Universitätsklinikum Ulm

Klinik für Neurologie

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. A. C. Ludolph

Elektrophysiologische Untersuchungen an prämanifesten Trägern des pathologisch expandierten CAG-Repeats im *HTT*-Gen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der

Medizinischen Fakultät

der

Universität Ulm

vorgelegt von

Gesa Sophie Grupe

aus Berlin

2016

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Michael Orth

2.Berichterstatter: Prof. Dr. med. Thomas Kammer

Tag der Promotion: 20.10.2017

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis ..... **II**
1 Einleitung **1**
1.1 Chorea Huntington 1
1.2 Die Rolle des Huntingtin 4
1.3 Untersuchungen von Hirnstruktur und –funktion bei HD-Patienten 6
1.4 Zielsetzung der Arbeit 11
2 Material und Methoden **14**
2.1 Probanden 14
2.2 Versuchsaufbau 14
2.3 Klinische Untersuchungen 17
2.4 Versuchsprotokoll 20
2.5 Datenanalyse und Statistische Auswertung 24
3 Ergebnisse **26**
3.1 Klinische Parameter 26
3.1.1 Klinischer Phänotyp nach UHDRS 28
3.1.2 Kognition nach UHDRS 29
3.2 Elektrophysiologie 31
4 Diskussion **41**
4.1 Ergebnisse der prämanifesten Patienten 41
4.2 Stärken und Schwächen dieser Studie 47
4.3 Ausblick 47
5 Zusammenfassung **50**
6 Literaturverzeichnis **52**
Danksagungen **67**
Lebenslauf **68**

Abkürzungsverzeichnis

A	Ampere
ADM	Abductor Digiti Minimi
AMT	Active Motor Threshold
AP	Aktionspotential
APB	Abductor Pollicis Brevis
CAG	Trinukleotid-Codon: Cytosin-Adenin-Guanin
CSP	Cortical Silent Period
Cz	Elektrodenposition über dem Vertex im 10-20-EEG-System
db	Disease Burden
DTI	Diffusion tensor imaging
D2	Dopamin-Rezeptor 2
EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyogramm
FDI	First Dorsal interosseus
ffo	far from onset
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FPZ	4cm proximal von Cz im EEG 10-10-System
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
HD	Huntington‘s Disease
HTT	Huntingtin Gen
Hz	Hertz
LLR	Long-Loop reflex
mA	Milliampere
MEP	Motorisch Evoziertes Potential
MRT	Magnetresonanztomographie
mV	Millivolt
µV	Mikrovolt
M1	Primärer motorischer Kortex
N.	Nervus

n.e.	nicht erhoben
PAS	Paired Associative Stimulation
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PNS	Peripheres Nervensystem
preHD	Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome
RMT	Resting Motor Threshold
rTMS	repetitive TMS
SD	Standardabweichung
SDMT	Symbol Digit Modalities Test
SAI	Short-latency afferent inhibition
SEP	Sensorisch evoziertes Potential
SSEP	Somatosensorisch evoziertes Potential
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
S1	primärer sensorischer Kortex
TFC	Total Functional Capacity
TMS	Transkranielle Magnetstimulation
UHDRS	United Huntington disease rating scale
YTO	Years to (symptom) Onset
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Chorea Huntington

Chorea Huntington (HD) ist eine progressive autosomal-dominante neurodegenerative Erkrankung, die durch eine Triplett-Repeat-Expansion im *HTT*-Gen ausgelöst wird. HD hat bei Mitteleuropäern eine Prävalenz von ca. 7 auf 100.000, deutlich weniger tritt die Krankheit bei Asiaten oder Afroamerikanern auf. In Deutschland gibt es geschätzt ca. 8000 HD-Patienten (Conneally 1984).
Ursache der Krankheit ist ein genetischer Defekt auf dem kurzen Arm des Chromosoms 4 (4p16.3) (Huntingtin- oder *HTT*-Gen) (MacDonald et al. 1993). Dabei handelt es sich um eine Vermehrung der Cytosin-Adenin-Guanin (CAG)-Repeats, die für ein Polyglutamin innerhalb des Proteins Huntingtin kodieren. Die Krankheit ist ab einer Anhäufung von 40 Repeats sicher penetrant, bei 36 bis 39 Repeats variabel penetrant und tritt unter 35 Repeats normalerweise nicht auf (Rubinsztein et al. 1996). Bei Gesunden liegt die Anzahl der Triplett-Wiederholungen in der Regel bei 17 bis 27. Bei steigender Anzahl der Repeats beginnen die Symptome oft früher und der Krankheitsverlauf ist schwerwiegender (Andrew et al. 1993, Ranen et al. 1995).

Gentests können *HTT*-Mutationsträger identifizieren, das heißt jene, die symptomfrei sind, aber zu einem späteren Zeitpunkt HD entwickeln werden. Diese haben per Definition noch keine offenkundigen Krankheitszeichen. Abhängig davon, wie nahe Patienten ihrem Krankheitsbeginn sind, können unterschwellige motorische, kognitive oder psychiatrische Symptome der manifesten HD jedoch um Jahre vorausgehen (Tabrizi et al. 2009). Diese Gruppe wird als prämanifest oder *preHD* bezeichnet. Als manifest gelten Patienten definitionsgemäß dann, wenn offensichtliche motorische Symptome existieren, die nur durch die Krankheit erklärt werden können.

Die Erkrankung manifestiert sich meistens in der dritten bis vierten Lebensdekade (Andrew et al. 1993) und führt in der Regel nach 15 bis 20 Jahren zum Tod. Dabei sind als häufigste

Ursachen wiederkehrende Infektionen, Komplikationen nach Stürzen und Dysphagien zu nennen, weiterhin existiert ein erhöhtes Suizidrisiko (Ross 2014).

HD ist durch eine Triade motorischer, psychiatrischer und kognitiver Symptome charakterisiert und weist eine phenomenologisch große interindividuelle Variabilität auf (Walker 2007). Dabei war das motorische Krankheitsbild namensgebend („chorea"-Altgriechisch für Tanz). Bei der Chorea bestehen typischerweise unwillkürliche Dyskinesien, die initial vor allem an den distalen Extremitäten und in den Gesichts- und Schulterregionen in Form von abnormalen, abrupten Bewegungen sichtbar werden. Diese können anfangs oft noch kaschiert werden, indem sie in voluntäre Bewegungsabläufe integriert werden und machen sich vor allem in der Feinmotorik bemerkbar. Im weiteren Verlauf geraten die Bewegungen allerdings zunehmend außer Kontrolle und beziehen auch rumpfnahe Extremitätenanteile mit ein, so dass auch die Grobmotorik beeinflusst wird. Mit Fortschreiten der Krankheit zeigen sich zusätzlich Veränderungen des Muskeltonus, Bradykinesien, motorische Tics, sowie Dysarthrie und Dysphagie. Das hypokinetisch-rigide-dystone Krankheitsbild bestimmt in fortgeschrittenen Krankheitsphasen oft das klinische Erscheinungsbild und scheint bei der juvenilen und früh beginnenden HD generell zu dominieren (Mahant et al. 2003, Rosenblatt et al. 2003).

Zu den psychiatrischen Auffälligkeiten zählen Reizbarkeit, Angstzustände, Depression und Apathie (Van Duijn et al. 2007). Veränderungen der kognitiven Leistung können mehrere funktionell relevante Domänen umfassen. Dazu gehören das episodische- und das Arbeitsgedächtnis (Tabrizi et al. 2013a), die motorische Verarbeitungsgeschwindigkeit (Kirkwood et al. 1999), die Aufmerksamkeitsfunktion und die exekutiven Leistungen (Lemiere et al. 2004).

Die kognitiven Symptome erfüllen im Krankheitsverlauf oft die Kriterien einer Demenz und führen zusammen mit den motorischen Defiziten häufig zur Pflegebedürftigkeit.

Bis dato existiert keine kurative Behandlung der Krankheit oder eine Möglichkeit den Krankheitsbeginn hinauszuzögern. Die Therapie erfolgt daher rein symptomatisch unter anderem medikamentös, mit Krankengymnastik und logopädischer Betreuung.

Gemäß einer Regressionsformel nach Langbehn *et al.* kann mithilfe der Anzahl der CAG-Repeats und des aktuellen Alters der Zeitpunkt geschätzt werden, an dem bei einem Mutationsträger mit 60-prozentiger Wahrscheinlichkeit motorische Symptome auftreten

werden, die eindeutig der Krankheit zugeordnet werden können und sich nicht anderweitig erklären lassen. Die verbleibenden Jahre bis zu diesem Alter werden als *years to (symptom) onset* (YTO) bezeichnet und sind eine häufig verwendete klinische Variable in Untersuchungen bei preHD (Langbehn et al. 2004). Der Repeat-Länge, obschon die bekannteste Einflussgröße auf den Krankheitsbeginn, können allerdings nur ca. 50-60 Prozent der Variabilität des Onsets, die zwischen verschiedenen Betroffenen existiert, zugeschrieben werden, so dass noch andere Faktoren in Betracht gezogen werden müssen. Wexler *et al.* berichteten 2004, dass für die übrigen 40 Prozent andere Gene als das *HTT* für 40 Prozent und Umwelteinflüsse für 60 Prozent der Variabilität verantwortlich sind (Wexler et al. 2004), auch der Einfluss von Alkohol und Tabak wird diskutiert (Byars et al. 2012). Eine andere Studie zeigt, dass *somatic mosaicism* eine wichtige Rolle dabei spielen könnte, wann und wie die Krankheit sich manifestiert (Swami et al. 2009).

Ranen *et al.* veröffentlichten schon 1995 eine Formel, bei der der Krankheitsbeginn mithilfe der CAG-Repeat-Länge und des Alters der Symptommanifestation bei den Eltern der Betroffenen abgeschätzt wird. Allerdings hatte diese Studie eine kleine Teilnehmerzahl und sollte mit einer größeren Probandengruppe validiert werden, bevor man ihre Wertigkeit eruieren kann (Ranen et al. 1995). In einer Studie, die Einschätzungen von Klinikern, die Ranen- sowie die Langbehn-Formel vergleicht, wird deutlich, dass durch die Formeln oft ein späterer Krankheitsbeginn errechnet wird, als sich retrospektiv klinisch darstellt. Da es bisher keinen Goldstandard gibt, kann keine der Formeln als die Bessere herausgestellt werden (Orth u. Schwenke 2011).

Neben diesen komplexeren Modellen zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit des Krankheitsbeginns kann der Disease Burden Score (db) zur Einschätzung der biologischen Progression der Krankheit verwendet werden. Er ist ein Maß für die biologische Last aus Alter und Ausmaß der Mutation und berechnet sich aus [Alter x (CAG-Repeat-länge – 35,5)]. Dies impliziert, dass das längste CAG-Triplett, bei dem keine Pathologie auftritt, 35,5 sein kann (Penney et al. 1997). Penney *et al.* zeigten, dass das Ausmaß der Pathologie im post-mortalen Striatum von der Höhe der CAG-Wiederholungen und dem Alter des Patienten zum Zeitpunkt seines Todes abhängt. Eine ähnliche Beziehung zwischen Alter, CAG-Repeats und dem Disease Burden bestätigten zum Beispiel auch Sanchez-Pernaute und Mitarbeiter (Sanchez-Pernaute et al. 1999). Die Berechnung des Disease Burden ist also eine schlichte

a posteriori Schätzung, die besagt, wie lange ein Patient dem mutierten Huntingtin ausgesetzt war.

Während oben genannte Scores und Formeln versuchen, das biologische Krankheitsstadium eines Patienten vor dem klinischen Onset abzuschätzen, existieren außerdem Möglichkeiten, den Schweregrad der Erkrankung nach dem Onset zu messen und damit eine gewisse Einordnung in ein klinisches Stadium zu ermöglichen.

Weltweit anerkannt ist das Bewerten von Symptomen nach der United Huntington Disease Rating Scale (UHDRS) (Huntington-Study-Group 1999). Dabei werden motorische und kognitive Funktionen, Verhaltensänderungen und *Functional Capacity* untersucht. Die Bewertung motorischer Symptome nach der UHDRS wird oft als Grundlage für die klinische Diagnose („motor symptom onset“) gebraucht (Kremer et al. 1996a).

1.2 Die Rolle des Huntingtin

Der Mechanismus, durch den die CAG-Repeats die progressive Neurodegeneration auslösen, ist nur teilweise verstanden. Das *HTT*-Gen überspannt 180 Kilobasen und besteht aus 67 Exons in einer Größe zwischen 48 und 341 Basenpaaren. Das CAG-Repeat-Motiv innerhalb des Gens ist für die Synthese von Glutamin verantwortlich. Daher zählt HD auch zu den Polyglutamin-Krankheiten. Dabei bestimmt das Ausmaß der Polyglutamin-Expansion maßgeblich das Ausmaß der Huntingtin-Akkumulation (Wanker u. Droge 2002). Zwar wird pathologisch elongiertes Huntingtin durch Ubiquitin für die Proteolyse markiert, aus unbekannten Gründen scheinen die Neuronen allerdings an einem bestimmten Punkt die Fähigkeit zu verlieren, diese Aggregate zu metabolisieren oder abzubauen. Es gibt Evidenz dafür, dass die steigende Ansammlung von gespalteten, nicht abbaubaren Produkten des mutierten Huntingtins viele schädliche Auswirkungen auf die Neuronen hat, ja dass pathologische gewebespezifische Proteolyse die Krankheitsprogression bedingt (Mende-Mueller et al. 2001). Ein aminoterminales Fragment des mutierten Huntingtin-Proteins kann in intranukleären Einschlüssen und dystrophen Neuriten im Kortex und Striatum von HD-Patienten nachgewissen werden (Rubinzstein 2003).

In einer Studie mit *HTT*-null embryonalen Stammzellen und *HTT*-morpholino Zebrafischen konnte gezeigt werden, dass Huntingtin unabdingbar für die Interaktion zwischen neuroepithelialen Zellen ist. Über die Regulation von Metalloproteasen-Aktivität, unter anderem ADAM10, und durch NCadherin-Spaltung ermöglicht es die Neurulation und Rosettenformation in der Embryonalzeit (Lo Sardo et al. 2012). Ferner bewies eine andere Forschungsgruppe, dass das elongierte *HTT* das Level von NCadherin in striatalen Neuronen vermindert, was sich wiederum nachteilig auf die Neuronenreifung auswirkt (Reis et al. 2011). Bhide *et al.* zeigten in ihrer Veröffentlichung, dass die Aktivität von *HTT* schon früh in der Entwicklung des Gehirns sichtbar wird und dass diese parallel mit der Reifung der Neurone in der postnatalen Periode ansteigt. In ihrem Mausmodell fanden sie eine allgegenwärtige Verteilung des *HTT* im somatischen Zytoplasma des sich entwickelnden Mäusegehirns, was eine wichtige Rolle des *HTT* für das Überleben von Neuronen nahelegt. Auch im menschlichen fetalen Gehirn wurde das *HTT* gefunden. Vor allem die Erkenntnis, dass das mutierte *HTT* in fast gleicher Menge wie das Wildtyp-protein in Kortex und Zerebellum vorhanden ist, bestätigt die Überlegungen, dass das pathologische *HTT* die neuronale Entwicklung von Grund auf beeinflussen kann (Bhide et al. 1996).

Huntingtin ist in vielen neuronalen und nicht-neuronalen Geweben vorhanden, aus bisher unerklärten Gründen scheinen aber vor allem bestimmte Strukturen von der Erkrankung betroffen zu sein. Dabei handelt es sich um das Striatum (Nucleus caudatus und Putamen), Teile des Cortex, die Substantia Nigra, die Purkinje Zellen des Zerebellums, den Gyrus angularis des Parietallappens und Teile des Thalamus und Hypothalamus (Gutekunst et al. 2002). Auch wenn die Schaltkreise der Basalganglien komplex sind weiß man, dass eine Atrophie des Striatums zu einer verminderten Inhibition des Thalamus mittels GABA und damit zu einer Übererregung des Kortex mittels Glutamat via thalamo-kortikaler Bahnen führt (Aron et al. 2003). Ferner wird mit HD eine Runterregulierung des *Brain-derived neutrophic factors* assoziiert (Cepeda et al. 2004). Außerdem konnte man in-vitro zeigen, dass in betroffenen Neuronen sowohl die Mitochendrien-Funktion (Panov et al. 2003) als auch der axonale Transport (Saudou u. Humbert 2008), die nukleäre Transkription (Cha 2000), die Proteosomen-Funktion (Rangone et al. 2004), die zelluläre Interaktion (Duan et al. 2004), die Tumorsuppression (Bae et al. 2005) und die Transmitterabgabe (Freeman,

Morton 2004) eingeschränkt wird. Dies könnte zur Apoptose (Hickey u. Chesselet 2003) und letztendlich zum Zelltod führen.

Studien bestätigen, dass Neuronenverlust und metabolische Veränderungen bei erwachsenen HD-Gehirnen vor klinischem Symptombeginn stattfinden (Albin et al. 1992, Paulsen et al. 2008, Tabrizi et al. 2009). Ein genauer Zeitplan für den Beginn der neuronalen Veränderungen ist allerdings unbekannt.

1.3 Untersuchungen von Hirnstruktur und –funktion bei HD-Patienten

1.3.1 Bildgebende Verfahren

Molekulare Studien legen also nahe, dass *HTT* sehr früh Einfluss auf die Entwicklung des Gehirns hat. Während diese vornehmlich an Tiermodellen möglich sind, bieten bildgebende Studien hingegen die Möglichkeit, Hirnstrukturen von Patienten zu untersuchen und Veränderungen dieser über die Zeit zu verfolgen.

Bei HD-Patienten lassen sich strukturelle Veränderungen, sowohl im Hinblick auf fokale Veränderung der Gehirnsubstanz, als auch hinsichtlich einer generalisierten Hirnatrophie, frühzeitig nachweisen. So wurden zum Beispiel Volumenreduktion im Striatum (Aylward et al. 2004, Aylward 2007), *cortical thinning* (Rosas et al. 2005), verminderte neuronale Aktivität (Zimbelman et al. 2007) und verminderte D2-Rezeptor-Bindung (Weeks et al. 1996) bei Probanden mit nachgewiesener CAG-Repeat-Mutation gefunden. In diesen Studien zeigen die Probanden zum Teil subklinische Veränderungen, die dem klinischen Krankheitsbeginn gar um Jahre vorausgehen. Des Weiteren erzielten diese Teilnehmer signifikant schlechtere Ergebnisse in kognitiven (Paulsen et al. 2006), motorischen und okulomotorischen (Kirkwood et al. 2000) sowie psychopathologischen (Berrios et al. 2002) Tests. In der TRACK-HD-Studie, in der 366 Probanden, davon 123 Kontrollen, 123 Probanden mit manifester HD und 120 Probanden mit preHD, untersucht wurden, bestätigten sich oben genannte Parameter, ferner wird dort statuiert, dass Volumenveränderungen bei preHD im gesamten Kortex nachweisbar sind und Untersuchungen sich deshalb nicht auf das Striatum begrenzen sollten (Tabrizi et al. 2009). Aufgrund der großen interindividuellen Unterschiede in Bezug auf Krankheitsbeginn und –fortschritt geht man davon aus, dass

strukturelle Veränderungen nicht direkt auf die Funktion des Gehirns übertragen werden können. Deshalb gewinnen bildgebende Verfahren, in denen die Struktur-Funktions-Beziehungen untersucht werden können, zunehmend an Bedeutung. Die Struktur-Funktions-Beziehung der weißen Substanz bei HD-Patienten in verschiedenen Stadien untersuchte zum Beispiel eine Studie aus dem Jahr 2010, in der von prämanifesten und early-stage HD-Patienten MRT-Aufnahmen des Gehirns gemacht wurden. Dabei zeigte sich, dass sensomotorische Bahnen der Genträger schon im prämanifesten Stadium verändert sind (Dumas et al. 2012).

1.3.2 Elektrophysiologische Techniken

Elektrophysiologische Techniken bieten die Möglichkeit, nicht-invasiv zwischen der Aktivität efferenter motorischer, afferenter sensorischer und visueller Schaltkreise zu unterscheiden und die sensorisch-motorische Integration zu untersuchen. So lassen sich Aussagen über die Hirnfunktion machen.

1.3.2.1 EEG und evozierte Potentiale

Das Elektroenzephalogramm (EEG) ermöglicht die nicht-invasive Messung elektrischer Hirnaktivität. Elektrodenpaare, die meist an der Kopfhaut angebracht werden, registrieren Potentialdifferenzen und können Volumenströme von ungefähr 10^5 gleichzeitig aktiven Neuronen aufnehmen (Luck 2014). Zwar bietet das EEG eine hohe zeitliche Auflösung, doch der Entstehungsort der elektrischen Ströme kann nicht immer sicher zugeordnet werden. Ein anderes Problem der EEG-Messungen, vor allem bei Patienten mit Bewegungsstörungen, ist die Anfälligkeit für Bewegungsartefakte, die Messungen verändern oder unmöglich machen können.

Mittels EEG können Hirnströme in Ruhe aufgenommen oder zum Beispiel die Reaktion auf einen afferenten Stimulus angezeigt werden. Dabei wird der Proband einem akustischen, visuellen oder sensorischen Reiz ausgesetzt, der das Ruhe-EEG in zeitlicher Abhängigkeit zum Stimulus verändert. Diese sogenannten evozierten Potentiale liefern Latenzen und Amplituden, die aus den positiven und negativen Ausschlägen errechnet werden. Diese Daten können wertvolle Hinweise über die afferenten Bahnen und die Zielstrukturen des jeweiligen Stimulus bieten. Ferner können evozierte Potentiale mit anderen Techniken, zum Beispiel der transkraniellen Magnetstimulation (siehe 1.3.2.2) ergänzt werden und so zum

Beispiel Informationen über sensorisch-motorische Integration oder komplette Schaltkreise liefern.

1.3.2.2 Die transkranielle Magnetstimulation

Die transkranielle Magnetstimulation (TMS) ist eine nicht-invasive, schmerzlose Methode, bei der durch eine zeitliche und räumliche Veränderung eines gepulsten Magnetfelds in einer Spule in neuronalem Gewebe ein elektrischer Strom induziert werden kann. Nach dem Prinzip der elektromagnetischen Induktion wird dabei im Hirngewebe durch einen Stromimpuls mit einer Stärke von ungefähr 8000 Ampere, der ungefähr eine ms andauert, ein sekundärer Stromkreis erzeugt, dessen Stromrichtung der Spule genau entgegengesetzt ist. Tiefenreichweite und Reizareal sind hierbei abhängig von der verwendeten Spulenform und –größe, der Reizstärke und dem Ansprechen des Zielgewebes auf den Reiz. Ist der Stromimpuls hoch genug, kann er kortikale Neurone depolarisieren, was, abhängig davon, welches Hirnareal gereizt wird, zum Beispiel zu einem Muskelzucken führen kann. Dieses kann dann als motorisch-evoziertes Potential (MEP) mit auf dem passenden Muskel platzierten Elektroden mittels Elektromyogramm (EMG) aufgezeichnet werden (Rothwell et al. 1999). Dabei werden im Motorkortex die Pyramidenbahnzellen zumeist indirekt und über parallel zur Kortexoberfläche angeordnete Axone der Interneurone de- oder hyperpolarisiert, wobei ein Aktionspotential (AP) immer in mehreren Interneuronen ausgelöst wird und sowohl exzitatorische, als auch inhibitorische Effekte zeigen kann.

Bei der *Single* oder *Paired Pulse* TMS können Neuronenpopulationen im Neokortex depolarisiert und dadurch ein AP ausgelöst werden, wobei die erzielten Effekte nach Ende der Stimulation nicht mehr nachgewiesen werden können. Repetitive Stimuli mit TMS allein, dann rTMS genannt, oder gepaarte Stimuli, wobei ein Reiz an einen peripheren Nerv und ein anderer an den Motorkortex abgegeben wird, dann *paired associative stimulation* (PAS) genannt, können Informationen über die kortikale Plastizität liefern. Denn die repetitive TMS kann, je nach Versuchsprotokoll, die Erregbarkeit von kortikospinalen oder kortiko-kortikalen Schaltkreisen auch für eine gewisse Periode nach Stimulationsende, meistens circa 20 bis 30 Minuten, erhöhen oder vermindern.

1.3.3 Elektrophysiologie bei *HTT*-Mutations-Trägern

1.3.3.1 Efferente motorische Bahnen

Die Untersuchung der Erregbarkeit kortikospinaler Neurone und der transsynaptischen Regulation von inhibitorischen und fazilitierenden Schaltkreise kann bei HD-Patienten wichtige Informationen liefern. Der Motorkortex, eine wichtige Zielstruktur der Basalganglien, die wiederum eine der am meisten betroffenen Strukturen der HD sind, kann mit der TMS einfach angesteuert werden, so dass sich diese zu einer wertvollen Untersuchungsmethode entwickelt hat.

Nur wenige Forschungsgruppen untersuchten efferente motorische Bahnen bei prämanifesten HD-Probanden. Schippling *et al.* beschrieben in ihrer Studie aus dem Jahr 2009 bei prä- und frühmanifesten HD-Patienten höhere Ruhe- und Aktivmotorschwellen als bei Kontrollen. Bei überschwelligen TMS-Intensitäten zeigte sich gegenüber Kontrollen ein graduellerer Anstieg des evozierten Muskelpotentials bei HD- und preHD, was sich in Form einer flacheren Recruitment-Kurve abbilden lässt (Schippling et al. 2009). Das führte zu der Vermutung, dass bei HD-Patienten nach überschwelligen Reizen die Stärke der Verbindungen zwischen Motorkortex und Handmuskulatur schwächer ist. Diese Veränderung bei HD-Patienten war allerdings nach Voraktivierung, wenn also die synaptische Erregbarkeit höher ist als in Ruhe, nicht mehr sichtbar, was ein Hinweis darauf sein kann, dass die synaptische Effizienz bei an HD Erkrankten in Ruhe niedriger ist als bei Kontrollen. Unterstützt wird diese Vermutung durch Untersuchungen von pre- und early HD- Patienten mit repetitiver TMS, die auch nach Ende der Reizabgabe die Erregbarkeit des Kortex verändern und somit also eine Plastizität induzieren. Genträger des elongierten *HTT*s, sowohl pre- als auch early manifest, zeigten dabei eine geringere Inhibition (Orth et al. 2009). Dass sich bei diesen Untersuchungen kein Unterschied zwischen den verschiedenen Untersuchungsgruppen, also Genträgern vor und nach Symptombeginn, finden lässt, wirft laut Orth *et al*. die Frage auf, ob die dafür verantwortlichen Veränderungen des Kortex eher von Beginn an existieren und nicht erst beim Fortschreiten der Krankheit erscheinen.

Die *cortical silent period* (CSP) entsteht nach einem durch TMS ausgelösten MEP an bereits kontrahiertem Muskel. Sie steht für die Zeit, in der keine Muskelaktivität in diesem stimulierten Muskel nachweisbar ist. Dabei sind für die ersten 50ms der CSP nach TMS-Stimulus spinale Motorneurone und danach kortikale Mechanismen verantwortlich

(Inghilleri et al. 1993). Die CSP wurde wiederholt bei manifesten HD-Patienten gemessen, was sehr heterogene Ergebnisse lieferte (Priori et al. 1994, Lorenzano et al. 2006, Tegenthoff et al. 1996, Modugno et al. 2001, Nardone et al. 2007, Eisen et al. 1989, Lefaucheur et al. 2006). Messung an prämanifesten HD-Probanden existieren bis dato nicht.

1.3.3.2 Afferente sensorische Bahnen

Wird ein peripherer sensorischer oder gemischter Nerv gereizt, kann mithilfe von EEG-Elektroden am Kortex gemessen werden, in welcher Zeit (Latenz) und Stärke (Amplitude) dieser Reiz den primären somatosensiblen Kortex erreicht. Vor allem die N20, also ein negativer Ausschlag nach circa 20ms, wird häufig gemessen und korrespondiert mit der Zeit und Stärke, mit welcher ein efferenter kutaner Reiz über das lemniskale System den primären somatosensiblen Kortex erreicht. Wird dieser neuronale Schaltkreis durch strukturelle Änderung gestört, kann dies Auswirkungen auf die Integration sensorischer Information und Bewegungsvorbereitung und –kontrolle haben (Abbruzzese et al. 2003). Deshalb werden SEPs auch bei HD, bei der sensorische Defizite nicht zum bekannten Krankheitsbild gehören, regelmäßig von Forschungsgruppen untersucht.

Es existiert nur eine Studie, in der SEPs bei prämanifesten Probanden mit nachgewiesener *HTT*-Mutation gemessen wurden. Dort waren die SEPs nach N. medianus-Stimulation normal, nach Stimulation des N. tibialis zeigten sich reduzierte Amplituden (Beniczky et al. 2002). Bei manifesten Patienten jedoch fand man nach Reizung des N. medianus kontinuierlich eine reduzierte N20/P25 Amplitude (Beniczky et al. 2002, Kuwert et al. 1993, Lefaucheur et al. 2006, Topper et al. 1993)

1.3.3.3 Sensomotorische Integration

Long-Loop-Reflexe (LLRs) werden seit langem gemessen um kortikale Funktionen zu untersuchen. Sie bestehen hauptsächlich aus drei muskulären Antworten, die dem H-Reflex folgen. Der beständigste ist dabei der LLR II (Hallett et al. 1994), er soll eine transkortikale Schleife beschreiben (Deuschl et al. 1989a, Deuschl et al. 1991, Michels et al. 1993). Nach Deuschl *et al.* lässt sich dabei der afferente Arm auch mit der N20-Latenz des SEPs beschreiben und der efferente Arm mit dem MEP, das in Handmuskeln nach TMS-Stimulation entsteht. Dies suggeriert, dass LLRs, MEPs und SEPs hauptsächlich über gleiche Bahnen geleitet werden. Zudem stimmt der afferente Arm des LLRs wahrscheinlich mit den

propriozeptiven Ia-Fasern überein, der efferente Arm dagegen mit den absteigenden Pyramidenbahnfasern, die auch via TMS erregt werden. So können mit der Messung von LLRs sensorische und motorische Schaltkreise simultan untersucht werden.
LLRs sinnd bei manifesten HD-Patienten oft verringert oder verschwinden häufig auch ganz (Noth et al. 1985, Meyer et al. 1992, Lefaucheur et al. 2006), bei prämanifesten Patienten gibt es diesbezüglich noch keine Untersuchungen.

Werden Handmuskeln via TMS des motorischen Kortex erregt, können die entstehenden Muskelantworten durch vorausgehende elektrische Stimuli des N. medianus unterdrückt oder verstärkt werden. Dazu muss das Zeitinterval zwischen der Stimulation des N. medianus und des Motorkortex 2-8ms länger sein, als die Zeit, die von den schnellleitenden peripheren afferenten Nerven gebraucht wird, um den Kortex zu erreichen. Dieser Effekt wird *Short latency sensory afferent inhibition* (SAI) genannt und entsteht durch Interaktionen innerhalb des Motorkortex (Tokimura et al. 2000). Er ist möglicherweise ein Marker des zentralen cholinergen Systems und wichtig für die Gedächtnisfunktionen. Dies nimmt man an, da die SAI zum Beispiel bei Scopolamin-Einnahme oder Morbus Alzheimer vermindert ist. Da auch Benzodiazepine einen Einfluss auf die SAI haben, geht man davon aus, dass auch GABA in diesen Schaltkreisen eine Rolle spielt (Di Lazzaro et al. 2005).
HD-Patienten zeigten eine verminderte SAI, die Höhe der Inhibition korrelierte dabei invers mit geschätztem Krankheitsbeginn und UHDRS-Motorscore. Prämanifeste Genträger hingegen hatten ähnliche Ergebnisse wie die gesunden Kontrollen (Schippling et al. 2009).

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Studien über die Rolle von Huntingtin in der frühen neuronalen Entwicklung führen zu der Überlegung, dass bei Huntingtonpatienten Veränderungen der neuronalen Strukturen vorliegen, bevor diese klinisch offenbar werden. Diese Hypothese wird von bildgebenden Studien unterstützt. Dazu gehört zum Beispiel die multizentrische TRACK-HD Studie, in der die prämanifesten far-from-onset Probanden mit einem durchschnittlichen Disease Burden von 259 bereits beginnende Veränderungen in Hirnsubstanz und –volumen sowie in

klinischen Tests offenbarten, welche in der dem Onset näheren prämanifesten Gruppe mit einem durchschnittlichen Disease Burden von 333 bei Weitem deutlicher wurden (Tabrizi et al. 2009). Bei Nopulos und Kollegen, in dessen Studie die prämanifesten Probanden einen durchschnittlichen Disease Burden von 286 hatten, wurde mittels MRT ein vermindertes intrakranielles Volumen nachgewiesen (Nopoulos et al. 2011). Und Dumas *et al.* zeigten eine Beeinträchtigung der Leitungsbahnen des sensorimorischen Kortex bei prämanifesten Probanden mit einem durchschnittlichen Disease Burden von 323 (Dumas et al. 2012).

Mit elektrophysiologischen Untersuchungen können Leitungsbahnen und deren Veränderungen nicht-invasiv direkt am Patienten untersucht werden. Die Messungen sind preisgünstig und die Ergebnisse können leicht aufgenommen und objektiv wiedergegeben werden. Trotzdem gibt es bis dato sehr wenige Studien, in der Träger des mutierten *HTT*s, die sich weit entfernt vom Onset befinden, mit diesen Techniken untersucht wurden. Viele der Untersuchungen an prämanifesten Patienten wurden ferner vor Einführung des Gentests 1993 durchgeführt und können deshalb nur unter Vorbehalt beurteilt werden. Außerdem waren bei einigen Studien die sogenannten „prämanifesten“ Patienten ihrem Krankheitsbeginn schon sehr nahe und würden nach heutigem Standpunkt oft eher der frühmanifesten als der prämanifesten Gruppe zugeteilt werden. Einteilungskriterien variieren von Studie zu Studie, benutzt wurden zum Beispiel die years to onset nach Langbehn, die Total Functional capacity scale oder der Disease Burden Score, wobei das Krankheitsstadium, in dem sich die Gruppenteilnehmer befanden, oft sehr heterogen ist.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir deshalb folgende Hypothese:
Gesunde Merkmalsträger der *HTT*-Mutation, die sich noch weit entfernt vom mutmaßlichen Krankheitsbeginn befinden, unterscheiden sich in der Hirnfunktion in sensomotorischen Netzwerken nicht von gesunden Kontrollpersonen.

Um diese Hypothesen zu überprüfen, sollten in der vorliegenden Studie bei prämanifesten Merkmalsträgern des elongierten *HTT*-CAG-Repeats die Hirnfunktionen mittels elektrophysiologischer Techniken und die Leistungsfähigkeit mittels klinischer Tests aus der UHDRS-Palette untersucht werden.

In der prämanifesten Gruppe der Studie wurde bewusst ein Patientenkollektiv ausgewählt, das sicher noch sehr weit von seinem errechneten Motor Onset entfernt ist. Zur Einteilung wurde der Disease Burden Score benutzt. Dieser bezieht sich auf die Länge der CAG-Repeats und das Patientenalter und ist deshalb ein robuster Parameter für die Gruppenzuteilung.
Unsere elektrophysiologischen Methoden fokussierten sich auf die Untersuchung der motorischen Efferenzen vom primären motorischen Kortex (M1) zur Peripherie, der sensiblen Afferenzen von der Peripherie zum primären somatosensiblen Kortex (S1) und der sensorisch-motorische Integration. Diese Parameter geben einen umfassenden Überblick über zentrale und periphere neuronale Strukturen. Sie zeigten bereits in verschiedenen Studien bei *HTT*-CAG-Repeat Expansions Merkmalsträgern Veränderungen. Die Vermutung liegt deshalb nahe, dass dies Zielstrukturen sind, die pathophysiologisch an der Huntington Erkrankung beteiligt sind (unter anderem Lefaucheur et al. 2006, Schippling et al. 2009, Beniczky et al. 2002).

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

2.1.1 Ein und Ausschlusskriterien

Grundvoraussetzung für die Teilnahme der Patienten war der Nachweis der CAG-Repeat Expansion im *HTT*-Gen mit einer CAG-Länge von über 36 Repeats. Teilnehmer mussten mindestens 18 Jahre alt sein. Ausgeschlossen wurden Probanden, wenn aktuell neben der HD eine instabile medizinische Erkrankung, psychiatrische Diagnosen, ein bekannter Substanzmissbrauch oder eine Epilepsie vorlagen. Schwangere Probanden konnten an der Studie nicht teilnehmen, und Teilnehmer durften keinen Herzschrittmacher oder metallische Implantate im Körper tragen.

Die Studie folgte den Prinzipien der Helsinki Deklaration von 1989 und das Ethikkomitee der Universität Ulm stimmte dem Versuchsprotokoll zu (Aktenzeichen 282/11). Alle Probanden unterschrieben nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung über das Experiment gemäß der International Conference on Harmonisation - Good Clinical Practice (ICH-GCP) eine Einverständniserklärung.

2.2 Versuchsaufbau

2.2.1 Elektromyographische Aufzeichnungen

Die Muskelaktivität des Musculus abductor pollicis brevis (APB), des Musculus Interosseus digiti I (FDI) und des Musculus abductor digiti minimi (ADM) wurden aufgezeichnet. Dazu wurden bipolare Oberflächenelektroden mit einem Durchmesser von einem Zentimeter mit hautfreundlichem Klebeband montiert, der Widerstand zwischen Haut und Elektrode wurde dabei mit einem Elektrodengel vermindert. Die ideale Position wurde ermittelt, indem der Proband mit dem jeweiligen Muskel gegen die Hand des Untersuchers drückte. Dann wurden die differente Elektrode an der prominentesten Stelle des Muskelbauches

und die indifferente Elektrode weiter distal am Muskelansatz befestigt. Eine Erdung wurde am Handgelenk montiert.

Die Signale wurde mit einem Toennies Universalverstärker (Erich Jaeger GmbH, Doechberg, Deutschland) verstärkt, amplifiziert und gefiltert. Digitalisierung fand über eine IO-Karte im PC mit 5000 Hz statt, Anzeige und Aufzeichnung mit Hilfe von DasyLab 11.0 (measX GmbH und Co.KG, Mönchengladbach, Deutschland).

2.2.2 EEG-Aufzeichnungen

Zusätzlich zur Montage der Elektroden an den Muskeln der dominanten Hand wurden für den ersten Versuch Oberflächenelektroden über der Hemisphäre des somatosensiblen Kortex montiert. Der optimale Punkt für die Elektrode wurde bestimmt, indem der Mittelpunkt zwischen os nasale und protuberantia occipitalis externa und zwischen beiden Ohren auf Höhe des Tragus gesucht wurde (Cz), 3cm nach distal und 7cm nach lateral von Cz wurde dann die Elektrode (P3) sowie am ipsilateralen Ohrläppchen eine Erdung angebracht. Die Referenzelektrode wurde 4cm proximal des Cz montiert (FPZ).

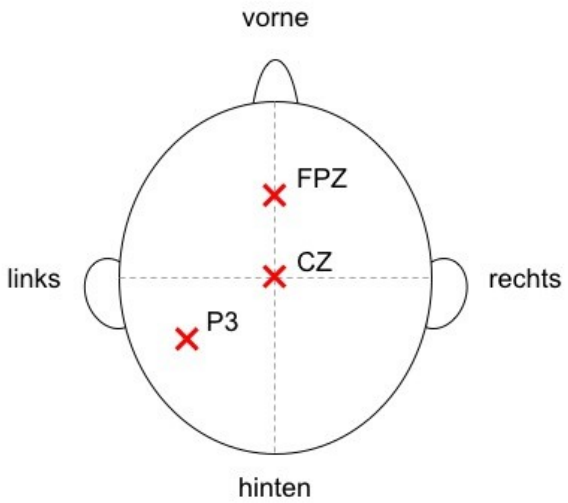

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Elektrodenpositionen der Elektroenzephalogramm-Aufzeichnungen

Cz: Mittelpunkt zwischen os nasale und protuberantia occipitalis externa und zwischen beiden Ohren auf Höhe des Tragus, P3: 3cm distal und 7cm lateral von Cz, FPZ: Referenzelektrode 4cm proximal von Cz

2.2.3 Periphere Stimulation

Elektrische Stimuli wurden von einem elektrischen Stimulator (Digitimer DS7A, Digitimer Ltd, Letchwoth Garden City, UK) mit einer ebenfalls am Handgelenk befestigten bipolaren Elektrode (Kathode proximal) abgegeben, dabei wurden Pulse mit einer Länge von 0,2 ms generiert.

2.2.4 TMS

Patienten und Kontrollpersonen saßen in einem bequemen Stuhl mit Kopfstütze und wurden instruiert sich so gut wie möglich zu entspannen. Magnetische Stimuli wurden mit einer in der Hand gehaltenen achtförmigen Spule (mittlerer Durchmesser 2x70 mm, Magstim) abgegeben, die mit einem Magstim 200 Stimulator (Magstim Co., Whiteland, Dyfed, UK) verbunden war. Dieser Stimulator gibt Pulse in monophasischer Wellenform ab, die im motorischen Kortex einen Strom mit posterior-anterior-Fluß erzeugen, wenn man die Spule tangential und in 45° Winkel zur Kopfhaut hält. Der optimale Punkt um ein möglichst großes MEP zu erzeugen wurde auf einer dünnen Stoffhaube mit einem Filzstift markiert. Dieser sogenannte Hot-Spot wurde über dem kontralateral zum Zielmuskel liegenden Handareal des motorischen Kortex gesucht. Er befindet sich meist circa 4 bis 5 cm lateral und 1 bis 2 cm anterior vom Vertex. Nach einer orientierenden Spulenpositionierung wurde mit einer Intensität von 40 Prozent Stimulatoroutput unter Verschieben der Spule in alle Richtungen die größte MEP-Amplitude ermittelt und dieser Ort als Hot-Spot für den gesamten Versuch festgelegt. Stimuli wurden bei allen Versuchsteilen mit einem Interstimulusinterval von vier bis fünf Sekunden abgegeben um Modulationseffekte zu vermeiden.

Die TMS-Daten wurden mit einem selbstgeschriebenen MatLab skript (version r2009a) analysiert.

2.2.5 Schwellenkriterien

Es wurden sowohl die motorische Schwelle in Ruhe, als auch unter Voraktivierung bestimmt.

Die motorische Schwelle in Ruhe (*resting motor threshold*, RMT) ist definiert als die geringste Stimulusintensität (in Prozent der maximalen Stimulusintensität des Geräts), mit der bei 6 von 10 Stimuli ein MEP im APB mit einer Amplitude von mindestens 50µv ausgelöst werden kann (Ziemann et al. 1998).
Die motorische Schwelle unter Voraktivierung (*active motor threshold*, AMT) ist definiert als die geringste Stimulusintensität, die bei 6 von 10 Stimuli im Durchschnitt eine MEP-Amplitude größer 500µV auslöst.
Orientierend begannen wir mit einer Intensität von 40 Prozent und passten diese mit 1-3 Prozentschritten dem jeweiligen Schwellenkriterium an (Silbert et al. 2012).

2.3 Klinische Untersuchungen

Erfahrene Neurologen des Uniklinikum Ulms untersuchten die Probanden mit Hilfe der *Unified Huntington Disease Rating Scale* (UHDRS), die von der Huntington Study Group entwickelt (Kremer et al. 1996a) und dessen Validität und Realiabilität bereits mehrfach überprüft wurde (Siesling et al. 1998, Carlozzi et al. 2013). Die Beurteilung erfasste dabei die Dimensionen Selbstständigkeit, Motorik, Kognition und funktionelle Fähigkeiten.

2.3.1 Motorik

Für die Einschätzung der Motorik wurden folgende Bewegungen beurteilt: Augenfolgebewegung, Sakkadeninitiierung und -geschwindigkeit, Dysarthrie, Zungenprotrusion, Retropulsion, Fingerklopfen, Pronation/ Supination, Gangbild und Tonus. Jeder einzelne Parameter konnte einen Wert von null (normal) bis vier (am stärksten beeinträchtigt) erzielen. Bei insgesamt 31 individuellen motorischen Bewertungen ergaben sich so Werte zwischen null und 124.

2.3.2 Funktionelle Fähigkeiten

Der im UHDRS erhaltene *Functional Assessment Score* (FAS) erfasst die funktionellen Fähigkeiten der Probanden. Er setzt sich aus einem Katalog von Ja/Nein Fragen zu

Erwerbstätigkeit, Finanzen, Hausarbeit, Aktivitäten des täglichen Lebens und Pflegebedürftigkeit zusammen. Dabei ergibt jede Ja-Antwort einer Frage einen Punkt (maximale Punktzahl: 25= gesund) und jede Nein-Antwort keinen Punkt (minimale Punktzahl: 0= stärkste Beeinträchtigung).

Für jeden Probanden wurde außerdem noch der *Total Functional Capacity* Score (TFC) erhoben. Er stellt eine Ergänzung zum FAS dar und hilft somit bei der Einschätzung der funktionellen Fähigkeiten der Probanden. Dazu werden dieselben Kategorien wie bei FAS mit einem anderen Punktesystem beurteilt. Eine maximal mögliche Punktzahl von 13 Punkten steht für normale funktionelle Fähigkeiten und jede Reduktion der Punktzahl deutet auf eine entsprechende Minderung der funktionellen Fähigkeiten hin.

Anhand einer vorgegebenen Liste der UHDRS erfasst der Untersucher den Grad der Selbstständigkeit der Probanden in Prozent. Die Einschätzung enthält ein Spektrum von 10 Prozent (Sondenernährung, totale Pflegebedürftigkeit) bis 100 Prozent (keine besondere Hilfe notwendig).

2.3.3 Kognition nach UHDRS

Die im Folgenden aufgeführten kognitiven Tests sind Teil der UHDRS Testbatterie.

2.3.3.1 Wortflüssigkeit

Dem Probanden wird ein Buchstabe genannt, mit welchem er innerhalb von 60 Sekunden so viele Wörter wie möglich bilden soll. Der Wortflüssigkeitstest wird insgesamt dreimal mit verschiedenen Buchstaben (S, M, B) durchgeführt. Anschließend wird die Summe der aus den vorgegebenen Buchstaben gebildeten Wörter berechnet. Außerdem wird die kategorische Wortflüssigkeit in der Kategorie „Tiere“ getestet. Dazu wird der Proband dazu aufgefordert innerhalb von 60 Sekunden so viele Tiere wie möglich zu benennen.

2.3.3.2 Symbol Digit Modalities Test (SDMT)

Dem Probanden werden neun verschiedene Symbole, denen jeweils eine Zahl von eins bis neun zugeordnet ist, gezeigt. Nun bekommt der Proband eine Liste mit Symbolen und muss jedem Symbol die passende Zahl zuordnen. Die Zuordnungsliste „Symbol-Zahl“ hat der Proband dabei immer vor Augen. Die zeitliche Begrenzung für den Test beläuft sich auf 90 Sekunden, vorher hat der Proband Zeit für eine kurze Übungsphase.

2.3.3.3 Stroop Test

Dieser Test besteht aus den drei Testteilen Stroop-Farbe, Stroop-Lesen und Stroop-Interferenz. Jeder einzelne Test besteht aus zehn Zeilen mit jeweils zehn Wörtern zuzüglich einer aus zehn Wörtern bestehende Übungszeile. Für die Lösung der Aufgabe (ohne Übungszeile) stehen 45 Sekunden zur Verfügung. Werden die zehn Zeilen vor Ablauf der Zeit genannt, wird wieder in Zeile eins begonnen.

Im ersten Teil (Stroop-Farbe) wird dem Probanden ein DIN A4 Blatt, auf dem farbige (rot, blau, grün) Rechtecke in variierender Reihenfolge dargestellt sind, vorgelegt. Es sollen so viele Farben wie möglich der Reihe nach benannt werden.

Im zweiten Teil (Stroop-Lesen) wird dem Probanden ein DIN A4 Blatt gezeigt, auf dem die Wörter rot, blau und grün in variierender Reihenfolge in schwarzer Schrift stehen. Es sollen so viele Wörter wie möglich der Reihe nach vorgelesen werden.

Im dritten Teil (Stroop-Interferenz) wird dem Probanden ein DIN A4 Blatt vorgelegt, auf dem die Wörter rot, blau, grün in jeweils unterschiedlichen Farben (rot, blau, grün) stehen, die aber nicht miteinander übereinstimmen. Es soll nicht das Wort vorgelesen werden, sondern die Farbe benannt werden, in welcher das Wort geschrieben ist.

2.3.3.4 Trail Making

Dieser Test wird als Ergänzung zur UHDRS Testbatterie durchgeführt und besteht aus den Teilen A und B.

Im Teil A müssen die Zahlen 1 bis 25, die durcheinander auf einem DIN A4 Blatt stehen in aufsteigender Reihenfolge miteinander verbunden werden. Dabei wird die vom Probanden dafür benötigte Zeit gestoppt. Im Teil B müssen zu den Zahlen zusätzlich noch Buchstaben in aufsteigender Reihenfolge miteinander verbunden werden (1-A-2-B-3-C usw.). Die für das Lösen der Aufgabe benötigte Zeit wird wiederum gestoppt.

2.4 Versuchsprotokoll

2.4.1 Somatosensorisch evozierte Potentiale (SEP)

Der N. medianus wurde mit dem peripheren Stimulator gereizt bis der Proband den Stimulus im Versorgungsgebiet des N. medianus spürte (sensorische Schwelle). Daraufhin wurde die Intensität des Stimulus verstärkt, bis eine Kontraktion des Zielmuskels sichtbar wurde (motorische Schwelle). SEPs wurden gemessen nach Stimulation des N. medianus mit einer Intensität von 150 Prozent der motorischen Schwelle. Mit einer Frequenz von 3Hz wurden 300 Stimuli abgegeben. Anschließend wurde aus den gemittelten sensorisch evozierten Potenzialen (SEP) die P14- und N20- Latenz ermittelt, indem die Zeitspanne bis zum jeweils deutlichsten positiven Ausschlag nach ungefähr 14ms, beziehungsweise bis zum deutlichsten negativen Ausschlag nach ungefähr 20ms gemessen wurde. Die P14- und N20-Amplituden wurden mit hauseigener Software berechnet. Des Weiteren wurde die Armlänge des Probanden gemessen, und zwar von der Position der Kathode des peripheren Stimulators bis zum siebten zervikalen Wirbelkörper (vertebra prominens).

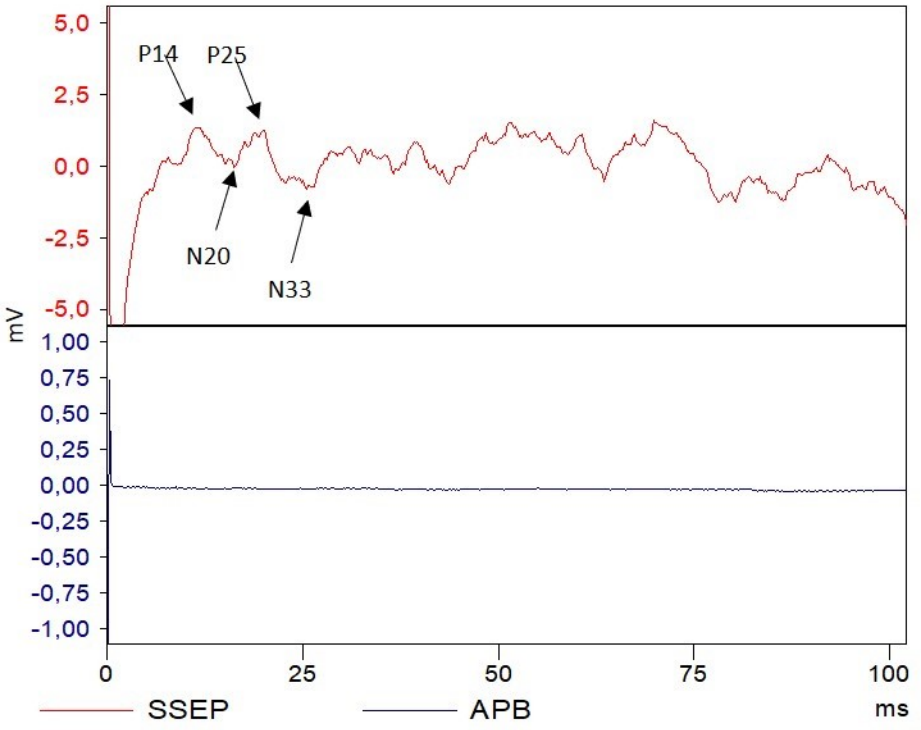

Abbildung 2: Somatosensorisch Evoziertes Potential (Kontrolle 11)
Messpunkte des Somatosensorischen Potentials mit positivem Ausschlag nach 14ms (P14) und 25ms (P25), sowie mit negativem Ausschlag nach 20ms (N20) und 33ms (N33)
SSEP: Somatosensorisch evoziertes Potential (SEP), APB: Musculus Abductor pollicis brevis, mV: Millivolt, ms: Millisekunde

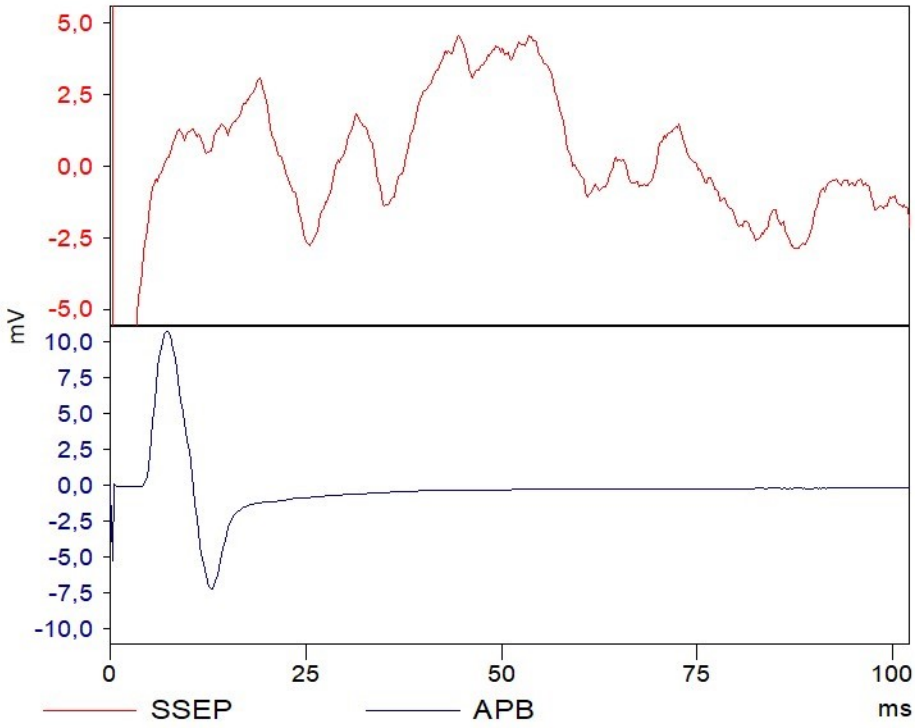

Abbildung 3: Sensorisch evoziertes Potential an 150% der motorischen Schwelle (Kontrolle 11)
SSEP: Somatosensorisch evoziertes Potential (SEP), APB: Musculus abductor pollicis brevis, mV: Millivolt, ms: Millisekunde

2.4.2 Long-Loop-Reflex

Die Reflexe wurden im kontrahierten rechten M. abductor pollicis brevis (APB) gemessen, indem der N. medianus wie bei 2.4.1 elektrisch am Handgelenk stimuliert wurde.

Die maximale elektromyographische Aktivität jedes Probanden wurde im Aufzeichnungsprogramm individuell auf 100 Prozent skaliert. Der Proband wurde dann aufgefordert mit ungefähr 20 Prozent seiner Maximalkraft auf eine harte Unterlage zu drücken. Erkennbar war dies durch die Prozentanzeige und einen grünen Balken im Computerprogramm. Die Stimulusintensität wurde bestimmt, indem Impulse in steigender Intensität abgegeben wurden, bis unter oben genannter Voraktivierung ein MEP mit einer Größe von 1mV erzeugt wurde. Mit dieser Intensität wurden dann 300 Stimuli mit einer Frequenz von 3Hz abgegeben. Aus den erhaltenen Kurven ermittelten wir die LLR I und LLR I Latenzen, die sich als zwei in Größe abnehmende positive Ausschläge darstellen, die dem MEP direkt folgen. Die LLR I und –II Amplituden wurden mit hauseigener Software berechnet. Ferner berechneten wir aus den erhaltenen Daten die H-Latenz und –Amplitude.

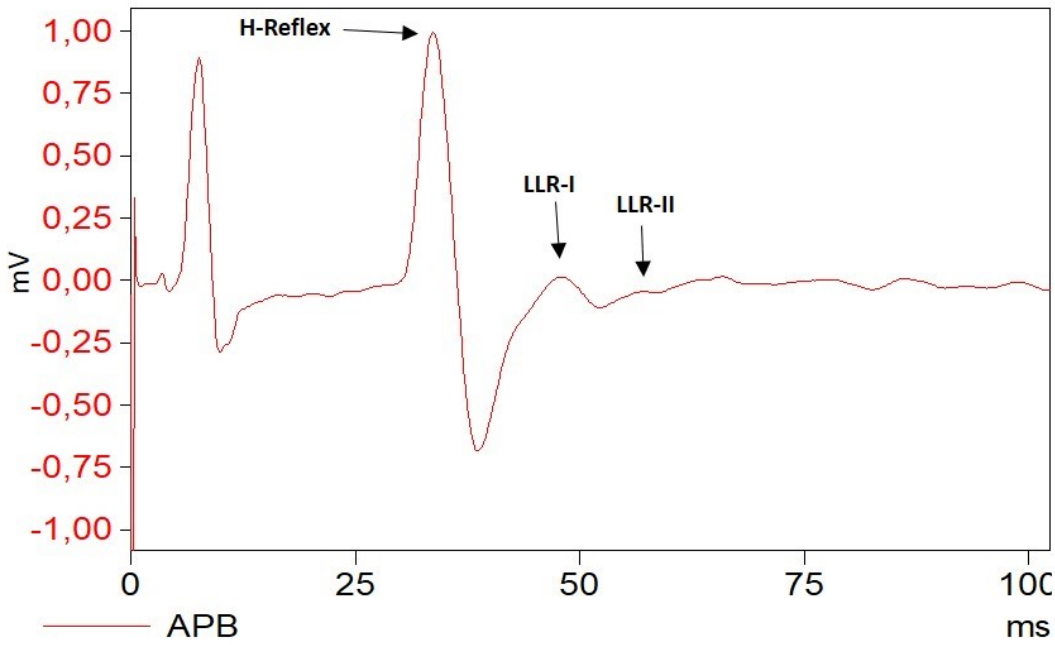

Abbildung 4: H-Reflex, Long-Loop-Reflex I (LLR-I) und II (LLR-II) (Prämanifest2)
APB: Musculus Abductor pollicis brevis, mV: Millivolt, ms: Millisekunde

2.4.3 Input-Output (I/O) an motorischer Schwelle mit Voraktivierung

Die input-output-Messung umfasste je 20 Stimuli mit der Intensität 125, 150 und 175 Prozent der aktiven Schwelle. Die Werte wurden von einem Programm randomisiert, kontinuierlich im Aufzeichnungsprogramm angezeigt und vor dem Auslösen des Stimulus manuell auf das TMS-Gerät übertragen. Während der gesamten Versuchszeit wurde der Proband instruiert, seinen APB mit visuellen feedback auf circa 20 Prozent seiner Maximalkraft zu kontrahieren. Errechnet wurden anschließend die Fläche unter der Kurve des MEPs und die Länge der *Cortical silent period* (CSP) der gemittelten Werte der drei Intensitäten. Ferner bildeten wir den Quotienten aus dem jeweiligen MEP und der dazugehörigen CSP.

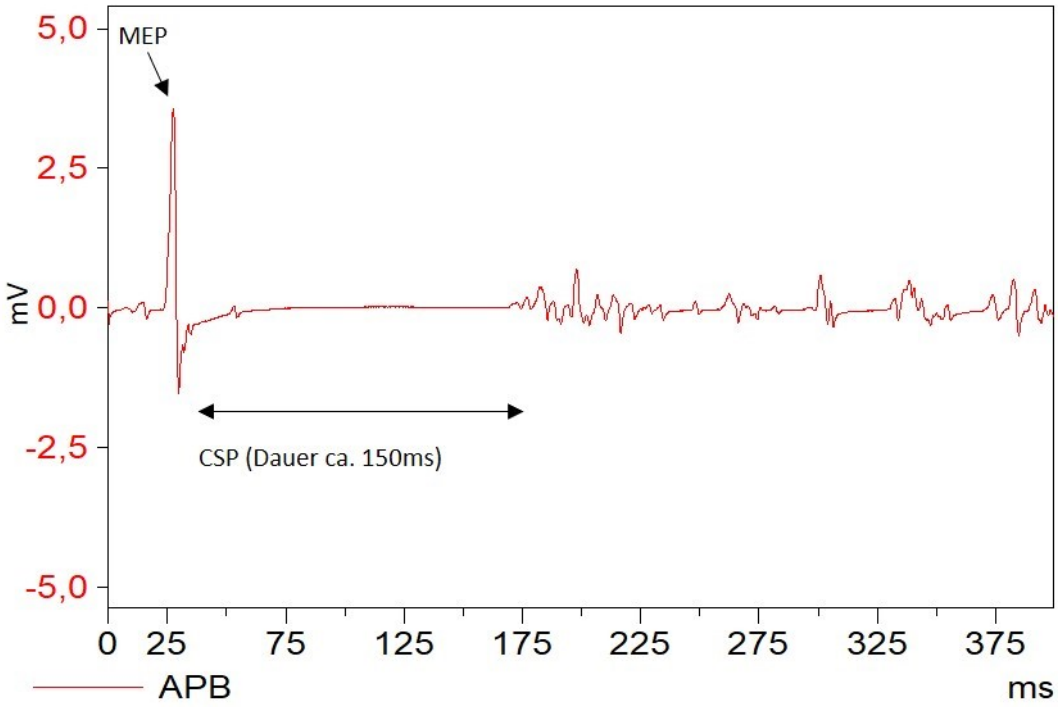

Abbildung 5: Motorisch evoziertes Potential (MEP) und Cortical silent Period (CSP) nach Voraktivierung (Kontrolle13) APB:Musculus Abductor pollicis brevis, mV: Millivolt, ms: Millisekunde

2.4.4 Input-Output an motorischer Schwelle in Ruhe

Das Computerprogramm errechnete aus der jeweiligen individuellen RMT den 110, 130, 150-prozentigen Wert und stellte jeweils 20 dieser Werte wieder in randomisierter Reihenfolge auf dem Bildschirm dar. Vor dem Auslösen des Stimulus wurden diese Werte manuell auf das TMS-Gerät übertragen. Da für alle Versuche in Ruhe ein maximal entspannter Muskel benötigt wurde, stellten wir einen Lautsprecher an, der Bewegungen an den Handelektroden hörbar machte. Aus den gemittelten Werten der 20 Messungen der drei Intensitäten errechneten wir die jeweilige Fläche unter der Kurve. Bei dem MEP nach 150-prozentiger Intensität der RMT ermittelten wir außerdem die Latenz des MEPs und die M-Latenz und -Amplitude.

2.4.5 Short latency sensory afferent inhibition (SAI) by somatosensory input from the median nerve

Bei diesem Versuch wurde zuerst mit der TMS am *Hot-Spot* eine Intensität gesucht, die im APB ein MEP von ca. 1mV *peak-to-peak* Amplitude erzeugte. Nun sollte der Einfluss eines

überschwelligen Reizes des N. medianus durch eine bipolare Elektrode zusammen mit einem TMS-Reiz auf das MEP untersucht werden. Dazu wurde wiederum erst einmal eine Stimulusintensität gesucht, mit der durch die periphere Elektrode im APB ein MEP von circa 1 mV erzeugt werden konnte. Der elektrische Stimulus ging der Hot-Spot-Stimulation durch die TMS voraus. Der genaue zeitliche Abstand bezog sich dabei auf die N20-Latenz des SEPs (siehe 2.4.1). Um inhibitorische Antworten zu erzielen ging den TMS-Pulsen ein peripherer Reiz mit einem Interstimulus-Intervall von N20+2 und N20+4 ms voraus, um fazilitierenden Antworten zu erreichen setzte der periphere Stimulus bei der individuellen N20+12 und N20+14 vor dem TMS-Puls ein. Insgesamt wurden von den vier errechneten Zeiten jeweils zehn elektrische Impulse mit folgender TMS-Stimulation abgegeben und 20-mal erfolgte nur der TMS-Reiz alleine. Die insgesamt 60 Impulse wurden über ein Programm in PsychoPy individuell randomisiert und über die Soundkarte des Computers abgegeben.
Errechnet wurden daraufhin die Fläche unter der Kurve der gemittelten, unkonditionierten SAI (TMS-Reiz ohne vorherige periphere Stimulation) und der SAI nach N20+2, N20+4, N20+12 und N20+14 ms. Außerdem wurde der Quotient aus den SAIs mit peripheren Stimuli und den unkonditionierten SAIs errechnet. Ferner berechneten wir die Inhibition (Mittelwert aus SAI mit N20+2 und +4ms), die maximale Inhibition (der jeweils niedrigere Wert der zwei Zeiten), die Fazilitierung (Mittelwert aus SAI mit N20+12 und +14 ms) und die maximale Fazilitierung (der jeweils niedrigere Wert der zwei Zeiten).

2.5 Datenanalyse und Statistische Auswertung

Erhobene Daten wurden dann mit einem Excel-Makro von 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) für die Weiterverarbeitung vorbereitet. Auch Mittelwerte und Standardabweichungen wurden mittels Excel 2013 berechnet. Um die Unterschiede zwischen den jeweiligen Gruppen hervorzuheben, wurden Boxplots mithilfe von GraphPad Prism 6, Version 6.01 erstellt (Graph Pad Software Inc., La Jolla, California, USA).
Für die statistische Analyse bildeten wir zwei Gruppen, eine prämanifeste Patientengruppe und eine gesunde Kontrollgruppe. Die Daten wurden zunächst mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung überprüft. Bei normverteilten Daten erfolgte eine

deskriptive statistische Analyse zur Bestimmung von Mittelwert und Standardabweichung. Zur Untersuchung von Unterschieden zwischen den Gruppen erfolgte eine univariate Varianzanalyse (ANOVA) mit den *fixed factors* Gruppe und Geschlecht, der untersuchten Variable als unabhängige Variable und den Kovariaten Alter und ggf. Armlänge (N20-Latenz, SEP P14-, SEP N20-Latenz, H-Latenz, LLR I-, II-Latenz) Wenn ein Haupteffekt vorlag, schloss sich ein post- hoc Test an, dessen p-Wert nach Bonferroni für multiple Vergleiche korrigiert wurde.

Alle statistischen Auswertungen erfolgten mit SPSS für Windows (Version 16). Als Signifikanzniveau wurde p=0.05 festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Parameter

3.1.1 Probanden

Für den Versuch wurden 11 Patienten (davon 9 Frauen) mit der molekularen Diagnose einer CAG-Repeat-Expansion und 13 gesunde Kontrollpersonen (davon 7 Frauen) rekrutiert

Die gesunde Kontrollgruppe hatte einen Altersdurchschnitt von 43,2 Jahren (Standardabweichung (SD)=12,7), wobei der jüngste Teilnehmer 24 und der älteste 60 Jahre alt war.

Der Altersdurchschnitt in der Gruppe der CAG-Repeat-Expansionsträger lag bei 39,5 (SD=11,8). Der jüngste Proband war 27 Jahre alt, der älteste 62. Die durchschnittliche CAG-Repeatlänge in dieser Gruppe betrug 40,3 (SD=1,6), der durchschnittliche Disease Burden Score 178,3 (SD=42,7) (Tabelle 1 und 2).

Tabelle 1: Demographische, Molekulare, Genetische und Klinische Daten der einzelnen Studienteilnehmer/-innen (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)

UHDRS: United Huntington Disease Rating Scale, TFC: Total functioning capacity, yto: years to (symptom) onset, n.e.:nicht erhoben, M: männlich, F: weiblich, CAG: Trinucleotid-Codon Cytosin-Adenin-Guanin

Gruppe	Alter	Geschlecht	CAG-repeat	Disease Burden	UHDRS Motor Score	yto	UHDRS TFC
Prämanifest 1	56	M	39	196	2	18,08	13
Prämanifest 2	62	M	39	217	5	13,85	13
Prämanifest 3	42	F	38	105	0	38,48	13
Prämanifest 4	29	F	39	101,5	2	43,34	13
Prämanifest 5	36	F	40	162	0	29,61	13
Prämanifest 6	32	F	42	208	0	22,64	13
Prämanifest 7	36	F	40	162	0	29,61	13
Prämanifest 8	51	F	40	229,5	9	16	13
Prämanifest 9	31	F	42	201,5	4	23,61	13
Prämanifest 10	32	F	41	176	2	27,67	13
Prämanifest 11	27	F	43	202,5	2	23,19	13
Kontrolle 1	57	M	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 2	52	F	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 3	51	F	n.e.	n.e.	1	n.e.	13
Kontrolle 4	60	F	n.e.	n.e.	3	n.e.	13
Kontrolle 5	45	M	n.e.	n.e.	2	n.e.	13
Kontrolle 6	50	M	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 7	46	F	n.e.	n.e.	2	n.e.	13
Kontrolle 8	24	F	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 9	25	F	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 10	29	M	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 11	47	M	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 12	26	F	n.e.	n.e.	0	n.e.	13
Kontrolle 13	50	M	n.e.	n.e.	0	n.e.	13

Tabelle 2: Demographische Daten, Mittelwerte (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
SD: Standardabweichung, yto: years to (symptom) onset, n.e.: nicht erhoben, CAG: Trinucleotid-Codon Cytosin-Adenin-Guanin, preHD: Huntingtin-Mutationsträgr vor Beginn motorischer Symptome

	Kontrollgruppe (n=13)		**preHD (n=11)**	
	Mittelwert	SD	Mittelwert	SD
Alter zu Untersuchungszeitpunkt (Jahre)	43,23	12,67	39,45	11,8
Bildungsniveau (Jahre)	16,58	2,87	13,22	3,03
Geschlecht (männlich/weiblich)	6/7		2/9	
CAG-Repeatlänge	n.e.		40,27	1,56
Disease Burden	n.e.		178,27	42,72
yto	n.e.		26,01	9,06

3.1.1 Klinischer Phänotyp nach UHDRS

Gemäß den Einschlussbedingungen für die Zuteilung in die prämanifeste Gruppe ließen sich bei preHD keine motorischen Zeichen der HD nachweisen. Bei Betrachtung des UHDRS-Motorscores fand sich passend dazu kein Unterschied zwischen der prämanifesten Gruppe und den gesunden Kontrollen. Auch der Functional Capacity Score (TFC), Function Assessment (FA) und Selbstständigkeit der UHDRS-Testpalette zeigten zwischen preHD und Kontrollen keine signifikanten Unterschiede.

Der Mittelwert des UHDRS-Motorscores lag in der Kontrollgruppe bei 0,62 (SD 1,04) und in der preHD Gruppe bei 2,36 (SD 2,77) (Abbildung 6). Dieser Unterschied war statistisch jedoch nicht signifikant.
Sowohl die Kontrollgruppe als auch die preHD Gruppe erreichten den vollen TFC (13, SD 0) und FA (25, SD 0) und gaben eine 100-prozentige Selbstständigkeit an.

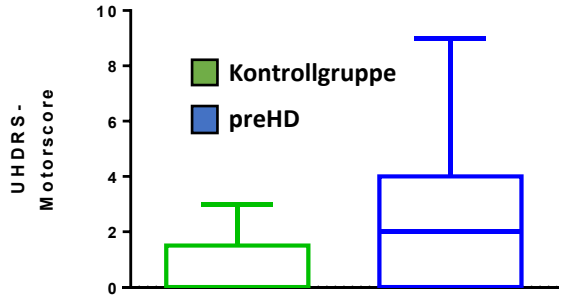

Abbildung 6: Vergleich der UHDRS-Motorscores
preHD (n=11) und Kontrollen (n=12). UHDRS: United Huntington Disease Rating Scale, preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)

3.1.2 Kognition nach UHDRS

Auch bei der Untersuchung der Kognition zeigte die prämanifeste Gruppe in keinem Test statistisch signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe (siehe Tabelle 3).
In der Kontrollgruppe standen bei Proband 6, 9 und 10 keine Werte der kognitiven Tests zur Verfügung.

3.1.2.1 Wortflüssigkeit

In der Kategorie „Wortflüssigkeit Tiere“ bildete die Kontrollgruppe im Mittel in einer Minute 25,4 (SD 6,72) richtige Wörter, die preHD Gruppe 22 (SD 3,66). In der Kategorie „Wortflüssigkeit Lexikalis“ bildete die Kontrollgruppe im Mittel in drei Minuten 45,4 (SD 16,1) richte Wörter und die preHD Gruppe im Mitte 41,55 (SD 7,57) richtige Wörter.

3.1.2.2 Trailmaking

Die Kontrollgruppe benötigte zur Beendigung des Trails A durchschnittlich 25,9 sec (SD 8,28) und die preHD Gruppe 23,2 sec (SD 7,55). Den Trail B löste die Kontrollgruppe durchschnittlich in 61,9 sec (SD 20,25) und die preHD Gruppe in 65,3 sec (SD 25,27).

3.1.2.3 Stroop

Alle Probandengruppen erzielten im Stroop-Lesen in 45min die meisten richtigen Punkte und im Stroop-Interferenz die wenigsten.

3.1.2.4 Symbol Digit Modalities Test

Im Symbol Digit Test gelangen der preHD Gruppe unter im Mittel 58,82 Symbol-Zahl Zuordnungen (SD 11,9) und den gesunden Kontrollen 57,2 (SD 11,26).

Tabelle 3: Die Ergebnisse der UHDRS-Testpalette (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014), SD:Standardabweichung, preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome, UHDRS: United Huntingon Disease Rating Scale

	Kontrollgruppe (n=10)		**preHD (n=11)**	
	Mittelwert	SD	Mittelwert	SD
Wortflüssigkeit Tiere	25,4	6,72	22,0	3,66
Wortflüssigkeit Lexikalis	45,4	16,1	41,55	7,57
Trail A	25,9	8,3	23,2	7,55
Trail B	61,9	20,25	65,3	25,27
Stroop-Farbe	80,5	9,03	77,09	14,69
Stroop-Lesen	108,7	17,1	98,64	24,84
Stroop-Interferenz	53,5	9,2	57,27	19,68
Symbol Digit	57,2	11,26	58,82	11,9

3.2 Elektrophysiologie

3.2.1 Motorschwellen in Ruhe und mit Voraktivierung

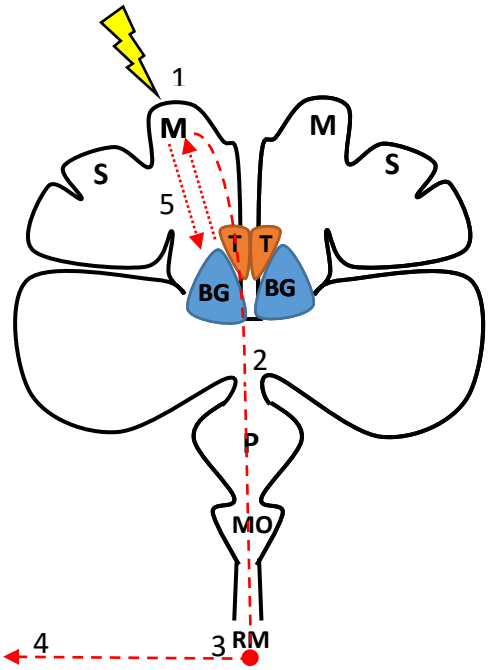

Abbildung 7: Schematische Darstellung der Weiterleitung eines zentralen motorischen Reizes (modifiziert nach Mayer, Orth 2014, Figure 1)
1: Transkranielle Magnetstimulation des Motorkortex, 2: Weiterleitung des Reizes über Pyramidenbahn, 3: Umschaltung des Reizes im Rückenmark, 4: Weiterleitung des Reizes via peripherer Nerven zum beteiligten Muskel, 5: Beeinflussung des Motorkortex über Striato-kortikale Verbindungen
M: Motorkortex, S: Somatosensibler Kortex, T: Thalamus, BG: Basalganglien, P: Pons, MO: Medulla Oblongata, RM: Rückenmark

Die mittlere Ruhemotorschwelle der Kontrollgruppe betrug 48,15 (SD 9,37), ähnliche Werte ergaben sich in der prämanifesten Gruppe (41,9 (SD 9,54)).

Wir untersuchten MEPs darauffolgend am leicht kontrahierten Muskel, da durch eine Voraktivierung eine erhöhte synaptische Erregbarkeit erreicht werden kann.

Bei Betrachtung der Motorschwellen nach Voraktivierung ist zwischen den Gruppen kein statistisch signifikanter Unterschied sichtbar. So betrug der durchschnittliche Wert in der Kontrollgruppe 35,15 (SD 8,61) und in der preHD Gruppe 35,36 (SD 10,6).

3.2.2 Rekruitment in Ruhe

Nach Stimulation des Motorkortex mit Intensitäten von 110-, 130 und 150 Prozent der Ruhemotorschwelle zeigte sich in beiden Versuchsgruppen ein deutlicher Anstieg der Amplitude des erzielten MEPs, ohne dass sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen nachweisen ließ.

Während die Amplitude für die Stärke des Reizes steht, der vom Motorkortex in Richtung periphere Handmuskeln geleitet wird, steht die Latenz des MEPs für die Dauer, die für die Reizweiterleitung benötigt wird.

Diese war nach Stimulation mit einer Intensität von 150 Prozent der RMT bei der Patientengruppe 11,9 (SD 11.39) und der Kontrollgruppe (8,78 (SD 6,29) (Abbildung 8).

In der prämanifesten Gruppe war der Wert der RMT, sowie MEP-Amplituden und -Latenz von Proband1 nicht messbar.

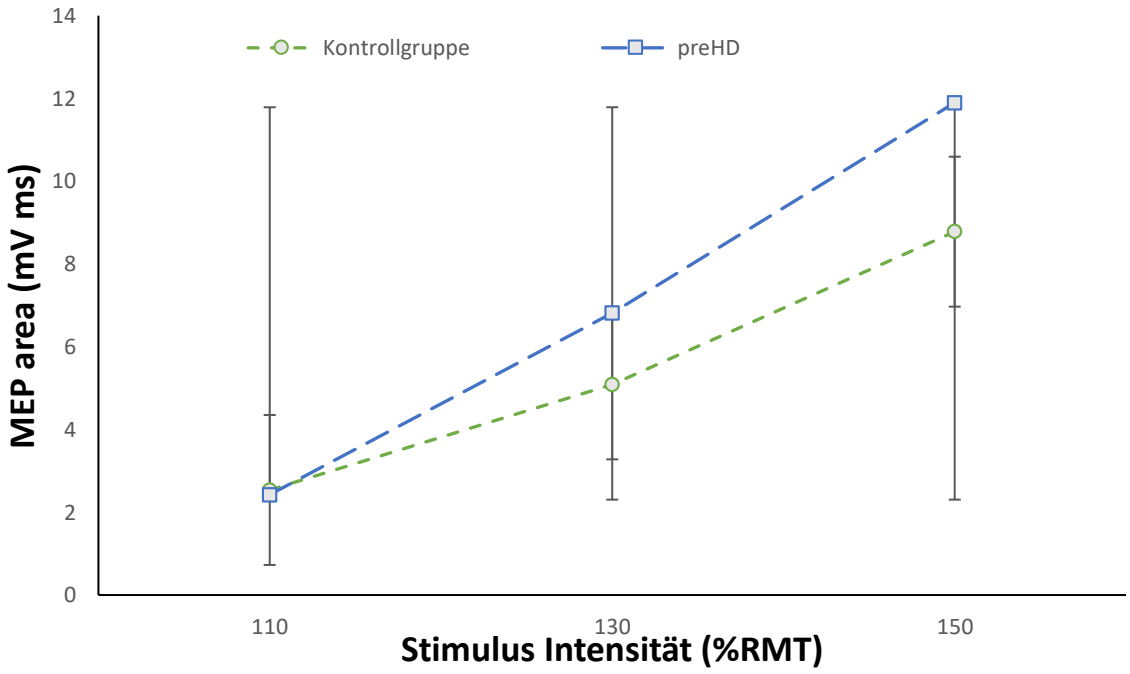

Abbildung 8: Motorisch evoziertes Potential(MEP)-Größe (area)
Motorisch Evozierte Potentiale wurden am musculus abductor pollicis brevis (APB) nach transkranieller Magnetstimulation des primären motorischen Kortex mit 110%, 130% oder 150% der Ruhemotorschwelle (RMT) aufgenommen. Dargestellt sind die jeweiligen Mittelwerte +/- Standardabweichung der MEP-Größe (Produkt aus milliVolt(mV) und millisenkunden(ms)) von preHD (n=10) und Kontrollen (n=13). (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
Pre-HD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome

3.2.3 Rekruitment nach Voraktivierung und Cortical Silent Periods

Auch am voraktivierten Muskel zeigte sich bei dem Rekruitment mit steigenden Reizintensitäten ein Anstieg der MEP-Amplituden, ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ließ sich allerdings nicht nachweisen (siehe Abbildung 9).

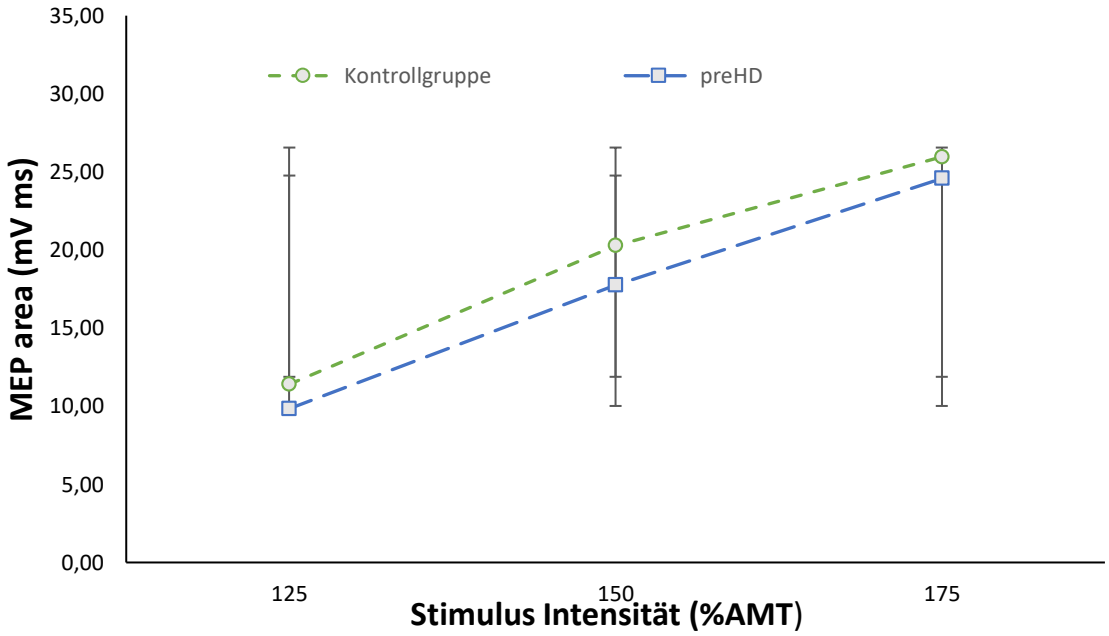

Abbildung 9: Motorisch evozierte Potential(MEP)-größe (area)
Aufgenommen am Musculus abductor pollicis brevis nach transkranieller Magnetstimulation des primären motorischen Kortex mit 125%, 150% oder 175% der aktiven Motorschwelle (AMT). Dargestellt sind die Mittelwerte +/- Standardabweichung der MEP-Größen (Produkt aus milliVolt(mV) und millisenkunden(ms)) von preHD (n=11) und Kontrollen (n=13). (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome

Die Cortical Silent Period (CSP) steht für die kurze Zeit der elektrischen Ruhe nach einem MEP. Sie entsteht nur bei einem evozierten Potential an einem Muskel, der voraktiviert ist. Die Länge der CSPs stieg mit zunehmender Intensität des überschwelligen Stimulationsreizes in beiden Gruppen an. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen konnte statistisch aber weder bei der absoluten Dauer der CSPs gefunden werden, noch dann, wenn die Dauer zu dem dazugehörigen MEP ins Verhältnis gesetzt wurde (siehe Abbildung 10 und 11).

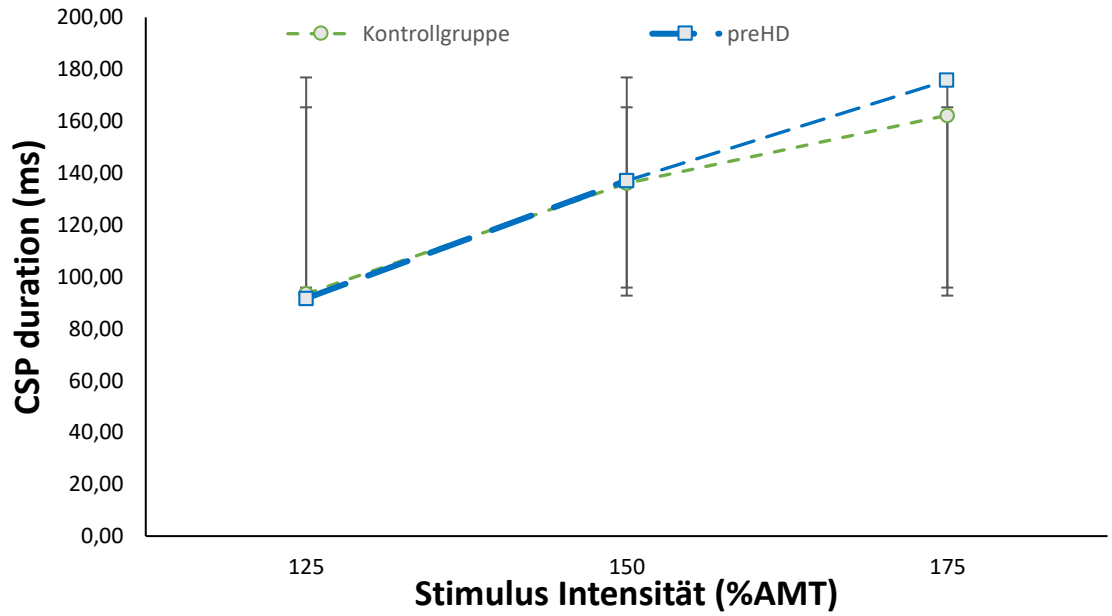

Abbildung 10: Mittelwerte +/- Standardabweichung der Längen der cortical silent periods (CSP) in millisekunden (ms) der zwei Versuchsgruppen (pre-HD (n=11), Kontrollen (n=13)), aufgenommen am aktiven Musculus abductor pollicis brevis nach transkranieller Magentstimulation des primären motorischen Kortex mit 125%, 150% oder 175% der aktiven Motorschwelle (AMT). (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome

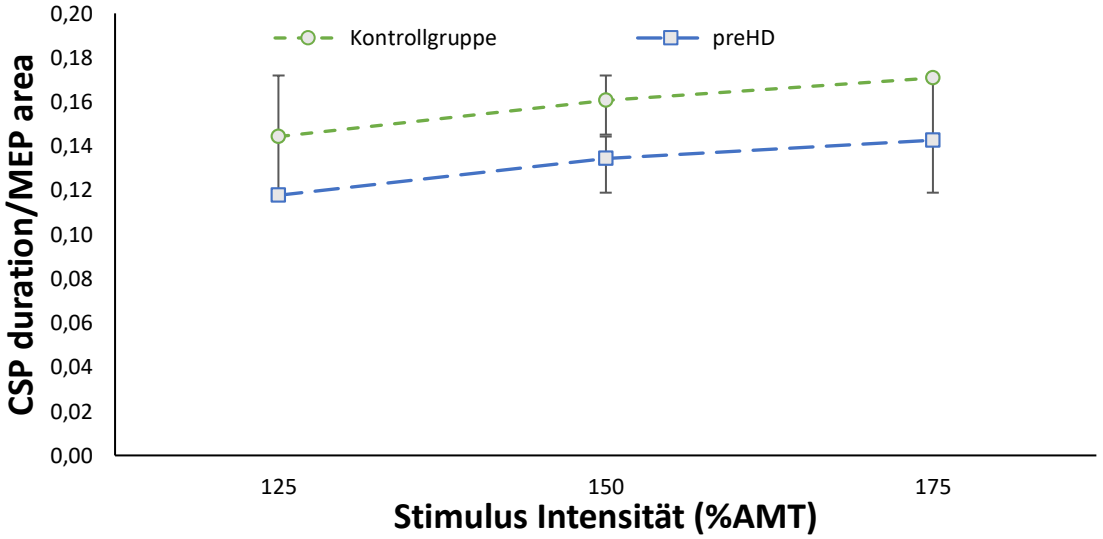

Abbildung 11: Mittelwerte (+/- SD) der Längen der cortical silent periods (CSP), aufgenommen am aktiven Musculus abductor pollicis nach transkranieller Magnetstimulation des primären motorischen Kortex mit 125%, 150% oder 175% der aktiven Motorschwelle (AMT) in Verhältnis zur jeweiligen Größe des motorisch evozierten Potenzials (MEP). (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome

3.2.2 Sensorisch Evozierte Potentiale: Amplituden und Latenzen

Ein SEP liefert Informationen darüber, wie schnell und effektiv ein peripher gesetzter Reiz an den somatosensiblen Kortex übermittelt wird. Um dies zu untersuchen ermittelten wir zunächst die SEP-Latenz, die als Maß für die Geschwindigkeit der Reizübertragung vom Handgelenk zum somatosensiblen Kortex dient

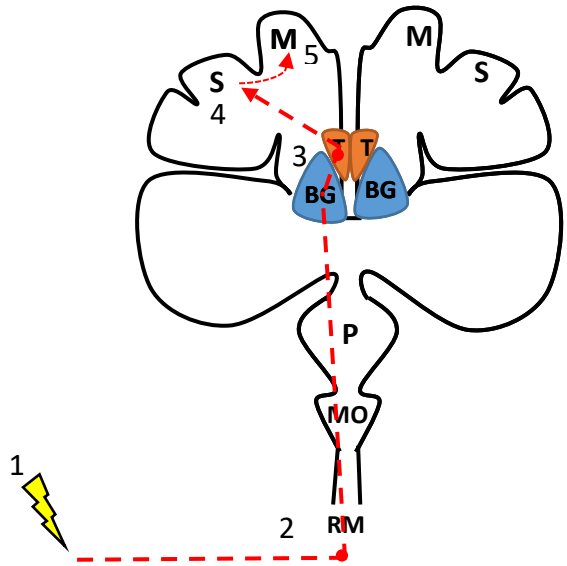

Abbildung 12: Schematische Darstellung der Weiterleitung eines peripheren sensiblen Reizes (modifiziert nach Mayer, Orth 2014, Figure 1)
1: Periphere Reizung des Nervus medianus, 2: Verschaltung im Rückenmark, Weiterleitung durch Zwischenhirn, 3: Verschaltung in Basalganglien und Thalamus 4: Erreichen des primären somatosensorischen Kortex 5: Eventuelle Beeinflussung auf folgende Bewegungsplanung
RM: Rückenmark, MO: Medulla Oblongata, P: Pons, BG: Basalganglien, T: Thalamus, S: Somatosensorischer Kortex, M: Motorischer Kortex

Die N20-Latenz an der 150-prozentigen Motorschwelle zeigte in der univariaten Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Sie setzte in der Kontrollgruppe durchschnittlich nach 19,84ms (SD 1,88) ein und bei preHD nach 19,49ms (SD 2,27). Auch die p14-Latenzen und -Amplituden an der 150-prozentigen Motorschwelle unterschieden sich bei den CAG-Repeat-Expansionsträgern nicht signifikant von den gesunden Kontrollen.

Ferner untersuchten wir die SEP-Amplituden, die Aussagen über die Effektivität der Reizübertragung möglich machen.

Der Mittelwert der N20/P25-Amplitude des SEPs betrug in der Kontrollgruppe 4,22mV (SD 1,61), in der prämanifesten Gruppe 3,27mV (SD 1,8). Dieser verminderte Wert in der prämanifesten Gruppe im Vergleich zu den Kontrollen war allerdings nicht statistisch signifikant (siehe Abbildung 13).

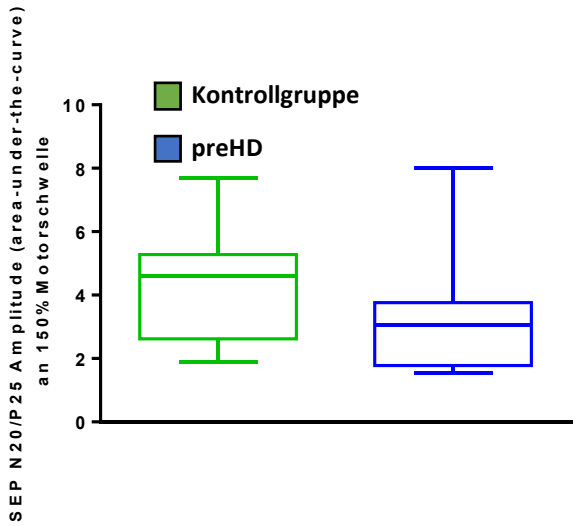

Abbildung 13: SEP N20/P25-Amplituden nach Stimulierung des Nervus medianus
Stimuliert wurde via transkranieller Magnetstimulation mit dem 150-prozentigen Wert der individuellen Ruhemotorschwelle. Auf der x-Achse ist die Probandengruppe (pre-HD (n=11)) und Kontrollgruppe (n=13) dargestellt. (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
SEP:Sensorisch evoziertes Potential, preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome

3.2.3 Long-Loop-Reflex (LLR), H-Reflex, M-Reflex

Beim LLR werden im Gegensatz zum SEP sowohl sensibel-afferente als auch motorisch efferente Bahnen untersucht. Zudem kontrahiert der Proband den APB und erhöht damit die Exzitabilität der Synapsen.

Der LLR I-Reflex setzte bei den gesunden Kontrollprobanden durchschnittlich nach 43,59ms (SD 3,88) ein und hatte eine mittlere Amplitude von 0,033mV (SD 0,05), ähnliche Werte boten die präsymptomatischen Patienten (Latenz 44,2ms (SD 3,54), Amplitude 0,041mV (SD 0,05)). Auch der LLR II-Reflex unterschied sich bei Genträgern und gesunden Kontrollen

kaum. Die Latenz lag bei den Gesunden bei 54,66ms (SD 6,28), die Amplitude bei 0,109mV (SD 0,06). Bei preHD betrug die Latenz 54,22ms (SD 4,49) und die Amplitude 0,111mV (SD 0,09).
In der prämanifesten Gruppe stand der LLR-II bei Proband 2 nicht zur Verfügung.

Um den peripheren Anteil der Schleife (Handgelenk bis Hinterwurzeleintritt) besser beurteilen zu können, untersuchten wir zudem den H-Reflex, der Folge der reflektorischen Erregung der efferenten α–Motoneurone ist.
Beim H-Reflex war die durchschnittliche Latenzzeit bei den CAG-Repeat-Expansionsträgern mit 27,27ms (SD 3,0) länger als bei den Kontrollen (26,44ms (SD 2,19)). Die Amplitude betrug bei preHD 0,6mV (SD 0,49) und bei der Kontrollgruppe 0,49mV (SD =0,34). Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte mittels one-way ANOVA aber weder für die Amplitude noch für die Latenz gefunden werden.
Die M-Antwort ist Ausdruck der direkten Erregung der motorischen Axone durch den elektrischen Reiz. Die Latenz der M-Antwort setzte bei der Kontrollgruppe nach 3,61ms (SD 0,86) ein und die Amplitude betrug im Mittel 2,01mV (SD 2,76). Bei preHD war die Latenzzeit etwas länger (4,9ms (SD 0,89) und die Amplitude etwas kleiner (0,89mV (SD 0,6)). Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte mittels one-way ANOVA jedoch auch hier nicht gezeigt werden.

Tabelle 4: Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) von SEP N20-Amplitude, SEP N20-Latenz, M-Latenz, H-Latenz, LLR I-Latenz, LLR II-Latenz (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
SEP=Sensorisch evoziertes Potential, N20=negativer Ausschlag nach ca. 20ms im Elektroenzephalogramm, LLR=Long-Loop-Reflex
preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome

	Kontrollgruppe (n=13)		**preHD (n=11)**	
	Mittelwert	SD	Mittelwert	SD
SEP N20-Amplitude (150% der Motorschwelle)	4,2173	1,60516866	3,26647545	1,80270288
SEP N20-Latenz (150% der Motorschwelle)	19,837	1,881997168	19,4875909	2,26821232
M-Latenz	3,609	0,862557534	4,93954545	2,13395789
H-Latenz	26,435	2,18679308	27,2679091	3,00479881
LLR I- Latenz	43,586	3,882243415	44,2011818	3,54431014
LLR II- Latenz	54,659	6,277964564	54,2153	4,49441434

3.1.3 Short- latency afferent inhibition (SAI)

Durch einen vorausgehenden peripheren Reiz (elektrischer Stimulus des N. medianus am Handgelenk) kann ein zentral ausgelöstes MEP (via TMS des Motorkortex) konditioniert werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchung liefern Informationen über die motorisch-sensorische Integration des Probanden.

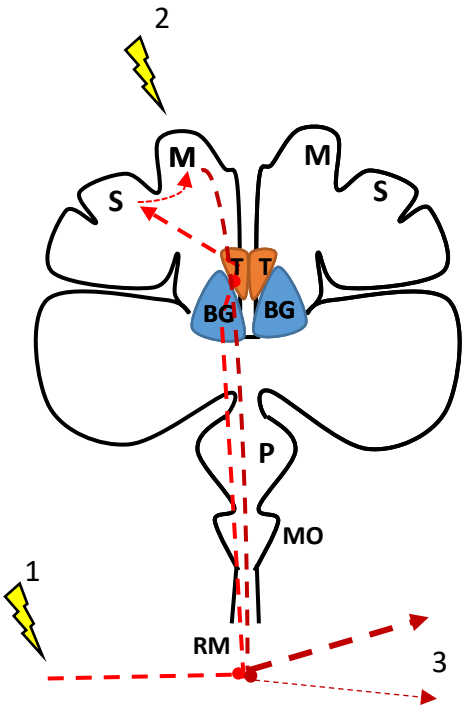

Abbildung 14: Schematische Darstellung der sensomotorischen Integration (modifiziert nach Mayer, Orth 2014, Figure 1)
1: Ein peripherer Reiz wird über somatosensorische Afferenzen zum Somatosensiblen Kortex geleitet, 2: Einige ms später folgt ein zentraler Reiz via transkranieller Magnetstimulation, 3: Das dadurch produzierte motorisch evozierte Potential kann verstärkt oder abgeschwächt werden
RM: Rückenmark, MO: Medulla Oblongata, P: Pons, BG: Basalganglien, T: Thalamus, S: Somatosensorischer Kortex, M: Motorischer Kortex

Die durchschnittliche Fläche unter der Kurve der SAI ohne peripheren Reiz (=unkonditioniert) war in der Kontrollgruppe mit 3,07 (SD 1,12) kleiner als in der preHD Gruppe (4,17 (SD 3,05)), dies hat jedoch keine statistische Signifikanz.

Indem der TMS-Reiz mit einem peripheren Stimulus, der je nach Protokoll und abhängig von der N20-Latenz der Probanden dem zentralen Reiz um einige ms vorausgeht, kombiniert wird, können überdauernde inhibitorische oder fazilitierende Effekte erzielt werden. Bei Betrachtung der Maximalwerte, die jeweils mit dem Protokoll für Inhibition (individuelle N20 +2 und +4ms), bzw. Fazilitierung (individuelle N20 +12 und +14ms) erreicht wurden, finden sich im Gruppenvergleich mittels one-way ANOVA keine signifikanten Unterschiede.

Die Inhibition und die Fazilitierung des MEPs zeigte bei den prämanifesten Probanden eine maximale Inhibtion von 64% (SD 34%) und eine maximale Fazilitierung von 151% (SD 76%)

Bei den Kontrollen imponierte eine maximale Inhibition von 55% (SD 17%) und eine maximale Fazilitierung von 169% (SD 102%) (Abbildung 15).

Keine Werte für die Auswertung des SAI-Protokolls standen aus der prämanifesten Gruppe von Proband 1 und aus der Kontrollgruppe von Proband 8 zur Verfügung.

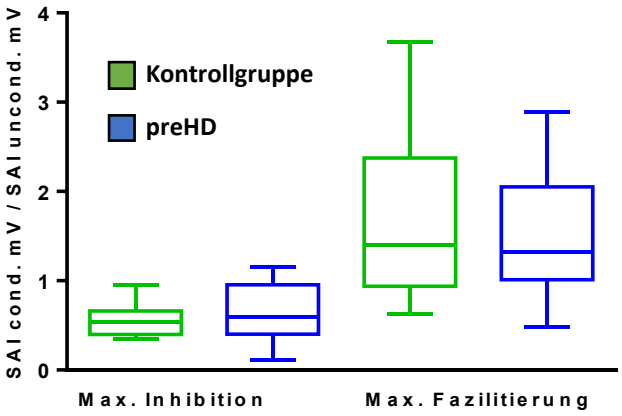

Abbildung 15: Maximalwerte des inhibitorischen bzw. fazilitierenden SAI-Protokolls
Um eine Inhibition zu erreichen wurde vor dem Reiz durch transkranielle Magnetstimulation der Nervus medianus am Handgelenk 2, bzw. 4 ms zuzüglich der individuellen N20-Latenz gereizt. Um eine Fazilitierung zu erreichen wurde vor dem TMS-Reiz der Nervus medianus am Handgelenk 12, bzw. 14 ms zuzüglich der individuellen N20-Latenz gereizt. Aus den erzielten Werten wurde die jeweils niedrigeren (max Inhibition), bzw. höheren (max Fazilitierung) herausgegriffen um die Maximalwerte zu erhalten. (pre-HD (n=10), Kontrollen (n=12)) (Universitätsklinikum Ulm, 2012-2014)
SAI: Sensory Afferent Inhibition, preHD: Huntingtin-Mutationsträger vor Beginn motorischer Symptome

4 Diskussion

In dieser Studie untersuchten und verglichen wir zwei Probandengruppen mit elektrophysiologischen Techniken und klinischen Tests: ein Kollektiv prämanifester Genmutationsträger mit 11 Teilnehmern und eine gesunde Kontrollgruppe mit 13 Teilnehmern.

Wir untersuchten prämanifeste HD-Patienten, die von ihrem errechneten motorischen Onset noch weit entfernt waren, mit einem breiten Spektrum elektrophysiologischer Untersuchungen sowie klinischen Tests der UHDRS. Wir konnten zeigten, dass diese prämanifeste Probandengruppe sowohl in funktionalen als auch kognitiven Tests in ihren Ergebnissen den gesunden Kontrollen glich.

4.1 Ergebnisse der prämanifesten Patienten

Nach statistischer Auswertung aller von uns untersuchten Parameter zeigte sich, dass die prämanifeste Probandengruppe bei keiner Untersuchung signifikante Unterschiede zu der gesunden Kontrollgruppe aufwies. Somit bestätigte sich unsere Hypothese, dass sich bei HD Patienten, die von ihrem motorischen Onset noch weit entfernt sind, keine elektrophysiologisch nachweisbaren Veränderungen der Funktion neuronaler Strukturen nachweisen lassen.

Es existieren nur wenige Studien über neurophysiologische Funktionen bei preHD und noch kleiner ist die Anzahl an Publikationen über Elektrophysiologie bei preHD mit nachgewiesener CAG-Repeat Expansion im *HTT*-Gen.
Studien, die vor Einführung des Gentests im Jahre 1993 durchgeführt wurden, berichten bei prämanifesten Probanden über erhöhte motorische Schwellenwerte (Meyer et al. 1992), verkürzte CSPs (Eisen et al. 1989) und verminderte SEP-Amplituden (Josiassen et al. 1982, Meyer et al. 1992, Kuwert et al. 1993). Diese Studien bezeichnen preHD-Probanden

allerdings als „at risk - first degree offsprings“. Sie sind also Kinder bereits manifester HD-Patienten und haben nur mit einer 50-prozentigen Wahrscheinlichkeit das pathologisch elongierte Allel geerbt. In den Probandengruppen befinden sich also mit Sicherheit auch nicht von HD-Betroffene und Studienergebnisse können deshalb nur unter Vorbehalt als Vergleichsstudien für diese Arbeit herangezogen werden.

Nur eine Handvoll Veröffentlichungen über elektrophysiologische Untersuchungen von prämanifesten HD-Patienten mit Nachweis der CAG-Repeat Expansion sind bis dato in der Literatur zu finden. Dennoch konnten dort in Bezug auf motorische Schwellen und Efferenzen einige Veränderungen in dieser Patientensubgruppe aufgezeigt werden. So zeigten Schippling und Mitarbeiter in ihrer Studie von 2009 über die Erregbarkeit des Motorkortex bei pre- und earlyHD, dass preHD, ebenso wie die manifeste Gruppe, höhere Ruhe- und Aktivmotorschwellen und eine flachere Recruitmentkurve in Ruhe aufwiesen als die Kontrollgruppe (Schippling et al. 2009), die SAI war dagegen nur in der manifesten Gruppe verändert. Auch reagierten sowohl pre- als auch earlyHD Patienten auf eine Stimulation mit rTMS mit stärkerer Inhibition als gesunde Kontrollen (Orth et al. 2009). SEPs wurden seit Gentesteinführung 1993 bei preHD nur einmal untersucht. Dort war die N20-Amplitude nach N. medianus Stimulation bei symptomatischen und asymptomatischen Patienten verkleinert, die N20-Latenz zeigte keine Unterschiede (Beniczky et al. 2002).

Diese Ergebnisse bei asymptomatischen HD-Patienten konnten wir in unserer Studie nicht replizieren. Ein Unterschied zu den genannten Studien könnte sein, dass wir Patienten mit einem weiter entfernten Onset wählten und zur Einteilung den Disease Burden Score nutzten. In unserer Studie imponiert eine durchschnittliche *years to onset* Dauer von 26 Jahren und ein mittlerer Disease Burden von 178, wobei ein Wert von unter 250 als Einschlusskriterium gewählt wurde. Einige prämanifeste Patienten aus oben zitierten Studien, welche nach dem Motorscore des UHDRS und *years to onset* nach Langbehn eingeteilt wurden, wären demnach bei uns nicht als „weit entfernt vom onset“ rekrutiert worden. Das Kollektiv der prämanifesten Gruppe hätte nach unseren Einteilungskriterien dann bei Schippling *et al.* und Orth *et al.* jeweils nur noch vier Teilnehmer. Auch bei Beniczky *et al.* befanden sich in der preHD-Gruppe nur fünf Teilnehmer. Mit elf Probanden ist unsere prämanifeste Gruppe also größer als in vorangegangenen Studien und Ergebnisse über asymptomatische Genträger sind aussagekräftiger.

Die Ergebnisse unserer Studien besagen, dass sich bei Trägern des mutierten *HTT*s, die sich sehr weit entfernt von ihrem errechneten Krankheitsbeginn befinden, keine elektrophysiologischen Veränderungen der neuronalen Funktion nachweisen lassen. Auch in kognitiven Tests fanden sich bei uns in der frühen präsymptomatischen Phase der HD keine signifikanten Unterschiede zu nicht von HD Betroffenen. Dies wird von vorausgegangenen Studien bestätigt, die erst konsequent Veränderungen nachweisen, wenn die Patienten sich circa zehn oder weniger Jahre vor ihrer motorischen Krankheitsmanifestation befinden. Auffälligkeiten sind bei preHD erst im Verlauf über 36 Monate detektierbar, wohingegen bei manifesten Patienten bereits innerhalb eines Zeitraums von zwölf Monaten signifikante Leistungsminderungen nachweisbar sind (Stout et al. 2012, Tabrizi et al. 2013b). Paulsen und Mitarbeiter wiesen dagegen auch in einer preHD-Gruppe, die weit vom Onset entfernt war eine progressive Verschlechterung im SDMT, Stroop und Trailmaking nach. Auch sie bestätigten jedoch, dass die von ihnen gewählten kognitiven Tests in fortgeschritteneren Stadien deutlichere Ergebnisse liefern. Dabei war der durchschnittliche Disease Burden in der dem Onset am weitesten entfernten Gruppe (sogenannte *low group* in Bezug auf die Wahrschlichkeit eines Motor Onsets innerhalb der nächsten fünf Jahre) mit 189 etwas höher als unserer, wohingegen mit einem Disease Burden von 271 in der *medium group* und 362 in der *high group* ein deutlicher Unterschied zu unserem durchschnittliche Disease Burden besteht (Paulsen et al. 2013). Aus den hier zitierten Studien wird jedoch deutlich, dass kognitive Tests sich am ehesten als Parameter im Rahmen von Verlaufsmessungen eignen.

In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl verschiedenster bildgebender Studien an prämanifesten HD-Patienten veröffentlicht. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen offenbaren diese oft eindeutige Veränderungen von Gehirnstruktur und -funktion in dieser Patientensubgruppe.

Diverse MRT-Longitudinalstudien zeigen eine progressive regionale Atrophie der grauen Substanz bei präsymptomatischen Genträgern, ohne dass diese gleichzeitig eine klinische Progression ihrer Symptome erleiden. Signifikanter Volumenverlust ist dabei laut Kipps *et al.* auf das bilaterale Putamen, Globus Pallidus externus, den linken Nukleus caudatus und die Region der Substantia Nigra beschränkt (Kipps et al. 2005). Andere fanden bei Prämanifesten Patienten im Gegensatz zu Gesunden eine höhere Atrophierate in Striatum

und zerebraler weißer Substanz, vor allem im Frontallappen (Aylward et al. 2004, Aylward et al. 2011), aber auch periventrikulär (Thieben et al. 2002). Mittels *Diffusion Tensor Imaging* (DTI) wurden bei preHD Veränderungen in der weißen Substanz des sensorimotorischen Kortex und im Corpus Callosum (Dumas et al. 2012, Crawford et al. 2013), ferner auch in Teilen der Capsula Interna und im Striatum sichtbar (Rosas et al. 2006). Nach Analyse von fMRT-Studien wird offensichtlich, dass bei preHD eine verminderte Aktivierung von Nucleus Caudatus und Thalamus zu finden ist (Paulsen et al. 2004b).
Bei Betrachtung der Probanden aus den preHD-Gruppen dieser Studien wird erneut deutlich, dass sie zwar präsymptomatisch waren, jedoch einen deutlich höheren Disease Burden Score hatten und sich näher an ihrem Onset befanden, als unsere Probanden. So findet man bei Rosas und Kollegen einen durchschnittlichen Disease Burden von 282 (Rosas et al. 2006), bei Crawford *et al.* einen Durchschnittwert von 292 (selbst in der von dem Onset weiter entfernten Gruppe noch 259) (Crawford et al. 2013) und in der Studie von Dumas *et al.* einen durchschnittlichen Disease Burden von 323. Analysiert man diejenigen Studien, in denen das präsymptomatische Patientenkollektiv noch einmal in *far from onset* und *near to onset* unterteilt wurde, wird unverkennbar klar, dass die meisten Veränderungen auftreten, wenn die Patienten sich ihrem motorischen Onset nähern. Bei far-from-onset-Probanden sind oft keine oder deutlich geringe Veränderungen gefunden worden. (Für eine ausführliche Zusammenfassung der Ergebnisse bildgebender Studien bei HD siehe zum Beispiel (Esmaeilzadeh et al. 2011))

Der Neurotransmitter Dopamin spielt eine wichtige Rolle im menschlichen Gehirn, unter anderem bei motorischen und höheren kognitiven Funktionen. Striatale Neuronen mit Dopamin-Rezeptoren, dabei vor allem das postsynaptische dopaminerge System, sollen am frühesten von Auswirkungen des mutierten Huntingtins betroffen sein (Reiner et al. 1988) (Albin et al. 1992, Hedreen et al. 1995, Cha et al. 1999).
Mittels PET-Studien kann die Dopamin-Rezeptor-Bindung quantifiziert werden. Diese zeigt schon bei far-from-onset-PreHD eine deutliche Abnahme, die im Laufe der Krankheit immer stärker wird. Man nimmt an, dass die Abnahme der Rezeptorbindung bereits 25 Jahre vor Auftreten quantifizierbarer Symptome in Positronenemissionstomographie (PET)-Studien visualisiert werden kann. Für far-from-onset-preHD wird diese Messung deshalb als bis dato geeignetste diskutiert (Van Oostrom et al. 2005). Auch ein striataler Hypometabolismus,

darstellbar zum Beispiel mittels PET-Messungen über die geringere Aufnahme markierter Glucose, scheint ein sehr früher Parameter der HD zu sein. Parallel zur Dopamin-Rezeptor-Bindung nimmt auch die Aktivität des Striatums mit Fortschreiten der Krankheit progressiv ab. Im Gegensatz dazu offenbart der Thalamus eine Aktivitätssteigerung, die ungefähr 15 bis 20 Jahre vor motorischem Krankheitsonset beginnt und in der Phase der Phänokonversion in eine Aktivitätsminderung umschlägt (Feigin et al. 2007).

Man nimmt an, dass dies ein Kompensationsmechanismus des Thalamus ist, der anfangs die bereits verringerte Funktion des Striatums auffängt. Es wird vermutet, dass nach einer Phase der erfolgreichen Kompensation, in der klinisch keine Auffälligkeiten nachweisbar sind, die Überaktivität des Thalamus seinen Höhepunkt erreicht hat und danach wieder sinkt. Zum Zeitpunkt der motorischen Manifestation der HD hat die Aktivität des Thalamus normale Level erreicht und sinkt nun progredient, während sich parallel kognitive und motorische Symptome zunehmend verstärken (Feigin et al. 2006, Feigin et al. 2007). Zudem wurde in fMRT-Sudien in Zeiteinschätzungs-Aufgaben bei Probanden, die weit entfernt von ihrem Onset waren, eine Hyperaktivierung von medialen präfrontalen Regionen (pars anterior des Gyrus Cinguli, prä/supplementär motorische Areale) nachgewiesen. Dies könnte eine verminderte Aktivierung subkortikaler Strukturen kompensieren (Paulsen et al. 2004a).

Diese Kompensationsmechanismen würde erklären, warum in der Bildgebung bereits Auffälligkeiten nachweisbar sind, die wir mit elektrophysiologischen Untersuchungen bei far-from-onset-preHD noch nicht finden konnten. Auch in der frühmanifesten Phase scheinen bildgebende Techniken weit mehr Auffälligkeiten aufzudecken als elektrophysiologisch messbar sind.

In der Bildgebung können einzelne Strukturen direkt untersucht werden, wohingegen mit elektrophysiologischen Techniken das Zusammenspiel mehrerer Strukturen und Leitungsbahnen dargestellt wird. Findet man zum Beispiel ein abgeschwächtes SEP kann man mit dieser Messung keine Aussage darüber machen, an welcher Stelle der periphere Reiz modifiziert wurde. Andererseits kann mittels Bildgebung nur gezeigt werden, dass ein bestimmter Teil eines Schaltkreises, zum Beispiel das Striatum, verändert ist. Ob dies auch Auswirkung auf die Funktionalität hat, bleibt ungewiss. Dies macht offensichtlich, wie wichtig es ist in Studien verschiedene Untersuchungen zu kombinieren.

Dies geschieht zum Beispiel in der größten bisher untersuchten prämanifesten HD-Kohorte im Rahmen der multizentrischen PREDICT-HD-Studie. Dort wurden bis dato 1013 preHD-Probanden, die abhängig von ihrer Entfernung zum errechneten Onset in drei Gruppen (über 12 Jahre, 12 bis 7 Jahre, weniger als 7 Jahre bis Motoronset) aufgeteilt worden sind, seit 2001 jährlich (kognitive, funktionale und psychiatrische Tests), beziehungsweise alle zwei Jahre (MRT-Messungen) untersucht. In dieser Studie wird deutlich, dass in der dem Onset nahen Gruppe in fast allen Testvariablen signifikante progrediente Veränderungen über die Zeit stattfanden. Am aussagekräftigsten sind dabei die Ergebnisse aus den MRT-Messungen, gefolgt vom Motorscore und den kognitiven Tests der UHDRS. Offenkundig ist aber auch, dass in der far-from-onset-Gruppe nur ein kleiner Teil der Tests signifikante Veränderungen aufzeigt. Dazu gehören zum Beispiel Volumenabnahme in Nucleus Caudatus, Putamen und grauer Substanz, eine Zunahme der Liquormenge und schlechtere Ergebnisse im Symbol Digit Modalities Test und in Teilen des Stroop- und TrailMaking-Tests (Paulsen et al. 2006, Paulsen et al. 2013).

Leider waren wie in einer Vielzahl der preHD-Studien auch in diesem Probandenkollektiv die meisten Patienten zwar präsymptomatisch, aber ein Großteil dem Onset zu nahe um die Ergebnisse mit unseren direkt vergleichen zu können und um Aussagen über die sehr frühe prämanifeste Phase der HD zu machen. Gleiches gilt für die multizentrische TRACK-HD-Longitudinalstudie, in der 123 HD-Patienten, 120 preHD-Patienten und gesunde Kontrollen jährlich mittels MRT kognitiven und motorischen Tests untersucht werden. Beide Patientengruppen wurden je nach Krankheitsprogress noch einmal in zwei Subgruppen aufgeteilt (preHD-A und –B, HD1 und -2). Auch hier werden bereits in der prämanifesten Phase Veränderungen nachgewiesen, doch selbst preHD-A hat bereits einen durchschnittlichen Disease Burden von 259, die gesamte preHD-Gruppe einen Disease Burden von 295 (im Gegensatz dazu hat unsere preHD-Gruppe einen db von 178) (Tabrizi et al. 2009, 2013b)).

So kann aus diesen großangelegten Longitudinalstudien einiges über den Verlauf der HD herausgefunden werden, Aussagen über die sehr frühe prämanifeste Phase der Krankheit lassen sich aber kaum machen. Leider waren in diesen Studien elektrophysiologische Messungen kein Bestandteil des Versuchsprotokolls, wenngleich longitudinale Ergebnisse in diesem Bereich sehr aufschlussreich wären.

4.2 Stärken und Schwächen dieser Studie

Mit einem mittleren Disease Burden Score von 178 bei den *HTT*-CAG-Repeat Expansions Merkmalsträgern haben wir ein Kollektiv, welches mit Sicherheit noch deutlich vom ihrem errechneten Krankheitsbeginn entfernt ist und klare Ergebnisse über die präsymptomatische Phase der HD liefern kann. Im Vergleich dazu befand sich bei vielen anderen Studien die Studienpopulation der preHD dem potentiellen Krankheitsbeginn viel näher. Unsere Messungen haben robuste, klare Werte geliefert, die eindeutige Aussagen zulassen. Auch war die Teilnehmerzahl in unserer preHD-Gruppe größer als in anderen Studien, so dass unsere Ergebnisse eine größere Aussagekraft haben.
Dennoch bleibt die Gruppengröße klein, vor allem in Anbetracht der Tatsache, dass selbst bei Gesunden die interindividuelle Streuung der Werte groß ist und dementsprechend eine größere Probandengruppe nötig wäre um diese Variabilität auszugleichen. Ferner muss der Tatsache Beachtung geschenkt werden, dass von den 11 Probanden unserer preHD-Gruppe 9 weiblich waren. Es existieren sowohl Studien mit HD-Patientengruppen als auch an Tiermodellen, die dem Geschlecht einen Einfluss auf Krankheitsonset, -progression und -ausprägung der HD zusprechen (Roos et al. 1991, Dorner et al. 2007, Bode et al. 2008). Als Grund dafür wird unter anderem die neuroprotektive Wirkung von Östrogenen angesehen (McCarthy 2008). Eine ausgewogene Geschlechterverteilung wäre deshalb für zukünftige Studien anzustreben.

4.3 Ausblick

Elektrophysiologische Techniken haben Potential als sensitive Biomaker für Beginn und Progression der HD zu fungieren und das Verständnis der Krankheit zu erweitern. Doch wenige bisher gefundene Ergebnisse konnten kontinuierlich repliziert werden, so dass die Generalisierbarkeit von Studien limitiert ist. Trotz Jahrzehnte langer Forschung wurden bislang weder für die Ausführung und Auswertung von Messungen noch für die Kriterien von Gruppenzuteilungen standardisierte Vorgehen festgelegt. Eine Vergleichbarkeit der Studien ist deshalb bis dato kaum gegeben. Ferner mindert die große interindividuelle Streuung, die bei neurophysiologischen Messungen generell auch bei Gesunden besteht,

und die oft kleine Teilnehmerzahl bei Studien ihre Aussagekraft. Dringend notwendig wäre eine großangelegte Longitudinalstudie, in der bereits etablierte elektrophysiologische Versuchsprotokolle angewendet werden. Bisher existieren davon nur zwei, die allerdings beide nur eine manifeste Patientengruppe untersuchen (Ehle et al. 1984, Lefaucheur et al. 2006). Die Studie sollte deshalb mehrere prämanifeste (z.B. sehr weit, weit vom Onset entfernt und nahe am Onset) und manifeste (z.B. frühmanifest und spätmanifest) Subgruppen haben. Wichtig wäre zudem ein Matching in Bezug auf Alter und Geschlecht. Als Vorbild könnten die bereits bestehenden weltweiten Longitudinalstudien wie PREDICT-HD (Paulsen et al. 2006, 2008, 2014) oder TRACK-HD (Tabrizi et al 2009, 2012, 2013) dienen. Eine weitere Limitation der Nutzbarkeit von Studien mit EEG/Evozierten Potentialen ist die Schwierigkeit, die exakten Ursprungsorte von ausgelösten Potentialen im Gehirn zu lokalisieren. Eine neue Möglichkeit dieses Problem zu lösen ist die Messung von evozierten Potentialen mittels EEG und die parallele Nutzung eines fMRI (Debener et al. 2005, Bregadze et al. 2006). Diese Methoden können genauere Informationen über die räumliche Lokalisierung betroffener Strukturen und die zeitliche Abfolge neuronaler Aktivität bei HD liefern. Das könnte unser Verständnis über Krankheitsmechanismen, die den Onset und die Progression bestimmen, verbessern.

Neben diversen Studien, die sich damit beschäftigen sensible Marker für die Phase der Phänokonversion und der Krankheitsprogression zu finden, gibt es mittlerweile auch einige Forschungsgruppen, die sich wie wir die Frage stellten, ob man einen Zeitpunkt finden kann, ab dem Veränderung bei HD-Patienten beginnen oder ob nicht bereits die neuronale Entwicklung in utero Auffälligkeiten offenbart.
Um dies herauszufinden muss der Untersuchungszeitpunkt von Trägern des mutierten *HTT*s immer weiter vorverlegt werden. Dies taten Nopoulos und Mitarbeiter in einer Studie von 2012, in der sie mittels MRT Gehirnstrukturen von Kindern, die das expandierte Triplett aufwiesen mit den MRT-Ergebnissen von nicht betroffenen Kindern verglichen. Dort zeigten sie, dass sowohl das globale intrakranielle Volumen und die Liquormenge, als auch regionale Strukturen wie das Putamen der betroffenen Kinder im Vergleich zu den gesunden Kontrollen verändert waren (Nopoulos et al. 2012). Studien an Kindern sind allerdings aus ethischen Gründen oft schwer zu rechtfertigen, zudem ist aufgrund der deutlich höheren interindividuellen Schwankungen, die bei Kindern im Rahmen der

Entwicklung physiologisch bestehen, eine sehr hohe Teilnehmerzahl notwendig, um aussagekräftige Ergebnisse zu produzieren. So wurde oben genannte Studie nur mit 20 betroffenen Kindern ausgeführt und lieferte zwar veränderte aber dennoch keine statistisch signifikanten Werte.

Unterstützt werden Überlegungen zu einer grundsätzlich veränderten Entwicklung neuronaler Strukturen bei Trägern des expandierten CAG-Repeats durch Studien über Huntingtin. Dem Wild-typ Huntingtin wird zum Beispiel im ZNS eine protektive Funktion gegenüber apoptotischen Stimuli nachgesagt (Rigamonti et al. 2000), ferner soll es bereits in der Phase der Neurulation eine wichtige Rolle spielen (Lo Sardo et al. 2012).

Es deutet also immer mehr darauf hin, dass die neuronale Entwicklung bei Trägern des mutierten elongierten HTTs schon seit Beginn anders verläuft als bei Gesunden. Doch scheint es eine lange Zeit der Kompensation zu geben, in der sich diese Unterschiede noch nicht klinisch offenbaren.

Die zunehmende Aufmerksamkeit, die von Ärzten und Wissenschaft auf die prämanifeste Patientengruppe gerichtet wird, kann dazu führen, dass die “pathologische” Phase der Krankheit immer weiter vorverlegt und verlängert und so die Stigmatisierung und die emotionale Last bei Betroffenen und Angehörigen verstärkt wird. Gleichzeitig bietet es aber auch die Chance, diese Krankheit besser zu verstehen und so die Patienten bestmöglich zu betreuen und den richtigen Zeitpunkt für eine wirksame Therapie zu finden.

5 Zusammenfassung

Chorea Huntington(HD) ist eine chronisch-progrediente neurodegenerative Erkrankung, die aufgrund eines pathologisch-elongierten Cytosin-Adenin-Guanin (CAG)-Repeats entsteht und autosomal-dominant vererbt wird. Sie wird im mittleren Lebensalter in Form von motorischen, kognitiven und psychiatrischen Störungen klinisch manifest und führt nach ca. 15 Jahren zum Tod. Interventionen zur Heilung oder Möglichkeiten die Krankheitsprogression zu mindern existieren bis dato nicht.

Aus vielen Studien ist bekannt, dass bereits vor der klinischen Manifestation strukturelle Veränderungen und kognitive Einbußen vorliegen. Ziel dieser Studie war es mithilfe von elektrophysiologischen Techniken sensomotorische Netzwerke von HD-Patienten im prämanifesten Stadium weit vom Krankheitsbeginn entfernt zu betrachten.

Insgesamt nahmen 11 prämanifeste CAG-Repeat-Expansions-Merkmalsträger und 13 gesunde Kontrollprobanden an der Studie teil. Wir untersuchten motorische Bahnen mittels transkortikaler Magnetstimulation des motorischen Kortex und sensorische Bahnen und Schaltkreise, indem wir den Nervus medianus peripher reizten und Antworten zentral über dem sensorischen Kortex mit Elektroenzephalografie-Elektroden ableiteten. Durch eine Kombination verschiedener Techniken konnten wir außerdem das Zusammenspiel verschiedener Reize analysieren. Ferner nahmen alle Probanden an verschiedenen kognitiven, funktionalen und motorischen Tests teil, die von der *United Huntingtons Disease Rating Scale* etabliert worden.

Bei den Trägern des expandierten CAGs konnten wir bei keiner Untersuchung einen statistisch signifikant veränderten Unterschied zu der Kontrollgruppe finden.

Elektrophysiologische Techniken bieten weitreichende Möglichkeiten das zentrale Nervensystem zu untersuchen und wurden in der HD-Forschung bereits vielfach angewandt. Unsere Studie macht deutlich, dass in der prämanifesten Phase der HD weit vom Krankheitsbeginn entfernt die Hirnfunktion in sensomotorischen Netzwerken im Vergleich zu gesunden Kontrollen nicht verändert ist. Dies spricht dafür, dass sich die Hirnfunktion bei Trägern des mutierten Huntingtin-Gens nicht von Kontrollen unterscheidet, wenn diese weit vom Krankheitsbeginn entfernt sind.

Eine großangelegte Longitudinalstudie, in der sowohl bildgebende- als auch elektrophysiologische Messungen durchgeführt werden, wäre nötig, um mehr über die frühe Phase der HD zu erfahren.

6 Literaturverzeichnis

1. Abbruzzese G, Berardelli A: Sensorimotor integration in movement disorders. Movement disorders, 18: 231-240 (2003)

2. Albin R L, Reiner A, Anderson K D, Dure IV L S, Handelin B, Balfour R, Whetsell J, W.O, Penney J B, Young A B: Preferential loss of striato-external pallidal projection neurons in presymptomatic Huntington's disease. Annals of Neurology, 31: 425-430 (1992)

3. Andrew S E, Goldberg Y P, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, Starr E, Squitieri F, Lin B, Kalchman M A, Graham R K, Hayden M R: The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. Nature Genetics, 4: 398-403 (1993)

4. Aron A R, Schlaghecken F, Fletcher P C, Bullmore E T, Eimer M, Barker R, Sahakian B J, Robbins T W: Inhibition of subliminally primed responses is mediated by the caudate and thalamus: Evidence from functional MRI and Huntington's disease. Brain, 126: 713-723 (2003)

5. Aylward E H: Change in MRI striatal volumes as a biomarker in preclinical Huntington's disease. Brain Research Bulletin, 72: 152-158 (2007)

6. Aylward E H, Nopoulos P C, Ross C A, Langbehn D R, Pierson R K, Mills J A, Johnson H J, Magnotta V A, Juhl A R, Paulsen J S: Longitudinal change in regional brain volumes in prodromal Huntington disease. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 82: 405-410 (2011)

7. Aylward E H, Sparks B F, Field K M, Yallapragada V, Shpritz B D, Rosenblatt A, Brandt J, Gourley L M, Liang K, Zhou H, Margolis R L, Ross C A: Onset and rate of striatal atrophy in preclinical Huntington disease. Neurology, 63: 66-72 (2004)

8. Bae B -, Xu H, Igarashi S, Fujimuro M, Agrawal N, Taya Y, Hayward S D, Moran T H, Montell C, Ross C A, Snyder S H, Sawa A: p53 mediates cellular dysfunction and behavioral abnormalities in Huntington's disease. Neuron, 47: 29-41 (2005)

9. Beniczky S, Keri S, Antal A, Jakab K, Nagy H, Benedek G, Janka Z, Vecsei L: Somatosensory evoked potentials correlate with genetics in Huntington's disease. Neuroreport, 13: 2295-2298 (2002)

10. Berrios G E, Wagle A C, Markova I S, Wagle S A, Rosser A, Hodges J R: Psychiatric symptoms in neurologically asymptomatic Huntington's disease gene carriers: A comparison with gene negative at risk subjects. Acta Psychiatrica Scandinavica, 105: 224-230 (2002)

11. Bhide P G, Day M, Sapp E, Schwarz C, Sheth A, Kim J, Young A B, Penney J, Golden J, Aronin N, DiFiglia M: Expression of normal and mutant huntingtin in the developing brain. Journal of Neuroscience, 16: 5523-5535 (1996)

12. Bode F J, Stephan M, Suhling H, Pabst R, Straub R H, Raber K A, Bonin M, Nguyen H P, Riess O, Bauer A, Sjoberg C, Petersen A, von Horsten S: Sex differences in a transgenic rat model of Huntington's disease: decreased 17beta-estradiol levels correlate with reduced numbers of DARPP32+ neurons in males. Human Molecular Genetics, 17: 2595-2609 (2008)

13. Bregadze N, Lavric A: ERP differences with vs. without concurrent fMRI. International Journal of Psychophysiology, 62: 54-59 (2006)

14. Byars J A, Beglinger L J, Moser D J, Gonzalez-Alegre P, Nopoulos P: Substance abuse may be a risk factor for earlier onset of Huntington disease. Journal of Neurology, 259: 1824-1831 (2012)

15. Carlozzi N E, Miciura A, Migliore N, Dayalu P: Understanding the Outcomes Measures used in Huntington Disease Pharmacological Trials: A Systematic Review. Journal of Huntington's disease, 3.3: 233-52 (2013)

16. Cepeda C, Starling A J, Wu N, Nguyen O K, Uzgil B, Soda T, Andre V M, Ariano M A, Levine M S: Increased GABAergic function in mouse models of Huntington's disease: Reversal by BDNF. Journal of Neuroscience Research, 78: 855-867 (2004)

17. Cha J - J: Transcriptional dysregulation in Huntington's disease. Trends in Neuroscience, 23: 387-392 (2000)

18. Cha J - J, Frey A S, Alsdorf S A, Kerner J A, Kosinski C M, Mangiarini L, Penney J, J.B, Davies S W, Bates G P, Young A B: Altered neurotransmitter receptor expression in transgenic mouse models of Huntington's disease. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 354: 981-989 (1999)

19. Conneally P M: Huntington disease: Genetics and epidemiology. American Journal of Human Genetics, 36: 506-526 (1984)

20. Crawford H E, Hobbs N Z, Keogh R, Langbehn D R, Frost C, Johnson H, Landwehrmeyer B, Reilmann R, Craufurd D, Stout J C, Durr A, Leavitt B R, Roos R A, Tabrizi S J, Scahill R I, TRACK-HD I: Corpus callosal atrophy in premanifest and early Huntington's disease. Journal of Huntington's disease, 2: 517-526 (2013)

21. Debener S, Ullsperger M, Siegel M, Fiehler K, von Cramon D Y, Engel A K: Trial-by-trial coupling of concurrent electroencephalogram and functional magnetic resonance imaging identifies the dynamics of performance monitoring. Journal of Neuroscience, 25: 11730-11737 (2005)

22. Deuschl G, Ludolph A, Schenck E, Lücking C: The relations between long-latency reflexes in hand muscles, somatosensory evoked potentials and transcranial stimulation of motor tracts. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section, 74: 425-430 (1989a)

23. Deuschl G, Michels R, Berardelli A, Schenk E, Inghilleri M, Lucking C H: Effects of electric and magnetic transcranial stimulation on long latency reflexes. Experimental Brain Research, 83: 403-410 (1991)

24. Di Lazzaro V, Pilato F, Dileone M, Tonali P A, Ziemann U: Dissociated effects of diazepam and lorazepam on short-latency afferent inhibition. The Journal of Physiology, 569: 315-323 (2005)

25. Dorner J L, Miller B R, Barton S J, Brock T J, Rebec G V: Sex differences in behavior and striatal ascorbate release in the 140 CAG knock-in mouse model of Huntington's disease. Behavioural Brain Research, 178: 90-97 (2007)

26. Duan W, Guo Z, Jiang H, Ladenheim B, Xu X, Cadet J L, Mattson M P: Paroxetine Retards Disease Onset and Progression in Huntingtin Mutant Mice. Annals of Neurology, 55: 590-594 (2004)

27. Dumas E M, Van Den Bogaard S J, Ruber M E, Reilman R R, Stout J C, Craufurd D, Hicks S L, Kennard C, Tabrizi S J, Van Buchem M A, Van Der Grond J, Roos R A: Early changes in white matter pathways of the sensorimotor cortex in premanifest Huntington's disease. Human Brain Mapping, 33: 203-212 (2012)

28. Ehle A L, Stewart R M, Lellelid N A, Leventhal N A: Evoked potentials in Huntington's disease. A comparative and longitudinal study. Archives of Neurology, 41: 379-382 (1984)

29. Eisen A, Bohlega S, Bloch M, Hayden M: Silent periods, long-latency reflexes and cortical MEPs in Huntington's disease and at-risk relatives. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 74: 444-449 (1989)

30. Esmaeilzadeh M, Ciarmiello A, Squitieri F: Seeking Brain Biomarkers for Preventive Therapy in Huntington Disease. CNS Neuroscience and Therapeutics, 17: 368-386 (2011)

31. Feigin A, Ghilardi M -, Huang C, Ma Y, Carbon M, Guttman M, Paulsen J S, Ghez C P, Eidelberg D: Preclinical Huntington's disease: Compensatory brain responses during learning. Annals of Neurology, 59: 53-59 (2006)

32. Feigin A, Tang C, Ma Y, Mattis P, Zgaljardic D, Guttman M, Paulsen J S, Dhawan V, Eidelberg D: Thalamic metabolism and symptom onset in preclinical Huntington's disease. Brain, 130: 2858-2867 (2007)

33. Freeman W, Morton A J: Regional and progressive changes in brain expression of complexin II in a mouse transgenic for the Huntington's Disease mutation. Brain Research Bulletin, 63: 45-55 (2004)

34. Gutekunst C, Norflus F, Hersch S: Gutekunst C, Norflus F, Hersch S. The neuropathology of Huntington's disease. In: Bates G, Harper P, Jones L Huntington's Disease. New York; Oxford University Press 2002: 251-275. (2002)

35. Hallett M, Berardelli A, Delwaide P, Freund H, Kimura J, Lücking C, Rothwell J, Shahani B, Yanagisawa N: Central EMG and tests of motor control. Report of an IFCN committee. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 90: 404-432 (1994)

36. Hedreen J C, Folstein S E: Early loss of neostriatal striosome neurons in Huntington's disease. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 54: 105-120 (1995)

37. Hickey M A, Chesselet M -: Apoptosis in Huntington's disease. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 27: 255-265 (2003)

38. Inghilleri M, Berardelli A, Cruccu G, Manfredi M: Silent period evoked by transcranial stimulation of the human cortex and cervicomedullary junction. Journal of Physiology, 466: 521-534 (1993)

39. Josiassen R C, Shagass C, Mancall E L, Roemer R A: Somatosensory evoked potentials in Huntington's disease. Electroencephalography Clinical Neurophysiology, 54: 483-493 (1982)

40. Kipps C M, Duggins A J, Mahant N, Gomes L, Ashburner J, McCusker E A: Progression of structural neuropathology in preclinical Huntington's disease: A tensor based morphometry study. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 76: 650-655 (2005)

41. Kirkwood S C, Siemers E, Hodes M E, Conneally P M, Christian J C, Foroud T: Subtle changes among presymptomatic carriers of the Huntington's disease gene. Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry, 69: 773-779 (2000)

42. Kirkwood S C, Siemers E, Stout J C, Hodes M E, Conneally P M, Christian J C, Foroud T: Longitudinal cognitive and motor changes among presymptomatic Huntington disease gene carriers. Archives of Neurology, 56: 563-568 (1999)

43. Kremer H, Hungtington Study Group: Unified Huntington's disease rating scale: reliability and consistency. Movement disorders 11: 136-142 (1996a)

44. Kuwert T, Noth J, Scholz D, Schwarz M, Lange H W, Topper R, Herzog H, Aulich A, Feinendegen L E: Comparison of somatosensory evoked potentials with striatal glucose consumption measured by positron emission tomography in the early diagnosis of Huntington's disease. Movement Disorders, 8: 98-106 (1993)

45. Langbehn D R, Brinkman R R, Falush D, Paulsen J S, Hayden M R: A new model for prediction of the age of onset and penetrance for Huntington's disease based on CAG length. Clinical Genetics, 65: 267-277 (2004)

46. Lefaucheur J -, Menard-Lefaucheur I, Maison P, Baudic S, Cesaro P, Peschanski M, Bachoud-Levi A -: Electrophysiological deterioration over time in patients with Huntington's disease. Movement Disorders, 21: 1350-1354 (2006)

47. Lemiere J, Decruyenaere M, Evers-Kiebooms G, Vandenbussche E, Dom R: Cognitive changes in patients with Huntington's disease (HD) and asymptomatic carriers of the HD mutation: A longitudinal follow-up study. Journal of Neurology, 251: 935-942 (2004)

48. Lo Sardo V, Zuccato C, Gaudenzi G, Vitali B, Ramos C, Tartari M, Myre M A, Walker J A, Pistocchi A, Conti L, Valenza M, Drung B, Schmidt B, Gusella J, Zeitlin S, Cotelli F, Cattaneo E: An evolutionary recent neuroepithelial cell adhesion function of huntingtin implicates ADAM10-Ncadherin. Nature Neuroscience, 15: 713-721 (2012)

49. Lorenzano C, Dinapoli L, Gilio F, Suppa A, Bagnato S, Curra A, Inghilleri M, Berardelli A: Motor cortical excitability studied with repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with Huntington's disease. Clinical Neurophysiology, 117: 1677-1681 (2006)

50. Luck S J: An introduction to the event-related potential technique. MIT Press, MA, USA (2005)

51. MacDonald M E, Ambrose C M, Duyao M P, Myers R H, Lin C, Srinidhi L, Barnes G, Taylor S A, James M, Groot N, MacFarlane H, Jenkins B, Anderson M A, Wexler N S, Gusella J F, Bates G P, Baxendale S, Hummerich H, Kirby S: A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. Cell, 72: 971-983 (1993)

52. Mahant, N., McCusker, E. A., Byth, K., Graham, S., & Huntington Study Group: Huntington's disease Clinical correlates of disability and progression. Neurology, 61(8), 1085-1092 (2003)

53. Mayer, I. M. S., & Orth, M.: Neurophysiology in Huntington's disease: an update. Neurodegenerative Disease Managment Journal. 4(2), 155-164 (2014)

54. McCarthy M M: Estradiol and the developing brain. Physiology Review, 88: 91-124 (2008)

55. Mende-Mueller L M, Toneff T, Hwang S -, Chesselet M -, Hook V Y H: Tissue-specific proteolysis of huntingtin (htt) in human brain: Evidence of enhanced levels of N- and C-terminal htt fragments in Huntington's disease striatum. Journal of Neuroscience, 21: 1830-1837 (2001)

56. Meyer B -, Noth J, Lange H W, Bischoff C, Machetanz J, Weindl A, Roricht S, Benecke R, Conrad B: Motor responses evoked by magnetic brain stimulation in Huntington's disease. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology - Electromyography and Motor Control, 85: 197-208 (1992)

57. Michels R, Wessel K, Klohn S, Kompf D: Long-latency reflexes, somatosensory evoked potentials and transcranial magnetic stimulation: Relation of the three methods in

multiple sclerosis. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology - Electromyography and Motor Control, 89: 235-241 (1993)

58. Modugno N, Curra A, Giovannelli M, Priori A, Squitieri F, Ruggieri S, Manfredi M, Berardelli A: The prolonged cortical silent period in patients with Huntington's disease. Clinical Neurophysiology, 112: 1470-1474 (2001)

59. Nardone R, Lochner P, Marth R, Ausserer H, Bratti A, Tezzon F: Abnormal intracortical facilitation in early-stage Huntington's disease. Clinical Neurophysiology, 118: 1149-1154 (2007)

60. Nopoulos, P. C., Aylward, E. H., Ross, C. A., Mills, J. A., Langbehn, D. R., Johnson, H. J., & Barker, R. A. Investigators PH, Coordinators of the Huntington Study G: Smaller intracranial volume in prodromal Huntington's disease: evidence for abnormal neurodevelopment. Brain, 134(Pt 1), 137-42 (2011).

61. Nopoulos P, Lee J, Paulsen J, Schlaggar B, Perlmutter J, Epping E, Mathews, K: Abnormal brain structure in gene-expanded children greater than estimated 30 years from onset. Neurotherapeutics, 9: 239 (2012.)

62. Noth J, Podoll K, Friedemann H H: Long-loop reflexes in small hand muscles studied in normal subjects and in patients with Huntington's disease. Brain, 108 (Pt 1): 65-80 (1985)

63. Orth M, Schippling S, Schneider S A, Talelli P, Tabrizi S J, Rothwell J C: Abnormal motor cortex plasticity in premanifest and very early manifest Huntington's disease. Clinical Genetics, 76: 63 (2009.)

64. Orth M, Schwenke C: Age-at-onset in Huntington disease. PLoS Currents 3, RRN1258 (2011)

65. Panov A V, Burke J R, Strittmatter W J, Greenamyre J T: In vitro effects of polyglutamine tracts on Ca2+ -dependent depolarization of rat and human mitochondria: Relevance to Huntington's disease. Archives of Biochemistry and Biophysics, 410: 1-6 (2003)

66. Paulsen J S, Hayden M, Stout J C, Langbehn D R, Aylward E, Ross C A, Guttman M, Nance M, Kieburtz K, Oakes D, Shoulson I, Kayson E, Johnson S, Penziner E: Preparing for preventive clinical trials: The predict-HD study. Archives of Neurology, 63: 883-890 (2006)

67. Paulsen J S, Langbehn D R, Stout J C, Aylward E, Ross C A, Nance M, Guttman M, Johnson S, MacDonald M, Beglinger L J, Duff K, Kayson E, Biglan K, Shoulson I, Oakes D, Hayden M: Detection of Huntington's disease decades before diagnosis: The Predict-HD study. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 79: 874-880 (2008)

68. Paulsen J S, Long J D, Johnson H J, Aylward E H, Ross C A, Williams J K, Nance M A, Erwin C J, Westervelt H J, Harrington D L, Bockholt H J, Zhang Y, McCusker E A, Chiu E M, Panegyres P K, Cross S, Ryan P, Epping E A, Preston J, Goh A, Antonopoulos S, Loi S, Raymond L, Decolongon J, Fan M, Coleman A, Mallone W M, Suter G, Varvaris M, Yoritomo N, Griffith J, Loy C, Gunn D, Guttman M, Sheinberg A, Law A, Quaid K, Wesson M, Wojcieszek J, Perlmutter J, Barton S, Smith S, Barker R A, Mason S, Guzman N V, Perlman S, Clemente B, Jones R, Wood-Siverio C, Factor S A, Samii A, Macaraeg A, Lee J, Tedesco M, Maxwell B, Kumar R, Erickson D, Nickels B, Marshall F, Chesire A, Wodarski M, Hickey C, Geschwind M D, Sha S, Satris G, Ahmed A, Reece C, Bura A, Mourany L, Mazzoni P, Wasserman P, Craufurd D, Bek J, Howard E, Warner T, Burrows M, Orth M, Susmuth S, Barth K, Trautmann S, Schwenk D, Eschenbach C, Wheelock V, Kjer L, Martin A, Farias S, Miedzybrodzka Z, Rae D, D'Alessandro M, Suchowersky O, Chua P, Komiti A, Rosas D, Rosser A, Price K, Hunt S, Jankovic J, Ondo W, Martin W, King P, Wieler M, Sran S, de Yebenes J G, Dubinsky R: Clinical and biomarker changes in premanifest Huntington disease show trial feasibility: A decade of the PREDICT-HD study. Frontiers in Aging Neuroscience, 6(APR) (2014)

69. Paulsen J S, Smith M M, Long J D, PREDICT HD investigators and Coordinators of the Huntington Study Group: Cognitive decline in prodromal Huntington Disease: implications for clinical trials. Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry, 84: 1233-1239 (2013)

70. Paulsen J S, Zimbelman J L, Hinton S C, Langbehn D R, Leveroni C L, Benjamin M L, Reynolds N C, Rao S M: fMRI biomarker of early neuronal dysfunction in

presymptomatic Huntington's Disease. American Journal of Neuroradiology, 25: 1715-1721 (2004a)

71. Paulsen J S, Zimbelman J L, Hinton S C, Langbehn D R, Leveroni C L, Benjamin M L, Reynolds N C, Rao S M: fMRI biomarker of early neuronal dysfunction in presymptomatic Huntington's Disease. American journal of neuroradiology, 25: 1715-1721 (2004b)

72. Penney J, J.B, Vonsattel J -, MacDonald M E, Gusella J F, Myers R H: CAG repeat number governs the development rate of pathology in huntington's disease. Annals of Neurology, 41: 689-692 (1997)

73. Priori A, Polidori L, Rona S, Manfredi M, Berardelli A: Spinal and cortical inhibition in Huntington's chorea. Movement Disorders, 15: 938-946 (2000)

74. Ranen N G, Stine O C, Abbott M H, Sherr M, Codori A -, Franz M L, Chao N I, Chung A S, Pleasant N, Callahan C, Kasch L M, Ghaffari M, Chase G A, Kazazian H H, Brandt J, Folstein S E, Ross C A: Anticipation and instability of IT-15 (CAG)(N) repeats in parent-offspring pairs with Huntington disease. American Journal of Human Genetics, 57: 593-602 (1995)

75. Rangone H, Humbert S, Saudou F: Huntington's disease: How does huntingtin, an anti-apoptotic protein, become toxic. Pathologie Biologie, 52: 338-342 (2004)

76. Reiner A, Albin R L, Anderson K D, D'Amato C J, Penney J B, Young A B: Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A., 85: 5733-5737 (1988)

77. Reis S A, Thompson M N, Lee J -, Fossale E, Kim H -, Liao J K, Moskowitz M A, Shaw S Y, Dong L, Haggarty S J, MacDonald M E, Seong I S: Striatal neurons expressing full-length mutant huntingtin exhibit decreased N-cadherin and altered neuritogenesis. Human Molecular Genetics, 20: 2344-2355 (2011)

78. Rigamonti D, Bauer J H, De-Fraja C, Conti L, Sipione S, Sciorati C, Clementi E, Hackam A, Hayden M R, Li Y, Cooper J K, Ross C A, Govoni S, Vincenz C, Cattaneo E: Wild-type

huntingtin protects from apoptosis upstream of caspase-3. Journal of Neuroscience, 20: 3705-3713 (2000)

79. Roos R A C, Vegter-van der Vlis M, Hermans J, Elshove H M, Moll A C, van de Kamp J J P, Bruyn G W: Age at onset in Huntington's disease: Effect of line of inheritance and patient's sex. Journal of Medical Genetics, 28: 515-519 (1991)

80. Rosas H D, Hevelone N D, Zaleta A K, Greve D N, Salat D H, Fischl B: Regional cortical thinning in preclinical Huntington disease and its relationship to cognition. Neurology, 65: 745-747 (2005)

81. Rosas H D, Tuch D S, Hevelone N D, Zaleta A K, Vangel M, Hersch S M, Salat D H: Diffusion tensor imaging in presymptomatic and early Huntington's disease: selective white matter pathology and its relationship to clinical measures. Movement Disorders, 21: 1317-1325 (2006)

82. Rosenblatt, A., Abbott, M. H., Gourley, L. M., Troncoso, J. C., Margolis, R. L., Brandt, J., & Ross, C. A.: Predictors of neuropathological severity in 100 patients with Huntington's disease. Annals of neurology, 54(4), 488-493 (2003)

83. Ross, C. A., Aylward, E. H., Wild, E. J., Langbehn, D. R., Long, J. D., Warner, J. H., & Tabrizi, S. J.: Huntington disease: natural history, biomarkers and prospects for therapeutics. Nature Reviews Neurology, 10(4), 204-216 (2014)

84. Rothwell J C, Hallett M, Berardelli A, Eisen A, Rossini P, Paulus W: Magnetic stimulation: motor evoked potentials. The International Federation of Clinical Neurophysiology. Electroencephalography and clinical neurophysiology.Supplement, 52: 97-103 (1999)

85. Rubinsztein D C, Leggo J, Coles R, Almqvist E, Biancalana V V, Cassiman J -, Chotai K, Connarty M, Craufurd D, Curtis A, Curtis D, Davidson M J, Differ A -, Dode C, Dodge A, Frontali M, Ranen N G, Stine O C, Sherr M: Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington disease (HD) gene reveals HD cases with 36 repeats and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. American Journal of Human Genetics, 59: 16-22 (1996)

86. Rubinzstein D C: Rubinsztein D C. Molecular biology of Huntington's disease (HD) and HD-like disorders. In: Pulst S Genetics of Movement Disorders. San Diego; Academic Press 2003: 365-377. (2003)

87. Sanchez-Pernaute R, Garcia-Segura J M, Del Barrio Alba A, Viano J, De Yebenes J G: Clinical correlation of striatal 1H MRS changes in Huntington's disease. Neurology, 53: 806-812 (1999)

88. Saudou F, Humbert S: The biology of Huntington's disease. Dimentias Handbook of Clinical Neurology, 89: 619-629 (2008)

89. Schippling S, Schneider S A, Bhatia K P, Munchau A, Rothwell J C, Tabrizi S J, Orth M: Abnormal Motor Cortex Excitability in Preclinical and Very Early Huntington's Disease. Biological Psychiatry, 65: 959-965 (2009)

90. Siesling S, van Vugt J P, Zwinderman K A, Kieburtz K, Roos R A: Unified Huntington's disease rating scale: a follow up. Movement disorders, 13: 915-919 (1998)

91. Silbert B I, Patterson H I, Pevcic D D, Windnagel K A, Thickbroom G W: A comparison of relative-frequency and threshold-hunting methods to determine stimulus intensity in transcranial magnetic stimulation. Clinical Neurophysiology 124.4: 708-712 (2013)

92. Stout J C, Jones R, Labuschagne I, O'Regan A M, Say M J, Dumas E M, Queller S, Justo D, Dar Santos R, Coleman A, Hart E P, Durr A, Leavitt B R, Roos R A, Langbehn D R, Tabrizi S J, Frost C: Evaluation of longitudinal 12 and 24 month cognitive outcomes in premanifest and early Huntington's disease. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 83: 687-694 (2012)

93. Swami M, Hendricks A E, Gillis T, Massood T, Mysore J, Myers R H, Wheeler V C: Somatic expansion of the Huntington's disease CAG repeat in the brain is associated with an earlier age of disease onset. Human Molecular Genetics, 18: 3039-3047 (2009)

94. Tabrizi S J, Langbehn D R, Leavitt B R, Roos R A, Durr A, Craufurd D, Kennard C, Hicks S L, Fox N C, Scahill R I, Borowsky B, Tobin A J, Rosas H D, Johnson H, Reilmann R, Landwehrmeyer B, Stout J C: Biological and clinical manifestations of Huntington's

disease in the longitudinal TRACK-HD study: cross-sectional analysis of baseline data. The Lancet Neurology, 8: 791-801 (2009)

95. Tabrizi S J, Scahill R I, Owen G, Durr A, Leavitt B R, Roos R A, Borowsky B, Landwehrmeyer B, Frost C, Johnson H, Craufurd D, Reilmann R, Stout J C, Langbehn D R: Predictors of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: Analysis of 36-month observational data. The Lancet Neurology, 12: 637-649 (2013a)

96. Tabrizi S J, Scahill R I, Owen G, Durr A, Leavitt B R, Roos R A, Borowsky B, Landwehrmeyer B, Frost C, Johnson H, Craufurd D, Reilmann R, Stout J C, Langbehn D R: Predictors of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 36-month observational data. The Lancet Neurology, 12: 637-649 (2013b)

97. Tegenthoff M, Vorgerd M, Juskowiak F, Roos V, Malin J -: Postexcitatory inhibition after transcranial magnetic single and double brain stimulation in Huntington's disease. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology - Electromyography and Motor Control, 101: 298-303 (1996)

98. Thieben M J, Duggins A J, Good C D, Gomes L, Mahant N, Richards F, McCusker E, Frackowiak R S J: The distribution of structural neuropathology in pre-clinical Huntington's disease. Brain, 125: 1815-1828 (2002)

99. Tokimura H, Di Lazzaro V, Tokimura Y, Oliviero A, Profice P, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell J C: Short latency inhibition of human hand motor cortex by somatosensory input from the hand. Journal of Physiology (London), 523: 503-513 (2000)

100. Topper R, Schwarz M, Podoll K, Domges F, Noth J: Absence of frontal somatosensory evoked potentials in Huntington's disease. Brain, 116: 87-101 (1993)

101. Van Duijn E, Kingma E M, Van Der Mast R C: Psychopathology in verified Huntington's disease gene carriers. Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience, 19: 441-448 (2007)

102. Van Oostrom J C H, Maguire R P, Verschuuren-Bemelmans C C, Veenma-Van Der Duin L, Pruim J, Roos R A C, Leenders K L: Striatal dopamine D2 receptors, metabolism, and volume in preclinical Huntington disease. Neurology, 65: 941-943 (2005)

103. Walker F O: Huntington's disease. Seminars in Neurology, 27: 143-150 (2007)

104. Wanker E, Droge A. Structural biology of Huntington's disease. In Bates G, Harper P, Jones L Huntington's Disease. New York; Oxford University Press 2002: 327-347. (2002)

105. Weeks R A, Piccini P, Harding A E, Brooks D J: Striatal D1 and D2 dopamine receptor loss in asymptomatic mutation carriers of Huntington's disease. Annals of Neurology, 40: 49-54 (1996)

106. Wexler N S, Lorimer J, Porter J, Gomez F, Moskowitz C, Shackell E, Marder K, Penchaszadeh G, Roberts S A, Gayan J, Brocklebank D, Cherny S S, Cardon L R, Gray J, Dlouhy S R, Wiktorski S, Hodes M E, Conneally P M, Penney J B, Gusella J, Cha J -, Irizarry M, Rosas D, Hersch S, Hollingsworth Z, MacDonald M, Young A B, Andresen J M, Housman D E, Mieja De Young M, Bonilla E, Stillings T, Negrette A, Snodgrass S R, Martinez-Jaurrieta M D, Ramos-Arroyo M A, Bickham J, Ramos J S, Marshall F, Shoulson I, Rey G J, Feigin A, Arnheim N, Acevedo-Cruz A, Acosta L, Alvir J, Fischbeck K, Thompson L M, Young A, Dure L, O'Brien C J, Paulsen J, Brickman A, Krch D, Peery S, Hogarth P, Higgins J, D.S, Landwehrmeyeri B: Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A., 101: 3498-3503 (2004)

107. Ziemann U, Corwell B und Cohen LG: Modulation of plasticity in human motor cortex after forearm ischemic nerve block. Journal of Neuroscience 18: 1115-1123 (1998)

108. Zimbelman J L, Paulsen J S, Mikos A, Reynolds N C, Hoffmann R G, Rao S M: fMRI detection of early neural dysfunction in preclinical Huntington's disease. Journal of the International Neuropsychological Society, 13: 758-769 (2007)

Teile dieser Dissertation wurden bereits in folgendem Fachartikel veröffentlicht:

Gorges, M. *et al.* Intact sensory-motor network structure and function in far from onset premanifest Huntington's disease. *Sci. Rep.* **7**, 43841; doi: 10.1038/srep43841 (2017).

Danksagungen

Die Danksagungen wurden aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.