystonie/Beginn des Myoklonus um eine verhältnisskalierte Variable, alle anderen Variablen sind nominalskalierte Variablen, bei denen es sich wiederum mehrheitlich um dichotome Variablen handelt. Bei den nicht normalverteilten verhältnisskalierten Variablen wurde als Lagemaß der Median und als Streuungsmaß das 1. und das 3. Quartil angegeben. Bei den nicht dichotomen nominalskalierten Variablen wurden als Kennwerte der Modalwert und Prozente in Bezug auf die Grundgesamtheit, zu der Informationen zum jeweiligen Punkt vorliegen, genannt. Im Falle der dichotomen Variablen lediglich Prozente der Grundgesamtheit, zu der Informationen zum jeweiligen Unterpunkt vorliegen.

In dieser Arbeit wurden alle statistischen Analysen mit Hilfe des Statistikprogrammes PASW (Predictive Analysis SoftWare) Statistics 18 durchgeführt.

3.4.1. Statistische Methoden für die verhältnisskalierten nicht-normalverteilten Variablen

Dieser Punkt betrifft nur das Alter bei Erkrankungsbeginn, das Alter bei Beginn des Myoklonus und das Alter bei Beginn der Dystonie.

Bei der Überprüfung auf Normalverteilung wurde auf den Kolmogorov-Smirnov-Test verzichtet, da eine Abweichung von der Normalverteilung bereits im Balkendiagramm deutlich zu erkennen war.

Zum Vergleich der Mutationsträger mit den nicht Mutationsträgern bezüglich der oben genannten Variablen wurde der U-Test nach Mann und Whitney angewandt.

3.4.2. Statistische Methoden für die nominalskalierten Variablen

Kreuztabellen:

Mit Hilfe von Kreuztabellen können Zusammenhänge zwischen zwei oder mehreren nominal- oder ordinalskalierten Variablen dargestellt werden. In dieser Arbeit entsprechen die Kreuztabellen Vierfeldertafeln, da zwei dichotome Variablen gekreuzt werden. Für jede Zelle einer Kreuztabelle kann eine sogenannte erwartete Häufigkeit angegeben werden. Dabei handelt es sich um die Häufigkeit, die in der Zelle stehen müsste, wenn es zwischen den beiden gekreuzten Variablen keinen Zusammenhang gäbe. Sie errechnet sich wie folgt:

Erwartete Häufigkeit= Zeilensumme x Spaltensumme/ Gesamtsumme
(siehe Tabelle 3)

Wenn die erwarteten Häufigkeiten mit den in der Realität beobachteten Häufigkeiten übereinstimmen, gelten zwei Variablen einer Kreuztabelle als voneinander unabhängig. In dieser Arbeit wurde zur Überprüfung der Unabhängigkeit zweier Variablen der Chi-Quadrat Test verwendet.

Tabelle 3: Beispiel einer Kreuztabelle

		Mutation vorhanden	Keine Mutation	Gesamt:
Segmentaler Myoklonus	Beobachtet:	18	16	34
	Erwartet:	10,5	23,5	(Zeilensumme1)
Kein segmentaler Myoklonus	Beobachtet:	20	69	89
	Erwartet:	27,5	61,5	(Zeilensumme2)
Gesamt:		38 (Spalten- summe1)	85 (Spalten- summe2)	123 (Gesamtsumme)

Chi-Quadrat Test:

Der Chi-Quadrat Wert (χ^2) nach Pearson berechnet sich aus folgender Formel:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{beobachtete Häufigkeit} - \text{erwartete Häufigkeit})^2}{\text{erwartete Häufigkeit}}$$

Für jedes Feld einer Kreuztabelle werden also die Abweichungen der beobachteten Häufigkeit von der erwarteten Häufigkeit quadriert und durch die erwartete Häufigkeit dividiert. Anschließend werden diese Quotienten addiert.

Das Quadrieren erfolgt, damit sich positive und negative Abweichungen nicht gegenseitig aufheben. Die Division durch die erwartete Häufigkeit erfolgt, da sich sonst bei mehr Beobachtungen auch größere Abweichungen ergeben würden.

Ein großer Chi-Quadrat Wert ergibt sich also bei großen Abweichungen der beobachteten von der erwarteten Häufigkeit und weist somit auf einen Zusammenhang zwischen den Variablen hin.

Beim Chi-Quadrat Test soll keine der erwarteten Häufigkeiten kleiner als 5 sein, da der Test sonst keine aussagekräftigen Ergebnisse mehr liefert. Deshalb wurde in diesen Fällen der Fischer-Exakt Test angewandt, um auf Unterschiede zwischen den Gruppen zu testen.

3.4.3. Festlegung des Signifikanzniveaus

Für diese Arbeit soll die Irrtumswahrscheinlichkeit nicht mehr als 5% betragen. Das bedeutet: Die Wahrscheinlichkeit, dass in der kompletten Arbeit ein Irrtum vorliegt und an einer Stelle ein Zusammenhang vermutet wurde, wo in Wirklichkeit kein Zusammenhang besteht (d.h. Nullhypothese fälschlicherweise verworfen und somit α -Fehler begangen), soll nicht mehr als 5% betragen.

Wenn in der ganzen Arbeit nur ein Test durchgeführt werden würde, könnte man dann also die Nullhypothese bei einem p-Wert kleiner oder gleich 0,05 verwerfen und somit einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen

postulieren. Die Irrtumswahrscheinlichkeit läge in diesem Falle, wie gewünscht, bei 5%.

Würden nun aber 2 Tests in der Arbeit durchgeführt, hätte man beim Verwerfen der Nullhypothese, bei einem p-Wert von 0,05, bereits zweimal eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%, d.h. von 10%. Um hier auch bei 2 Tests noch eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% zu haben, müsste also jeder einzelne Test einen p-Wert von kleiner oder gleich 0,025 erreichen.

Da in dieser Arbeit 30 Tests durchgeführt wurden, konnte demnach die Nullhypothese nur verworfen werden, wenn ein p-Wert von kleiner oder gleich $0,05/30 = 0,0017$ erreicht wurde. So wurde für die komplette Arbeit die Wahrscheinlichkeit irgendwo den α -Fehler zu begangen zu haben auf 5% reduziert (Bonferroni-Korrektur).

3.4.4. Erstellung einer Regressionsgleichung

Mit Hilfe der logistischen Regressionsanalyse können Gruppenunterschiede erklärt und Prognosen über die Zugehörigkeit zu einer Gruppe gemacht werden. In diesem Fall soll die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer SGCE-Mutation vorausgesagt werden. D.h. es sollen Prognosen aufgrund klinischer Parameter darüber abgegeben werden, ob ein Patient der Gruppe der SGCE-Mutationsträger oder der Nicht-SGCE-Mutationsträger angehört.

Zur Erstellung einer Regressionsgleichung für unsere Daten wurde die binäre logistische Regression angewandt, da es sich bei der abhängigen Variablen um eine binäre Variable handelt (SGCE-Mutation positiv oder negativ). Bei den unabhängigen Variablen handelt es sich beim „Alter bei Erkrankungsbeginn“ um eine metrische Variable. Die Variablen „segmentale oder generalisierte Verteilungsform“ und „Familienanamnese“ sind kategoriale Variablen mit dichotomer Ausprägung.

Gleichung:

$$p(y=1) = \frac{e^z}{1+e^z} = \frac{1}{1+e^{-z}} \quad \text{mit } z = b_0 + b_1x_{i1} + b_2x_{i2} + \dots + b_jx_{ij} + \dots + b_kx_{ik}$$

$p(y=1)$ =Wahrscheinlichkeit, dass eine Mutation vorhanden ist.

y =Ausprägung der abhängigen Variable

x_{ij} =Ausprägung der j-ten unabhängigen Variablen bei Merkmalsträger $i(j=1, 2, \dots, k)$

b_j =Regressionskoeffizient (Steigungsparameter) der j-ten unabhängigen Variabel

b_0 =Regressionskonstante

b_0 nimmt Einfluss auf die Lage der Regressionsfunktion (Rechts-/ Linksverschiebung). Die Regressionskoeffizienten b_j hingegen bestimmen wie flach oder steil der Kurvenverlauf ist und ob es einen positiven oder negativen Zusammenhang zwischen x und y gibt. Je näher der b_j -Wert bei null liegt, desto flacher ist der Anstieg der Funktion und desto eher nähert sich diese einer Geraden an, was für keinen Zusammenhang zwischen x und y spricht (Fromm, 2005).

In dieser Arbeit wurde mit Hilfe von Chi-Quadrat Tests und Korrelationen (Alter) zunächst überprüft, ob Zusammenhänge zwischen der jeweiligen erhobenen unabhängigen Variablen und der abhängigen Variablen bestehen. In die Regressionsanalyse wurden dann nur unabhängige Variablen mit einbezogen, die hierbei signifikante Zusammenhänge mit der abhängigen Variablen aufwiesen.

4. Ergebnisse

151 Probanden konnten in die Studie aufgenommen werden. Sie alle litten unter einer primären, hyperkinetischen Bewegungsstörung ohne Hinweis auf eine symptomatische Ursache, auf eine zerebelläre Ataxie, auf das Vorliegen eines isoliert vorliegenden Halte- oder Aktionstremor. Keiner der Probanden hatte epileptische Myoklonien oder einen chronisch progredienten Verlauf der Erkrankung. Es bestanden keine chronischen heredo-degenerativen Erkrankungen.

Aufgrund dieser klinischen Konstellation wurden zwischen den Jahren 2001 und 2009 alle Probanden auf Mutationen im *SGCE*-Gen getestet (zu den Details der Einschlusskriterien für eine *SGCE*-Mutationstestung siehe auch 3.1).

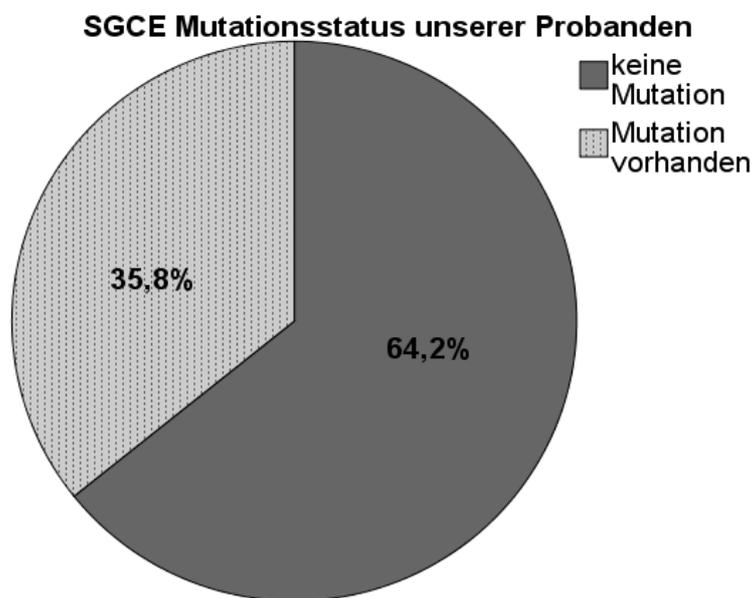
Bei 121 von 151 Probanden konnten retrospektiv genaue Informationen zur Art der Bewegungsstörung (Vorliegen von Myoklonien und/oder Dystonie) gewonnen werden. Davon wiesen 92 (76%) eine Kombination aus Myoklonien und Dystonie auf. 20 (16,5%) zeigten nur Myoklonien und 6 (5%) nur eine Dystonie im Sinne einer hyperkinetischen Dystonie mit vorwiegend repetitiv phasischen Bewegungen. 3 (2,5%) Probanden unterlagen einer verminderten Penetranz und wiesen weder Myoklonien noch eine Dystonie auf, obwohl sie *SGCE*-Mutationsträger waren und die *SGCE*-Mutation vom Vater ererbt hatten. Sie wurden aus der Analyse zur Vorbereitung und Erstellung einer Regressionsgleichung ausgeschlossen, da diese vor allem dazu dienen soll, Prognosen zum Mutationsstatus bei symptomatischen Patienten zu machen.

Zu den übrigen 30 Probanden konnte retrospektiv keine detaillierte Information mehr zur Art der Bewegungsstörung (Myoklonus und/oder Dystonie) gewonnen werden. Sie wurden dennoch in die Basis-Analyse mit aufgenommen, da sie die Einschlusskriterien zur *SGCE*-Mutationstestung erfüllten, somit ihr *SGCE*-Mutationsstatus bekannt war und Informationen zu anderen Punkten, wie Familienanamnese, Alter bei Erkrankungsbeginn oder anderen im folgenden analysierten Punkten vorlag.

Unter den 151 Probanden wurde bei 54 (35,8%) eine Mutation im *SGCE*-Gen nachgewiesen. Bei 97 (64,2%) konnte keine Mutation im betreffenden Gen gefunden werden (siehe Abb.4).

Abbildung 4: Anteil der *SGCE*-Mutations-Positiven/Negativen im Probandenkollektiv.

Bei 35,8% war eine Mutation im *SGCE*-Gen vorhanden, bei 64,2% wurde keine Mutation detektiert.



Im folgenden wurden beide Patientengruppen, *SGCE*-Mutationsträger und Nicht-*SGCE*-Mutationsträger verglichen im Hinblick auf

- Geschlecht,
- das Alter bei Erkrankungsbeginn,
- die zeitliche Abfolge des erstmaligen Auftretens von Myoklonus und Dystonie,
- die Verteilung von Myoklonien und Dystonie,
- die Familienanamnese von Symptomen der M-D,
- das Ansprechen der Bewegungsstörung auf Trinken von Alkohol (Alkoholresponse),

- die Aktionsinduzierbarkeit der Myoklonien und
- psychiatrische Begleiterkrankungen.

Es wurde untersucht, ob zwischen den Gruppen Unterschiede in der Ausprägung der oben genannten klinischen Merkmale nachweisbar waren. Aufgrund des retrospektiven Charakters der Analyse, war die Ausprägung des jeweiligen Merkmals nicht von allen Probanden bekannt. Deshalb wurde zu Anfang jeden Kapitels die Anzahl der Probanden genannt, von denen Information zum betreffenden Merkmal vorlag.

Ziel der Analyse war es zu eruieren, welche klinischen Merkmale ein positives Ergebnis einer *SGCE*-Mutationsanalyse am besten vorhersagen können (siehe auch Abschnitt 2. Fragestellung). Dazu wurde zunächst bei jedem einzelnen erhobenen klinischen Parameter überprüft, ob er in Zusammenhang zum Auftreten einer *SGCE*-Mutation stand. Danach wurden anhand der gewonnenen Ergebnisse die Variablen ausgewählt, bei denen ein solcher Zusammenhang gefunden werden konnte. Aus diesen Variablen wurde schließlich eine logistische Regressionsgleichung erstellt. Hiermit sollte versucht werden eine Gleichung zu entwickeln, die es in Zukunft für den einzelnen Patienten, anhand dessen persönlicher klinischer Befundkonstellation, ermöglichen sollte, prognostische Aussagen zu dessen *SGCE*-Mutationsstatus zu machen. Der Entschluss zur Durchführung aufwendiger *SGCE*-Mutationsanalysen sollte auf der Basis der Studienergebnisse gezielter getroffen werden können.

4.1. Herkunft der Probanden

74 (49%) der 151 Probanden waren aus Deutschland der restliche Teil der Probanden stammte aus: Großbritannien (20; 13,2%), Spanien (18; 11,9%), Österreich (13; 8,6%), USA (7; 4,6%), Portugal (4; 2,6%), Ungarn (4; 2,6%), Israel (3; 2%), Australien (2; 1,3%), Dänemark (2; 1,3%), Belgien (1; 0,7%), Canada (1; 0,7%), Finnland (1; 0,7%) und Schweden (1; 0,7%).

Unter den Spaniern gehörten 13 von 18 Probanden derselben großen M-D Familie an, unter den Österreichern 7 von 13 einer M-D Familie und unter den

Ungarn 4 von 4. Der restliche Teil der Probanden besteht entweder aus einzelnen Indexpatienten mit oder ohne positive Familienanamnese oder Kernfamilien mit höchstens 3 Verwandten (siehe auch Tabelle 2).

Tabelle 2: Überblick über die Herkunft der Probanden. Mit Ausnahme der deutschen und österreichischen Probanden wurde die Phänotypisierung von lokalen Spezialisten durchgeführt.

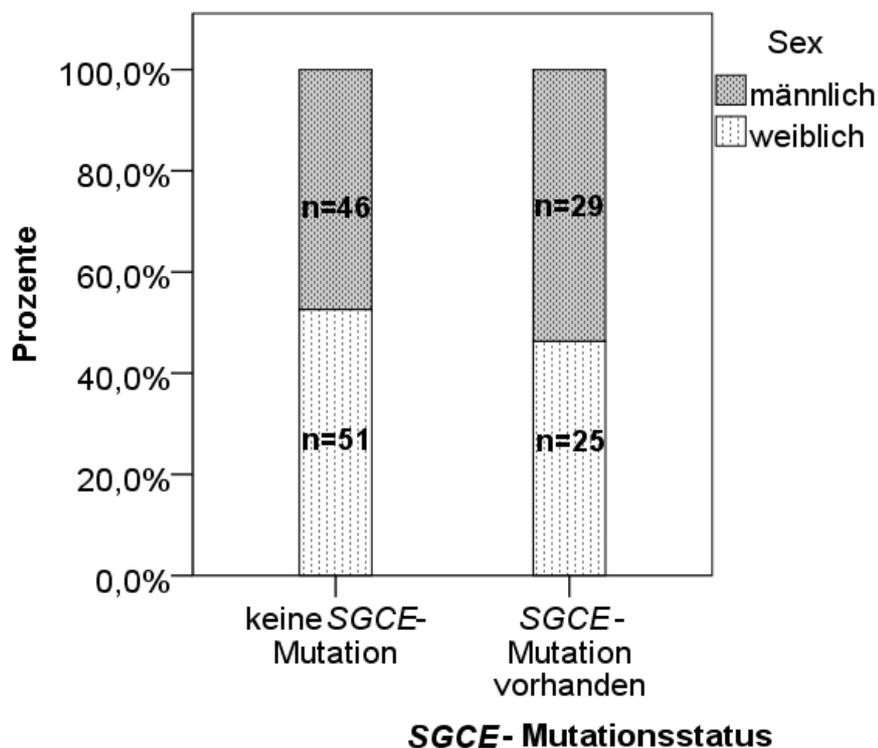
Herkunftsland	Gesamtanzahl	% von Gesamt	Familien*	Auswahl zuweisender medizinische Zentren
Deutschland	74	49	7: 2, 2, 3, 2, 2, 3, 2	Uniklinik Heidelberg, Universitätsklinik Tübingen, LMU, u.a.
Großbritannien und Irland	20	13,2	1: 2	Children`s University Hospital Temple Street, Dublin, Newcastle General Hospital, u.a.
Spanien	18	11,9	1: 13	Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, u.a.
Österreich	13	8,6	1: 7	Universitätsklinik für Neurologie Innsbruck, u.a.
USA	7	4,6		Columbia University Medical Centre New York, u.a.
Portugal	4	2,6	1: 3	Hospital Santa Maria, Lissabon, u.a.
Ungarn	4	2,6	1: 4	Magyarorszagi reformatus Egyhas Bethesda Gyermekkorhaza, u.a.
Israel	3	2	1: 2	The Chaim Sheba Medical Center, u.a.
Australien	2	1,3		Women`s and Children Hospital South Australia, u.a.
Dänemark	2	1,3		University of Copenhagen, Department of medical genetics
Belgien	1	0,7		University Hospital Gent
Kanada	1	0,7		Hospital for Sick Children, Toronto
Finnland	1	0,7		Turku University Hospital
Schweden	1	0,7		University Hospital Linköping

*Familien: Anzahl der Familien, Anzahl der Probanden;

4.2. Geschlecht

Abbildung 5 zeigt die Geschlechterverteilung innerhalb der Gruppen. Unter den SGCE-Mutationsträgern waren 29 männliche und 25 weibliche Probanden. Unter den Nicht-SGCE-Mutationsträgern 46 männliche und 51 weibliche Probanden. Damit war die Geschlechterverteilung sowohl bei den SGCE-Mutationsträgern als auch bei den SGCE-Mutationsnegativen ausgeglichen.

Abbildung 5: Geschlechterverteilung innerhalb der Gruppe der SGCE-Mutationsträger und der Gruppe der SGCE-Mutationsnegativen
n=Anzahl der Probanden in den jeweiligen Untergruppen.



4.3. Alter bei Erkrankungsbeginn

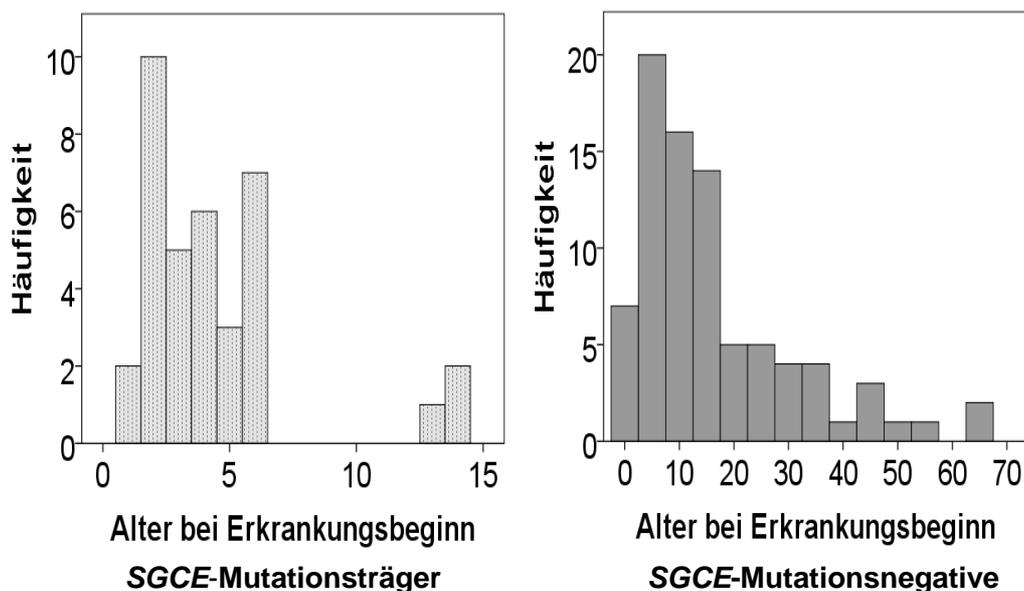
Von 119 Probanden war das Alter bei Erkrankungsbeginn (darunter waren 36 SGCE-Mutationsträger) bekannt. Hierbei handelt es sich um das Alter, in dem die Probanden erstmals Symptome einer Bewegungsstörung aufwiesen. D.h.

entweder einen isolierten Myoklonus, eine isolierte Dystonie oder eine Kombination aus beiden.

Abbildung 6 zeigt die Verteilung des Alters bei Erkrankungsbeginn in beiden Gruppen. Eine Normalverteilung ließ sich hier nicht beobachten.

Die weitere statistische Analyse musste in diesem Falle also mit nicht-parametrischen Tests erfolgen.

Abbildung 6: Verteilung des Alters bei Erkrankungsbeginn bei den SGCE-Mutationsträgern (links, hellgrau) und bei den Nicht-SGCE-Mutationsträgern (rechts, dunkelgrau). Visuell erkennbar ist die Abweichung von der Normalverteilung sowie der große Unterschied in der Altersverteilung zwischen den beiden Gruppen mit früherem Erkrankungsbeginn bei den SGCE-Mutationsträgern.



Zwischen der Patientengruppe mit SGCE-Mutationen und den Mutationsnegativen waren signifikante Unterschiede hinsichtlich des Alters bei Erkrankungsbeginn zu verzeichnen ($p < 0,001$). Mutationsträger waren zwischen 1 und 14 Jahre alt als sie erstmals symptomatisch wurden (Median: 4 Jahre; 1.Quartil: 2 Jahre; 3.Quartil: 6 Jahre).

Unter den Nicht-SGCE-Mutationsträgern hingegen lag das minimale Manifestationsalter bei 0 Jahren, d.h. bei der Geburt, und das maximale Alter bei Erkrankungsbeginn bei 65 Jahren (Median: 12 Jahre; 1.Quartil: 6 Jahre; 3.Quartil: 23 Jahre). Zur Darstellung der Verteilung des Manifestationsalters im Überblick siehe auch Tabelle 3.

Tabelle 3: Alter bei Erkrankungsbeginn in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus

	Alter bei Erkrankungsbeginn (in Jahren)	
	SGCE-Mutationsstatus	
	keine Mutation	Mutation vorhanden
Gültige N	83	36
Fehlende N	14	18
Median	12	4
1.Quartil/3.Quartil	6/23	2/6
Spannweite	0-65	1-14

Gültige N: Anzahl der Probanden, von denen das Alter bei Erkrankungsbeginn bekannt war.
Fehlende N: Anzahl der Probanden, von denen das Erkrankungsalter nicht bekannt war.

Je höher also das Alter bei Erstmanifestation der Bewegungsstörung, desto weniger SGCE-Mutationen konnten gefunden werden. Das höchste Alter bei Ausbruch der M-D lag im untersuchten Kollektiv bei SGCE-Mutationsträgern bei 14 Jahren.

4.3.1 Alter bei Erkrankungsbeginn bezogen auf das Geschlecht

Unter den SGCE-Mutationspositiven erkrankten Mädchen im Mittel mit 3,9 Jahren ein Jahr früher als Jungen. Dieser Unterschied wird im Mann-Whitney U-Test aber als nicht signifikant getestet. Bei SGCE-Mutationsnegativen liegt das mittlere Erkrankungsalter bei männlichen Individuen bei 14,9 Jahren und bei weiblichen bei 18 Jahren.

4.4. Zeitliche Abfolge der Erstmanifestation von Myoklonus und Dystonie

Dieser Punkt behandelt die Frage eines Zusammenhangs zwischen der zeitlichen Abfolge des erstmaligen Auftretens von Myoklonus und Dystonie und dem *SGCE*-Mutationsstatus. Zum Beispiel: Tritt bei Nicht-*SGCE*-Mutationsträgern die Dystonie in relevantem Maße häufiger vor dem Myoklonus auf, als bei *SGCE*-Mutationsträgern?

Von 121 Probanden lagen Informationen zur Art der Bewegungsstörung als Myoklonus und/oder Dystonie vor. Davon waren 92 Untersuchte von Myoklonus *und* Dystonie betroffen. Von diesen 92 Probanden war von 81 das Alter bei Beginn des Myoklonus bekannt (darunter 22 *SGCE*-Mutationsträger). Die *SGCE*-Mutationsträger waren dabei zwischen 1 und 14 Jahre alt (Median: 4 Jahre; 1.Quartil: 2 Jahre; 3.Quartil: 6 Jahre). Die Mutationsnegativen hingegen waren zwischen 0 und 65 Jahre alt (Median: 12 Jahre; 1.Quartil: 6 Jahre; 3.Quartil: 22 Jahre).

Das Alter bei Beginn der Dystonie war bei 83 der 92 oben genannten Probanden bekannt (davon trugen 25 eine *SGCE*-Mutation). Die *SGCE*-Mutationspositiven waren hierbei zwischen 1 und 30 Jahre alt (Median: 4 Jahre; 1.Quartil: 2 Jahre; 3.Quartil: 5 Jahre). Das Manifestationsalter der Dystonie bei Probanden ohne Mutation lag zwischen 0 und 65 Jahren (Median: 13 Jahre; 1.Quartil: 6 Jahre; 3.Quartil: 25 Jahre).

Zur direkten Gegenüberstellung dieser Kenndaten sei auf Tabelle 4 verwiesen. Abbildung 7 zeigt die Altersverteilung bei Beginn des Myoklonus und der Dystonie in einem Streudiagramm. Es umfasst 81 der Probanden, darunter 22 *SGCE*-Mutationsträger.

Es veranschaulicht nochmal den erheblich früheren Krankheitsbeginn der *SGCE*-Mutationsträger (rot), der nur bei einem Probanden (Punkt(16|14)) über 6 Jahren lag. Im gesamten Probandenkollektiv der vorliegenden Arbeit waren insgesamt nur 3 *SGCE*-Mutationspositive mit einem Erkrankungsalter über 6 Jahre. Zwei davon wiesen jedoch lediglich einen Myoklonus und keine Dystonie auf, weshalb sie in dem Schaubild nicht zur Darstellung kommen

Tabelle 4: Gegenüberstellung des Alters bei Beginn des Myoklonus und der Dystonie in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus.

	Alter bei Beginn des Myoklonus (in Jahren)		Alter bei Beginn der Dystonie (in Jahren)	
	SGCE-Mutationsstatus		SGCE-Mutationsstatus	
	keine Mutation	Mutation vorhanden	keine Mutation	Mutation vorhanden
Gültige N	59	22	58	25
Fehlende N	6	5	7	2
Median	12	4	13	4
Spannweite	0-65	1-14	0-65	1-30
1.Quartil/3.Quartil	6/22	2/6	6/25	2/5

Gültige N: Anzahl der Probanden, von denen das Alter bei Beginn des Myoklonus/der Dystonie bekannt war und die sowohl unter Myoklonus als auch unter Dystonie litten.

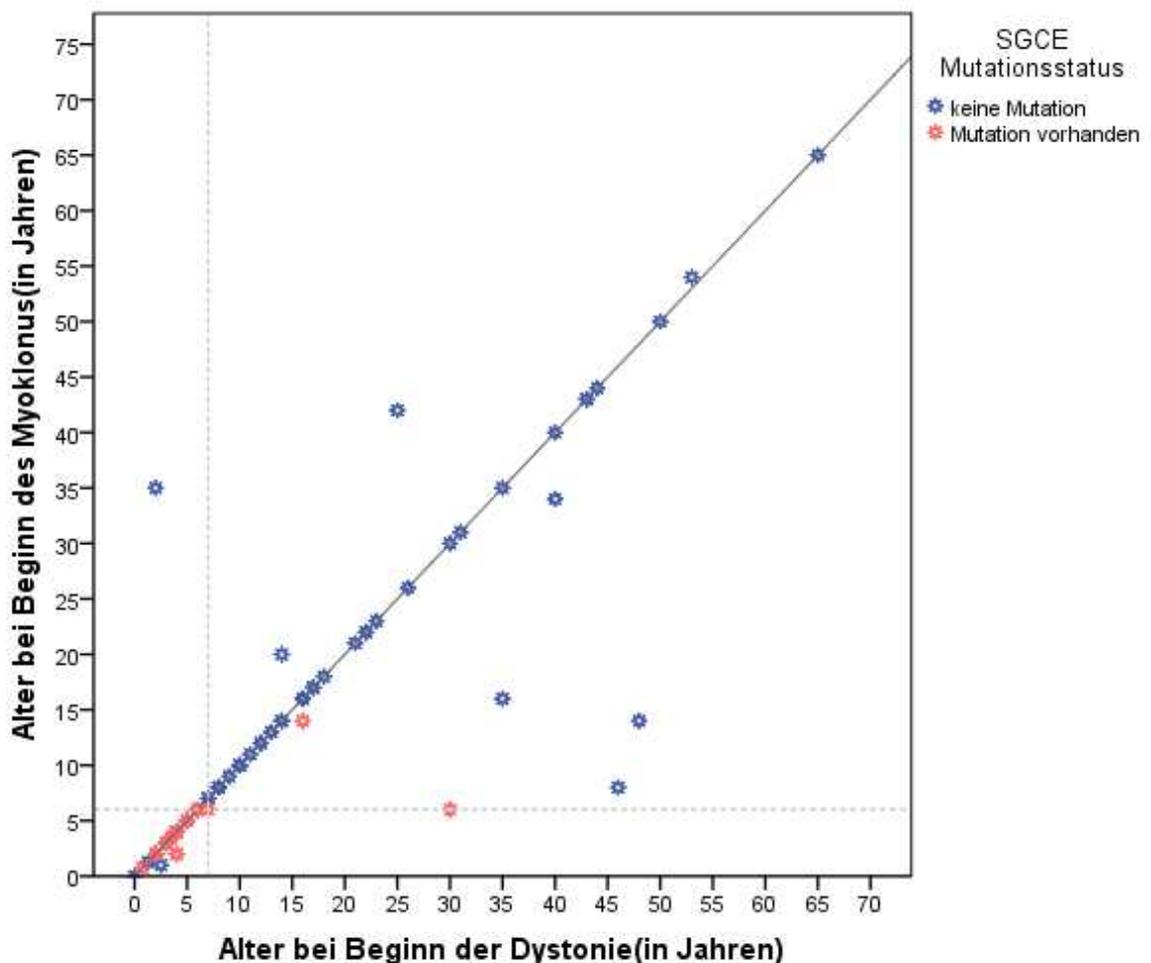
Fehlende N: Anzahl der Probanden, die von Myoklonus und Dystonie betroffen waren, bei denen aber das Manifestationsalter nicht bekannt war.

Außerdem ist die zeitliche Abfolge, in der die beiden Komponenten der Bewegungsstörung, Myoklonus und Dystonie, auftraten erkennbar.

Alle Punkte die auf der Geraden $y=x$ liegen, veranschaulichen den gleichzeitigen Beginn von Myoklonus und Dystonie, wie es bei 68 (84%) der 81 Probanden der Fall war.

Punkte, die unterhalb dieser Geraden liegen zeigen Probanden, bei denen der Myoklonus vor der Dystonie ausbrach. Dies war bei 4 (18%) der 22 SGCE-Mutationsträger und bei 5 (8,5%) der 59 SGCE-Mutationsnegativen der Fall. Beachtlich ist, dass einer der SGCE-Mutationsträger (Punkt (3016)) noch 24 Jahre nach Erstmanifestation der Myoklonien eine Dystonie entwickelte.

Abbildung 7: Streuung des Alters bei Erstmanifestation von Myoklonus und Dystonie. Die meisten Punkte (68 (84%) von 81) liegen auf der Geraden $y=x$, was die zeitgleiche Erstmanifestation von Myoklonien und Dystonie dokumentiert. Punkte unterhalb dieser Geraden (9 (11%) von 81) stammen von Probanden, bei denen der Myoklonus vor der Dystonie auftrat. Punkte oberhalb der Geraden (4 (5%) von 81) verdeutlichen Probanden, die zuerst von Dystonie und später vom Myoklonus betroffen waren. Die hellgraue vertikale Gerade liegt bei $x=7$ Jahre, die horizontale bei $y=6$ Jahre. Sie verdeutlichen, dass nur einer der Mutationsträger (rot) bei Erkrankungsbeginn älter als 6 Jahre war. Außerdem wird ersichtlich, dass im untersuchten Probandenkollektiv bei keinem der *SGCE*-Mutationsträger die Dystonie vor dem Myoklonus auftrat.



Punkte oberhalb von $y=x$ veranschaulichen Probanden die zuerst eine Dystonie und später einen Myoklonus entwickelten. Im Gegensatz zu den *SGCE*-Mutationsnegativen, bei denen 4 (7%) von 59 den Myoklonus vor der Dystonie entwickelten, trat bei keinem der Mutationsträger die Dystonie vor dem Myoklonus auf. Die Dystonie tritt bei den Nicht-*SGCE*-Mutationsträgern dennoch nicht signifikant häufiger vor dem Myoklonus auf als bei den *SGCE*-Mutationsträgern ($p>0,0017$). Außerdem manifestieren sich die Dystonie und der Myoklonus bei den Mutationsträgern nicht signifikant häufiger zeitgleich als bei den Mutationsnegativen ($p>0,0017$). Auch die Kombination „Myoklonus tritt vor Dystonie auf“ ergab im Chi-Quadrat Test keine signifikante Abweichung der beobachteten von den erwarteten Häufigkeitsverteilungen in den jeweiligen Gruppen ($p>0,0017$).

Zusammenfassend lässt sich also kein Zusammenhang zwischen dem *SGCE*-Mutationsstatus und der zeitlichen Reihenfolge des erstmaligen Auftretens von Myoklonus und Dystonie zeigen.

4.5. Verteilung von Myoklonus und Dystonie

Die folgenden Analysen fassen das Verteilungsmuster des Myoklonus/der Dystonie zum Zeitpunkt der letzten neurologischen Untersuchung zusammen und untersuchen, ob es dabei Unterschiede zwischen der Gruppe der *SGCE*-Mutationsträger und der Gruppe der *SGCE*-Mutationsnegativen gibt.

4.5.1. Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung

Von 120 Probanden war die Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung bekannt. Darunter befanden sich 35 *SGCE*-Mutationsträger. Tabelle 5 zeigt die Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung in Abhängigkeit vom *SGCE*-Mutationsstatus.

Tabelle 5: Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus.

		SGCE-Mutationsstatus	
		keine Mutation	Mutation vorhanden
		Häufigkeit in %*	Häufigkeit in %*
Verteilung des Myoklonus zum Untersuchungszeitpunkt	Kein Myoklonus	7,1%	-
	Generalisiert	24,7%	28,6%
	Hemimyoklonus	1,2%	-
	Multifokal	23,5%	8,6%
	Segmental	18,8%	51,4%
	Fokal	24,7%	11,4%
Gesamt(N)		100%(N=85)	100%(N=35)

* Häufigkeit in Prozent der jeweiligen Gruppe.

N = absolute Anzahl der Probanden in der jeweiligen Gruppe.

Kein Myoklonus: Proband weist phasische Dystonie aber keinen Myoklonus auf.

Generalisiert: Zwei oder mehr Körpersegmente inklusive der unteren Extremität sind betroffen.

Hemimyoklonus: Streng begrenzt auf eine Körperhälfte.

Multifokal: Zwei oder mehr nicht zusammenhängende Körperregionen sind betroffen.

Segmental: Zwei oder mehr aneinander angrenzende Körperregionen sind betroffen.

Fokal: Eine Körperregion ist betroffen.

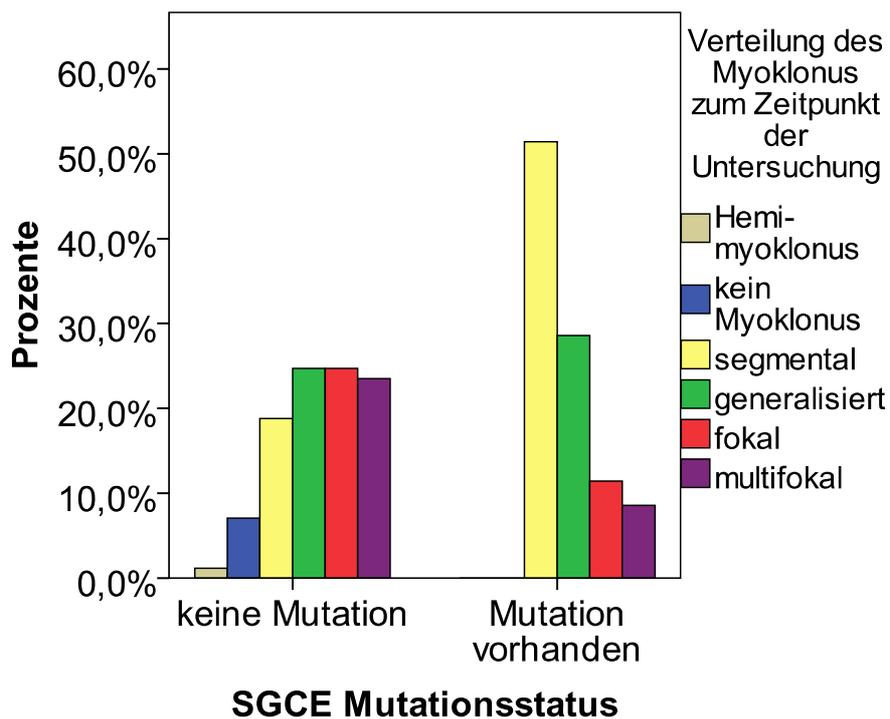
Bei den SGCE-Mutationsträgern fand sich zum Zeitpunkt der Untersuchung mit 51,4% am häufigsten eine segmentale Verteilung des Myoklonus. Am zweithäufigsten konnten generalisierte Myoklonien beobachtet werden. Diese Verteilung fand sich in 28,6% der Fälle. Es folgt der fokale Myoklonus mit 11,4% und schließlich der multifokale Myoklonus, der in 8,6% der Fälle vorkam. Alle SGCE-Mutationsträger zeigten Myoklonien, keiner hatte das Verteilungsmuster „Hemimyoklonus“.

Im Unterschied dazu traten bei den SGCE-Mutationsnegativen mit jeweils 24,7% generalisierte und fokale Myoklonien am häufigsten auf. Direkt gefolgt wurden diese Kategorien von der multifokalen Verteilungsform mit 23,5%. Segmental verteilte Myoklonien waren nur bei 18,8% der Fälle zu beobachten,

7,1% hatten keinen Myoklonus (dafür aber eine phasische Dystonie). 1 Proband (1,2%) wies einen Hemimyoklonus auf.

Abbildung 8 veranschaulicht die Häufigkeitsverteilungen der verschiedenen Verteilungsformen des Myoklonus. Es wird ersichtlich, dass in der Gruppe ohne SGCE-Mutation die generalisierte, segmentale, multifokale und fokale Verteilungsform des Myoklonus ungefähr gleich häufig vorkamen. Bei den SGCE-Mutationsträgern hingegen kamen segmentale gefolgt von generalisierten Myoklonien weit häufiger vor als die übrigen Verteilungsformen. Alle Probanden wiesen Myoklonien auf, es gab bei keinem Probanden das Verteilungsmuster „Hemimyoklonus“.

Abbildung 8: Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus.

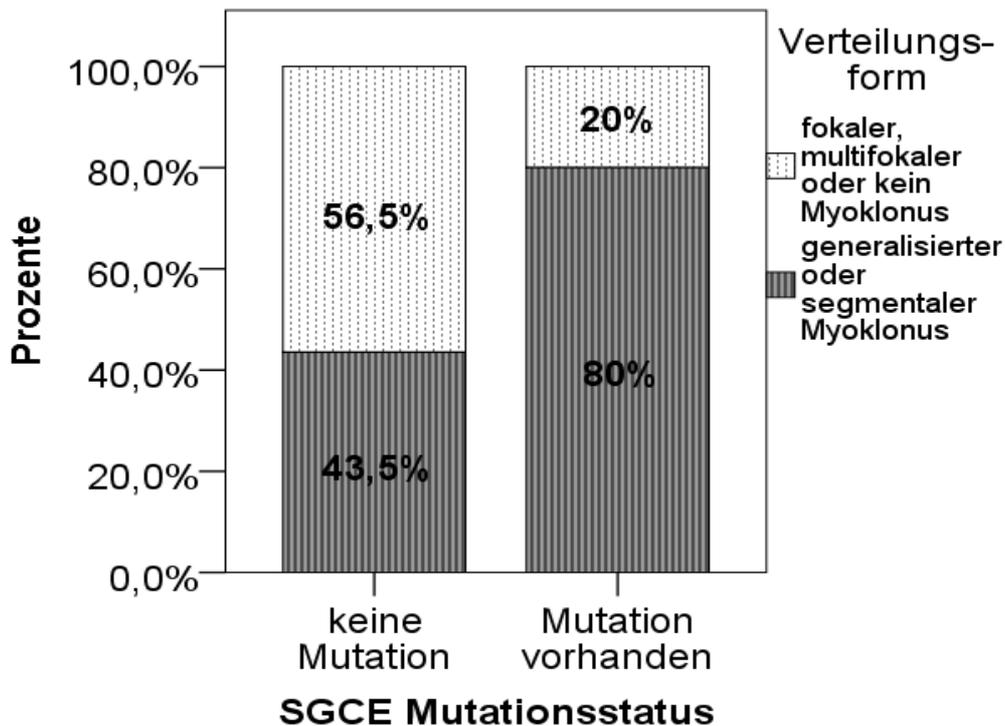


Prozente als Anteil der Gesamtheit der jeweiligen x-Achsen-Kategorie „Keine Mutation“ oder „SGCE-Mutation vorhanden“

Beim generalisierten Myoklonus ließen sich keine Unterschiede zwischen der Gruppe mit und ohne *SGCE*-Mutation beobachten. Ein Hemimyoklonus trat nur bei einem Probanden ohne *SGCE*-Mutation auf.

Die unterschiedliche Prävalenz fokaler Myoklonien bei *SGCE*-Mutationsträgern und *SGCE*-Mutationsnegativen war statistisch aufgrund des hohen Signifikanzniveaus nicht signifikant ($p > 0,0017$). Genauso verhielt es sich in der Gruppe „kein Myoklonus“. Auch beim multifokalen Myoklonus gab es bei der Wahl unseres Signifikanzniveaus, das einen p-Wert unter 0,0017 zur Ablehnung der Nullhypothese fordert (siehe Punkt 3.3.3.), keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mit/ohne *SGCE*-Mutation (p-Wert war 0,058).

Abbildung 9: Vorkommen eines segmentalen oder generalisierten Myoklonus im Verhältnis zu den anderen Verteilungsformen in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus.



80% aller SGCE-Mutationsträger litten unter einem segmentalen oder generalisierten Myoklonus, wohingegen nur 43,5% der SGCE-Mutationsnegativen von den genannten Verteilungsformen betroffen waren.

Prozente als Anteil der Gesamtheit jeder x-Achsen-Kategorie.

4.5.2. Manifestation des Myoklonus an den unteren Extremitäten

Von 115 Probanden war die exakte Verteilung der Myoklonien auf die verschiedenen Körperpartien (siehe Abb.3) bekannt. Darunter befanden sich 35 SGCE-Mutationsträger. Von diesen 35 SGCE-Mutationsträgern war bei 13 (37,1%) die untere Extremität von Myoklonien betroffen. 22 (62,9%) wiesen keine Myoklonien in den unteren Extremitäten auf. In der Gruppe der SGCE-Mutationsnegativen ließen sich hier bei 34 (42,5%) Myoklonien beobachten, 46 (57,5%) zeigten in dieser Region keinen Myoklonus.

Zwischen der Gruppe mit und jener ohne *SGCE*-Mutation ließen sich hier also keine relevanten Unterschiede beobachten.

4.5.3. Verteilung der Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung

Von 122 Probanden war die Verteilung der Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung bekannt. Darunter befanden sich 37 *SGCE*-Mutationsträger.

Tabelle 7 zeigt die Verteilung der Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung in Abhängigkeit vom *SGCE*-Mutationsstatus.

Bei der Verteilung der Dystonie trat sowohl bei den *SGCE*-Mutationsträgern mit 43,2% als auch bei den *SGCE*-Mutationsnegativen mit 31,9% die fokale Dystonie am häufigsten auf. Bei den *SGCE*-Mutationsträgern hatten 27% keine Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung, 13,5% hatten eine multifokale, 8,1% eine segmentale oder generalisierte Dystonie und keiner litt unter einer Hemidystonie.

Bei den *SGCE*-Mutationsnegativen trat die multifokale Dystonie in 16,5% der Fälle an zweithäufigster Stelle auf, gefolgt von der multifokalen Dystonie, die in 15,3% der Fälle zu beobachten war.

Tabelle 7: Verteilung der Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus.

		SGCE-Mutationsstatus	
		keine Mutation*	Mutation vorhanden*
		Häufigkeit in %	Häufigkeit in %
Verteilung der Dystonie zum Untersuchungszeitpunkt	Keine Dystonie	15,3%	27,0%
	Generalisiert	12,9%	8,1%
	Hemidystonie	1,2%	-
	Multifokal	16,5%	13,5%
	Segmental	21,2%	8,1%
	Fokal	32,9%	43,2%
Gesamt(N)		100%(N=85)	100%(N=37)

Statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,0017$) in der Verteilung der Dystonie zwischen den beiden Gruppen waren nicht vorhanden.

* Häufigkeit in Prozent der jeweiligen Gruppe.

N=absolute Anzahl der Probanden in der jeweiligen Gruppe.

Keine Dystonie: Proband wies nur Myoklonien auf.

Generalisiert: Zwei oder mehr Körpersegmente inklusive der unteren Extremität sind betroffen.

Hemidystonie: Streng begrenzt auf eine Körperhälfte.

Multifokal: Zwei oder mehr nicht zusammenhängende Körperregionen sind betroffen.

Segmental: Zwei oder mehr aneinander angrenzende Körperregionen sind betroffen.

Fokal: Eine Körperregion ist betroffen.

An 4.Stelle stand die generalisierte Dystonie mit 12,9% und schließlich zuletzt an 5.Stelle die Hemidystonie mit 1,2% (siehe Tabelle 7).

Für keine der genannten Verteilungsformen der Dystonie gab es signifikante Abweichungen der beobachteten von der erwarteten Häufigkeit in den beiden Gruppen ($p > 0,0017$). Auch für die segmentale Dystonie gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,079$). Die Gruppe der SGCE-Mutationsträger unterschied sich in der Verteilung der Dystonie im Großen und Ganzen also nicht signifikant von der Gruppe der

SGCE-Mutationsnegativen. Bei beiden Gruppen ließ sich die fokale Dystonie im Vergleich zu den anderen Verteilungsformen bedeutend häufiger beobachten.

4.5.4. Art der fokalen Dystonie

Von den 37 SGCE-Mutationsträgern von denen die Verteilung der Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung bekannt war, litten 16 (43,2%) unter einer fokalen Dystonie. Unter den 85 SGCE-Mutationsnegativen, von denen wir Informationen zur Verteilung der Dystonie bei Untersuchung hatten litten 28 (32,9%) unter einer fokalen Dystonie. Es gab hierbei in der Häufigkeit des Vorkommens der fokalen Verteilungsform, wie oben bereits beschrieben, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Hier wurde nun die Verteilung verschiedener Lokalisationen fokaler Dystonien zwischen den beiden Gruppen untersucht.

Bei den SGCE-Mutationsträgern handelte es sich bei der fokalen Dystonie in der Mehrzahl der Fälle um Schreibkrämpfe (43,8%) und zervikale Dystonien (31,3%), vereinzelt traten auch Dystonien der Arme und unteren Extremität auf (siehe Tabelle 8).

Bei den SGCE-Mutationsnegativen mit fokaler Verteilungsform der Dystonie trat die zervikale Dystonie mit Abstand am häufigsten auf (57,1%), Schreibkrämpfe traten hier nur in 10,7% der Fälle auf. Dystonie in beiden Armen ebenfalls in 10,7% der Fälle. In nur jeweils 3,6% der Fälle traten fokale Dystonien im rechten Arm, im linken Arm, am Rumpf, im rechten Bein, in beiden Beinen oder des Sprechens als spasmodische Dysphonie vom Adduktor-Typ auf (siehe Tabelle 8).

Probanden mit einem Schreibkrampf waren in der Gruppe der SGCE-Mutationsträger 4-mal häufiger als in der Gruppe der SGCE-Mutationsnegativen. Zur Überprüfung des Vorliegens signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen der SGCE-Mutationsträgern und SGCE-Mutationsnegativen wurde hier der Fischer-Exakt-Test angewandt, da die erwartete Anzahl derer, die unter Schreibkrampf leiden sollten und SGCE-Mutationspositiv sein sollten bei 3,6, also unter 5 lag.

Tabelle 8: Art der fokalen Dystonie bei betroffenen Probanden in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus.

		SGCE Mutationsstatus			
		keine Mutation		Mutation vorhanden	
		Anzahl	in %	Anzahl	in %
Art der fokalen Dystonie	zervikale Dys.	16	57,1%	5	31,3%
	rechter Arm	1	3,6%	0	0%
	Arme + Hände	3	10,7%	1	6,3%
	linker Arm	1	3,6%	0	0%
	Schreibkrampf	3	10,7%	7	43,8%
	Rumpf	1	3,6%	0	0%
	rechtes Bein	1	3,6%	1	6,3%
	beide Beine	1	3,6%	1	6,3%
	linkes Bein	0	0%	1	6,3%
	Sprechen	1	3,6%	0	0%
Gesamt		28	100%	16	100%

„Gesamt“: Gesamtanzahl aller von einer fokalen Dystonie betroffenen Probanden in der jeweiligen Gruppe „in %“: Angabe in Prozent der Gesamtanzahl aller von einer fokalen Dystonie betroffenen Probanden in der jeweiligen Gruppe. Dys.: Dystonie.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden Körperregionen nicht dargestellt, in denen bei keinem der Probanden eine fokale Dystonie auftrat (Augen, perioral, nur linke Hand, nur rechter Fuß, nur linker Fuß). Signifikante Unterschiede ($p < 0,0017$) abhängig vom SGCE-Mutationsstatus zeigten sich nicht, auch nicht in der Häufigkeit des Vorkommens von Schreibkrämpfen ($p = 0,022$).

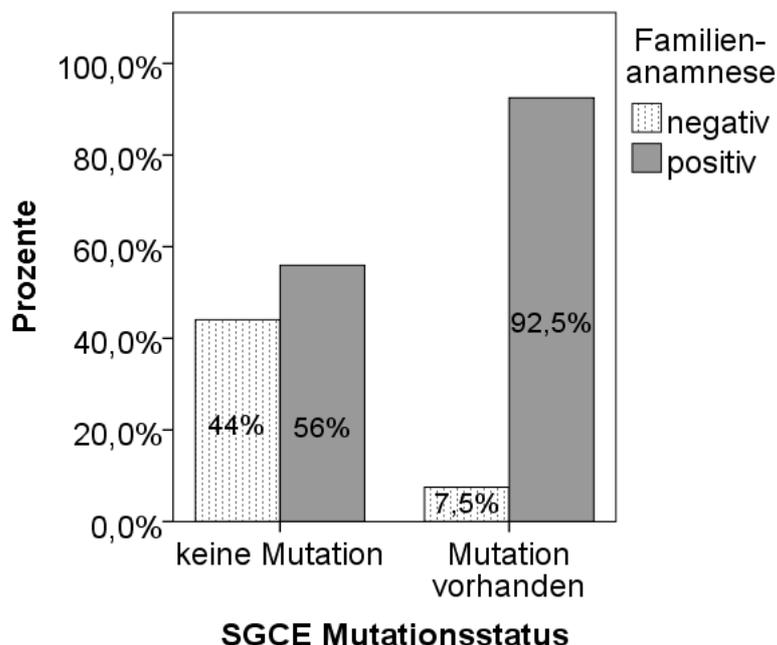
Es wurde ein p-Wert von 0,022 erreicht, der bei der Wahl unseres Signifikanzniveaus (Verwerfen der Nullhypothese erst bei einem p-Wert $\leq 0,0017$, siehe Punkt 3.3.3.) nicht ausreichte, um einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen zu postulieren.

Bei allen anderen Arten der fokalen Dystonie gab es ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede, was die Häufigkeitsverteilung zwischen den beiden Gruppen anbetrifft ($p > 0,0017$).

4.6. Familienanamnese

Von 124 unserer Probanden war die Familienanamnese bezüglich des Auftretens ähnlicher Bewegungsstörungen mit Myoklonus und/oder Dystonie bei Blutsverwandten bekannt. Darunter befanden sich 40 SGCE-Mutationsträger. 37 (92,5%) dieser 40 SGCE-Mutationsträger hatten anamnestisch mindestens einen weiteren Blutsverwandten mit M-D. Bei den SGCE-Mutationsnegativen hatten nur 47 (56%) eine positive Familienanamnese (siehe Abbildung 9).

Abbildung 9: Familienanamnese auf Myoklonus Dystonie in Abhängigkeit vom SGCE-Mutationsstatus. 92,5% der SGCE-Mutationsträger hatten eine positive Familienanamnese bezüglich M-D.



Prozente wurden in Prozent der jeweiligen Untergruppen (keine Mutation und Mutation vorhanden) angegeben.

Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen im Hinblick auf die Familienanamnese beobachtet werden ($p < 0,001$). Während sich unter den SGCE-Mutationsnegativen zu ungefähr gleichen Anteilen sowohl Probanden mit positiver als auch mit negativer Familienanamnese fanden, haben SGCE-Mutationsträger zu 92,5% eine positive Familienanamnese.

4.6.1. Probanden mit von M-D betroffener Mutter

Von den insgesamt 84 Probanden mit positiver Familienanamnese, war von 78 bekannt, ob und wenn ja welcher Elternteil von M-D betroffen war. Darunter befanden sich 34 SGCE-Mutationsträger.

Tabelle 9: Betroffene Familienangehörige von Probanden mit positiver Familienanamnese.

	SGCE Mutationsstatus	
	keine Mutation	Mutation vorhanden
	Häufigkeit in %*	Häufigkeit in %*
betroffene Mutter	29,5%	0%
betroffener Vater	43,2%	41,2%
Vater und Mutter asymptotisch, dafür anderer Blutsverwandter betroffen	27,3%	58,8%
Gesamt(N)	100%(N=44)	100%(N=34)

* Häufigkeit in Prozent der jeweiligen Gruppe.

N=absolute Anzahl der Probanden in der jeweiligen Gruppe.

Unter den SGCE-Mutationsträgern hatte niemand eine betroffene Mutter. Unter den Probanden ohne Mutation hatten 29,5% eine betroffene Mutter. Dieser Unterschied ist signifikant ($p=0,001$).

Keiner der *SGCE*-Mutationsträger hatte eine symptomatische Mutter. Bei den Mutationsnegativen war bei immerhin 13 Probanden (29,5%) die Mutter klinisch von M-D betroffen.

Hier besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den genannten Gruppen ($p=0,001$). Tabelle 9 veranschaulicht für die Probanden mit positiver Familienanamnese, welche Familienangehörigen noch betroffen waren.

Bei den *SGCE*-Mutationsnegativen war der Anteil von betroffener Mutter, Vater oder anderen Familienangehörigen, wenn weder Vater noch Mutter betroffen waren, ungefähr gleich. Bei den *SGCE*-Mutationsträgern war die Mutter nie klinisch betroffen. Hier war zu 41,2% der Vater symptomatisch. Zu 58,8% handelte es sich bei den Betroffenen um andere Blutsverwandte.

4.7. Alkoholresponse

Unter Alkoholresponse versteht man eine Besserung bis hin zum völligen, zeitweisen Sistieren der Bewegungsstörung (Myoklonus und/oder Dystonie) nach Alkoholzufuhr. Von 44 Probanden war der Effekt von Alkohol auf die Bewegungsstörung dokumentiert. Darunter befanden sich 10 *SGCE*-Mutationsträger. Bei allen diesen *SGCE*-Mutationsträgern bestand eine Besserung der Symptomatik nach Ingestion von Ethanol. Unter den 34 *SGCE*-Mutationsnegativen bestand bei 8 (23,5%) keine Alkoholresponse. Die restlichen 76,5% bemerkten ebenfalls eine Besserung der Symptomatik nach Alkoholingestion. Im Fischer-Exakt-Test waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bezüglich der Alkoholresponse zu verzeichnen.

4.8. Aktionsinduzierbarkeit der Myoklonien

Die folgende Analyse beschäftigt sich mit der Frage, ob der Myoklonus durch Aktion, also Bewegung, induziert werden kann. Es handelte sich hierbei um eine kategorial qualitative Einschätzung, ob Myoklonien aktionsinduziert auftraten, jedoch nicht um eine Quantifizierung dieses Unterschieds.

Hierzu lagen Informationen von 40 Probanden vor. Bei 15 handelt es sich dabei um *SGCE*-Mutationsträger. 14 (93,3%) dieser 15 *SGCE*-Mutationsträger erfuhren eine Triggerung ihrer Myoklonien durch Bewegung, wohingegen in Ruhe keine, oder nur ganz selten, Myoklonien auftraten. Bei den 25 Mutationsnegativen konnte bei 85% eine Aktionsinduzierbarkeit beobachtet werden. Relevante Unterschiede zwischen den Gruppen sind hier also nicht zu verzeichnen.

4.9. Psychiatrische Symptome

Von 107 der Probanden war bekannt, ob psychische Begleiterkrankungen vorlagen. Dazu zählen: Zwangsstörungen, Alkoholmissbrauch ohne Abhängigkeit, Alkoholmissbrauch mit Abhängigkeit, Angststörungen und Depressionen.

Unter den Probanden mit psychiatrischen Diagnosen befanden sich 32 *SGCE*-Mutationsträger, von denen 8 (25%) eine oder mehrere der oben genannten Störungen aufwiesen. Keiner dieser Probanden wies jedoch einen Alkoholmissbrauch auf. Von den 75 *SGCE*-Mutationsnegativen wiesen 26 (34,6%) eine oder mehrere dieser Störungen auf. Dabei handelte es sich bei 4 um einen Alkoholmissbrauch.

Es wurden hierbei keine relevanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ersichtlich.

4.10. Reduzierte Penetranz

3 (2%) von 151 Probanden in der vorliegenden Untersuchung trugen eine *SGCE*-Mutation, die sie von ihrem Vater ererbt haben, und waren bisher trotzdem asymptotisch. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren sie 42, 38 und 39 Jahre alt. Neben der Suppression des Phänotyps nach Ererbung einer *SGCE*-Mutation von der Mutter durch maternales Imprinting, lässt sich hier in seltenen Fällen also auch eine verminderte Penetranz nach paternaler Vererbung beobachten.

4.11. Erstellung einer Regressionsgleichung

Zur Erstellung der Regressionsgleichung wurden nur Variablen mit einbezogen, für die in den vorangegangenen Tests (siehe vorherige Punkte), signifikante Unterschiede zwischen den beiden *SGCE*-Mutationsstatus-Gruppen festgestellt werden konnte. Das waren das Alter bei Erkrankungsbeginn, die Familienanamnese auf eine Bewegungsstörung und die segmentale oder generalisierte Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung. So konnten 101 Probanden in die Analyse mit einbezogen werden, unter denen es sich bei 31 (30,7%) um *SGCE*-Mutationsträger handelte.

Auch ob die Mutter eines Probanden von der Bewegungsstörung mit Myoklonus und/oder Dystonie betroffen war oder nicht, ergab signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Allerdings konnte dieser Punkt bei der Erstellung einer Regressionsgleichung nicht berücksichtigt werden, da eine Multikollinearität zum Punkt Familienanamnese bestand und somit die Unabhängigkeit zwischen den Variablen nicht mehr gegeben gewesen wäre (siehe hierzu auch Punkt 5.3.). Zur Erstellung der Regressionsgleichung wurde hier die binäre logistische Regression angewandt und die schrittweise Methode LR vorwärts gewählt.

4.11.1. Das Modell

Folgendes Modell wurde mit Hilfe von PASW 18 konstruiert:

$$p(y=1) = \frac{1}{1 + e^{+1,36 + 0,32x_1 - 2,33x_2 - 1,72x_3}}$$

Eingesetzt wird dann:

x_1 = Alter bei Erkrankungsbeginn (in Jahren)

x_2 = Familienanamnese (entweder negativ: 0 oder positiv: 1)

x_3 = von segmentalem oder generalisiertem Myoklonus betroffen (entweder nicht betroffen: 0 oder betroffen: 1)

Am Fallbeispiel eines Patienten mit 4 Jahren bei Erkrankungsbeginn, positiver Familienanamnese und segmentalem Verteilungsmuster der Myoklonien ergibt sich dann folgende Gleichung:

$$p(y=1) = \frac{1}{1 + e^{+1,36 + 0,32 * 4 - 2,33 * 1 - 1,72 * 1}} = 0,8$$

Die Wahrscheinlichkeit, dass dieser Patient eine *SGCE*-Mutation trägt liegt also bei 80%.

4.11.2. Beurteilung der Modellgüte

In der Hosmer-Lemeshow Statistik beträgt der Signifikanz-Wert (p-Wert) 0,95, was für ein Modell spricht, das die Zusammenhänge unserer Daten gut beschreibt.

Die 3 gewählten unabhängigen Variablen haben bei der schrittweisen Aufnahme alle signifikante Abnahmen der -2 log-likelihood (Devianz) zu Folge, was darauf hinweist, dass jede der 3 unabhängigen Variablen Bedeutung für die Vorhersage des *SGCE*-Mutationsstatus haben.

Das Nagelkerkers R-Quadrat besagt, dass durch alle 3 Prädiktoren 62,9% der Varianz der abhängigen Variable erklärt wird, durch die ersten 2 nur 57% und durch die alleinige Aufnahme der ersten Variablen lediglich 46,7%. Durch Aufnahme jeder unserer unabhängigen Variablen steigt also die Varianzerklärung.

Auch im Omnibus-Test der Modellkoeffizienten ist pro Schritt der Variablenaufnahme eine signifikante Verbesserung der Modellgüte zu verzeichnen.

Tabelle 10 zeigt die Klassifizierung bei einem Trennwert von 0,2. Das bedeutet alle Probanden, deren Wahrscheinlichkeit eine *SGCE*-Mutation zu tragen entsprechend dem hier vorgestellten Modell kleiner als 20% ist, werden der Gruppe der *SGCE*-Mutationsnegativen zugeordnet. Alle anderen werden als *SGCE*-Mutationsträger klassifiziert. Anhand unseres Modells werden so insgesamt 80,2 % der Probanden ihrer richtigen Gruppe zugeteilt. 75,7%

werden korrekt der Gruppe der SGCE-Mutationsnegativen und 90,3% korrekt der Gruppe der SGCE-Mutationsträger zugeteilt.

Tabelle 10: Klassifizierungstabelle des Modells zur Vorhersage des SGCE-Mutationsstatus bei hyperkinetischen Dystonien ± Myoklonus

		VORHERGESAGT		Prozentsatz der richtig Klassifizierten	
		Keine Mutation	Mutation vorhanden		
BEOBACHTET	Schritt 1	Keine Mutation	<u>44</u>	26	62,9
	Erkrankungs- alter	Mutation vorhanden	2	<u>29</u>	93,5
	Gesamt- prozentsatz				72,3
	Schritt 2	Keine Mutation	<u>50</u>	20	71,4
	Familien- anamnese	Mutation vorhanden	3	<u>28</u>	90,3
	Gesamt- prozentsatz				77,2
	Schritt 3	Keine Mutation	<u>53</u>	17	75,7
	Myoklonus- verteilung	Mutation vorhanden	3	<u>28</u>	90,3
	Gesamt- prozentsatz				80,2

Klassifizierung der Probanden anhand des erstellten Modells pro Schritt der Variablenaufnahme.
 Schritt 1: Aufnahme des Alters bei Erkrankungsbeginn;
 Schritt 2: Aufnahme der Familienanamnese;
 Schritt 3: Aufnahme der segmentalen oder generalisierten Verteilung des Myoklonus.
 Die durch unser Modell korrekt klassifizierten Fälle wurden fettgedruckt und unterstrichen. Nach Aufnahme aller unabhängiger Variablen in die Gleichung wird bei 80,2% der Probanden der Mutationsstatus richtig vorhergesagt.

4.11.3. Bedeutung der unabhängigen Variablen

Tabelle 11 zeigt die Regressionskoeffizienten B des hier vorgestellten Modells und deren exp(B) mit deren 95% Konfidenzintervallen. Der exp(B) entspricht der Odds Ratio. Es handelt sich hierbei um den Faktor, um den sich die Chance, dass eine SGCE-Mutation vorliegt (Wahrscheinlichkeit dafür, dass eine SGCE-Mutation vorliegt/ Wahrscheinlichkeit dafür, dass keine SGCE-Mutation vorliegt) ändert, wenn sich die entsprechende Variable um den Faktor 1 ändert. Hat der Proband eine positive Familienanamnese (diese ist mit 1 kodiert), so ist also die Chance, dass er SGCE-Mutationsträger ist 10 mal höher als die, bei einem Probanden, der eine negative Familienanamnese hat. Bei einem Probanden, bei dem ein generalisierter oder segmentaler Myoklonus vorliegt, ist die Chance mutationspositiv zu sein 5,6 mal höher, als bei einem Probanden mit einer anderen Verteilungsform der Myoklonien.

Tabelle 11: Regressionskoeffizienten B und ihre exp(B) mit 95% Konfidenzintervall.

	Regressions- koeffizient B	exp (B)	95%Konfidenz- intervall von exp(B)
Alter bei Erkrankungsbeginn	-0,32	0,73	[0,62;0,85]
Familienanamnese	2,33	10,27	[2,0;52,73]
Vorliegen eines segmentalen oder generalisierten Myoklonus	1,72	5,58	[1,51;20,58]
Regressions-Konstante	-1,36		

Die Chance eine SGCE-Mutation zu tragen ändert sich pro Jahr Alterszunahme bei Erkrankungsbeginn um den Faktor 0,741. D.h. pro Jahr, das ein Proband

bei Erkrankungsbeginn älter war, sinkt seine Chance *SGCE*-Mutationsträger zu sein um 26%.

Die Grenzen des 95% Konfidenzintervalls eines $\exp(B)$ liegen bei einer gut erklärenden unabhängigen Variablen entweder

- beide über 1, d.h. die Chance *SGCE*-Mutationsträger zu sein steigt, wenn sich die unabhängige Variable um eine Einheit ändert) oder
- beide unter 1, d.h. die Chance *SGCE*-Mutationsträger zu sein sinkt, wenn sich die unabhängige Variable um eine Einheit ändert)

Alle unabhängigen Variablen im vorliegenden Modell erfüllen diese Voraussetzungen (siehe Tabelle 11). Daraus kann man schließen, dass die unabhängigen Variablen alle einen eindeutigen Einfluss haben.

5. Diskussion

Mutationen im *SGCE*-Gen konnten als eine genetische Ursache für M-D identifiziert werden (Zimprich et al., 2001). Dennoch tragen nicht alle Patienten mit einem M-D Phänotyp auch eine Mutation im *SGCE*-Gen. Literaturrecherchen ergaben, dass in früheren Studien nur bei 23% (34/149) der diagnostizierten M-D Patienten auch eine Mutation im besagten Gen gefunden werden konnte (Grünewald et al., 2008).

Ziel dieser Arbeit war es, anhand eines möglichst großen Kollektivs von Probanden mit primärer hyperkinetischer Bewegungsstörung im Sinne eines Myoklonus und/oder einer Dystonie mit phasisch repetitiven Bewegungen, phänotypische Merkmale zu identifizieren, die *SGCE*-Mutationsträger von Nicht-*SGCE*-Mutationsträgern unterscheiden. Aus den gefundenen Merkmalen sollte eine logistische Regressionsgleichung entwickelt werden, die eine prognostische Aussage über die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer *SGCE*-Mutation im Einzelfall zulassen sollte. Mit Hilfe einer solchen Gleichung könnten in der Zukunft *SGCE*-Mutationsanalysen gezielter eingesetzt werden.

5.1. Kritikpunkte der Methodik

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe einer retrospektiven Analyse von Daten gewonnen. Die Identifizierung der untersuchten Patienten war heterogen: Zum einen Teil wurden die Patienten im Rahmen von Forschungsprojekten der Arbeitsgruppe von Prof. Thomas Gasser von Dr. Friedrich Asmus persönlich phänotypisiert und die Ergebnisse in einen standardisierten Phänotypisierungsbogen (siehe Abb. 3) eingetragen. Dies traf v.a. für Patienten aus Deutschland, Österreich und Irland zu. Zum anderen Teil wurde derselbe Bogen von externen Bewegungsstörungen-Spezialisten im Rahmen von Kooperationen und/oder der Zuweisung zu genetischen Forschungsanalysen ausgefüllt.

Entsprechend lagen in einigen Fällen nur unvollständige Phänotypdaten vor. Zum Beispiel war die Information für die Aktionsinduzierbarkeit von Myoklonien, einem Faktor der in den ersten Jahren der Erforschung der M-D noch keine

wesentliche Rolle beigemessen wurde, nur bei 40 von 151 Probanden vorhanden. Erst in den Jahren ab 2006 nach der Publikation eines Vorschlags für klinische Unterscheidungskriterien von M-D und benigner hereditärer Chorea (Asmus et al. 2007a) wurde z.B. dem Verhältnis von Bewegungsstörung in Ruhe und bei komplexen, schwierigen Bewegungen wie dem Schreiben eine entscheidende Rolle zugemessen. Dementsprechend wurden die Einsender erst ab ca. 2006 nach solchen Details gefragt.

Nur bei 44 aller Probanden war bekannt, ob sie eine Besserung ihrer Symptomatik durch Alkohol erfuhren (darunter nur 10 *SGCE*-Mutationsträger). Ursächlich hierfür war zum Einen, dass einige der Probanden den Effekt von Alkohol auf Ihre Symptomatik bisher nicht beobachtet hatten. Dies lag anamnestisch teilweise an einer strengen Alkoholabstinenz, die häufig mit dem abschreckenden Vorbild alkoholabhängiger M-D Patienten in der Familie begründet wurde. Ein weiterer Teil der Probanden war zum Zeitpunkt der Untersuchung minderjährig, häufig jünger als 12 Jahre, weshalb sich eine gezielte Alkoholexposition aus ethischen Gründen verbot. Die klinische Einschätzung der Alkoholresponse einer Bewegungsstörung ist außerdem nicht trivial, da ein unspezifisch sedierend anxiolytischer Ethanoleffekt, der nur zu einer gesteigerten Gleichgültigkeit und Toleranz einer Bewegungsstörung von einem spezifisch die Schwere der Bewegungsstörung reduzierenden Effekt unterschieden werden muss.

Die Teststärke (Power) war für die Analyse einiger Einflussfaktoren also aufgrund der Probandenzahl eingeschränkt. Außerdem wurden die Daten nicht von einem Arzt einheitlich, sondern, wie oben bereits angedeutet, von verschiedenen Ärzten in verschiedenen Ländern erhoben, wobei die einzige Standardisierung die Verwendung eines gemeinsamen Erhebungsbogens war (siehe Punkt 4.1.). Dabei kann es, trotz der Verwendung des einheitlichen Fragebogens, zu einer uneinheitlichen Einschätzung und Kategorisierung von Symptomen kommen. Der Goldstandard zur Vermeidung dieses Heterogenitätsfaktors wäre die Erstellung von Patientenvideos unter standardisierten Bedingungen und eine ebenfalls standardisierte Beurteilung durch für die Verdachtsdiagnose verblindete Fachspezialisten (Schrag, 2000).

Leider lagen für die vorliegende Arbeit Videos nur von einem Teil der in der Münchener/Tübinger Arbeitsgruppe gesehenen Patienten vor, bei denen die Diagnosequalität ohnehin durch eine einheitliche Bewertung durch einen Untersucher zufriedenstellend war.

Des Weiteren findet sich bei 47 (31,1%) der 151 in die Studie mit einbezogenen Probanden noch mindestens ein Blutsverwandter im Probandenkollektiv (siehe Tabelle 2), weshalb nicht alle Probanden komplett unabhängig voneinander sind. Die genannten Kritikpunkte der Methodik können auf die ausgesprochene Seltenheit der untersuchten Erkrankung zurückgeführt werden, die eine prospektive Studie, in die nur voneinander unabhängige, einheitlich beurteilte Probanden einbezogen werden, schwierig macht.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

5.2.1. Anteil der *SGCE*-Mutationsträger unter M-D Patienten und Gründe für eine relativ niedrige Detektionsrate

Im Probandenkollektiv der vorliegenden Arbeit konnte nur bei 54 (35,8%) von 151 getesteten Probanden eine Mutation im *SGCE*-Gen gefunden werden. Damit liegt die Detektionsrate hier immerhin noch um fast 13% über der Detektionsrate früherer Studien, wie Literaturrecherchen zeigten (Grünwald et al., 2008). Diese höhere Trefferquote kann unter anderem auf die zusätzliche Analyse von Gendosisunterschieden zurückgeführt werden, die sowohl in der vorliegenden als auch in anderen Studien, die eine vergleichbar höhere Detektionsrate erreichten, durchgeführt wurden (Grünwald et al., 2008). Somit konnten zum Beispiel auch heterozygote Deletionen kompletter Exons oder des kompletten *SGCE* detektiert werden, die früher übersehen wurden (Asmus et al., 2005, Asmus et al. 2007b).

In der vorliegenden Arbeit konnte bei der Mehrheit, d.h. bei 64,5% (97/151), des Probandenkollektivs keine *SGCE*-Mutation ausfindig gemacht werden. Gründe für eine immer noch relativ niedrige Rate, mit der Mutationen bei M-D Patienten gefunden werden, können sein:

1.) Genetische Heterogenität der M-D:

Neben dem *SGCE*-Gen (bzw. den für alle Probanden dieser Arbeit ausgeschlossenen Mutationen in den Genen *DYT1* (*TOR1A*) und *DYT6* (*THAP1*) gibt es sicher weitere andere, noch nicht bekannte Gene, deren Mutation eine M-D verursachen kann. Exemplarisch hierfür sei die M-D Familie mit Kopplungsdaten zu Chromosom 18 aber noch fehlender Genidentifikation genannt (Han et al., 2007).

2.) Nicht gefundene Mutationen im *SGCE*-Gen:

Die Mutationsanalysen in den Genen *DYT1*, *DYT6* und *DYT11* untersuchten für das *DYT1*-Gen das Exon 5 inklusive Sequenzierung des gesamten Exons, für *DYT11* alle Exons, Gendosis der Exons und flankierende intronische Sequenzen und für *DYT6* alle Exons sowie flankierende intronische Sequenzen. Dies war Zugang zur Genanalyse in den Jahren 2001 bis 2009. Prinzipiell wäre es vorstellbar, dass, insbesondere für *SGCE*, auch intronische Sequenzen mit einem Abstand von mehr als 40-60bp für M-D ursächliche Mutationen tragen könnten. Hierzu müsste jedoch bei allen Patienten die gesamte, mehrere 100 000 Basenpaare umfassende genetische Region durch Sequenzierung analysiert werden. Solche umfassenden Analysemethoden würden vor allem bei M-D Familien Sinn machen, die genetische Kopplung in die Region 7q21 gezeigt haben, bei denen aber durch herkömmliche Analysemethoden keine Mutation gefunden werden konnte. Solche Indexpatienten/Familien waren jedoch nicht Bestandteil des in dieser Arbeit untersuchten Kollektivs. Insgesamt kann die Chance nicht entdeckter *SGCE*-Mutationen bei den zuletzt umfassenden und in dieser Arbeit verwendeten Analyseansätzen als sehr gering eingeschätzt werden (Asmus et al., 2005; Asmus et al., 2007b).

3.) Eventuell polygene Verursachung einer M-D:

Für die Abschätzung des Beitrags genetischer versus Umwelteinflüsse wären umfangreiche genomweite Assoziationsstudien notwendig. Gegen die Machbarkeit derartiger Analysen spricht das sehr seltene Vorkommen der M-D mit einer geschätzten Prävalenz der *SGCE*-Mutationsträger von $2 : 10^6$ (Asmus et al., 2007a).

4.) Einschlußkriterien zur SGCE-Mutationstestung:

Hier eröffnet sich ein grundsätzliches Problem von Genotyp-Phänotyp-Studien. Krankheiten, die klinisch zunächst nicht unterscheidbar erscheinen, können nach genauer Analyse von Subgruppen von Patienten mit monogentischer Ursache doch durch spezielle Untersuchungen klinisch unterscheidbar werden. Für die M-D bzw. für hyperkinetische Dystonien sind bislang keine derartigen „Subphänotypen“ bekannt. Deshalb musste mit den vorhandenen klinischen Kriterien die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer M-D kategorisiert werden. Beispielsweise teilten Grünewald et al., 2008 ihr Probandenkollektiv in 3 Gruppen ein: definitive, wahrscheinliche und mögliche M-D. Unter allen untersuchten Probanden fand die genannte Arbeitsgruppe lediglich bei 36% eine SGCE-Mutation. Diese Detektionsrate stieg, betrachtete man allein den Teil der Patientin, die als definitiv von M-D betroffen kategorisiert worden waren. Als solche wurden Probanden definiert, die eine frühe Manifestation von Myoklonien und Dystonie zeigten ODER die einen vor allem die obere Körperhälfte betreffenden isolierten Myoklonus aufwiesen UND eine positive Familienanamnese hatten. In dieser Subgruppe befanden sich 60% SGCE-Mutationsträger. Auch in der vorliegenden Arbeit stieg die Häufigkeit der SGCE-Mutationen auf 64%, wenn nur Probanden mit einem Alter bei Erkrankungsbeginn unter 10 Jahren UND einer positiven Familienanamnese betrachtet wurden. Die Spezifität kann mit einer rigorosen klinischen Vorauswahl also fast verdoppelt werden. Die Sensitivität nimmt dabei logischerweise ab: In der Studie von Grünewald et. al 2008 wären durch die Anwendung obiger Einschlußkriterien 3 von 9 SGCE-Mutationsträgern unentdeckt geblieben. In der vorliegenden Arbeit hätte es sich dabei um 6 von 33 gehandelt, wobei 3 aufgrund eines Erkrankungsalters über 10 Jahre und 3 aufgrund einer negativen Familienanamnese unerkannt geblieben wären. Es hätte sich also eine Sensitivität von 81% (81% der tatsächlich positiven Probanden, werden auch korrekt als positiv erkannt), bei einer Spezifität von 64% (64% der Probanden, die als positiv bewertet wurden, sind auch tatsächlich positiv) ergeben.

5.2.2. Analyse phänotypischer Merkmale in Abhängigkeit vom *SGCE*-Mutationsstatus

Die Auswahl der in die Analyse mit einbezogenen phänotypischen Merkmale, fand in Anlehnung an in der Literatur bereits beschriebene klinische Charakteristika einer M-D statt (Mahloudji und Pikielny, 1967; Asmus und Gasser, 2004; Grünewald, 2008). Die beiden letztgenannten Arbeiten wurden bereits in Kenntnis von Genotyp-Phänotyp Korrelationen des *SGCE*-Gens erstellt. Analysiert wurden das Geschlecht, das Alter bei Erkrankungsbeginn, die zeitliche Abfolge des erstmaligen Auftretens von Myoklonus und Dystonie, das Verteilungsmuster von Myoklonien und Dystonie, die Familienanamnese von Symptomen der M-D, das Ansprechen der Bewegungsstörung auf Alkoholfuhr (Alkoholresponse), die Aktionsinduzierbarkeit der Myoklonien und psychiatrische Begleiterkrankungen.

Sowohl in der Gruppe der *SGCE*-Mutationsträger als auch in der Gruppe der *SGCE*-Mutationsnegativen fand sich eine ausgeglichene Geschlechterverteilung. Dies ist der erwartete Befund für einen autosomal dominanten Erbgang.

In Übersichtsarbeiten wird ein **Erkrankungsalter** in der ersten oder zweiten Lebensdekade als charakteristisch für eine durch *SGCE*-Mutationen verursachte M-D beschrieben (Asmus und Gasser, 2004; Kinugawa, 2009).

Das Alter bei Erstmanifestation von Myoklonus und/oder Dystonie der *SGCE*-Mutationsträger lag bei den Probanden der vorliegenden Arbeit zwischen 1 und 14 Jahren, wobei nur 3 von 36 *SGCE*-Mutationsträgern (8%) mit bekanntem Alter bei Erkrankungsbeginn über 6 Jahre alt waren. Alle anderen 33 (92%) *SGCE*-Mutationsträger waren bei Erkrankungsbeginn nicht älter als 6 Jahre.

Basierend auf dem Befund, dass 92% der Probanden des Kollektivs der vorliegenden Arbeit in der ersten Lebensdekade erkrankt waren, könnte also ein Erkrankungsalter vor dem 10 Lebensjahr als charakteristisch für *SGCE*-Mutation tragende M-D Patienten postuliert werden. Auch in anderen Arbeitsgruppen waren die Probanden bei Erkrankungsbeginn mehrheitlich nicht älter als 10 Jahre (siehe Tabelle 12), wenn auch ab und zu in einzelnen

Familien gehäuft die Erstmanifestation in der zweiten Lebensdekade liegt (Grünewald et al., 2008).

Tabelle 12: Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen zum Alter bei Beginn der M-D Symptomatik.

Arbeitsgruppe	Anzahl aller Probanden der Studie, von denen der Erkrankungsbeginn bekannt war*	Häufigkeit in % der Probanden der Studie mit einem Erkrankungsbeginn ≤ 10 Jahre
Grünewald et al. 2008	12	10 (83%)
Nardocci et. al, 2008	16	14 (87%)
Koukouni et al., 2008	2	2 (100%)
Tezenas du Montcel et al., 2006	27	22 (81%)
Vorliegende Arbeit	36	33 (92%)
Gesamt	93	81 (87%)

* Es wurden jeweils nur die Probanden berücksichtigt, bei denen das genaue Alter bekannt war

Bei 2 der 3 Probanden mit einem Erkrankungsalter über 6 Jahre handelte es sich interessanter Weise um eineiige Zwillinge, unter denen der eine mit 13 und der andere mit 14 Jahren erkrankte. Die Zwillinge trugen die Spleißstellenmutation c.463+1A (+1, Spleißstelle am Beginn des Introns 4). Eine ähnliche Spleißstellenmutation wurde bereits von Asmus et al. 2002 beschrieben (c.463+6T→C). Allerdings lag bei diesem Probanden das Erkrankungsalter bei 3 Jahren (Asmus et al., 2002), womit die Ursache für den relativ späten Erkrankungsbeginn bei den Zwillingen nicht alleine auf diesen Mutationstyp im *SGCE*-Gen zurückgeführt werden kann.

Auch in anderen Studien konnten bisher keine Genotyp-Phänotyp Korrelationen für die verschiedenen Mutationstypen (trunzierende Nonsense-Mutation, Spleißstellenmutation und Missense-Mutation) festgestellt werden (Asmus et al., 2002; Raymond et al., 2008; Grünewald et al., 2008).

Eine Ursache hierfür könnte sein, dass pathogene Mutationen im *SGCE*-Gen uniform zu einem Funktionsverlust führen. Hierauf deuten zellbiologische Arbeiten hin (Esapa et al., 2007), die gleiche Effekte von ausgewählten Nonsense- und Missense-Mutationen auf den Transport des ϵ -SG Proteins in die Plasmamembran zeigen.

Der Befund eines sehr nahe beisammen liegenden, im Vergleich zum Mittel des Erkrankungsalters der *SGCE*-Mutationsträger, späten Manifestationsalters bei den oben genannten eineiigen Zwillingen ist trotzdem interessant, da er die Frage aufwirft, welche Einflussfaktoren auf das Erkrankungsalter genetisch und welche umweltbedingt sind. Einerseits könnte das Erkrankungsalter sehr wohl genetisch determiniert sein aber nicht von der Art der Mutation im *SGCE*-Gen abhängen, sondern von anderen Genen/Genkonstellationen, die auf den Zeitpunkt des Ausbruchs der Erkrankung Einfluss nehmen. Andererseits könnten gleiche oder ähnliche Umwelteinflüsse, denen die Zwillinge unterlagen, eine Rolle spielen.

Prinzipiell stellt sich bei der Festlegung des Erkrankungsalters häufig das Problem, dass milde Symptome, z.B. ein leichter Schreibkrampf oder eine leichte Fußdystonie, vom pädiatrischen Patienten und/oder den Eltern ggf. lange gar nicht als Erkrankung wahrgenommen werden und somit ein artifizieller Unterschied in der Festlegung des Erkrankungsaltes entstehen kann (siehe auch dieser Abschnitt weiter unten).

Im Probandenkollektiv dieser Arbeit lag das mittlere Erkrankungsalter der *SGCE*-Mutationsträger bei Mädchen etwas niedriger als das bei Jungen: 3,9 versus 4,9 Jahre. Statistisch ist dieser Unterschied jedoch nicht signifikant. Rein deskriptiv passt dieser Trend zu Ergebnissen von Raymond et. Al: in deren Studie erkrankten Mädchen mit *SGCE*-Mutation im Mittel mit 5 Jahren und Jungen im Mittel mit 8 Jahren, was dort statistisch signifikant war (Raymond et al., 2008). Es erscheint sinnvoll auf diesen empirisch festgestellten Unterschied

in zukünftigen Studien zu achten, da es bisher keine Hypothese zu möglichen Ursachen von Unterschieden im Manifestationsalter in Abhängigkeit vom Geschlecht gibt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen einen vorwiegend zeitgleichen Beginn von Myoklonus und Dystonie bei den *SGCE*-Mutationsträgern (18 von 22) wohingegen in der Literatur die Dystonie als meist nach dem Myoklonus manifestierend beschrieben wird (Asmus et al., 2002; Foncke et al., 2006). 4 von 22 *SGCE*-Mutationsträgern dieser Arbeit manifestierten zunächst mit Myoklonien als Erstsymptom, wobei einer dieser Probanden sogar erst mit einer Latenzzeit von 24 Jahren eine zusätzliche Dystonie entwickelte. Bei keinem der Probanden trat die Dystonie jedoch vor dem Myoklonus auf. Einerseits deckt sich dieses Ergebnis mit den Ergebnissen anderer publizierter Studien, wo die Dystonie ebenfalls als meist nach dem Myoklonus auftretendes Symptom beschrieben wird (Asmus et al., 2002). Zum anderen wurden unlängst Fälle publiziert, in denen vor allem bei sehr frühem Erkrankungsbeginn *SGCE*-Mutationsträger mit einer dystonen Gangstörungen erstmanifestierten (Asmus et al., 2009). Allgemein ist zu bedenken, dass Ergebnisse bezüglich des Alters bei Erkrankungsbeginn und der Art der Erstmanifestation (als Myoklonus und/oder Dystonie) meist durch retrospektive Datenerhebung gewonnen wurden (siehe auch Abschnitt 5.1). Diese beruhte dann entweder auf anamnestischen Angaben der Eltern der Patienten oder auf Befunden von Ärzten, die als Erstbehandler häufig keine Spezialisten für Bewegungsstörungen waren. Für exakte Verlaufsdaten zur Entwicklung der Bewegungsstörung wären wiederholte Untersuchungen durch Spezialzentren bzw. Videodokumentationen standardisierter Untersuchungen notwendig. Diese Untersuchungen müssten bei gerade zu Beginn oft milder Symptomatik auch Provokationsmanöver, wie z.B. komplexe motorische Aufgaben enthalten, wie Schreiben oder das Zeichnen einer Spirale (Asmus et al., 2009).

Die **Verteilung des Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung** war bei den *SGCE*-mutationstragenden Probanden der vorliegenden Arbeit zu 80% segmental oder generalisiert und nur zu 20% multifokal oder fokal. Damit ergab sich ein signifikanter Unterschied zu den *SGCE*-Mutationsnegativen

Probanden, bei denen die Verteilungsformen segmental und generalisiert versus (vs.) fokal und multifokal ähnlich häufig vorkamen (43,5% vs. 48,2%) (siehe Abbildung 8). Vernachlässigt man die Entitäten „kein Myoklonus“ und „Hemimyoklonus“, kann man bei den Nicht-SGCE-Mutationsträgern von einer Gleich- und damit Zufallsverteilung der möglichen Verteilungsformen sprechen. Aus den vorliegenden Ergebnissen lässt sich also schlussfolgernd vermuten, dass eine segmentale oder generalisierte Verteilung der Myoklonien ein typisches Merkmal der M-D darstellt, wohingegen bei Probanden ohne SGCE-Mutation alle Verteilungsformen gleich häufig vertreten sind.

Die selten vorkommende Entität „kein Myoklonus“ korreliert am besten mit der von Obeso eingeführten Bezeichnung „Myoklonische Dystonie“, bei der keine Myoklonien im Sinne der elektrophysiologischen Definition sondern stark phasische, repetitive hyperkinetisch dystone Bewegungen auftreten. Bei diesen Patienten handelte es sich jedoch um eine in der vorliegenden Arbeit unterrepräsentierte Entität, deren genauere klinische und genetische Charakterisierung einer eigenen Studie bedürfte. Solche Patienten wurden auch schon 2009 von Asmus und Mitarbeitern näher beschrieben (Asmus et al. 2009). Auch das Auftreten eines Hemimyoklonus stellte in unserem Probandenkollektiv eine absolute Ausnahme dar, da eine solche Symptomatik oft auf eine organische Ursache wie zum Beispiel eine Läsion im Bereich der kontralateralen Basalganglien zurückzuführen ist, was beim Nachweis entsprechender Strukturläsionen in der Bildgebung ein Ausschlusskriterium zur SGCE-Mutationstestung darstellen würde. Deshalb kann auch diese Entität bei obigen Überlegungen vernachlässigt werden.

In der Literatur wurde mehrfach über eine vorwiegende Manifestation der Myoklonien an Rumpf und oberen Extremitäten bei SGCE-Mutationsträgern berichtet (Doheny et al., 2002; Asmus und Gasser, 2004; Roze et al., 2008). Bei den Probanden der vorliegenden Arbeit, von denen die exakte Verteilung der Myoklonien auf die verschiedenen Körperpartien bekannt war, waren jedoch bei 37% der SGCE-Mutationsträger auch die unteren Extremitäten von Myoklonien betroffen. Eine Manifestation an den unteren Extremitäten erniedrigte die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer SGCE-Mutation also nicht

signifikant. In einer Studie von Asmus et al., 2009 wurden 13 *SGCE*-Mutationsträger identifiziert, die alle einen Erkrankungsbeginn vor dem 18. Lebensmonat aufwiesen und von denen 11 (85%!) beim Gehen oder Laufen aufgrund von einschließenden Myoklonien unter rezidivierenden Stürzen litten. 2-3 Jahre nach Erkrankungsbeginn besserte sich diese Symptomatik allerdings und die Myoklonien manifestierten sich im Verlauf vorwiegend an Rumpf und oberen Extremitäten. Auch Koukouni et al. beschrieben 2007 eine Familie, in der sich die M-D bei *SGCE*-Mutationsträgern vor allem durch Myoklonien in den unteren Extremitäten und daraus resultierenden Stürzen manifestierte. In den Arbeiten von Tezenas du Montcel et al., 2006 und Nardocci et al., 2008 werden weitere Fälle von *SGCE*-Mutationsträgern mit M-D Manifestation in der unteren Extremität geschildert (Tezenas du Montcel et al., 2006; Nardocci et al., 2008). Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und derer der genannten Arbeitsgruppen, sollten Myoklonien der unteren Extremitäten nicht als uncharakteristisch für *SGCE*-Mutationsträger eingestuft werden. Vielmehr sollte bei der Anamnese gerade Jugendlicher oder Erwachsener auf einem Symptomwandel im Kleinkind und/oder Schulkindalter geachtet werden.

In der Literatur wird die Häufigkeit des Auftretens einer **Dystonie** bei M-D Patienten mit *SGCE*-Mutation mit zwei Dritteln angegeben. Dabei werden die zervikale Dystonie und der Schreibkrampf als die häufigsten Manifestationsformen der Dystonie beschrieben (Asmus und Gasser, 2004). Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit.

Zwar wies fast ein Drittel (27%) der *SGCE*-Mutationsträger zum Zeitpunkt der Untersuchung keine Dystonie auf, zwei Drittel zeigten jedoch Dystonien in fokaler, multifokaler, segmentaler oder generalisierter Verteilung.

Sowohl in der Gruppe der *SGCE*-Mutationspositiven als auch in der Gruppe der *SGCE*-Mutationsnegativen war die fokale Verteilungsform der Dystonie am häufigsten zu beobachten. In beiden Gruppen handelte es sich dabei am häufigsten um Schreibkrämpfe oder zervikale Dystonien.

In diesem Zusammenhang interessant ist, dass in der Gruppe der *SGCE*-Mutationsträger mit fokaler Dystonie Schreibkrämpfe sehr viel häufiger zu

beobachten waren als in der Gruppe der *SGCE*-Mutationsnegativen mit fokaler Dystonie ($n= 12$ vs. $n=2$; $p= 0,02$).

Für die Häufigkeit des Auftretens zervikaler Dystonien hingegen war ein Unterschied in dieser Ausprägung zwischen den Gruppen nicht zu beobachten (31,3% der *SGCE*-Mutationsträger mit fokaler Dystonie und 57,1% der *SGCE*-Mutationsnegativen mit fokaler Dystonie litten unter einer zervikalen Dystonie zum Zeitpunkt der Untersuchung). Möglich ist, dass der hohe Anteil an zervikalen Dystonie-Patienten in der Gruppe der *SGCE*-Mutationsnegativen durch eine klinische Variante mit ruckartigen („myoklonischen“) Halsbewegungen ohne Nachweis von Myoklonien im Arm bedingt ist. Auf diesen Subphänotyp wird in zukünftigen, prospektiven Studien zu achten sein.

Anhand dieser Ergebnisse ergibt sich also ein Trend, Schreibkrämpfe als typisches Merkmal von *SGCE*-Mutation-tragenden M-D-Patienten einzustufen. Zervikale Dystonien hingegen treten bei *SGCE*-Mutationsnegativen Patienten sogar häufiger auf und sind somit nicht als spezifisch (jedoch natürlich trotzdem weiterhin als typisch) für *SGCE*-Mutationsträger zu werten. Aus rein statistischer Sicht muss das fast viermal häufigere Auftreten eines Schreibkrampfes bei *SGCE*-Mutationsträgern verglichen mit den *SGCE*-Mutationsnegativen allerdings in Anbetracht der Wahl unseres Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Korrektur für multiples Testen (Verwerfen der Nullhypothese erst bei einem $p\text{-Wert} \leq 0,0017$, siehe Punkt 3.3.3.) mit einem p -Wert von 0,02 als nicht signifikant eingestuft werden. Außerdem erhöht das Vorliegen eines Schreibkrampfes bezogen auf das *komplette* Probandenkollektiv dieser Arbeit *nicht* die Wahrscheinlichkeit eine *SGCE*-Mutation zu finden. Lediglich bei den 28,6% der Probanden mit fokaler Dystonie war die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer *SGCE*-Mutation erhöht. Auch bei der Erstellung einer Regressionsgleichung wurde dieser Punkt aus den genannten Gründen nicht berücksichtigt. Trotzdem kann aufgrund der dargestellten Ergebnisse das Vorkommen eines Schreibkrampfes bei M-D Patienten mit fokaler Dystonie als starker Prädiktor für das Vorliegen einer *SGCE*-Mutation gewertet werden (bei anteilsmäßigen 80% der Probanden mit Schreibkrampf konnte eine *SGCE*-Mutation gefunden werden). Allerdings ist

anzumerken, dass klinisch bei einigen Patienten mit Armmyoklonien gar nicht in jedem Fall das isolierte Auftreten von dystonen Fehlhaltungen und das willkürlich kompensatorische Einnehmen von verkrampften Arm- und Handhaltungen zur Stabilisierung des Schreibens oder Zeichnens unterschieden werden kann.

Da Mutationen im *SGCE*-Gen autosomal dominant vererbt werden, ist auch eine positive **Familienanamnese** bezüglich einer hyperkinetischen Bewegungsstörung im Sinne eines Myoklonus und/oder einer Dystonie ein starker Prädiktor für das Vorliegen einer *SGCE*-Mutation. Somit verwundert es nicht, dass 92,5% (37/40) der M-D Patienten mit *SGCE*-Mutation dieser Arbeit mindestens einen ebenfalls von M-D betroffenen Verwandten hatten. Damit unterschieden sie sich signifikant ($p < 0,001$) von den *SGCE*-Mutationsnegativen Probanden, unter denen nur 56% eine positive Familienanamnese aufwiesen. Jedoch ist eine positive Familienanamnese bei *SGCE*-Mutationsträgern keineswegs obligat. Im Probandenkollektiv dieser Arbeit fanden sich 3 *SGCE*-Mutationsträger, bei denen keine weiteren klinisch betroffenen Familienmitglieder ausgemacht werden konnten. Auch in der Literatur wurde immer wieder von solchen Fällen berichtet (Hedrich et al., 2004; Tezenas du Montcel et al., 2006; Borges et al., 2007; Nardocci et al., 2008). Gründe hierfür können einerseits das Auftreten einer *de novo* *SGCE*-Mutation oder aber auch das für das *SGCE* nachgewiesene maternale Imprinting sein (Grabowski et al., 2003). Beim maternalen Imprinting kann es zu einer Unterdrückung des Phänotyps der Erkrankung kommen, da die Geninformation nur vom gesunden väterlichen Allel transkribiert wird und es damit in der Regel irrelevant ist, ob das maternale Allel mutiert ist. Das maternale Allel ist zudem konstitutiv inaktiviert.

Somit kann eine *SGCE*-Mutation über mehr als eine Generation nur von Müttern an ihre Kinder weitergegeben worden und klinisch stumm geblieben sein (sog. „silent carrier“). Die maternale Imprimierung des *SGCE*-Gens spiegelt sich auch in der Beobachtung wider, dass keiner der *SGCE*-Mutationsträger der vorliegenden Arbeit eine klinisch von M-D betroffene Mutter hatte. Allerdings wurde in der Vergangenheit auch bei bis zu 10% der symptomatischen

Patienten die Mutter als Überträgerin der *SGCE*-Mutation identifiziert (Zimprich et al., 2001; Asmus et al., 2002), weshalb M-D Patienten mit betroffener Mutter in dieser Studie nicht von der *SGCE*-Mutationstestung ausgeschlossen wurden. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch, dass sich im Probandenkollektiv dieser Arbeit drei asymptomatische *SGCE*-Mutationsträger fanden, die ihre *SGCE*-Mutation vom Vater ererbt hatten. Sie waren zum Zeitpunkt der Untersuchung 38, 39 und 42 Jahre alt. Aus dieser Beobachtung könnte auf eine nicht vollständige Penetranz nach paternaler Vererbung geschlossen werden, die jedoch im Vergleich zur klinischen Symptombefreiheit nach maternaler Mutationstransmission eine Rarität darstellt. Zudem besteht die Möglichkeit, dass Symptome der M-D ggf. nur im Kleinkind oder Schulalter bestanden haben und bei milder Ausprägung nicht diagnostiziert und ggf. vom Patienten auch nicht erinnert werden. Eine Besserung bis hin zur Symptombefreiheit ist in einigen Arbeiten zur M-D dokumentiert (Kinugawa et al. 2009).

Im Falle der 3 oben genannten Probanden ist es außerdem unwahrscheinlich, dass sie noch Krankheitssymptome entwickeln werden. Ein ähnlicher Krankheitsverlauf mit spätem Krankheitsbeginn im Alter von 38 Jahren und im Vordergrund stehender zervikaler Dystonie wurde bereits in einer früheren Publikation in einer französischen Familie beschrieben (Asmus et al., 2002). Weitere Fällen einer Manifestation von M-D im Erwachsenenalter sind in der Literatur publiziert (Vidailhet et al., 2001; Foncke et al., 2006).

Bei allen Probanden dieser Arbeit mit Mutation im *SGCE*-Gen, deren Reaktion auf die Ingestion von Alkohol bekannt war, fand sich eine positive **Alkoholresponse**, d.h. der Myoklonus und/oder die Dystonie besserten sich nach Alkoholgenuss. Eine so verursachte Verringerung der Symptomatik bei M-D Patienten wurde schon mehrfach beschrieben, ist aber nicht als obligat für die Diagnosestellung der M-D anzusehen (Vidailhet et al., 2001; Asmus et al., 2002; Tezenas du Montcel, 2006; Roze et al., 2008). Die Alkoholresponse konnte in der vorliegenden Arbeit auch nicht als geeignetes Merkmal zur Abgrenzung der *SGCE*-Mutationsträger von den *SGCE*-Mutationsnegativen identifiziert werden, da auch bei 76,5% der Probanden ohne *SGCE*-Mutation

eine Alkoholresponse vorlag (zum Problem der Festlegung der Alkoholresponse siehe auch 5.1).

Bei der **Aktionsinduzierbarkeit der Myoklonien** verhielt es sich ähnlich: Bei 93,3% der *SGCE*-Mutationspositiven, von denen Informationen zu diesem Faktor vorlagen, konnten die Myoklonien durch Bewegung oder körperliche Anstrengung induziert werden, was aber auch bei 85% der *SGCE*-Mutationsnegativen der Fall war und deshalb zwar als typisch, nicht jedoch als spezifisch für M-D Patienten mit *SGCE*-Mutation angesehen werden kann. Allerdings wurden in der vorliegenden Arbeit die Trigger zur Auslösung der Myoklonien nicht weiter spezifiziert und vor allem nicht quantifiziert. Grundsätzlich ist bei vielen Bewegungsstörungen körperliche Aktivität ein Trigger für die Verstärkung der Symptome. Es besteht die Möglichkeit, dass die Verwendung von spezifischen Triggern wie Schreiben oder Malen von Archimedes-Spiralen eine weitere phänotypische Unterscheidung erlauben könnte. Dies müsste jedoch prospektiv an einem geeigneten Kollektiv untersucht werden (Asmus et al., 2007a).

Die Frage, ob bei M-D Patienten gehäuft **psychiatrische Begleiterkrankungen** vorkommen, konnte bisher noch nicht eindeutig geklärt werden. In manchen betroffenen Familien wurden vermehrt Depressionen, Zwangs-, Angst-/ Panik- und Persönlichkeitsstörungen sowie Alkoholabhängigkeit beobachtet (Klein et al., 1999; Doheny et al. 2002; Saunders-Pullman, 2002; Marechal et al., 2003).

In der vorliegenden Studie war bei 25% der *SGCE*-Mutationsträger und 34,6% der Nicht-*SGCE*-Mutationspositiven Probanden eine psychiatrische Begleiterkrankung bekannt. Dabei lag bei *keinem* der *SGCE*-Mutationsträger ein Alkoholmissbrauch vor. Allerdings wurden Informationen zu psychiatrischen Begleiterkrankungen für diese Arbeit nicht systematisch durch standardisierte Interviews, sondern rein anamnestisch erhoben. Studien, in denen die Datenerhebung bezüglich psychiatrischer Begleiterkrankungen bei *SGCE*-Mutationsträgern systematisch durchgeführt wurde, konnten allerdings eine Häufung von Alkoholabhängigkeit und Zwangssymptomen bei Probanden mit mutiertem *SGCE*-Gen finden. In der von Hess et al., 2007 durchgeführten

Studie, in der das computergestützte psychiatrische Interview (M-CIDI) zur Datenerhebung genutzt wurde, konnten Zwangsstörungen zum Beispiel gehäuft sowohl bei symptomatischen als auch bei asymptomatischen *SGCE*-Mutationsträgern beobachtet werden. Jedoch erreichte diese Häufung gegenüber den *SGCE*-Mutationsnegativen keine statistische Signifikanz (Hess et al., 2007). Ein vermehrter Alkoholmissbrauch konnte nur bei der Gruppe der symptomatischen, nicht jedoch bei den asymptomatischen *SGCE*-Mutationsträgern beobachtet werden. Eine Studie mit ähnlichen Ergebnissen wurde auch bereits von Saunders-Pullman 2002 durchgeführt, jedoch basierten die Daten hier noch auf genetischen Kopplungsanalysen und nicht auf Mutationsanalysen (Saunders-Pullman et al., 2002). Alkoholmissbrauch bei manifestierenden *SGCE*-Mutationsträgern kann auch als Versuch einer „Selbstmedikation“ der M-D Symptomatik bei positiver Alkoholresponse und gerade in der Vergangenheit meist fehlenden guten Therapieoptionen interpretiert werden. Auch gehäuft auftretende Zwangsstörungen könnten als reaktiv auf die M-D Symptomatik gewertet werden, wogegen jedoch die ebenfalls vorhandene Häufung von Zwangsstörungen bei asymptomatischen *SGCE*-Mutationsträgern in den genannten Studien spricht (Hess et al., 2007; Saunders-Pullman et al., 2002). Um letztendlich klären zu können, ob Mutationen im *SGCE*-Gen bei den asymptomatischen Mutationsträgern zu Zwangsstörungen prädisponieren oder nicht sind jedoch weitere Studien mit größeren Probandenzahlen notwendig.

Auch Doheny et al., 2002 erhoben mit Hilfe des Diagnostischen Interviews für Genetische Studien (DIGS) und der Yale-Brown Skala für Zwangsstörungen systematisch Daten zu psychiatrischen Profilen von Probanden aus drei M-D Familien mit *SGCE*-Mutation (Doheny et al., 2002).

Sie fanden jedoch nur bei einer der drei Familien einen erhöhten Alkoholmissbrauch bei *SGCE*-Mutationsträgern, hier jedoch, im Gegensatz zu der oben beschriebenen Studie, vermehrt bei den, bezüglich der Bewegungsstörung, asymptomatischen Probanden. Auch war nur in einer der drei untersuchten Familien eine Zwangsstörung bei *SGCE*-Mutationsträgern zu eruieren. Gerade in dieser Familie lag jedoch parallel zur *SGCE*-Mutation auch

eine *DRD2*-Mutation vor. Der Stellenwert letzteren Befundes ist jedoch auch 10 Jahre nach der Erstbeschreibung noch unklar. Prinzipiell lässt natürlich eine Mutation im dopaminergen System an einen Einfluss auf psychiatrische Erkrankungen denken. Die Tatsache jedoch, dass Mutationen im *DRD2*-Gen bei keiner anderen M-D Familie gefunden werden konnten und dass sich letztendlich der Phänotyp in der Familie mit den beiden Mutationen weder nach Qualität noch Schwere von anderen Familien mit lediglich einer *SGCE*-Mutation unterschied, erschweren die Beurteilung der Bedeutung des Zusammentreffens der beiden Mutationen.

Da im Probandenkollektiv der vorliegenden Arbeit psychiatrische Begleiterkrankungen sogar häufiger bei nicht-*SGCE*-Mutationsträgern vorkamen, können diese hier nicht als geeigneter Prädiktor für das Vorliegen einer *SGCE*-Mutation dienen.

5.3. Erstellen einer Regressionsgleichung

Für das Alter bei Erkrankungsbeginn, die Familienanamnese einer Bewegungsstörung, die segmentale oder generalisierte Verteilung eines Myoklonus zum Zeitpunkt der Untersuchung und das Vorhandensein einer von M-D betroffenen Mutter sind in unserem Probandenkollektiv signifikante Unterschiede zwischen den *SGCE*-Mutationsträgern und den *SGCE*-Mutationsnegativen gefunden worden.

Grundlage für die Erstellung der Regressionsgleichung war die Annahme, dass die Zusammensetzung unserer Stichprobe repräsentativ für die Grundgesamtheit aller Probanden mit hyperkinetischer Bewegungsstörung, die laut den in Punkt 3.1. definierten Kriterien für eine *SGCE*-Mutationstestung in Frage kommen, ist. Dann hätte die Kenntnis der Ausprägung dieser Punkte das Potential Patienten (die die in 3.1 genannten Einschlußkriterien erfüllen) mit niedriger Wahrscheinlichkeit von Patienten mit hoher Wahrscheinlichkeit Träger einer *SGCE*-Mutation zu sein, zu trennen. Unter Einbeziehung oben genannter Merkmale wurde eine Regressionsgleichung erstellt, mit der durch Einsetzen der Ausprägung der genannten Punkte, die Wahrscheinlichkeit für das

Vorliegen einer *SGCE*-Mutation berechnet werden kann. Zur Erstellung dieser Gleichung war am besten die binäre logistische Regression geeignet, da diese nach einer Gleichung sucht, die den Zusammenhang zwischen einer sogenannten abhängigen, binären Variablen (in unserem Falle der *SCGE*-Mutationsstatus) und mehreren unabhängigen Variablen (hier die vier oben aufgeführten Punkte) darstellt. Zur Durchführung einer solchen binären logistischen Regressionsanalyse sind allerdings mindestens 25 Beobachtungen pro Gruppe nötig, wobei aussagekräftige Ergebnisse sogar erst ab ungefähr 50 Beobachtungen pro Gruppe gemacht werden können (Fromm, 2005). Das bedeutet für die vorliegende Arbeit, dass im Idealfall von mindestens 100 Probanden (50 aus der Gruppe der *SGCE*-Mutationsträger und 50 aus der Gruppe der Nicht-*SGCE*-Mutationsträger) Informationen zu allen oben genannten 4 Punkten, bei denen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden wurden, vorhanden sein müssen. De facto gab es aber nur 95 Probanden, bei denen Informationen zu all diesen Punkten vorlagen. Außerdem darf zwischen den unabhängigen Variablen keine Multikollinearität vorliegen. D.h. sie dürfen nicht voneinander abhängen. Das wäre aber für den Punkt „Familienanamnese“ und „betroffene Mutter“ der Fall gewesen, da die Mutter nur betroffen sein kann, wenn auch eine positive Familienanamnese vorliegt. Deshalb wurde der Punkt „betroffene Mutter“ letztendlich bei der Erstellung einer Regressionsgleichung nicht mit einbezogen, obwohl er klinisch ohne Zweifel große Bedeutung hat für die Voraussage der Wahrscheinlichkeit, mit der im speziellen Fall eine *SGCE*-Mutation gefunden werden kann. Eine bessere Lösung für dieses Problem wäre jedoch gewesen die Punkte „Familienanamnese“ und „betroffene Mutter“ in einem Punkt als „Erbgang autosomal dominant mit maternalem Imprinting“ zusammenzufassen. Dieser Punkt hätte dann beide Informationen enthalten. Um den genauen Vererbungsmodus beurteilen zu können, müssen jedoch ausreichend ausführliche Stammbäume bezüglich der Erkrankung erhoben werden. Dies war in der vorliegenden Arbeit bei zu wenigen Probanden möglich.

Durch den Wegfall des Punktes „betroffene Mutter“ mussten nur noch Informationen zu den übrigen drei Punkten vorliegen, was die Probandenzahl

für die Regressionsanalyse auf 101 Probanden erhöhte. Trotzdem waren unter diesen 101 Probanden nur 31 *SGCE*-Mutationsträger und nicht, wie idealerweise gefordert, 50. Die Erstellung einer Regressionsgleichung war zwar möglich, da die nötige Mindestanzahl von 25 Probanden erreicht wurde, die Aussagekraft der resultierenden Gleichung jedoch eingeschränkt. Um die tatsächliche Gültigkeit der gefundenen Gleichung zu überprüfen wäre eine Kreuzvalidierung an einem Bestätigungskollektiv nötig. Üblicherweise teilt man hierzu das eigene Probandenkollektiv in zwei gleich große Gruppen. Anhand einer Gruppe wird dann das Modell (in diesem Falle die Regressionsgleichung) erstellt. Anhand der anderen Gruppe wird die Gültigkeit des Modells überprüft. Aufgrund der niedrigen Probandenzahl, konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch keine Teilung der Stichprobe erfolgen. Die Validierung der hier gefundenen Gleichung war jedoch aufgrund der Seltenheit der untersuchten Krankheitsbilder nicht möglich und muss in der Zukunft anhand eines weiteren Probandenkollektivs (z. B. im Rahmen einer weiteren internationalen Kooperation) noch stattfinden.

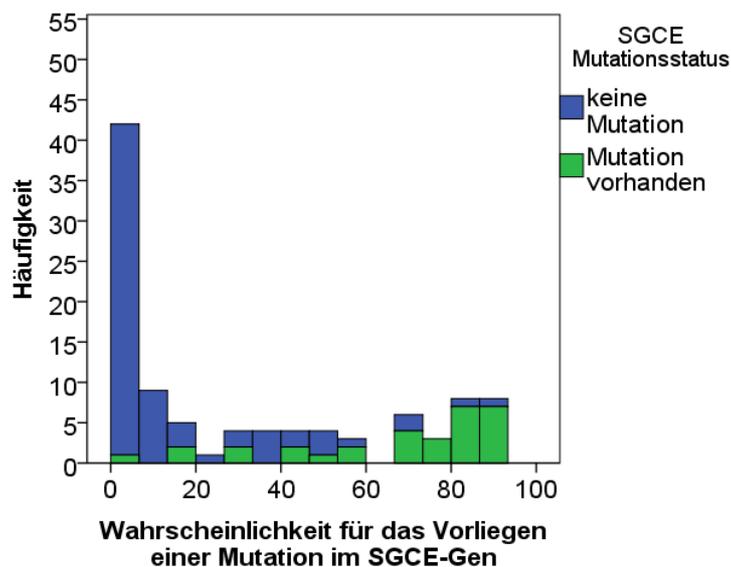
5.4. Praktische Anwendung der gefundenen Regressionsgleichung

Punkt 4.10.1. zeigt das gefundene Modell und erklärt dessen Anwendung anhand eines Fallbeispiels. Tests zur Überprüfung der Modellgüte sprachen für ein Modell, dass die Zusammenhänge unserer Daten gut beschreibt (siehe Punkt 4.10.2.). Es dient dazu, bei einem Probanden, mit einer bestimmten Ausprägung der drei unabhängigen Variablen (Alter bei Erkrankungsbeginn (in Jahren), Vorliegen einer segmentalen oder generalisierten Verteilung der Myoklonien (ja oder nein) und Familienanamnese (positiv oder negativ), die Wahrscheinlichkeit zu ermitteln, mit der bei ihm/ihr eine *SGCE*-Mutation gefunden werden kann. Ist diese erhöht, wäre der Patient ein Kandidat für eine *SGCE*-Mutationstestung. Damit können unnötige Tests, bei Probanden mit geringer Wahrscheinlichkeit *SGCE*-Mutationsträger zu sein, vermieden werden. Allerdings muss für die Praxis ein Grenzwert festgelegt werden, ab dem eine solche Wahrscheinlichkeit als erhöht, bzw. als nicht erhöht, gilt. Legt man

diesen Grenzwert (auch Trennwert genannt) auf 50% fest und ordnet alle Probanden mit einer Wahrscheinlichkeit unter 50% der SGCE-Mutationsnegativen Gruppe zu und alle anderen der SGCE-Mutationspositiven Gruppe, so werden in unserem Probandenkollektiv 85,1% der Probanden ihrer richtigen Gruppe zugeteilt. Im Detail würden dabei 77,4% der tatsächlichen SGCE-Mutationsträger auch der Gruppe der SGCE-Mutationsträger zugeordnet werden (Sensitivität von 77,4%). 22,6% der tatsächlichen SGCE-Mutationsträger würden aber nicht als SGCE-Mutationsträger identifiziert werden. 88,6% der tatsächlich SGCE-Mutationsnegativen, würden korrekt der Gruppe der SGCE-Mutationsnegativen zugeteilt werden, es läge also eine Spezifität von 88,6% vor.

Abbildung 10 stellt den tatsächlichen SGCE-Mutationsstatus und die anhand der in dieser Arbeit erstellten Gleichung ermittelte Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer SGCE-Mutation gegenüber.

Abbildung 10: Gegenüberstellung des tatsächlichen SGCE-Mutationsstatus und der ermittelten Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer SGCE-Mutation. Die Häufigkeit gibt die Anzahl der Probanden an. Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Mutation im SGCE-Gen in %.



Will man möglichst viele tatsächliche SGCE-Mutationsträger erkennen, sollte man den Grenzwert auf zumindest 20% festlegen. Dann hätte man in unserem

Kollektiv 90,3% (28/31) *SGCE*-Mutationsträger richtig erkannt, natürlich mit Einbußen der Spezifität (siehe auch Tabelle 10). Das Erstellen eines Richtwertes für einen solchen Grenzwert macht jedoch abschließend erst nach einer Überprüfung der Gültigkeit der gefundenen Gleichung an einem weiteren Probandenkollektiv Sinn, da deren Gültigkeit erst dann bewiesen oder widerlegt werden kann. Deshalb sollte eine solche als nächster Schritt durchgeführt werden.

5.5. Schlussfolgerung

Ziel dieser Arbeit war es, anhand eines möglichst großen Kollektivs von Probanden mit primärer hyperkinetischer Bewegungsstörung im Sinne eines Myoklonus und/oder einer Dystonie, phänotypische Merkmale zu identifizieren, die *SGCE*-Mutationsträger von Nicht-*SGCE*-Mutationsträgern unterscheiden. Dies ist uns für 3 von 8 der untersuchten Merkmale gelungen (siehe oben). Damit konnte nachgewiesen werden, dass *SGCE*-Mutationen fast ausschließlich nach paternalen Transmission einen typischen, spezifischen Phänotyp verursachen, der sich von anderen, ähnlichen Phänotypen, abgrenzen lässt.

Aus den gefundenen 3 Merkmalen, die eine solche Abgrenzung möglich machen, wurde eine logistische Regressionsgleichung entwickelt, die eine prognostische Aussage über die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer *SGCE*-Mutation im Einzelfall zulässt. Allerdings müsste die Gültigkeit dieser Regressionsgleichung in der Zukunft noch an anderen Probandenkollektiven bestätigt werden, da eine Kreuzvalidierung im Rahmen der vorliegenden Arbeit aufgrund der Seltenheit der untersuchten Erkrankungen und dadurch zu geringer Probandenzahl nicht möglich war.

Die gefundene Gleichung könnte dann im klinischen Alltag als Anhaltspunkt für das Vorliegen einer *SGCE*-Mutation im Einzelfall dienen. Die Entscheidung für eine *SGCE*-Mutationstestung kann nicht nur am Ergebnis einer Gleichung festgemacht werden, sondern muss das klinische Gesamtbild eines Patienten berücksichtigen. Aber auch Bewegungsstörungsspezialisten, die ggf. wenig

Erfahrung mit seltenen Erkrankungen wie der M-D haben, können jedoch in der Entscheidung für die Einleitung einer Gendiagnostik sinnvoll unterstützt werden.

6. Zusammenfassung

Bei der Myoklonus-Dystonie (M-D) handelt es sich um eine seltene genetische Bewegungsstörung, die durch eine Kombination von schnellen, kurzen Muskelzuckungen (Myoklonus) und anhaltenden, z.T. repetitiven, verzerrenden Muskelkontraktionen (Dystonie) gekennzeichnet ist (Raymond und Ozelius, 1993).

Mutationen im Epsilon-Sarkoglykogen (*SGCE*) konnten als eine Ursache für das Dystonie-Plus Syndrom M-D identifiziert werden (Zimprich et al., 2001). Dennoch tragen nicht alle Patienten mit einem M-D Phänotyp auch eine Mutation im *SGCE*. Literaturrecherchen ergaben, dass in früheren Studien nur bei 23% (34/149) der M-D Patienten auch eine *SGCE*-Mutation gefunden werden konnte (Grünewald et al., 2008).

Diese Arbeit befasst sich mit 151 Probanden, die zwischen den Jahren 2001 und 2009 zur genetischen Diagnostik einer hyperkinetischen Bewegungsstörung im Sinne einer M-D überwiesen worden waren. Insgesamt konnte nur bei 54 (35,8%) der Probanden eine Mutation im *SGCE* nachgewiesen werden.

Ziel der Arbeit war es phänotypische Merkmale zu identifizieren, die *SGCE*-Mutationsträger von Nicht-*SGCE*-Mutationsträgern unterscheiden. Aus den gefundenen Merkmalen wurde eine logistische Regressionsgleichung entwickelt für eine prognostische Aussage über die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer *SGCE*-Mutation im Einzelfall. Mit Hilfe einer solchen Gleichung können *SGCE*-Mutationsanalysen gezielter eingesetzt und der Phänotyp der *SGCE*-Mutationspositiven M-D schärfer umgrenzt werden.

Bei den phänotypischen Merkmalen, die dazu untersucht wurden, handelte es sich um das Geschlecht, das Alter bei Erkrankungsbeginn, die zeitliche Abfolge des erstmaligen Auftretens von Myoklonus und Dystonie, die topische Verteilung von Myoklonien und Dystonie, die Familienanamnese von Symptomen der M-D, das Ansprechen der Bewegungsstörung auf Alkoholfuhr (Alkoholresponse), die Aktionsinduzierbarkeit der Myoklonien und das Vorliegen von psychiatrischen Begleiterkrankungen. Sie wurden in

Anlehnung an aktuelle Diagnosekriterien für eine M-D (Asmus et al., 2004, Grünewald et al., 2008) ausgewählt und ergänzt.

Tatsächlich konnten für das Alter bei Erkrankungsbeginn, die Verteilung der Myoklonien zum Zeitpunkt der Untersuchung und die Familienanamnese signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden werden: *SGCE*-Mutationsträger waren bei Erkrankungsbeginn signifikant jünger als *SGCE*-Mutationsnegative, sie litten signifikant häufiger an einer generalisierten oder segmentalen Verteilungsform der Myoklonien als *SGCE*-Mutationsnegative und ihre Familienanamnese für eine hyperkinetische Bewegungsstörung war signifikant häufiger positiv als bei *SGCE*-Mutationsnegativen. Folgende Regressionsgleichung konnte mit Hilfe von PASW 18 aus den identifizierten Parametern erstellt werden:

$$p = \frac{1}{1 + e^{+1,36 + 0,32x_1 - 2,33x_2 - 1,72x_3}}$$

p=Wahrscheinlichkeit, mit der eine Mutation im *SGCE* vorliegt

Eingesetzt wird dann:

x1= Alter bei Erkrankungsbeginn (in Jahren)

x2= Familienanamnese (entweder negativ: 0 oder positiv: 1)

x3= von segmentalem oder generalisiertem Myoklonus betroffen (entweder nicht betroffen: 0 oder betroffen: 1)

Modellgütetests sprachen bei der erstellten Regressionsgleichung für ein Modell, das die Zusammenhänge unserer Daten gut beschreibt.

Eine Kreuzvalidierung konnte aufgrund zu geringer Fallzahlen in dieser Arbeit nicht durchgeführt werden und sollte in der Zukunft anhand eines weiteren Probandenkollektivs noch erfolgen. Für die Anwendung des Modells im klinischen Alltag müsste außerdem noch eruiert werden, ab welcher errechneten Wahrscheinlichkeit eine *SGCE*-Mutationstestung klinisch sinnvoll und kosteneffizient wäre.

7. Literaturverzeichnis

- Adams, R.D., Foley J. M.
The neurological disorder associated with liver disease
Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis 1953; 32: 198-237
- Asmus, F., Zimprich, A., Naumann, M., Berg, D., Bertram, M., Ceballos-Baumann, A., Pruszk-Seel, R., Kabus, C., Dichgans, M., Fuchs, S., Müller-Myhsok, B., Gasser, T.
Inherited Myoclonus-dystonia syndrome: narrowing the 7q21-q31 locus in German families
Ann Neurol. 2001 Jan; 49(1): 121-124
- Asmus, F., Zimprich, A., Tezenas Du Montcel, S., Kabus, C., Deuschl, G., Kupsch, A., Ziemann, U., Castro, M., Kühn, A. A., Strom, T. M., Vidailhet, M., Bhatia, K. P., Dürr, A., Wood, N. W., Brice, A., Gasser, T.
Myoclonus-dystonia syndrome: epsilon- sarcoglycan mutations and phenotype.
Ann Neurol. 2002 Oct; 52(4): 489-492
- Asmus, F., Gasser, T.
Inherited myoclonus-dystonia.
Adv Neurol. 2004; 94: 113-119
- Asmus, F., Salih, F., Hjermland, L. E., Ostergaard, K., Munz, M., Kühn, A. A., Dupont, E., Kupsch, A., Gasser T.
Myoclonus-dystonia due to genomic deletions in the epsilon-sarcoglycan gene.
Ann Neurol. 2005; 58(5):792-797
- Asmus, F., Devlin, A., Munz, M., Zimprich, A., Gasser, T., Chinnery, P. F.
Clinical differentiation of genetically proven benign hereditary chorea and myoclonus-dystonia.
Mov Disord. 2007a Oct 31; 22(14): 2104-2109
- Asmus, F., Hjermland, L. E., Dupont, E., Wagenstaller, J., Haberlandt, E., Munz, M., Strom, T. M., Gasser, T.
Genomic deletion size at the epsilon-sarcoglycan locus determines the clinical phenotype.
Brain. 2007b; 130(10): 2736-2745
- Asmus, F., Langseth, A., Doherty, E., Nestor, T., Munz, M., Gasser, T., Lynch, T., King, M. D.
"Jerky" dystonia in children: spectrum of phenotypes and genetic testing.
Mov Disord. 2009; 24: 702-709

- Bhidayasiri, R.
Dystonia: genetics and treatment update
Neurologist. 2006 Mar; 12(2): 74-85.
- Bönnemann, C. G., McNally, E. M., Kunkel, L. M.
Beyond dystrophin: current progress in the muscular dystrophies.
Curr Opin Pediatr. 1996 Dec; 8(6): 569-582.
- Borges, V., Aguiar Pde, C., Ferraz, H. B., Ozelius, L. J.
Novel and de novo mutations of the SGCE gene in Brazilian patients with
myoclonus- dystonia.
Mov Disord. 2007 Jun 15; 22(8): 1208-1209
- Bressman, S. B.
Dystonia Update
Clin Neuropharmacol. 2000 Sep-Oct; 23(5): 239-251
- Chan, P., Gonzalez-Maeso, J., Ruf, F., Bishop, D. F., Hof, P. R., Sealton, S. C.
Epsilon- sarcoglycan immunoreactivity and mRNA expression in mouse
brain.
J Comp Neurol. 2005 Jan 31; 482(1): 50-73
- Chen, X. P., Zhang, Y. W., Zhang, S. S., Chen, Q., Burgunder, J. M., Wu, S. H.,
Yang, Y., Luo, Z. M. , Shang, H. F.
A novel mutation of the epsilon-sarcoglycan gene in a Chinese family
with myoclonus-dystonia syndrome.
Mov Disord. 2008 Jul 30; 23(10): 1472-1475
- Chung EJ, Lee WY, Kim JY, Kim JH, Kim GM, Ki CS, Kim IS.
Novel SGCE gene mutation in a Korean patient with myoclonus-dystonia
with unique phenotype mimicking Moya-Moya disease.
Mov Disord. 2007 Jun 15; 22(8): 1206-1207
- Cif, L., Valente, E. M., Hemm, S., Coubes, C., Vayssiere, N., Serrat, S., Di
Giorgio, A., Coubes, P.
Deep brain stimulation in myoclonus- dystonia syndrome.
Mov Disord. 2004 Jun; 19(6): 724-727
- Davidenkow, F.
Auf hereditär-abiotrophischer Grundlage akut auftretende,
regressierende und episodische Erkrankungen des Nervensystems und
Bemerkungen über die familiäre subakute, myoklonische Dystonie.
Ges Neurol Psychiatr 1926; 104: 596-622

DeBerardinis, R. J., Conforto, D., Russell, K., Kaplan, J., Kollros, P. R., Zackai, E. H., Emanuel, B. S.

Myoclonus in a patient with a deletion of the epsilon-sarcoglycan locus on chromosome 7q21.

Am J Med Genet A. 2003 Aug 15; 121A(1): 31-36

Doheny, D. O., Brin, M. F., Morrison, C. E., Smith, C. J., Walker, R. H., Abbasi, S., Müller, B., Garrels, J., Liu, L., De Carvalho Aguiar, P., Schilling, K., Kramer, P., De Leon, D., Raymond, D., Saunders-Pullman, R., Klein, C., Bressman, S. B., Schmand, B., Tijssen, M. A., Ozelius, L. J., Silverman, J. M.

Phenotypic features of myoclonus- dystonia in three kindreds.

Neurology. 2002 Oct 22; 59(8): 1187-1196

Esapa, C. T., Waite, A., Locke, M., Benson, M. A., Kraus, M., McIlhinney, R. A., Sillitoe, R. V., Beesley, P. W., Blake, D. J.

SGCE missense mutations that cause myoclonus- dystonia syndrome impair epsilon- sarcoglycan trafficking to the plasma membrane: modulation by ubiquitination and torsinA.

Hum Mol Genet. 2007 Feb 1; 16(3): 327-342

Fahn, S., Bressman, S. B., Marsden, C.D.

Classification of dystonia

Adv Neurol. 1998; 78: 1-10

Flatau, E., Sterling, W.

Progressiver Torsionspasms bei Kindern.

Zeitschrift für die Gesamte Neurologie und Psychiatrie. Originalien, Berlin, 1911, 7: 586-612

Foncke, E. M., Klein, C., Koelman, J. H., Kramer, P. L., Schilling, K., Müller, B., Garrels, J., de Carvalho Aguiar, P., Liu, L., de Froe, A., Speelman, J. D., Ozelius, L. J., Tijssen, M. A.

Hereditary myoclonus- dystonia associated with epilepsy.

Neurology. 2003 Jun 24; 60(12): 1988-1990

Foncke, E. M., Gerrits, M. C., van Ruissen, F., Baas, F., Hedrich, K., Tijssen, C. C., Klein, C., Tijssen, M. A.

Distal myoclonus and late onset in a large Dutch family with myoclonus- dystonia.

Neurology. 2006 Nov 14; 67(9): 1677-1680

Foncke, E. M., Cath, D., Zwinderman, K., Smit, J., Schmand, B., Tijssen, M.

Is psychopathology part of the phenotypic spectrum of myoclonus- dystonia?: a study of a large Dutch M-D family.

Cogn Behav Neurol. 2009 Jun; 22(2): 127-133

Fromm, Sabine

Binäre logistische Regressionsanalyse- Eine Einführung für
sozialwissenschaftler mit SPSS für Windows.

Bamberger Beiträge zur empirischen Sozialforschung Nr. 11, 2005

Fuchs, T., Gavarini, S., Saunders-Pullman, R., Raymond, D., Ehrlich, M .E.,
Bressman, S. B., Ozelius, L. J.

Mutations in the THAP1 gene are responsible for DYT6 primary torsion
dystonia.

Nat Genet. 2009 Mar; 41(3): 286-288

Gasser, T., Bereznai, B., Müller, B., Pruszk- Seel, R., Damrich, R., Deuschl,
G., Oertel, W. H.

Linkage studies in alcohol- responsive myoclonic dystonia.

Mov Disord. 1996 Jul; 11(4): 363-370

Gasser, T.

Inherited myoclonus-dystonia syndrome.

Adv Neurol. 1998; 78: 325–334

Gerrits, M. C., Foncke, E. M., de Haan, R., Hedrich, K., van de Leemput, Y. L.,
Baas, F., Ozelius, L. J., Speelman, J. D., Klein, C., Tijssen, M. A.

Phenotype- genotype correlation in Dutch patients with myoclonus-
dystonia.

Neurology. 2006 Mar 14; 66(5): 759-761

Grabowski, M., Zimprich, A., Lorenz-Depiereux, B., Kalscheuer, V., Asmus, F.,
Gasser, T., Meitinger, T., Strom, T. M.

The epsilon-sarcoglycan gene (SGCE), mutated in myoclonus-dystonia
syndrome, is maternally imprinted.

Eur J Hum Genet. 2003 Feb; 11(2): 138-144

Grimes, D. A., Han, F., Lang, A. E., St George-Hyssop, P., Racacho, L.,
Bulman, D. E.

A novel locus for inherited myoclonus- dystonia on 18p11.

Neurology. 2002 Oct 22; 59(8): 1183-1186

Grünewald, A., Djarmati, A., Lohmann-Hedrich, K., Farrell, K., Zeller, J. A.,
Allert, N., Papengut, F., Petersen, B., Fung, V., Sue, C. M., O'Sullivan, D.,
Mahant, N., Kupsch, A., Chuang, R. S., Wiegers, K., Pawlack, H., Hagenah, J.,
Ozelius, L. J., Stephani, U., Schuit, R., Lang, A. E., Volkmann, J., Münchau, A.,
Klein, C.

Myoclonus-dystonia: significance of large SGCE deletions.

Hum Mutat. 2008 Feb; 29(2): 331-332

Guettard, E., Portnoi, M. F., Lohmann- Hedrich, K., Keren, B., Rossignol, S.,
Winkler, S., El Kamel, I., Leu, S., Apartis, E., Vidailhet, M., Klein, C., Roze, E.

Myoclonus-dystonia due to maternal uniparental disomy.

Arch Neurol. 2008 Oct; 65(10): 1380-1385.

- Han, F., Lang, A. E., Racacho, L., Bulman, D. E., Grimes, D. A.
Mutations in the epsilon- sarcoglycan gene found to be uncommon in seven myoclonus- dystonia families.
Neurology. 2003 Jul 22; 61(2): 244-246
- Han, F., Racacho, L., Lang, A. E., Bulman, D. E., Grimes, D. A.
Refinement of the DYT15 locus in myoclonus dystonia.
Mov Disord. 2007 Apr 30; 22(6): 888-892
- Han, F., Racacho, L., Yang, H., Read, T., Suchowersky, O., Lang, A. E., Grimes, D. A., Bulman, D. E.
Large deletions account for an increasing number of mutations in SGCE.
Mov Disord. 2008 Feb 15; 23(3): 456-460
- Hedrich, K., Meyer, E. M., Schüle, B., Kock, N., de Carvalho Aguiar, P., Wieggers, K., Koelman, J. H., Garrels, J., Dürr, R., Liu, L., Schwinger, E., Ozelius, L. J., Landwehrmeyer, B., Stoessl, A. J., Tijssen, M. A., Klein, C.
Myoclonus- dystonia: detection of novel, recurrent, and de novo SGCE mutations.
Neurology. 2004 Apr 13; 62(7): 1229-1231
- Hess, C. W., Raymond, D., Aguiar Pde, C., Frucht, S., Shriberg, J., Heiman, G. A., Kurlan, R., Klein, C., Bressman, S. B., Ozelius, L. J., Saunders-Pullman, R.
Myoclonus-dystonia, obsessive- compulsive disorder, and alcohol dependence in SGCE mutation carriers.
Neurology. 2007 Feb 13; 68(7):522-524
- Hjermind, L. E., Werdelin, L. M., Eiberg, H., Krag-Olsen, B., Dupont, E., Sørensen, S. A.
A novel mutation in the epsilon-sarcoglycan gene causing myoclonus-dystonia syndrome.
Neurology. 2003 May 13; 60(9): 1536-1539
- Hjermind, L. E., Vissing, J., Asmus, F., Krag, T., Lochmüller, H., Walter, M. C., Erdal, J., Blake, D. J., Nielsen, J. E.
No muscle involvement in myoclonus-dystonia caused by epsilon-sarcoglycan gene mutations.
Eur J Neurol. 2008 May; 15(5): 525-529
- Kinugawa, K., Vidailhet, M., Clot, F., Apartis, E., Grabli, D., Roze, E.
Myoclonus- dystonia: an update.
Mov Disord. 2009 Mar 15; 24(4): 479-489
- Klein, C., Page, C. E., LeWitt, P., Gordon, M. F., de Leon, D., Awaad, Y., Breakefield, X. O., Brin, M. F., Ozelius, L. J.
Genetic analysis of three patients with an 18p- syndrome and dystonia.
Neurology. 1999a Feb; 52(3): 649-651

Klein, C., Brin, M.F., Kramer, P., Sena-Esteves, M., de Leon, D., Doheny, D., Bressman, S., Fahn, S., Breakefield, X.O., Ozelius, L.J.

Association of a missense change in the D2 dopamine receptor with myoclonus dystonia

Proc Natl Acad Sci USA. 1999b Apr 27; 96(9): 5173-5176

Klein, C., Gurvich, N., Sena-Esteves, M., Bressman, S., Brin, M. F., Ebersole, B. J., Fink, S., Forsgren, L., Friedman, J., Grimes, D., Holmgren, G., Kyllerman, M., Lang, A. E., de Leon, D., Leung, J., Prioleau, C., Raymond, D., Sanner, G., Saunders-Pullman, R., Vieregge, P., Wahlström, J., Breakefield, X. O., Kramer, P. L., Ozelius, L. J., Sealton, S. C.

Evaluation of the role of the D2 dopamine receptor in myoclonus dystonia
Ann Neurol. 2000a Mar; 47(3): 369-373

Klein, C., Schilling, K., Saunders-Pullman, R. J., Garrels, J., Breakefield, X. O., Brin, M. F., deLeon, D., Doheny, D., Fahn, S., Fink, J. S., Forsgren, L., Friedman, J., Frucht, S., Harris, J., Holmgren, G., Kis, B., Kurlan, R., Kyllerman, M., Lang, A. E., Leung, J., Raymond, D., Robishaw, J. D., Sanner, G., Schwinger, E., Tabamo, R. E., Tagliati, M.

A major locus for myoclonus-dystonia maps to chromosome 7q in eight families

Am J Hum Genet. 2000b Nov; 67(5): 1314-1319

Klein, C., Ozelius, L. J.

Dystonia: clinical features, genetics, and treatment.

Curr Opin Neurol. 2002a Aug; 15(4): 491-497

Klein, C., Liu, L., Doheny, D., Kock, N., Müller, B., de Carvalho Aguiar, P., Leung, J., de Leon, D., Bressman, S. B., Silverman, J., Smith, C., Danisi, F., Morrison, C., Walker, R. H., Velickovic, M., Schwinger, E., Kramer, P. L., Breakefield, X. O., Brin, M. F., Ozelius, L. J.

Epsilon- sarcoglycan mutations found in combination with other dystonia gene mutations.

Ann Neurol. 2002b Nov; 52(5): 675-679

Kock, N., Kasten, M., Schüle, B., Hedrich, K., Wiegers, K., Kabakci, K., Hagenah, J., Pramstaller, P. P., Nitschke, M. F., Münchau, A., Sperner, J., Klein, C.

Clinical and genetic features of myoclonus- dystonia in 3 cases: a video presentation.

Mov Disord. 2004 Feb; 19(2): 231-234

Koukouni, V., Valente, E. M., Cordivari, C., Bhatia, K. P., Quinn, N. P.

Unusual familial presentation of epsilon- sarcoglycan gene mutation with falls and writer' s cramp.

Mov Disord. 2008 Oct 15; 23(13): 1913-1915

Kyllerman, M., Forsgren, L., Sanner, G., Holmgren, G., Wahlström, J., Drugge, U.

Alcohol-responsive myoclonic dystonia in a large family: dominant inheritance and phenotypic variation
Mov Disord. 1990; 5(4): 270-279

Lang, A. E.

Essential myoclonus and myoclonic dystonia
Mov Disord. 1997 Jan; 12(1): 127

Lanska, D. J.

History of Movement Disorders
In: Finger, Stanley: Handbook of Clinical Neurology, History of Neurology 2010, 95: 524-528
Elsevier, Edinburgh

Leube, B., Rudnicki, D., Ratzlaff, T., Kessler, K. R., Benecke, R., Auburger, G.
Idiopathic torsion dystonia: assignment of a gene to chromosome 18p in a German family with adult onset, autosomal dominant inheritance and purely focal distribution.

Hum Mol Genet. 1996 Oct; 5(10): 1673-1677

Leung, J. C., Klein, C., Friedman, J., Vieregge, P., Jacobs, H., Doheny, D., Kamm, C., DeLeon, D., Pramstaller, P. P., Penney, J. B., Eisengart, M., Jankovic, J., Gasser, T., Bressman, S. B., Corey, D. P., Kramer, P., Brin, M. F., Ozelius, L. J., Breakefield, X. O.

Novel mutation in the TOR1A (DYT1) gene in atypical early onset dystonia and polymorphisms in dystonia and early onset parkinsonism.
Neurogenetics. 2001 Jul; 3(3): 133-143

Lim, L. E., Duclos, F., Broux, O., Bourg, N., Sunada, Y., Allamand, V., Meyer, J., Richard, I., Moomaw, C., Slaughter, C.

Beta-sarcoglycan: characterization and role in limb-girdle muscular dystrophy linked to 4q12.

Nat Genet. 1995 Nov; 11(3): 257-265

Liu, L. A., Engvall, E.

Sarcoglycan isoforms in skeletal muscle.

J Biol Chem. 1999 Dec 31; 274(53): 38171-38176

Mahloudji, M., Pikielny, R. T.

Hereditary essential myoclonus

Brain 1967; 90: 669-674

Maréchal, L., Raux, G., Dumanchin, C., Lefebvre, G., Deslandre, E., Girard, C., Campion, D., Parain, D., Frebourg, T., Hannequin, D.

Severe myoclonus- dystonia syndrome associated with a novel epsilon-sarcoglycan gene truncating mutation.

Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2003 May 15; 119B(1): 114-117

Marsden, C. D., Obeso, J. A., Zarranz, J.J., Lang, A.E.

The anatomical basis of symptomatic hemidystonia

Brain. 1985 Jun; 108(2): 463-83

Meinck, H.-M.

Myoklonien

Nervenarzt 2007; 78: 209- 223

Miller, S. A., Dykes, D. D., Polesky, H. F.

A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells.

Nucleic Acids Res 1988; 16: 1215

Misbahuddin, A., Placzek, M., Lennox, G., Taanman, J. W., Warner, T. T.

Myoclonus- dystonia syndrome with severe depression is caused by an exon- skipping mutation in the epsilon- sarcoglycan gene.

Mov Disord. 2007 Jun 15; 22(8): 1173-1175

Müller, B., Hedrich, K., Kock, N., Dragasevic, N., Svetel, M., Garrels, J., Landt, O., Nitschke, M., Pramstaller, P. P., Reik, W., Schwinger, E., Sperner, J., Ozelius, L., Kostic, V., Klein, C.

Evidence that paternal expression of the epsilon-sarcoglycan gene accounts for reduced penetrance in myoclonus-dystonia.

Am J Hum Genet. 2002 Dec; 71(6): 1303-1311

Narbona, J., Obeso, J. A., Tuñon, T., Martinez-Lage, J. M., Marsden C. D.

Hemi-dystonia secondary to localised basal ganglia tumour

J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1984 Jul; 47(7): 704-709

Nardocci, N., Zorzi, G., Barzaghi, C., Zibordi, F., Ciano, C., Ghezzi, D., Garavaglia, B.

Myoclonus-dystonia syndrome: clinical presentation, disease course, and genetic features in 11 families.

Mov Disord. 2008 Jan; 23(1): 28-34

Nigro, V., Piluso, G., Belsito, A., Politano, L., Puca, A. A., Papparella, S., Rossi, E., Viglietto, G., Esposito, M. G., Abbondanza, C., Medici, N., Molinari, A. M., Nigro, G., Puca, G. A.

Identification of a novel sarcoglycan gene at 5q33 encoding a sarcolemmal 35 kDa glycoprotein.

Hum Mol Genet. 1996 Aug; 5(8): 1179-1186

- Nishiyama , A., Endo, T., Takeda, S., Imamura, M.
Identification and characterization of epsilon- sarcoglycans in the central nervous system.
Brain Res Mol Brain Res. 2004 Jun 18; 125(1-2): 1-12
- Obeso, J. A., Rothwell, J. C., Lang, A. E., Marsden, C. D.
Myoclonic Dystonia
Neurology 1983; 33: 825- 830
- Ohlendieck, K.
Towards an understanding of the dystrophin-glycoprotein complex: linkage between the extracellular matrix and the membrane cytoskeleton in muscle fibers.
Eur J Cell Biol. 1996 Jan; 69(1): 1-10
- O'Riordan, S., Ozelius, L. J., de Carvalho Aguiar, P., Hutchinson, M., King, M., Lynch, T.
Inherited myoclonus- dystonia and epilepsy: further evidence of an association?
Mov Disord. 2004 Dec; 19(12): 1456-1459
- Ozelius, L., Kramer, P. L., Moskowitz, C. B., Kwiatkowski, D. J., Brin, M. F., Bressman, S. B., Schuback, D. E., Falk, C. T., Risch, N., de Leon, D.
Human gene for torsion dystonia located on chromosome 9q32-q34.
Neuron. 1989 May; 2(5): 1427-34
- Ozelius, L. J., Hewett, J. W., Page, C. E., Bressman, S. B., Kramer, P. L., Shalish, C., de Leon, D., Brin, M. F., Raymond, D., Corey, D. P., Fahn, S., Risch, N. J., Buckler, A. J., Gusella, J. F., Breakefield, X. O.
The early- onset torsion dystonia gene (DYT1) encodes an ATP- binding protein.
Nat Genet. 1997 Sep; 17(1): 40-48
- Pettigrew, L. C., Jankovic, J.
Hemidystonia: a report of 22 patients and a review of the literature
J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1985 Jul; 48(7): 650-657
- Pilgram, G. S., Potikanond, S., Baines, R. A., Fradkin, L. G., Noordermeer, J. N.
The roles of the dystrophin-associated glycoprotein complex at the synapse.
Mol Neurobiol. 2010 Feb; 41(1): 1-21
- Piras, G., El Kharroubi, A., Kozlov, S., Escalante- Alcalde, D., Hernandez, L., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A., Stewart, C. L.
Zac1 (Lot1), a potential tumor suppressor gene, and the gene for epsilon-sarcoglycan are maternally imprinted genes: identification by a subtractive screen of novel uniparental fibroblast lines.
Mol Cell Biol 2000; 20(9): 3308–3315

- Quinn NP, Rothwell JC, Thompson PD, Marsden CD
Hereditary myoclonic dystonia, hereditary torsion dystonia and
hereditary essential myoclonus: an area of confusion
Adv Neurol 1988; 50: 391-401
- Raymond, D., Ozelius, L.
In: Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K, editors. GeneReviews
[Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2003
May 21 [updated 2004 Jun 11]
- Raymond, D., Saunders-Pullman, R., de Carvalho Aguiar, P., Schule, B., Kock,
N., Friedman, J., Harris, J., Ford, B., Frucht, S., Heiman, G. A., Jennings, D.,
Doheny, D., Brin, M. F., de Leon Brin, D., Multhaupt-Buell, T., Lang, A. E.,
Kurlan, R., Klein, C., Ozelius, L., Bressman, S.
Phenotypic spectrum and sex effects in eleven myoclonus-dystonia
families with epsilon-sarcoglycan mutations.
Mov Disord. 2008 Mar 15; 23(4): 588-592
- Reik, W., Murrell, A.
Genomic imprinting. Silence across the border.
Nature. 2000 May 25; 405(6785): 408-409
- Ritz, K., Gerrits, M. C., Foncke, E. M., van Ruissen, F., van der Linden, C.,
Vergouwen, M. D., Bloem, B. R., Vandenberghe, W., Crols, R., Speelman, J. D.,
Baas, F., Tijssen, M. A.
Myoclonus- dystonia: clinical and genetic evaluation of a large cohort.
J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009 Jun; 80(6): 653-658
- Roberds, S. L., Anderson, R. D., Ibraghimov-Beskrovnaya, O., Campbell, K. P.
Primary structure and muscle-specific expression of the 50-kDa
dystrophin-associated glycoprotein (adhelin).
J Biol Chem. 1993 Nov 15; 268(32): 23739-23742
- Roze, E., Apartis, E., Clot, F., Dorison, N., Thobois, S., Guyant-Marechal, L.,
Tranchant, C., Damier, P., Doummar, D., Bahi-Buisson, N., André-Obadia, N.,
Maltete, D., Echaniz-Laguna, A., Pereon, Y., Beaugendre, Y., Dupont, S., De
Greslan, T., Jedynak, C. P., Ponsot, G., Dussaule, J. C., Brice, A., Dürr, A.,
Vidailhet, M.
Myoclonus-dystonia: Clinical and electrophysiologic pattern related to
SGCE mutations.
Neurology. 2008 Mar 25; 70(13): 1010-1016
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R.
DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.
Proc Natl Acad Sci. 1977; 74: 5463-5467

- Saunders-Pullman, R., Shriberg, J., Heiman, G., Raymond, D., Wendt, K., Kramer, P., Schilling, K., Kurlan, R., Klein, C., Ozelius, L. J., Risch, N. J., Bressman, S. B.
Myoclonus dystonia: possible association with obsessive-compulsive disorder and alcohol dependence.
Neurology. 2002 Jan 22; 58(2): 242-245
- Schrag, A., Quinn, N. P., Bhatia, K. P., Marsden, C. D.
Benign hereditary chorea--entity or syndrome?
Mov Disord. 2000 Mar; 15(2): 280-288
- Schüle, B., Kock, N., Svetel, M., Dragasevic, N., Hedrich, K., De Carvalho Aguiar, P., Liu, L., Kabakci, K., Garrels, J., Meyer, E. M., Berisavac, I., Schwinger, E., Kramer, P. L., Ozelius, L. J., Klein, C., Kostic, V.
Genetic heterogeneity in ten families with myoclonus- dystonia.
J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2004 Aug; 75(8): 1181-1185
- Schwalbe, W.
Eine eigentümliche tonische Krampfform mit hysterischen Symptomen.
Inaugural- Disseration, Berlin 1908
- Straub, V., Ettinger, A. J., Durbeej, M., Venzke, D. P., Cutshall, S., Sanes, J. R., Campbell, K. P.
Epsilon-sarcoglycan replaces alpha-sarcoglycan in smooth muscle to form a unique dystrophin-glycoprotein complex.
J Biol Chem. 1999 Sep 24; 274(39): 27989-27996
- Sunada, Y., Campbell, K. P.
Dystrophin-glycoprotein complex: molecular organization and critical roles in skeletal muscle.
Curr Opin Neurol. 1995 Oct; 8(5): 379-384
- Tezenas du Montcel, S., Clot, F., Vidailhet, M., Roze, E., Damier, P., Jedynak, C. P., Camuzat, A., Lagueny, A., Vercueil, L., Doummar, D., Guyant-Maréchal, L., Houeto, J. L., Ponsot, G., Thobois, S., Cournelle, M. A., Durr, A., Durif, F., Echenne, B., Hannequin, D., Tranchant, C., Brice, A.
Epsilon sarcoglycan mutations and phenotype in French patients with myoclonic syndromes.
J Med Genet. 2006 May; 43(5): 394-400
- Thümmler, S., Giuliano, F., Pincemaille, O., Saugier-veber, P., Perelman, S.
Myoclonus in fraternal twin toddlers: a French family with a novel mutation in the SGCE gene.
Eur J Paediatr Neurol. 2009 Nov; 13(6): 559-561

Valente, E. M., Misbahuddin, A., Brancati, F., Placzek, M. R., Garavaglia, B., Salvi, S., Nemeth, A., Shaw-Smith, C., Nardocci, N., Bentivoglio, A. R., Berardelli, A., Eleopra, R., Dallapiccola, B., Warner, T. T.

Analysis of the epsilon-sarcoglycan gene in familial and sporadic myoclonus-dystonia: evidence for genetic heterogeneity.

Mov Disord. 2003 Sep; 18(9): 1047-1051

Valente, E. M., Edwards, M. J., Mir, P., DiGiorgio, A., Salvi, S., Davis, M., Russo, N., Bozi, M., Kim, H. T., Pennisi, G., Quinn, N., Dallapiccola, B., Bhatia, K. P.

The epsilon- sarcoglycan gene in myoclonic syndromes.

Neurology. 2005 Feb 22; 64(4): 737-739

Vidailhet, M., Tassin, J., Durif, F., Nivelon-Chevallier, A., Agid, Y., Brice, A., Dürr, A.

A major locus for several phenotypes of myoclonus-dystonia on chromosome 7q

Neurology 2001 May 8; 56(9): 1213-1216

Wahlström, J., Ozelius, L., Kramer, P., Kyllerman, M., Schuback, D., Forsgren, L., Holmgren, G., Drugge, U., Sanner, G., Fahn, S.

The gene for familial dystonia with myoclonic jerks responsive to alcohol is not located on the distal end of 9q.

Clin Genet. 1994 Feb; 45(2): 88-92

Wong, S. H., Steiger, M. J., Lerner, A. J., Fletcher, N. A.

Hereditary myoclonus dystonia (DYT11): a novel SGCE gene mutation with intrafamilial phenotypic heterogeneity.

Mov Disord. 2010 May 15; 25(7): 956-957

Yokoi, F., Yang, G., Li, J., Deandrade, M. P., Zhou, T., Li, Y.

Earlier onset of motor deficits in mice with double mutations in Dyt1 and Sgce.

J Biochem., 2010 Oct; 148(4): 459-466

Yoshida M, Suzuki A, Yamamoto H, Noguchi S, Mizuno Y, Ozawa E.

Dissociation of the complex of dystrophin and its associated proteins into several unique groups by n-octyl beta-D-glucoside.

Eur J Biochem. 1994 Jun 15; 222(3): 1055-1061

Zimprich, A., Grabowski, M., Asmus, F., Naumann, M., Berg, D., Bertram, M., Scheidtmann, K., Kern, P., Winkelmann, J., Müller-Myhsok, B., Riedel, L., Bauer, M., Müller, T., Castro, M., Meitinger, T., Strom, T. M., Gasser, T.

Mutations in the gene encoding epsilon- sarcoglycan cause myoclonus-dystonia syndrome

Nat Genet. 2001 Sep; 29(1): 66-69