

Aus der Klinik für Neurologie
(Direktor Prof. Dr. med. Günther Deuschl)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**DIE WIRKUNG VON 3,4-DIAMINOPYRIDIN
BEI PATIENTEN MIT ESSENTIELLEM TREMOR
(PLACEBOKONTROLLIERTE DOPPELT GEBLINDETE
CROSSOVER-STUDIE)**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

KAI HAGEN

aus Ankum

Kiel 2013

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. J. Volkmann

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Kabelitz

Tag der mündlichen Prüfung: 02.06.2014

Zum Druck genehmigt, Kiel den 25.03.2014

(gez. Prof. Dr. med. J. Roider, Vorsitzender des
Ausschusses für Promotion der Medizinischen
Fakultät der CAU Kiel)

gez.: Prof. Dr. med. K. Witt

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Die Ergebnisse der Studie wurden von der
„American Academy Of Neurology“
im Juni 2006 zur Veröffentlichung
angenommen.

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|--|-----------|
| 1. Einleitung | 1 |
| <u>1.1 Essentieller Tremor</u> | 1 |
| 1.1.1 Begriffsdefinition Tremor | 1 |
| 1.1.2 Klassifikation – Grundsätzliches | 1 |
| 1.1.3 Klassifikation der einzelnen Tremorarten unter klinischen Gesichtspunkten | 2 |
| 1.1.4 Epidemiologie | 6 |
| 1.1.5 Klinische Charakteristika | 6 |
| 1.1.6 Ätiologie und Genetik | 7 |
| 1.1.7 Therapie | 9 |
| 1.1.8 Pathophysiologische Konzepte | 13 |
| <u>1.2 3,4-Diaminopyridin</u> | 15 |
| 1.2.1 Pharmakologie | 15 |
| 1.2.2 Klinischer Einsatz | 16 |
| 1.2.3 Nebenwirkungen | 18 |
| 2. Fragestellung und Hypothesen | 18 |
| 3. Material und Methoden | 19 |
| <u>3.1 Patienten</u> | 19 |
| 3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien | 19 |
| <u>3.2 Versuchsablauf</u> | 21 |
| 3.2.1 Studienablauf, Verblindung, Randomisierung | 21 |
| 3.2.2 Blutentnahme und Weiterverarbeitung | 25 |
| 3.2.3 Instrumente (klinische Skalen, Tremoranalyse) | 26 |
| 3.2.3.1 Fahn-Tremor-Rating-Skala | 26 |
| 3.2.3.2 Bain-Skala | 28 |
| 3.2.3.3 Tremoranalyse | 28 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 3.2.4 | Rating | 29 |
| 3.3 | <u>Datenanalyse</u> | 29 |
| 3.3.1 | Datenbank | 29 |
| 3.3.2 | Statistische Methoden | 30 |
| 3.3.3 | Ethik-Votum und BfArM Genehmigung | 30 |
| 4. | Ergebnisse | 30 |
| 4.1 | <u>Rating</u> | 31 |
| 4.1.1 | Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala | 31 |
| 4.1.1.1 | Fahn TRS Teil A | 31 |
| 4.1.1.2 | Fahn TRS Teil B | 32 |
| 4.1.1.3 | Fahn TRS Teil A+B | 32 |
| 4.1.2 | Archimedes-Spiralen | 33 |
| 4.1.3 | Accelerometrie | 34 |
| 4.2 | <u>Selbsteinschätzung durch die Probanden</u> | 37 |
| 4.3 | <u>Unerwünschte Effekte</u> | 38 |
| 4.4 | <u>Plasmaspiegel</u> | 39 |
| 5. | Diskussion | 40 |
| 6. | Zusammenfassung | 44 |
| 7. | Literaturverzeichnis | 47 |
| 8. | Abkürzungsverzeichnis | |
| 9. | Anlage | |
| 10. | Danksagung | |
| 11. | Lebenslauf | |

1. Einleitung

1.1 Essentieller Tremor

1.1.1 Begriffsdefinition Tremor

Bei einem Tremor handelt es sich um eine unwillkürliche, rhythmische, oszillierende und annähernd amplitudengleiche Bewegung mindestens einer Körper-Region [1]. Es ist wahrscheinlich die häufigste Manifestation unter den neurologischen Bewegungsstörungen [2].

1.1.2 Klassifikation - Grundsätzliches:

Die einzelnen Tremorformen werden anhand von klinischen Kriterien unterschieden, neurologische Zusatzsymptome wie z.B. Spastik, Akinese, Dystonie erlauben eine weitere Einordnung in Syndrome [1] [2]. Zur Einteilung werden drei klinische Unterscheidungsmerkmale verwendet: **1.** Untersuchungs-/Aktivierungsbedingungen des Tremors. Hierbei ist eine klare Definition der verschiedenen Tremormanifestationen nötig, da es das wichtigste Kriterium ist [3]. **2.** Frequenz und **3.** Topische Verteilung des Tremors.

Zu 1.)

Ruhetremor: Diesen definiert man als Tremor, welcher in Ruhebedingung, also unter Ausschaltung der Schwerkraft und ohne Willküraktivität auftritt (im Liegen oder alternativ im Sitzen mit aufgelegten Armen untersucht). Die Tremoramplitude steigt unter mentaler Belastung an (z.B. Rückwärtszählen). Der Ruhetremor sistiert unter Willküraktivität. Als nächstes gibt es unterschiedliche Arten von Aktionstremores: Zum Testen des so genannten „Haltetremors“ wird eine tonische Halte-Aktivität gegen die Schwerkraft ausgeführt (Armvorhalteversuch). Der „Bewegungstremor“ (synonym: Kinetischer Tremor) zeigt sich bei jeder Art von Bewegung, meist geprüft durch Aktivitäten des alltäglichen Lebens wie z.B. eine Flüssigkeit in ein Glas schenken, umschenken oder ein Glas zum Mund führen. Der „Intentionstremor“

ist eine Sonderform des Aktionstremors, sichtbar in der Testung zielgerichteter Bewegungen und von einer Zunahme der Tremoramplitude bei Annäherung an ein Ziel gekennzeichnet (zur Darstellung lässt man den Patienten den sog. „Finger-Nase-Versuch“ ausführen). Es gibt noch weitere Sonderformen des Aktionstremors, die sich aufgabenspezifisch äußern (z.B. ein isolierter Tremor beim Schreiben, handwerklichen Tätigkeiten, beim Spielen von Musikinstrumenten bei Berufsmusikern etc.).

Zu 2.)

Bei der Tremorfrequenz unterscheidet man den niederfrequenten (grobschlägig) = < 4 Hz, vom mittelfrequenten = 4-7 Hz und hochfrequenten Bereich (feinschlägig) = > 7 Hz.

Zu 3.)

Die Topographie beschreibt welche Körperteile betroffen sind (Arme, Beine, Kopf, Rumpf, Stimme, etc.).

1.1.3 Klassifikation der einzelnen Tremorarten unter klinischen Gesichtspunkten:

Unter Berücksichtigung der o. g. Kriterien lassen sich folgende Tremor-Syndrome unterscheiden:

(A) Essentieller Tremor (ET):

Da weder Ätiologie noch Pathophysiologie des ET bislang ausreichend bekannt sind, erfolgt die Diagnosestellung und Klassifikation des ET bislang rein nach klinischen Diagnosekriterien. Ein häufig angewandtes Klassifikationsschema sind die Konsensuskriterien der Tremor Investigation Group (TRIG) der „Movement Disorder Society“ und deren Klassifikationschemata [4] [5]. Man unterscheidet dabei die Diagnosegruppen „definitiver“, „wahrscheinlicher“ und „möglicher“ Essentieller Tremor:

I. Klassischer (definitiver und wahrscheinlicher) Essentieller Tremor:

(a) Einschlusskriterien:

- Bilateraler Halte- und /oder Aktionstremor der Hände und Unterarme oder
- Isolierter Kopftremor ohne weitere Anzeichen einer Dystonie

(b) Ausschlusskriterien:

1. weitere pathologische neurologische Zeichen in der klinischen Untersuchung
2. in Anamnese kürzlich vorangegangenes Schädel-Hirn-Trauma welches dem Tremorbeginn vorausging
3. bekannte Ursachen für einen verstärkten physiologischen Tremor (Medikamente, Depression, Hyperthyreose, Angststörung)
4. in Anamnese und / oder klinischer Untersuchung deutliche Hinweise für psychogenen Tremor
5. plötzlicher Beginn, bzw. phasen-/schubweise Progression
6. isolierter positions-/aufgabenspezifischer Tremor, inkl. berufsbezogener Tremor und primärem Schreibtremor
7. primärer orthostatischer Tremor
8. isolierter Tremor von Stimme, Zunge, Kinn oder Beine

II. Möglicher Essentieller Tremor (Typ 1):

Patienten, die vormalig alle Kriterien eines definitiven oder wahrscheinlichen ET erfüllten, jetzt aber klinische Anzeichen einer weiteren neurologischen Krankheit haben (Morbus Parkinson, Dystonie, Myoklonien, Polyneuropathie, Restless Legs Syndrom) oder weitere neurologische Zeichen unklarer Signifikanz zeigen, welche nicht ausreichen eine sichere neurologische Diagnose zu stellen (z.B. milde extrapyramidale klinische Zeichen).

III. Möglicher Essentieller Tremor (Typ 2):

(a) Einschlusskriterien: Monosynaptischer und isolierter Tremor mit ungewisser Beziehung zum ET:

- isolierter positions-/aufgabenspezifischer Tremor, inkl. berufsbezogener Tremor und primärem Schreibtremor
- isolierter Tremor von Stimme, Zunge, Kinn oder Beine

(b) Ausschlusskriterien: Entsprechend Ausschlusskriterien unter I., jedoch nur Punkte 1.-4. und 6.

Nicht in den Diagnosekriterien erfasst, aber auch charakteristisch für den ET, sind eine Alkoholsensitivität des Tremors (d.h. eine Besserung des Tremors nach Einnahme einer geringen Menge Alkohol wie z.B. einem Glas Wein), eine familiäre Häufung von Tremor-Syndromen und der langsam progrediente Krankheitsverlauf. Für einen definitiven / wahrscheinlichen ET werden dabei mindestens 5 / 3 Jahre Krankheitsdauer vorausgesetzt.

(B) Verstärkter Physiologischer Tremor:

Der verstärkte physiologische Tremor ist von einer hohen Frequenz (7-12 Hz) und einem Auftreten unter Halte- und Aktionsbedingungen gekennzeichnet. Es gibt keine weiteren klinischen Anhalte für eine zugrunde liegende neurologische Erkrankung. Mögliche Ursachen sind externe Faktoren wie Kälteexposition, Angst, emotionale Anspannung, vermehrter Kaffeegenuss etc. Als weitere Ursachen kommen medikamentöse Nebenwirkungen oder metabolische Ursachen wie eine Hyperthyreose oder andere endokrine Funktionsstörungen in Betracht.

(C) Tremor bei Parkinson Erkrankungen:

Hierbei ist der Tremor eines der Kardinalsymptome neben der Akinese und dem Rigor. Typischerweise (in ca. 75% d. F.) imponiert er als Ruhetremor (klinisch meist als sog. „Pillendreher“-Tremor zu erkennen) [6]. Der Parkinsontremor

beginnt meist einseitig und es bleibt auch im weiteren Krankheitsverlauf meist eine Seitendifferenz bestehen. Er nimmt bei mentaler Anstrengung (z.B. lautes Rückwärtszählen) zu, bei Willkürbewegungen ab. Bei 40 bis 60% der Patienten tritt auch ein Halte-/Aktionstremor auf [6, 7], der niederfrequent (dann meist Frequenz des Ruhetremors, 5-6 Hz) oder höherfrequent sein kann. Der Haltetremor kann somit die Frequenz des Ruhe- oder Aktionstremors annehmen, vereinzelt kann er auch isoliert auftreten [4].

(D) Cerebellärer Tremor:

Dieser stellt sich klinisch als Intentionstremor dar, mit einer Frequenz um 2-4 Hz (abhängig jedoch von der betroffenen Körperregion). Der cerebelläre Tremor ist meist durch eine Funktionsstörung eines isolierten Areals, nämlich des Kleinhirns und/oder seiner zu-/abführenden Fasern bedingt. Ätiologisch sind die häufigsten Ursachen z.B. entzündliche Läsionen im Rahmen einer Encephalomyelitis disseminata, aber auch Läsionen im Rahmen anderer infektiöser traumatischer oder degenerativer Erkrankungen. Ein hochfrequenter, isometrischer, niedrigamplitudiger Haltetremor (z. T. auch ein Kopf- und Rumpftremor) können zusätzlich auftreten, wenn auch cerebelläre Strukturen in Mitleidenschaft gezogen wurden.

(E) Orthostatischer Tremor:

Dieser imponiert meist gar nicht als typischer Tremor, sondern wird von den Patienten als allgemeine Gangunsicherheit bezeichnet (z. T. mit Sturzneigung) und durch Anlehnen oder Aufstützen kompensiert. Dieser hochfrequente Tremor tritt nur im Stehen und Gehen auf, im Sitzen oder Liegen fällt er praktisch nicht auf. Diagnostiziert werden kann er durch eine Tremoranalyse mittels Oberflächen-EMG der Kniestreckmuskulatur, die Frequenz liegt dann zwischen 13 und 18 Hz.

(F) Dystoner Tremor:

Auch dystone Erkrankungen können mit einem Tremor einhergehen. Der dystone Tremor kann in jedem Bereich des Körpers auftreten, welcher von der Dystonie betroffen ist. Es handelt sich hierbei meist um fokale Tremores mit irregulärer Amplitude und variabler Frequenz (meist < 7 Hz; möglicherweise in Kombination mit Myoklonien), welche hauptsächlich unter Halte- und Bewegungsaktivierung auftreten, nicht jedoch in Ruhebedingung [8]. Eine häufige dystone Tremorform ist der dystone Kopftremor bei cervikaler Dystonie. Seltener ist der dystone Schreibtremor mit einer Frequenz von 5-7 Hz [9, 10]. Eine Differenzierung vom essentiellen Tremor kann bei den dystonen Tremorformen schwierig sein [4, 11, 12].

1.1.4 Epidemiologie

Die Angaben zur Prävalenz des ET schwanken, je nachdem welche Studie man zugrunde legt, zwischen 0,008 und 22 %. Dies kann jedoch auf eine Varianz von 0,41 bis 3,92 eingrenzt werden, insofern man nur Studien betrachtet welche gesicherte diagnostische Kriterien und eine Altersstratifikation verwendet haben [13, 14]. Die Prävalenz bei Menschen > 60 Jahre liegt zwischen 1,3 und 5,05% [15, 16]. Die Inzidenz ist bisher nicht hinreichend erfasst, jedoch ergab eine retrospektive (über einen Zeitraum von 45 Jahren zurückblickende) Studie eine altersabhängige Inzidenz von 17,5 Neuerkrankungen pro 100.000 pro Jahr [17], bzw. in einer weiteren Studie in einer Population > 65 Jahre 616 pro 100.000 pro Jahr [18].

1.1.5 Klinische Charakteristika

Obgleich der ET in jedem Alter auftreten kann, gibt es mit der 2. und 6. Lebensdekade zwei Altersgipfel für den Beginn der Erkrankung [19-23], eine Geschlechtsprädisposition ist nicht bekannt [14]. Der ET imponiert meist als Halte- und/oder Aktionstremor, z. T. auch als Intentions-, selten als Ruhetremor

[14, 23]. Ein Ruhetremor ist in diesen Fällen assoziiert mit einer längeren Krankheitsdauer und einer höheren Tremorintensität [24]. Grundsätzlich kann zwar jede Körperregion von dem Tremor betroffen sein, es zeigt sich aber eine unterschiedliche Häufung (obere Extremitäten: 94%; Kopf: 34%; untere Extremitäten: 20 %; Stimme: 12%; Gesicht: 5%) [22]. Die Frequenz des ET liegt normalerweise zwischen 4 und 12 Hz, wobei sie im Alter eher abnimmt [2], die Tremoramplitude dafür zunimmt [14]. Der ET kann zu einer erheblichen funktionellen Beeinträchtigung im Alltagsleben der Patienten führen (z.B.: beim Essen, Trinken, Sprechen, bei der Körperhygiene, etc.), was diese meist dann als stigmatisierend erleben [2, 14, 25]. Bis zu 15% der ET-Patienten werden aufgrund der Stärke des Tremors sogar vorzeitig berentet [22]. Im Vergleich zum ET liegt die Frequenz des Parkinsontremors bei 5-6 Hz, des (verstärkten) physiologischen Tremors bei 7 bis 12 Hz und des cerebellären Tremors bei 2-4 Hz [1, 4]. Auch charakteristisch für den ET ist eine Verbesserung des Tremors durch (meist schon sehr geringe Mengen, z.B. ein Glas Wein oder Bier) Alkohol [26]. Diese so genannte Alkoholsensitivität des Tremors liegt bei ca. 2/3 der Patienten vor [1]. Wie auch bei allen anderen Tremorformen ist eine Verstärkung des ET bei einer vermehrten Stressbelastung, z.B. Essen und Trinken in Gesellschaft, Prüfungssituationen zu beobachten. Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass neben dem Tremor weitere Symptome wie Gangstörungen [27], Augenbewegungsstörungen [28] sowie neuropsychologische Defizite und verlängerte Reaktionszeiten [29, 30] auftreten können.

1.1.6 Ätiologie/Genetik

Aufgrund der häufig positiven Familienanamnese ergab sich bereits frühzeitig die Hypothese, dass es sich bei der Erkrankung um eine erbliche Krankheit handeln könnte [23, 31]. Viele der Familien-Stammbäume deuten dabei auf einen autosomal-dominanten Vererbungsmodus hin. Eine vollständige Penetranz

der Erkrankung scheint erst im Alter von 65-70 Jahren erreicht zu werden. Die Anzahl sporadischer Erkrankungsfälle ist nicht sicher zu benennen. Anhand der derzeitigen klinischen Diagnosekriterien ergibt sich jedoch kein Unterschied zwischen den erblichen und sporadischen Erscheinungsformen [22]. Je nach Studie schwanken die Angaben zur familiären Disposition von 25% bis 60% [32-34]. Diese große Varianz könnte durch verschiedene Faktoren begründet sein: 1. Patienten sind frühzeitig verstorben, bevor sich Tremorsymptome manifestieren konnten. 2. Der ET als „Symptom“ wird von verschiedenen Patienten unterschiedlich wahrgenommen. 3. Eventuell betroffene Familienmitglieder sind nicht bekannt, da der Patient nie Kontakt zu diesen hatte. 4. Patienten verheimlichen Tremorsymptome oder nehmen das „Zittern“ anderer Familienmitglieder nicht wahr. Als weiteren Hinweis für eine hohe Heritabilität der Erkrankung ergab eine Zwillingsstudie eine signifikant höhere Konkordanz für die Erkrankung bei monozygoten im Vergleich zu dizygoten Zwillingen [35].

Bislang konnten drei Genloci durch familiäre Kopplungsanalysen identifiziert werden: 1. auf Chromosom 3q13 (ETM 1) [36], 2. auf Chromosom 2p22-25 (ETM 2) [37] und auf Chromosom 6p23 (ETM 3) [38]. Im Weiteren durchgeführte Assoziationsstudien ergaben 1. für den ETM 1 Locus eine Assoziation einer funktionellen Variante (Ser9Gly) im Dopamin D3 Rezeptor Gen (DRD3) mit ET bei europäischen und amerikanischen Patienten. Dabei zeigten die Gly 9-homozygoten Patienten eine höhere Tremorstärke und / oder ein jüngeres Alter bei Erkrankungsbeginn als die heterozygoten Patienten [39, 40]. 2. Im Bereich des ETM 2 Locus wurde eine Assoziation einer Mutation des "hematopoetic-specific 1 binding protein 3" (HS1-BP3), welches ein Gen für den Katecholamin- und Serotonin-Stoffwechsel von Motoneuronen und Purkinje-Zellen ist, in amerikanischen Patienten beschrieben [41, 42]. Welche funktionellen Konsequenzen dies hat ist jedoch noch unklar.

Eine erste genomweite Assoziationsstudie mit isländischen Patienten mit ET ergab eine Assoziation des LINGO-1 (Leucine rich repeat and Ig domain containing 1) –Gens mit ET [43]. LINGO-1 ist ein Protein, welches im zentralen Nervensystem exprimiert wird und als negativer Regulator der Oligodendrozytendifferenzierung und Axonmyelinisierung wirkt. Eine Inhibition von LINGO-1 fördert die axonale Regeneration, Re-Myelinisierung und das Überleben neuronaler Zellen [44].

1.1.7 Therapie

Bisher existiert eine rein symptomatische, jedoch keine kurative oder neuroprotektive Therapie [45, 46]. Man unterscheidet bei der medikamentösen Therapie Medikamente der 1., 2. und 3. Wahl:

Medikamente der 1. Wahl:

- (a) Propranolol: Dieser nicht selektive Beta-Blocker wird als erstes bei jüngeren Patienten ohne Kontraindikationen (AV-Block, Asthma bronchiale, Diabetes mellitus, andere Lungenerkrankungen, periphere Gefäßerkrankungen, etc.) eingesetzt [13]. 12 Klasse I Studien (in welchen vornehmlich der Extremitäten-Tremor untersucht wurde) haben gezeigt, dass Propranolol einen positiven Effekt auf den ET hat, mit einer Abnahme der Tremor-Amplitude bis zu 50% (Messung via Accelerometrie). Die Dosierungen lagen dabei zwischen 60-320 mg/die, in 9 der 12 Studien lag die mittlere Dosis bei 182,5 mg/die. Die in 12-66% der Fälle aufgetretenen Nebenwirkungen waren im wesentlichen Schwindel, Müdigkeit, erektile Dysfunktion und Bradykardie [46]. Zur Behandlung mit Propranolol retardiert gibt es eine Klasse I [47] und eine Klasse II [48] Studie, die ähnlich gut Effekte auf den ET darstellten.
- (b) Primidon: Dieses Antikonvulsivum aus der Klasse der Barbiturate kann man primär bei älteren ET-Patienten oder solchen, die Kontraindikationen

gegen Propranolol aufweisen, einsetzen [13]. 4 Klasse I Studien zeigten eine signifikante Besserung des ET von bis zu 50% (Messung via Accelerometrie) bei Dosen von 50-1000 mg/die, bei einer mittleren Dosis in 3 der Studien von 481,7 mg/die. Hierbei wurden wesentlich mehr Nebenwirkungen als bei Propranolol beschrieben, zu denen gehörten: Sedierung, Benommenheit, Müdigkeit, Übelkeit, Erbrechen, Ataxie, Schwindel, Verwirrung, bis hin zu toxischen Reaktionen [46]. Eine Klasse I Studie [49] zeigte, dass auch eine langsame Auftitrierung von Primidon die Verträglichkeit nicht verbesserte.

- (c) Die 3. Möglichkeit in der medikamentösen Therapie der 1. Wahl ist dann noch eine Kombination der beiden unter (a) und (b) beschriebenen Medikamente [13]. Hierzu gibt es jedoch keine doppel-blinden randomisierten Studien. In einer Studie zeigte jedoch die Kombination von Primidon (50-1000 mg/die) und Propranolol (durchschnittliche Dosis 260 mg/die) eine 60 – 70%ige Tremorverbesserung gegenüber einer nur 35%igen Verbesserung unter einer Propranolol-Monotherapie [50].

Medikamente der 2. Wahl:

- (a) Topiramat: Hierbei handelt es sich um ein Antikonvulsivum, welches durch Blockade von Natrium-Kanälen und durch eine Erhöhung der GABA-Aktivität wirkt. Drei Klasse II Studien [51-53] und eine Klasse IV Studie [54] zeigten eine Tremorreduktion in Dosierungen bis zu 400 mg/die. Die letztere Studie ergab eine Verbesserung des Tremors von 18 bis 23% anhand von klinischen Skalen im Vergleich zu 0-1% in der Placebo-Kontrolle. 40% der Probanden brachen jedoch die Studie aufgrund von Nebenwirkungen (Appetitlosigkeit, Gewichtsverlust, Parästhesien, Anorexie und Konzentrationsstörungen) ab. In neueren Studien [55] hat sich Topiramat als so effizient erwiesen, dass das Medikament nunmehr Mittel der Wahl der „Second-Line-Therapie“ ist.

- (b) Atenolol: Zu diesem selektiven Beta-1-Blocker gibt es wenige Daten, jedoch in einer Studie [56] zeigte das Medikament eine Reduzierung des ET (welche jedoch weniger deutlich ausfiel als bei Propranolol und Sotalol) in Dosierungen zwischen 50-150 mg/die. Nebenwirkungen (mild): Schwindel, Übelkeit, Schlafstörungen, trockener Mund, Husten.
- (c) Gabapentin: Eine Klasse I Studie [57] zeigte eine Verbesserung des ET von bis zu 77% (Messung via Accelerometrie) in einer Monotherapie von 1200 mg/die.
- (d) Sotalol: Verbesserung des ET in einer Klasse I Studie [58] durch diesen Nicht-selektiven-Beta-Blocker.

Medikamente der 3. Wahl:

- (a) Clonazepam: Bei Clonazepam handelt es sich um ein mittellang wirksames Benzodiazepin. 2 Studien [59, 60] zeigten eine Tremorverbesserung, wobei jedoch nur 40% der Probanden in der 2. Studie [60] das Medikament aufgrund von Nebenwirkungen in Form einer starken Schläfrigkeit bis zum Ende durchnahmen. Die Dosierungen lagen hierbei zwischen 0,5 – 6 mg/die.
- (b) Clozapin: Hierbei handelt es sich um ein atypisches Neuroleptikum. In einer Studie [61] zeigte sich bei 87% der Probanden eine 50%ige Verbesserung des Tremors anhand von klinischen Skalen, in einer zweiten Studie [62] eine Reduzierung der Tremoramplitude um 45% (Messung via Accelerometrie). Die Dosierung lag zwischen 6 und 75 mg/die. Die wesentliche Nebenwirkung „Müdigkeit“ reduzierte sich nach einigen Wochen deutlich, Agranulozytosen traten bei diesen Studien nicht auf.
- (c) Nadolol: Dieser Beta-Blocker zeigte in einer Studie [63] eine Tremorreduzierung (Messung via Accelerometrie) bei Dosierungen von 120 oder 240 mg/die, allerdings nur bei Probanden, welche bereits im

Vorfeld ein positives Ansprechen auf Beta-Blocker (Propranolol) gezeigt hatten.

- (d) Nimodipin: Bei diesem Calcium-Kanal-Blocker ergab sich in einer Studie [64] in der Accelerometrie eine bis zu 53%ige Reduzierung des ET bei einer Dosierung von 4 x 30 mg/die.
- (e) Botulinumtoxin A: In 12 Studien wurden Tremor von Extremitäten, Kopf und Stimme behandelt. In der Zusammenschau stellt die Injektion von Botulinumtoxin eine Therapiemöglichkeit bei refraktärem ET von Kopf und Stimme dar [46].

Operative Therapien:

- (a) Thalamotomie: Diese operative Maßnahme dient der Behandlung des Extremitätentremors. Hierbei wird eine künstliche Läsion des Nucleus ventro-intermedialis (VIM) des Thalamus erzeugt. Eine Klasse I Studie zeigte bei 79% der Patienten ein (fast) gänzlicheres Sistieren des Tremors [65]. In einer Klasse III Studie wurde der Tremor in 90% der Fälle beseitigt. In der Zusammenschau aller Studien hatten sechzehn Prozent der Patienten (n=29) Nebenwirkungen, die persistent waren [46]. Einige wenige Daten stellen dar, dass eine bilaterale Thalamotomie zu einer hohen Nebenwirkungsrate führen [66-70].
- (b) Tiefe Hirnstimulation (THS): Die Studienlage zeigt, dass die THS knapp unterhalb des VIM-Kerns des Thalamus die z. Z. effektivste Methode zur Behandlung eines unter oraler Medikation therapieresistenten ET der Extremitäten ist [46, 71]. Ein Jahr post-operativ zeigte sich eine deutliche Verbesserung der Lebensqualität, der Aktivitäten des täglichen Lebens und des Soziallebens, bei jedoch möglicher Reduktion des Sprachflusses [72]. Insgesamt zeigten sich in 2 Studien eine 60-90%ige Verbesserung der Tremorsymptomatik [73, 74]. Bezüglich der Behandlung von Stimm- und Kopftremores sind die Daten widersprüchlich. Sowohl aufgrund der

geringeren Nebenwirkungsrate, als auch durch die Möglichkeit der Veränderung der Stimulationsparameter (Frequenz und Amplitude) ist die THS mittlerweile bzgl. der operativen Therapie des ET die Methode der Wahl [75, 76].

1.1.8 Pathophysiologische Konzepte

Bisher ist die genaue Pathophysiologie des essentiellen Tremors nicht bekannt. Es wird angenommen, dass der Tremor über intrinsische Oszillationen im Guillain-Mollaretschen-Dreieck (Nucleus ruber – untere ipsilaterale Olive – kontralateraler Nucleus dentatus) generiert wird. Diese Hypothese wird durch die Ergebnisse verschiedener Studien unterstützt. Es wurde beobachtet, dass es bei Verletzungen im Bereich der cerebello-cortikalen Schleife, nämlich des Kleinhirns [77], des Pons [78, 79] oder des Thalamus [80] zu einem Sistieren des ET kam. Zudem haben PET-Studien gezeigt, dass es beim ET eine Hyperaktivität im Bereich der cerebellären Strukturen gibt, obgleich unklar ist, ob dies Ursache oder Resultat des ET ist [81-83]. Weiter unterstützt wird die Hypothese einer olivo-cerebellären Dysfunktion als Ursache des ET durch das sog. „Harmalin-Tiermodell“: Harmalin (3,4-dihydro-7-methoxy-1-methyl-b-carboline) ist ein natürliches Alkaloid und wirkt als Monoaminoxidase-Hemmer halluzinogen und analgetisch. Bei Tieren induziert Harmalin einen 8-12 Hz – Tremor, welcher in verschiedenen Aspekten dem ET beim Menschen ähnelt [84]. Der Tremor ist unter Willkürbewegungen verstärkt. Zu einer Reduzierung des Harmalin-Tremors (im Weiteren „HT“ abgekürzt) führen Alkohol, Diazepam und Barbiturate. Die Verringerung des HT durch β -Blocker ist hingegen umstritten [85]. Der Taktgeber des HT ist die inferiore Olive. Harmalin induziert synchronisierte Entladungen der durch dendrodendritische „gap junctions“ verbundenen olivären Neurone im Sinne einer elektrotonischen Kopplung. Als weiterer unterstützender Mechanismus ist die GABAerge Inhibition dieser Zellen reduziert [86].

In vitro Untersuchungen ergaben, dass die Neurone der unteren Olive ein komplexes elektrophysiologisches Verhalten aufweisen. Ca^{2+} -abhängige Aktionspotentiale können sowohl auf der dendritischen, als auch auf der somatischen Ebene der Neurone generiert werden. Darüber hinaus konnten zusätzlich spannungsabhängige Na^{+} -Kanal und Ca^{2+} -abhängige Kalium-Kanal vermittelte Ströme nachgewiesen werden [87]. Das Zusammenwirken der verschiedenen Membranleitfähigkeiten führt zu einem spontanen oszillatorischen Entladungsverhalten der Einzelneurone durch iterative Aktivierung und Deaktivierung unterschiedlicher spannungsabhängiger Membrankanäle. Im Einzelnen aktivieren die somatischen Na^{+} Aktionspotentiale dendritische Spikes, welche, soweit sie Ca^{2+} abhängig sind, Ca^{2+} abhängige K^{+} Strömungen aktivieren. Der Ioneneinstrom bewirkt eine lang anhaltende nachträgliche Hyperpolarisation, welche somatische „rebound“ Ca^{2+} Strömungen de-inaktiviert, die ansonsten niedrigschwellige „spikes“ auslösen. Dies kann zu einer Aktivierung somatischer Na^{+} „spikes“ und dendritischer Ca^{2+} „spikes“ führen. Aufgrund der einwärts gerichteten Ca^{2+} Strömungen während der niedrigschwelligen „spikes“ wird eine Hyperpolarisation ausgelöst, welche den Kreislauf erneut beginnt und der Zelle ermöglicht oszillatorisch zu „feuern“ [88].

Das Harmalin steigert nun diese Oszillationsfähigkeit und Synchronizität [89, 90]. Diese gesteigerte Rhythmizität bleibt auch nach Durchtrennung verschiedener Hirnstrukturen (KH-Stiele, RM in Höhe C2/C3, Entfernung des Kleinhirns) erhalten [91, 92]. Dies verdeutlicht, dass der HT offenbar mehr durch die inferiore Olive, als durch die Verbindung zu anderen ZNS-Strukturen verursacht wird. Fortgeleitet wird der HT durch die aufsteigenden Fasern zu den Purkinje-Zellen des Kleinhirns und den cerebellären Kernen. Von dort breitet sich die Erregung über den Deiterschen Kern und die *Formatio reticularis* weiter aus und erreicht letztendlich die Alpha-Motoneuronen des Rückenmarks [93, 94]. Die Übertragung der olivocerebellären Oszillation über den

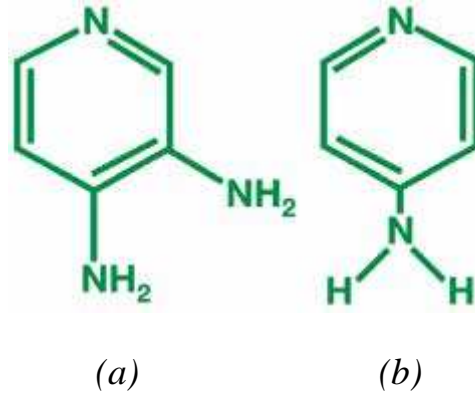
cerebellothalamokortikalen Signalweg ist vermutlich auch beim Menschen von Bedeutung [95]. Da aber bisher keine histologischen Veränderungen des Gehirns als Ursache des ET entdeckt wurden [96, 97], entweder weil die Diagnostik diese bisher nicht darstellen konnte oder weil die Ursache des ET nur auf Ebenen der Zellwände / Synapsen begrenzt ist, bleibt die Frage ob die tierexperimentellen Ergebnisse unmittelbar auf den Menschen übertragen werden können. Sicher ist jedoch, dass der ET ein zentraler Tremor ist, da bei Gewichtsbelastung während einer Tremoranalyse die Amplitude sinkt, die Frequenz aber gleich bleibt [98], was mit einem peripheren Reflexmechanismus nicht vereinbar wäre.

1.2 3,4-Diaminopyridin

1.2.1 Pharmakologie

3,4-Diaminopyridin (3,4-DAP) steigert die Acetylcholinfreisetzung an der Synapse durch reversible Blockade spannungsabhängiger Kaliumkanäle (alpha-Untereinheit). Auf diese Weise senkt die Substanz die Leitfähigkeit der Zellmembran für Kaliumionen und verlängert das Aktionspotential. Weitere Wirkeffekte sind eine Verbesserung der axonalen Leitfähigkeit und der Freisetzung von Neurotransmittern woraus eine Verstärkung der synaptischen Übertragung resultiert [99, 100]. In der experimentellen Physiologie werden 3,4-DAP und 4-AP (4-Aminopyridin) oft als Kaliumkanalblocker eingesetzt, welchen den Calciumeinstrom erhöhen [101, 102]. Auch eine hemmende Wirkung auf die Kaliumkanäle der Inferioren Olive konnte nachgewiesen werden [87]. Bei oraler Gabe wird 4-AP bei Patienten schnell resorbiert ($t_{\max} \sim 1$ Stunde) und mit einer Halbwertszeit von $\sim 3-4$ Stunden ausgeschieden. Durch Retard-Präparate lässt sich die Halbwertszeit verlängern. Bei der unretardierten Form misst man nach ca. 125 min maximale Spiegel [103]. Nach i.v.-Gabe finden sich 90,6%, nach oraler 88,5% vom 4-AP im Urin wieder (Extoxnet 1996). Für 3,4-DAP liegen kaum pharmakokinetische Studien am Menschen

vor, klinisch sind die Effekte von 4-AP und 3,4-DAP aber vergleichbar (s. unten). Unterschiede ergeben sich im Nebenwirkungsspektrum wegen der unterschiedlichen Verfügbarkeit im ZNS Kompartiment.



Strukturformeln von 3,4-Diaminopyridin (a) und 4-Aminopyridin (b).

4-AP passiert nach i.v.-Gabe die Blut-Hirn-Schranke besser als 3,4-DAP (Serum-Liquor-Quotient nach oraler Gabe 90/10). Dadurch entstehen beim 3,4-DAP weniger zentralnervöse Nebenwirkungen [104, 105]. Bever und Mitarbeiter zeigten auch, dass die Häufigkeit von Nebenwirkungen mit dem Serumspiegel korreliert. Bei einer Konzentration im Blut von 104 ng/ml 4-AP muss vermehrt mit Nebenwirkungen wie epileptischen Anfällen oder Verwirrtheitszuständen gerechnet werden. Beim 3,4-DAP treten stattdessen vermehrt periphere Nebenwirkungen (Parästhesien, Übelkeit, etc.) auf.

1.2.2 Klinischer Einsatz

(a) Lambert-Eaton-Myasthenie-Syndrom (LEMS)

Bei dieser meist paraneoplastisch auftretenden Erkrankung, bei der es zu einer verminderten Acetylcholinfreisetzung aufgrund von Antikörpern gegen präsynaptische Calciumkanäle (voltage gated calcium channel = VGCC) kommt, wird 3,4-DAP schon seit längerem zur Therapie eingesetzt. Verschiedene Studien konnten eine Verbesserung von Muskelschwäche und vegetativen Symptomen sowie auch eine Verbesserung der

elektrophysiologischen Parameter darstellen [106-108]. In diesen und weiteren Studien seit den 90er Jahren zeigte der langfristige Gebrauch eine anhaltend gute Wirkung mit guter Verträglichkeit bei Dosierungen von 80 mg/die. Ein Einfluss auf die Progression von LEMS stellte sich jedoch nicht dar. In Bezug auf das LEMS erhielt 3,4-DAP im Jahr 2002 den „Orphan Drug“-Status. [*European Medicines Agency, EMA/COMP/2732/2002 Rev.4, Committee for Orphan Medicinal Products – Siehe auch Anlage 1*].

(b) Encephalomyelitis disseminata (ED)

Auch bei der ED wird 3,4-DAP / 4-AP vor allem zur Behandlung des „chronic fatigue syndrome“ eingesetzt. Studien zeigten bei der Verwendung von 4-AP eine Verbesserung von Visus und Motorik, bei jedoch nur kurzer Wirkung (~ 4-7 Stunden) [109]. Bei Verwendung von sowohl 4-AP, als auch 3,4-DAP kam es zu einer Besserung der funktionellen Leistungsfähigkeit sowie der Mobilität, als auch zu einer Abnahme der „Fatigue“-Symptomatik [110]. In einer weiteren Studie konnte unter Einnahme von 3,4-Diaminopyridin in einer Dosierung bis zu 100mg/die eine Kraftzunahme nachgewiesen werden [111]. Im Vergleich war 4-AP wirksamer als 3,4-DAP, bei allerdings stärkeren ZNS-Nebenwirkungen, wohingegen das 3,4-DAP mehr periphere Nebenwirkungen zeigte [110, 111].

(c) Down-Beat-Nystagmus (DBN)

Im Jahr 2003 führten Strupp und Mitarbeiter eine randomisierte, placebokontrollierte, doppelt geblindete Studie mit 3,4-DAP bei 17 Patienten mit DBN durch. Man vermutet, dass der DBN dadurch zustande kommt, dass es aufgrund einer mangelnden Hemmung der anterioren Projektionsbahn der vestibulären Kerne zu einer oszillierenden Erregung des Occulomotoriuskerngebiets von Seiten der medialen Vestibularkerne kommt [112]. Tierexperimentell konnte auch gezeigt werden, dass ein DBN durch eine

Ablation des Flocculus ausgelöst werden kann [113]. Die Hypothese für einen möglichen Wirkeffekt des 3,4-DAP war eine Verstärkung der zerebellären, inhibitorischen Afferenzen auf die vestibulären Kerne [114] und dadurch eine Verminderung des DBN. Diese Hypothese bestätigte sich in der Studie mit Nachweis einer Verbesserung der Nystagmus-Stärke, des Gang- und Standbildes sowie der Oscillopsie. Erreicht wurde der positive Effekt schon durch die Gabe von 20 mg DAP. Bei dauerhafter Einnahme des 3,4-DAP zeigte sich bei diesen Patienten eine weitere Symptomverbesserung bei nur geringen Nebenwirkungen [112].

1.2.3 Nebenwirkungen

Zusammenfassend zeigten sich in o. g. Studien sowohl bei 4-AP, als auch bei 3,4-DAP ähnliche, dosisabhängige Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen, Müdigkeit, periorale oder distale Parästhesien, Schlafstörungen, Schwindel und gastrointestinale Beschwerden (Übelkeit, etc.). Bei sehr hohen Serumspiegeln (> 100ng/ml) kann es zu epileptischen Anfällen kommen, weshalb diese eine absolute Kontraindikation für die Einnahme darstellen. Bei Intoxikationen/Missbrauch kam es in Einzelfällen zu Herzrhythmusstörungen/Asystolie (Plasmaspiegel > 335 ng/ml) [115, 116], Ophistotonus, Tachykardie und Tachypnoe [117] sowie Dystonien [118]. In therapeutischen Dosierungen mit Serumspiegeln bis zu 100 ng/ml jedoch waren die Medikamente meist gut verträglich. Dass die Nebenwirkungen von 4-AP und 3,4-DAP oft ähnlich stark waren, lag wohl daran, dass für eine entsprechende Wirkung eine höhere Dosis des 3,4-DAP gegeben werden musste (40-60 mg 4-AP vs. 80-100 mg 3,4-DAP) [110, 119].

2. Fragestellung und Hypothesen

Pathophysiologisch wird für den ET eine Dysbalance im Guillain-Mollaret-Dreieck (Nucleus ruber, Olive, Kleinhirn) mit olivocerebellärer Rhythmizität als

zentraler Oszillator angenommen. 3,4-DAP ist eine Substanz, die eine Modulation zerebellärer Afferenzen bewirkt. Im Rahmen dieser Studie sollte somit die Verträglichkeit und ein möglicher Therapieeffekt von 3,4-DAP bei Patienten mit ET erstmalig auf der Grundlage der pathophysiologischen Hypothesen zum ET untersucht werden.

3. Material und Methoden

3.1 Patienten

An unserer Studie nahmen insgesamt 19 Patienten teil. Nachdem ein Proband aufgrund von Nebenwirkungen während / nach dem 1. Untersuchungstermin die Studie abgebrochen hatte, wurde ein 19. Proband in denselben Randomisierungsarm eingeschlossen. Somit kamen 18 Patienten in die Bewertung. Die Patienten stammten alle aus dem Bereich des nördlichen Schleswig-Holstein. Die Studienteilnehmer wurden aus einer institutseigenen Datenbank bekannter ET-Patienten aus Schleswig-Holstein ausgesucht. Dabei wurden möglichst stark betroffene Probanden ausgewählt.

3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien:

Zu den Einschlusskriterien der Studie gehörten: 1. Definitiver oder wahrscheinlicher ET nach den Konsensuskriterien der Tremor Investigation Group (TRIG) der Movement Disorder Society. 2. Tremor Score einer Hand von ≥ 2 gemäß der Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala (Teil A) [120]. 3. Stabile Anti-Tremor-Medikation über mindestens 4 Wochen vor Studienbeginn. 4. Alter > 18 und < 80 Jahre. 5. Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung des Probanden.

Die Ausschlusskriterien beinhalteten: 1. Schwerwiegende oder multiple internistische Begleiterkrankungen. 2. Vorbekanntes cerebrales Anfallsleiden. 3. Zustand nach stereotaktischer Hirnoperation. 4. Medizinische Gründe, die gegen

| Patient No. | Alter | Geschlecht | Tremor Dauer | ca. Alter bei Beginn des Tremors | tremorigene Medikation | Beta-Blocker Effekt positiv |
|-------------|-------|------------|--------------|----------------------------------|------------------------|-----------------------------|
| 1 | 74 | m | 30 | 40 | 1 | 1 |
| 2 | 62 | w | 45 | 45 | 0 | 2 |
| 3 | 63 | m | 30 | 30 | 0 | 2 |
| 4 | 74 | m | 65 | 10 | 0 | 2 |
| *5 | 67 | w | 50 | 15 | 0 | 2 |
| 6 | 65 | m | 20 | 40 | 0 | 2 |
| 7 | 55 | m | 20 | 30 | 1 | 2 |
| 8 | 63 | w | 50 | 15 | 0 | 2 |
| 9 | 72 | m | 60 | 10 | 0 | 2 |
| 10 | 64 | m | 10 | 50 | 2 | 2 |
| 11 | 61 | m | 50 | 10 | 0 | 2 |
| 12 | 65 | m | 50 | 15 | 0 | 2 |
| 13 | 65 | m | 50 | 15 | 1 | 0 |
| 14 | 65 | m | 60 | 5 | 0 | 2 |
| 15 | 47 | w | 10 | 35 | 0 | 2 |
| 16 | 53 | m | 8 | 40 | 1 | 2 |
| 17 | 67 | m | 50 | 15 | 0 | 1 |
| 18 | 61 | m | 50 | 10 | 0 | 2 |
| 19 | 68 | m | 15 | 50 | 2 | 2 |

Tabelle 3.1

*Tabelle 3.1 mit den klinischen Charakteristika der teilnehmenden Patienten; * Dieser Patient hat die Studie vorzeitig abgebrochen.*

Geschlecht m= männlich; w= weiblich / Altersangaben in Jahren/ tremorigene Medikation: Anzahl der zum Untersuchungszeitpunkt eingenommenen Medikamente, welche Einfluss auf den ET haben konnten / Beta-Blocker Effekt-positiv: 1= Ja; 2= Nein; 0= Nicht bekannt

| Patient No. | Fahn-TRS gesamt | Fahn Teil A | Fahn Teil B | Fahn Teil C | Bain-Spirale dominante Hand | Bain-Spirale nicht dominante Hand |
|-------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 39 | 8 | 24 | 7 | 7 | 6 |
| 2 | 19 | 4 | 10 | 5 | 4 | 5 |
| 3 | 30 | 6 | 19 | 5 | 5 | 6 |
| 4 | 56 | 17 | 30 | 9 | 6 | 8 |
| *5 | 27 | 7 | 11 | 9 | 4 | 5 |
| 6 | 35 | 10 | 17 | 8 | 5 | 6 |
| 7 | 29 | 6 | 16 | 7 | 4 | 5 |
| 8 | 20 | 6 | 13 | 1 | 4 | 5 |
| 9 | 31 | 11 | 12 | 8 | 5 | 5 |
| 10 | 40 | 16 | 17 | 7 | 5 | 7 |
| 11 | 29 | 7 | 11 | 11 | 4 | 5 |
| 12 | 27 | 4 | 17 | 6 | 4 | 5 |
| 13 | 25 | 6 | 13 | 6 | 5 | 6 |
| 14 | 26 | 7 | 13 | 6 | 5 | 6 |
| 15 | 22 | 5 | 13 | 4 | 2 | 5 |
| 16 | 23 | 4 | 8 | 11 | 5 | 5 |
| 17 | 72 | 21 | 34 | 17 | 9 | 8 |
| 18 | 25 | 7 | 16 | 2 | 6 | 5 |
| 19 | 31 | 8 | 17 | 6 | 5 | 7 |

Tabelle 3.2

*Die Werte der Tabelle 3.2 beziehen sich auf die Ausprägung des ET bei den jeweiligen Patienten, bestimmt anhand der „Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala“ und „Bain-Skala für Archimedes-Spiralen“ (siehe hierzu auch Punkt 3.2.3 dieser Arbeit), * Dieser Patient hat die Studie vorzeitig abgebrochen.*

ein Absetzen der Anti-Tremor-Medikation für 24 Stunden sprechen. 5. Gleichzeitige Teilnahme an einer anderen Studie. Diese Kriterien wurden von allen Teilnehmern erfüllt.

3.2 Versuchsablauf

3.2.1 Studienablauf, Verblindung, Randomisierung

Es wurde eine Randomisierungsliste mit 6 Untersuchungsarmen erstellt, welche folgende Einzeldosenzuteilung für die 1./2./3. Studienvisite enthielten: 1. Placebo / 20 mg 3,4-DAP / 40 mg ; 2. Placebo / 40 mg / 20 mg ; 3. 20 mg / Placebo / 40 mg ; 4. 20 mg / 40 mg / Placebo ; 5. 40 mg / 20 mg / Placebo ; 6. 40 mg / Placebo / 20 mg. Durch eine nicht weiter an der Studie beteiligte Mitarbeiterin der Klinik wurde jedem Untersuchungsarm eine Gruppennummer zugeordnet. Des Weiteren teilte sie je 3 der insgesamt 18 Patientennummern willkürlich einer der 6 Gruppen zu. Die Befüllung von neutralen Umschlägen mit den jeweiligen Einzeldosen und die Beschriftung dieser mit den Untersuchungstermin- und Patientennummern erfolgten ebenfalls durch diese Mitarbeiterin. Die Verblindung sowohl für die Probanden, den Untersucher (K. Hagen), als auch für die befundenden Tremorexperten (J. Volkmann, D. Lorenz), war somit gewährleistet. Da eine Probandin aufgrund von Nebenwirkungen die Studie vorzeitig abbrach, wurde von der neutralen Mitarbeiterin der Umschlag mit der entsprechenden Einzeldosis erneut befüllt, die Verblindung somit bis zum Abschluss der Untersuchungsreihe nicht durchbrochen.

Versuchsablauf:

Die 18 Probanden erhielten nun an je 3 Untersuchungstagen eine Einzeldosis mit 20 oder 40 mg 3,4-DAP oder das Placebopräparat. Die nach Aussehen, Gewicht und Geschmack identischen Kapseln waren zuvor in der Apotheke des

Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel hergestellt worden. Jeweils 24 Stunden vor der jeweiligen Studienvisite wurde eine evtl. eingenommene Anti-Tremor-Medikation ausgesetzt, zudem durften die Patienten 2 Stunden vor dem Untersuchungstermin nichts mehr essen, um eine vergleichbar schnelle Aufnahme des 3,4-DAP/Placebo zu gewährleisten. Zu Beginn der 1. Studienvisite wurden zunächst die Stammdaten der Probanden erfasst, bestehend aus: Geburtsdatum, Geschlecht, Größe, Gewicht, Blutdruck, Puls, Alter bei Tremorbeginn, positive / negative Alkoholsensitivität, positive / negative Familienanamnese bezüglich ET, aktuelle medikamentöse Anti-Tremor-Therapie, deren Effektivität (sehr gut / gut / mäßig / schlecht / kein Effekt), weitere Begleitmedikationen, weitere Vorerkrankungen, Kontrolle der Ein- und Ausschlusskriterien, Kontrolle, ob Randomisierung erfolgt ist. Die folgenden Untersuchungsabläufe wurden zu allen Studienvisiten identisch durchgeführt. Diese bestanden aus 9 Untersuchungszeitpunkten:

· Baseline ·

1. Vorab wurde in das Untersuchungsprotokoll das Datum der Untersuchung, Datum und Uhrzeit der letztmaligen Einnahme der Anti-Tremor-Medikation und die Uhrzeit des Testbeginnes ins Protokoll eingetragen. Danach folgte die Beurteilung des Tremors nach der Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala. Punkt 15 bis 21 von Teil C wurden dabei vom Untersucher (K. Hagen) bewertet (dies geschah einmalig bei der Baseline-Untersuchung vor der Medikamentengabe), die weiteren Kriterien wurden von den zwei Neurologen mit dem Schwerpunkt Bewegungsstörungen in der Neurologie (J. Volkmann und D. Lorenz) mittels des vom Untersucher erstellten nach Protokoll standardisierten Videos beurteilt. Dafür wurde bei der Baseline-Untersuchung ein langes Videoprotokoll verwendet, das wie folgt aufgebaut war:

(1) Aufnahme im Liegen:

Der Patient legte sich mit dem Rücken auf die Untersuchungsliege →

a) Aufnahme im Ganzen. b) Nahaufnahme Kopf/Gesicht. c) Nahaufnahme der Hände. d) Nahaufnahme der Hände, der Patient wurde aufgefordert laut rückwärts zu zählen. e) Nahaufnahme der Beine. Der Patient wurde aufgefordert das rechte / linke Bein im rechten Winkel im Knie für ca. 20 Sek. gebeugt in der Luft zu halten, danach sollte er die Ferse auf das kontralaterale Knie legen und langsam am Schienbein herab rutschen (Knie-Hacke-Versuch).

(2) Aufnahme im Stehen und Gehen:

a) Aufnahme im Stehen im Ganzen. Nahaufnahme der Hände im Stehen. b) Aufnahme im Gehen bei Durchquerung des Raumes im Ganzen.

(3) Aufnahme im Sitzen: Der Patient saß auf einem Stuhl mit Armlehnen →

a) Aufnahme im Ganzen. b) Aufnahme Oberkörper des Patienten. Der Patient sollte die Hände für ca. 10 Sek. locker in den Schoß legen oder locker über die Armlehnen hängen lassen. 10 Sek. Aufnahme (zur Beurteilung Händeruhetremor im Sitzen). c) Nahaufnahme Kopf/Gesicht (zur Beurteilung eines Kopfhalt- bzw. Gesichtstremor). d) Nahaufnahme der Zunge im Mund liegend und der Zunge herausgestreckt. e) Der Patient wurde aufgefordert ein lang gezogenes „Aaaa“ und „Iiii“ auszusprechen (Tonaufnahme zur Beurteilung Stimmtremor). f) Aufnahme Oberkörper des Patienten. Der Patient wurde aufgefordert die Arme auszustrecken und dabei die Finger für ca. 10 Sek. leicht zu spreizen. Danach sollte er die Arme angewinkelt vor dem Oberkörper halten, ebenfalls ca. 10 Sek. g) Aufnahme Oberkörper des Patienten. Der Patient wurde aufgefordert mit dem rechten Zeigefinger, in einem weiten Bogen von außen kommend, langsam auf die Nase zu zeigen. Wiederholung mit rechts, danach zweimal links (Finger-Nase-Versuch). h) Aufnahme ganzer Patient im Sitzen. Der Patient wurde aufgefordert das rechte Bein im Knie gebeugt für ca. 10 Sek.

in die Luft zu halten. Wiederholung mit dem linken Bein. i) Aufnahme ganzer Patient im Sitzen. Der Patient wurde aufgefordert die Arme nach vorne unten ausgestreckt zu halten und mit der Zehenspitze des rechten Fußes den linken Zeigefinger zu berühren (2x), danach zweimal linke Zehenspitze zum rechten Zeigefinger. j) Nahaufnahme der Hände. Der Patient erhielt zwei Plastikbecher, von denen einer zu 2/3 mit Wasser gefüllt war. Den gefüllten Becher hielt der Patient mit der rechten Hand. Aufnahme mit nach vorne ausgestreckten Händen, die die Becher hielten (ca. 10 Sek. lang). Danach Umschütten des Wassers von rechts nach links und umgekehrt. k) Der Patient setzte sich an einen Tisch und erhielt das Formblatt „Schreiben/Spiralen“ der Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala. Nahaufnahme der Hände. Der Patient schrieb mit seiner dominanten Hand einen vollständigen Satz, sowie Name und Datum. Danach wurde die große Archimedes-Spirale nachgezeichnet (dabei Ausfüllen von Innen nach Außen, in der Mittellinie einen Strich ziehen und soweit wie möglich die Hand nicht auflegen). Danach sollte er die kleine Archimedes-Spirale und die 3 geraden Verbindungslinien zeichnen. l) Nahaufnahme Hände. Der Patient zeichnete mit der nicht dominanten Hand zunächst die große, dann die kleine Spirale und zuletzt die 3 Verbindungslinien.

2. Nach dem Videoprotokoll bewertete der Patient seine eigene Tremorstärke anhand einer von 0-100 reichenden Visuellen Analog Skala (VAS). 3. Zuletzt erfolgte eine quantitative Tremoranalyse (Siehe Punkt 3.2.3.3).

Danach nahm der Patient die Medikamentenkapsel ein.

- 1. Testung (nach 15 min) -

Zunächst Befragung des Patienten nach etwaigen Nebenwirkungen, danach erfolgte die Erstellung eines kurzen Videoprotokolls. Dieses entsprach dem Teil (3) (im Sitzen) des langen Videoprotokolls. Anhand dieses Protokolls wurde ebenfalls die Tremorstärke etc. durch die beiden Bewegungsstörungsexperten

nach den Fahn-Kriterien bewertet. Zuletzt bewertete der Patient wieder seine Tremorstärke anhand der VAS.

- 2. Testung (nach 30 min) -

Befragung des Patienten nach Nebenwirkungen, kurzes Videoprotokoll, Bewertung der Tremorstärke durch den Patienten anhand der VAS, zuletzt quantitative Tremoranalyse.

- 3. und 5. Testung (nach 45 bzw. 90 min) -

Entsprach dem der 1. Testung.

- 4. und 6. Testung (nach 60 bzw. 120 min) -

Entsprach dem der 2. Testung.

- 7. Testung (abends) / 8. Testung (morgens) -

Der Patient sollte vor dem zu Bett gehen und nach dem Aufstehen seine Tremorstärke anhand der VAS beurteilen, sowie erneut das Formblatt „Schreiben / Spiralen“ ausfüllen. Erst danach durfte der Patient seine normale Anti-Tremor-Medikation wieder einnehmen. Zwischen den einzelnen Studienvisiten lagen jeweils 4 bis 7 Tage.

3.2.2 Blutentnahme und Weiterverarbeitung

Zuzüglich zu den o. g. Untersuchungen wurden bei den letzten 6 Patienten der Studie Blutproben zu Beginn jeder Kontrolle entnommen (insgesamt 6 Proben nach 15, 30, 45, 60, 90 und 120 min). Diese wurden im hauseigenen Labor umgehend zentrifugiert und das Plasma bei -20°C eingefroren. Die weitere Bearbeitung und Analyse wurde dann vom pharmakologischen Institut des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel vorgenommen. Zur Bestimmung der Konzentration des 3,4-DAP im Serum mit Hilfe einer

hocheffizienten Durchflusschromatographie wurden die Proben zunächst, unter Verwendung von „SEP PAK®“ Silicium Kartuschen, mittels einer Festphasenextraktion gereinigt. Nach der Aufbereitung und Äquilibrierung durchlief jeweils 1 ml des Plasmas die Kartusche. Nach dem Waschen wurde die Probe mit einem Gemisch aus Essigsäure und destilliertem Wasser im Verhältnis von 2% zu 98% eluiert. Es folgte eine Vakuum-Zentrifugierung des Eluats auf ein endständiges Volumen von 250 µl, 10 µl des Überstandes wurden dann letztlich chromatographisch untersucht (Chromatographiebedingungen: 10% Acetomitril zu 90% Pufferlösung ; UV-Detektion bei 229 nm ; Säule: Licrosphere® mit Abmessung 250 x 4,0 nm und 5 µm Partikelgröße).

3.2.3 Instrumente (klinische Skalen, Tremoranalyse)

3.2.3.1 Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala

Die vom Untersucher erstellten standardisierten Videos wurden anhand der Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala (Fahn-TRS) von den Bewegungstörungsexperten J. Volkmann und D. Lorenz unabhängig voneinander bewertet. Die Fahn-TRS besteht aus 3 Teilen, welche zu einem Gesamt-Tremor-Score zusammengefasst werden. Es werden dabei Punkte von 0-4 vergeben:

Teil A: (80 Punkte max., No. 1-9 der Fahn-TRS)

In diesem werden vom Untersucher 9 Körperteile (Gesicht, Zunge, Stimme, Kopf, Obere und Untere Extremität jeweils rechts und links, Rumpf) bezüglich Ruhe-, Halte, Aktions-/Intentionstremor beurteilt, insofern diese Tremorformen theoretisch auch vorkommen können, z.B. ist ein Stimmtremor nur als Aktionstremor möglich. Für Kopf und Rumpf soll die Bewertung der „Ruhe“-Bedingung im Liegen vorgenommen werden. Der Haltetremor wird im Sitzen und Stehen beurteilt, der Gesichtstremor nur in Ruhe (enthält Lippen- und Kinnstremor). Der Ruhetremor der Extremitäten wird im Sitzen mit aufgelegten Unterarmen beurteilt (gegebenenfalls auch im Liegen). Den Extremitäten-

Haltetremor begutachtet man anhand ausgestreckter und vor dem Brustkorb gehaltener Arme („Flügelstellung“). Aktions- und Intentionstremor erhalten einen gemeinsamen Score. Tests hierfür sind: Der Armvorhalte- und der Finger-Nase-Versuch. Für die Beine testet man den Knie-Hacke-Versuch. Da hierbei der Aktions-/Intentionstremor vom Haltetremor überlagert werden kann, achtet man darauf, ob es zu einer größeren Amplitude bei Aktion kommt.

Die Stärke des Tremors wird jeweils anhand der Amplitude bewertet: 0 = nicht vorhanden; 1 = gering (< 0,5 cm Amplitude); 2 = mäßig (0,5-1 cm); 3 = deutlich (1-2 cm); 4 = stark ausgeprägt (> 2 cm). Bei 1+ und 2+ kann der Tremor auch intermittierend auftreten.

Teil B: (36 Punkte max., No. 10-14 der Fahn-TRS)

Hierbei wird die Aktions-/Intentionskomponente des Tremors nochmals spezieller untersucht und erhält somit eine stärkere Wichtung in der Gesamtbeurteilung. 1. Handschriftprobe anhand eines Standardsatzes, des Datums und der Unterschrift (nur dominante Hand). 2. Zeichnen: Es werden je eine große und eine kleine Archimedes-Spirale auf einem Standardblatt nachgezeichnet. Als weitere Aufgabe sollen dreimalig gerade Linien gezeichnet werden, indem jeweils zwei vorgegebene Punkte verbunden werden sollen, ohne dass die zunehmend enger stehenden Begrenzungsmarkierungen durchkreuzt werden dürfen. Diese Aufgaben werden mit beiden Händen durchgeführt, wobei weder die Hand noch der Unterarm aufgestützt werden dürfen. 3. Umfüllen von Wasser von einem Plastikbecher in den anderen und umgekehrt. Die Schriftprobe, Zeichenaufgaben und der "Wasser-umschütten"-Test werden jeweils mit Punkten von 0 bis 4 bewertet.

Teil C: (28 Punkte max., No. 15-21)

In diesem wird nun subjektiv durch den Patienten die funktionelle Behinderung durch den Tremor beurteilt. Die Sprache wird vom Untersucher bewertet, die

weiteren Punkte (Essen, Trinken/Suppe essen, Hygiene, Anziehen, Schreiben, Beruf) anhand der Anamnese. Die Bewertung erfolgt jeweils mit Punkten von 0 bis 4. (*Für die einzelnen Bewertungsskalen siehe Anlage 2*).

Die Punkte der 3 Teile zusammengenommen ergeben dann den Gesamtscore, welcher max. 144 Punkte betragen kann. Der Schweregrad ergibt sich wie folgt: erreichte Gesamtpunktzahl x 100 / 144. Zuletzt kann noch eine allgemeine Einschätzung der funktionellen Beeinträchtigung durch den Tremor, sowohl vom Untersucher, als auch durch den Patienten, vorgenommen werden. Dabei gilt: 0 = keine ; 1 = leichte (1-24%) ; 2 = mäßige (25-49%) ; 3 = deutliche (50-74%) und 4 = schwere (75-100%) Beeinträchtigung. Außerdem hat der Patient die Möglichkeit die Entwicklung im Vergleich zur Voruntersuchung zu schätzen: +1 bis +3 = leichte/mäßige/deutliche Besserung ; 0 = unverändert ; -1 bis -3 = leichte/mäßige/deutliche Verschlechterung.

3.2.3.2 Bain-Skala

Die Archimedes-Spiralen werden zusätzlich nach den "Bain"-Kriterien bewertet [3]. Bei diesen wird anhand von standardisierten Beispielbildern die Tremorstärke in einer Skala von 0 bis 10 bewertet. Diese Beispielbilder wurden ursprünglich dadurch festgelegt, dass die Spiralen von Tremorpatienten (mindestens 5 pro Hand) von 4 tremorerfahrenen und „geblindeten“ Untersuchern beurteilt und von den dann erhaltenen Scores der Mittelwert genommen wurde.

3.2.3.3 Tremoranalyse

Für die Tremoranalyse (TA) nahmen die Patienten auf einem gepolsterten Stuhl mit Armlehnen Platz. Die Unterarme legten sie dabei auf den Lehnen ab. Je ein 2g schwerer piezoresistenter Accelerometersensor wurde am distalen Ende des 3. Metacarpale festgeklebt. Des Weiteren leiteten wir mittels bipolaren Silberchloridelektroden ein EMG an den Mm. extensores und flexores carpi ulnares

ab. Zunächst sollten die Patienten die Hände locker herabhängen lassen. Für den Haltetremor-Test hielten sie dann die Hände in einer 0 Grad Stellung ausgestreckt, die Finger leicht gespreizt. Diese Haltung wurde zunächst ohne und anschließend mit 1000g schweren Gewichten getestet. Die Gewichte bestanden aus je zwei 5 x 5 cm großen, flachen Säckchen, gefüllt mit Metallgranulat. Die Säckchen wurden mit Stauschläuchen auf dem Handrücken fixiert. Zum Schluss wurde noch der Aktionstremor geprüft, indem der Patient aufgefordert wurde, gleichmäßige Auf- und Abbewegungen mit den Händen auszuführen. Unter all diesen Bedingungen wurde der Tremor jeweils 30 Sek. lang aufgenommen. Alle Daten wurden bei 800 Hz abgetastet und gemittelt, der Bandpassfilter lag zwischen 50 und 350 Hz. Die Spektralanalyse wurde mittels eines mathematischen Standardalgorithmus durchgeführt, enthalten in einer kommerziell erhältlichen r-Analysesoftware, entwickelt von Lauk und Mitarbeitern 1999 [121]. Das Spektrum wurde zwischen 1 bis 30 Hz berechnet. Dabei ergab sich das accelerometrisch gemessene Tremorspektrum aus dem Maß der Tremoramplitude. Es zeigen sich somit „spikes“ im Accelerometrie-Spektrum (entweder nur ein einziger oder bei mehreren einen maximalen Spike, welcher im jeweiligen Fall der Tremorfrequenz entsprach).

3.2.4 Rating

Die Tremorstärke wurde anhand der standardisierten Videoaufnahmen von zwei unabhängigen Untersuchern (J. Volkmann, D. Lorenz) mittels der Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala und die gezeichneten Archimedes Spiralen zusätzlich mittels der Bain-Beurteilungsskala bewertet.

3.3 Datenanalyse

3.3.1 Datenbank

Die bestimmten Werte, sowohl der Ratings, als auch der Accelerometrie wurden im Verlauf in die Datenbank „Filemaker Pro 6“ eingegeben.

3.3.2 Statistische Methoden

Die Fallzahlberechnung erfolgte unter der Annahme einer mind. 30%igen Verbesserung des Tremor Rating Scores in einer der Behandlungsgruppen und einem der Untersuchungszeitpunkte. Die mind. 30%ige Verbesserung wurde von den beteiligten Neurologen als klinisch bedeutsam angesehen. Da keine Vorstudien vorlagen wurde von einem Mittelwert von 30 mit einer Standardabweichung von 10 für die Fahn-TRS ausgegangen. Bei einer „power“ von 0,9 und einem p von 0,05 wurden mindestens 18 Patienten benötigt, um die o.g. Verbesserung mittels einer Varianzanalyse (ANOVA) mit dem Gruppenfaktor „Behandlungsgruppe“ und dem Wiederholungsfaktor „Untersuchungszeitpunkt“ in einer der Behandlungsgruppen nachzuweisen. Gruppendaten werden im Manuskript mittels Mittelwert und Standardabweichung beschrieben. Als Signifikanzniveau wird allgemein $p \leq 0,05$ angenommen.

3.3.3 Ethik-Votum und BfArM Genehmigung

Die Studie wurde sowohl von der lokalen Ethikkommission (AZ 117/04 – *Siehe Anlage 4*), als auch vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM - 4021782) genehmigt.

4. Ergebnisse

Es wurden 15 Männer und 3 Frauen, im Alter von 47 bis 74 Jahren untersucht (Mittelwert (MW) 63,7 Jahre). Die Erkrankungsdauer lag zwischen 8 und 65 Jahren (MW 38,05 Jahre), das Alter bei Erkrankungsbeginn zeigte zwei Gipfel: 10 Patienten waren zwischen 5 und 15 Jahren, 8 Patienten zwischen 35 und 50 Jahren alt, als der Tremor erstmals aufgetreten ist. Der niedrigste Fahn-Gesamt-Score [120] betrug dabei 19 Punkte, der höchste 72 Punkte (MW: 31,89). Dreizehn Patienten hatten eine positive Familienanamnese für ET, bei 5

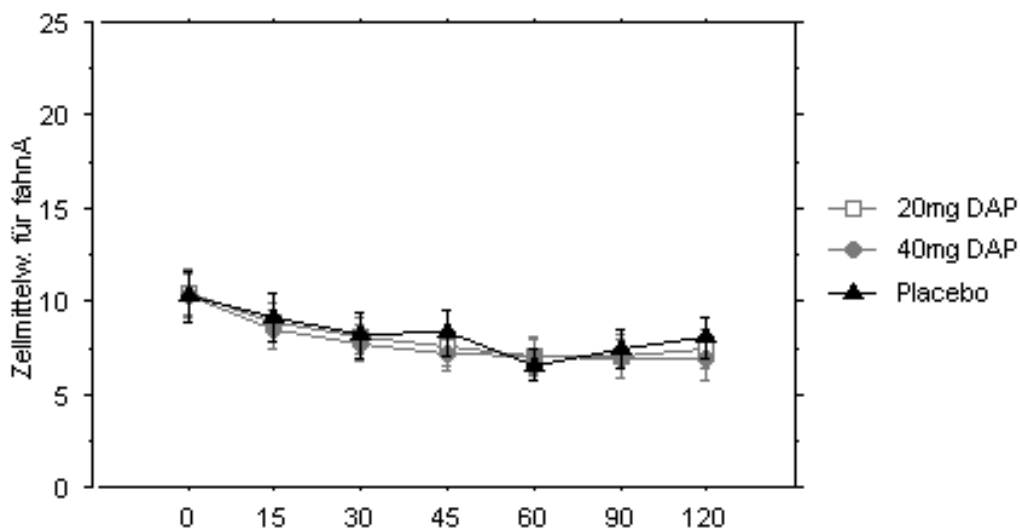
Patienten war kein Familienmitglied mit ET bekannt. 14 Probanden gaben eine positive, 3 eine negative Alkoholsensitivität hinsichtlich des Tremors an, ein Teilnehmer konnte hierzu keine Angaben machen. 4 Patienten nahmen zum Zeitpunkt der Untersuchungen ein Anti-Tremor-Medikament, 2 Patienten sogar zwei Anti-Tremor-Medikamente ein, der Rest nahm keine Anti-Tremor-Medikation ein.

4.1 Rating

4.1.1 Fahn-Tolosa-Marin Tremorskala

4.1.1.1 Fahn-TRS Teil A

Im Hinblick auf den Teil A der Fahn-TRS ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlichen Behandlungsgruppen (20mg 3,4-DAP vs. Placebo $p= 0,7237$; 40mg 3,4-DAP vs. Placebo $p= 0,4120$). Dies zeigt sich auch in der folgenden Grafik:

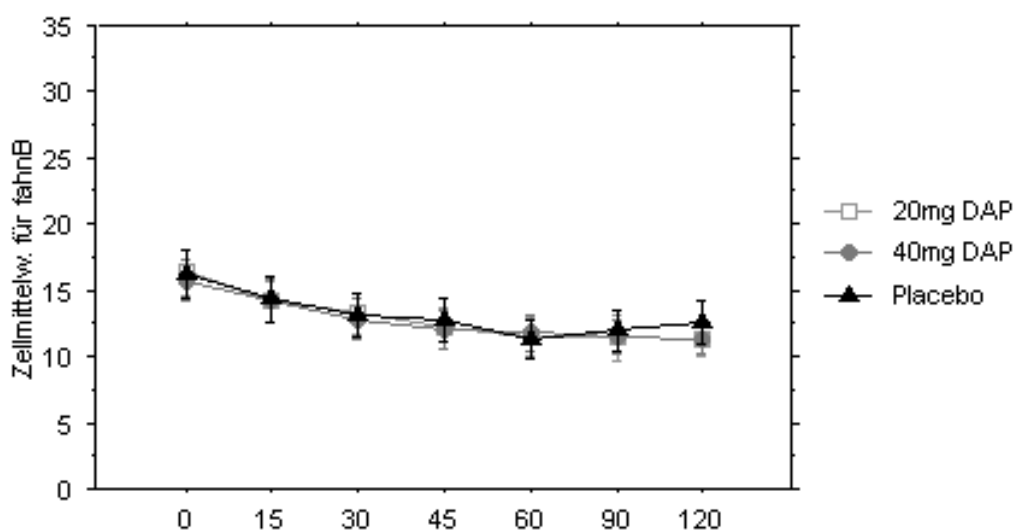


Grafik Nr. 4.1 – Darstellung der Veränderung der Tremorstärke nach Teil A (absoluter Punktwert) der Fahn-TRS im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

Es fällt lediglich ein leichter Abfall der Tremorstärke im Verlauf der Untersuchung in allen Behandlungsgruppen auf. Die Mittelwerte +/- SD für die 3 Untersuchungen waren hierbei: Placebo: 8,26 +/- 4,9; 20mg 3,4-DAP: 8,052 +/- 4,556; 40mg 3,4-DAP: 7,782 +/- 4,445.

4.1.1.2 Fahn-TRS Teil B

Im Fahn-TRS Teil B ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen (20mg 3,4-DAP vs. Placebo $p= 0,7085$; 40mg 3,4-DAP vs. Placebo $p= 0,6291$). Die Mittelwerte +/- SD betragen: Placebo 13,195 +/- 6,384; 20mg 3,4-DAP 12,884 +/- 6,622; 40mg 3,4-DAP 12,798 +/- 6,192. In der grafischen Darstellung zeigt sich ebenfalls ein leichter Abfall der Tremorstärke im Untersuchungsverlauf in allen Behandlungsgruppen:

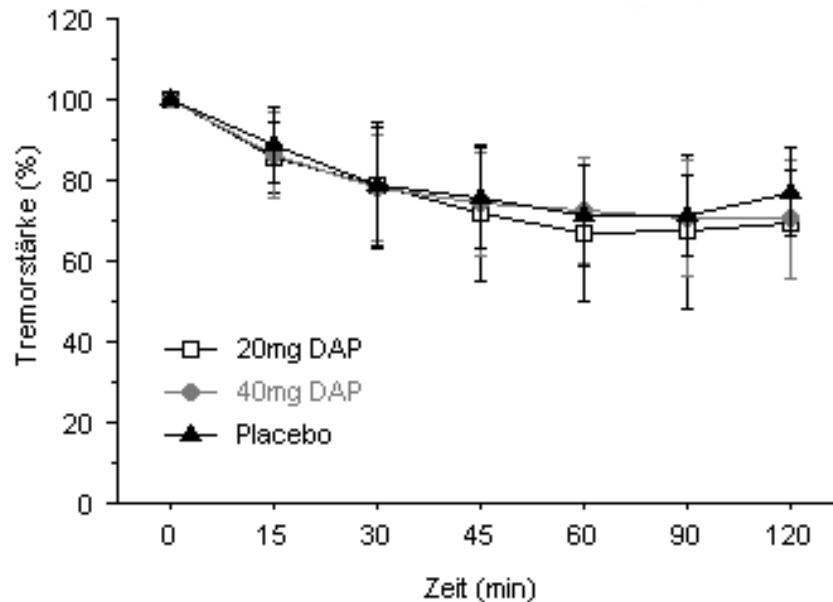


Grafik Nr. 4.2 – Darstellung der Veränderung der Tremorstärke nach Teil B (absoluter Punktwert) der Fahn-TRS im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

4.1.1.3 Fahn-TRS Teil A+B:

Auch in der Kombination der Fahn-TRS Teile A und B ergaben sich keine signifikanten Gruppenunterschiede (20mg 3,4-DAP vs. Placebo $p= 0,6994$; 40mg 3,4-DAP vs. Placebo $p= 0,5104$). In der Grafik wird die im

Untersuchungsverlauf leicht abnehmende Tremorstärke in allen 3 Untersuchungsarmen am deutlichsten:

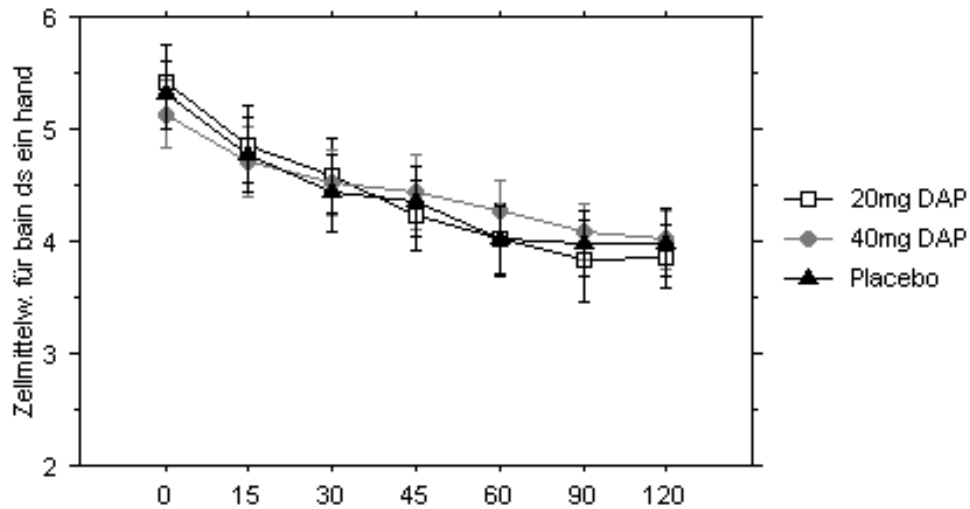


Grafik Nr. 4.3 – Darstellung der Veränderung der Tremorstärke nach Teil A und B (in Prozent) der Fahn-TRS im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

Die Mittelwerte +/- SD betragen hierbei: Placebo 21,455 +/- 11,031; 20mg 20,936 +/- 10,636; 40mg 20,58 +/- 10,083.

4.1.2 Archimedes-Spiralen

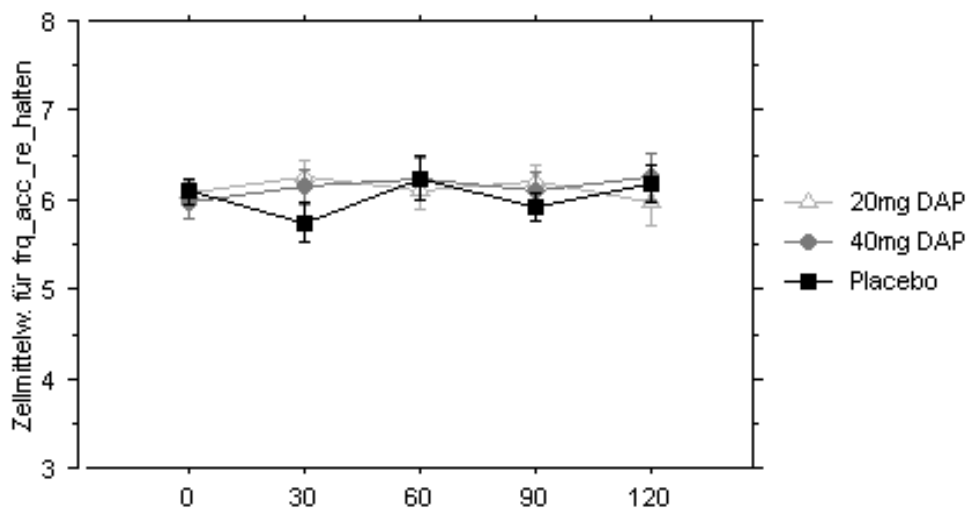
Auch ein Vergleich der Tremorstärke anhand der nach Bain graduierten Archimedes-Spiralen ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen (20mg 3,4-DAP vs. Placebo $p=0,9887$; 40mg 3,4-DAP vs. Placebo $p=0,7724$). Die Mittelwerte +/- SD betragen für Placebo 4,404 +/- 1,357; für 20mg 3,4-DAP 4,402 +/- 1,470; für 40mg 3,4-DAP 4,454 +/- 1,275. In der Grafik zeigt sich wieder eine leichte Abnahme der Tremorstärke über die Zeitachse in allen 3 Behandlungsarmen:



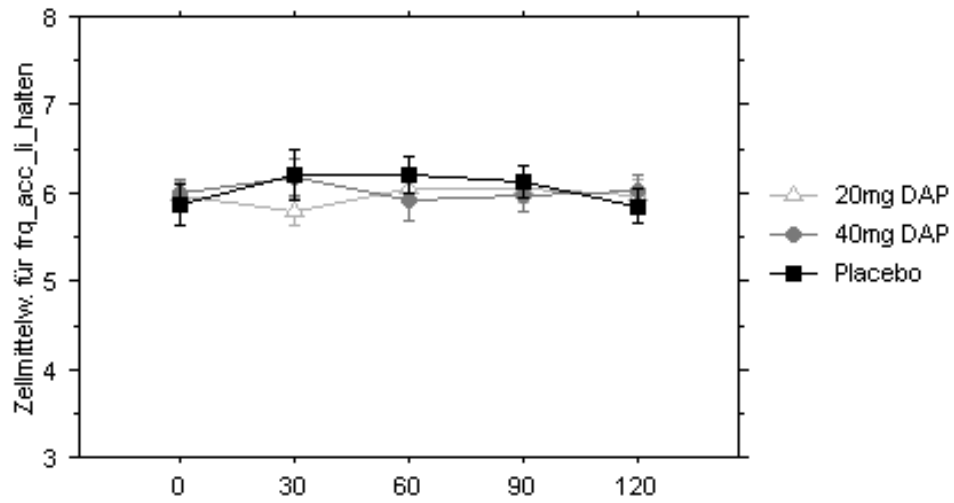
Grafik Nr. 4.4 – Darstellung der Veränderung der Tremorstärke anhand der Archimedes Spiralen bewertet nach den Bain-Kriterien (absoluter Punktwert) für die Archimedesspiralen der dominanten Hand im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

4.1.3 Accelerometrie

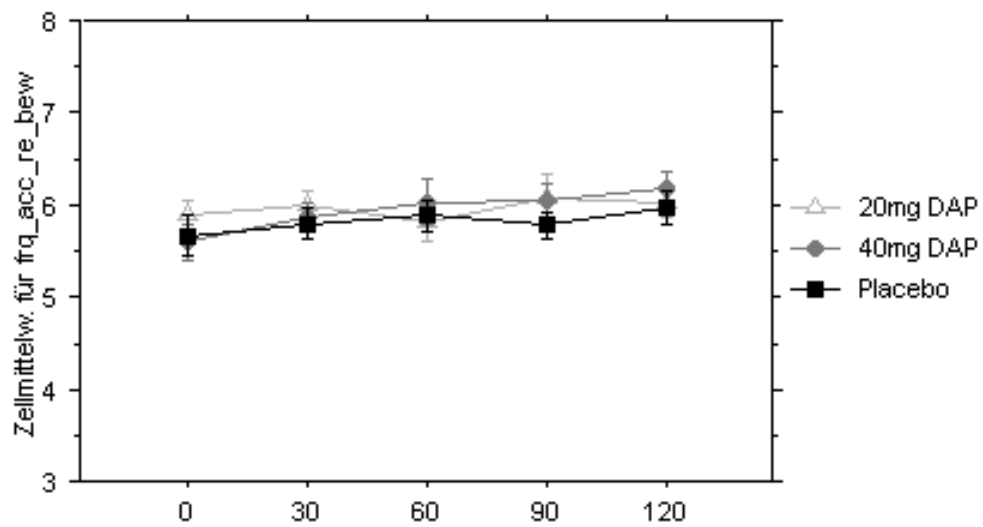
Zur maschinellen Untersuchung des Tremors wurden eine Accelerometrie sowie ein Oberflächen-EMG durchgeführt. Letztere Untersuchung zeigte sich jedoch sehr störanfällig, so dass aufgrund der hohen Artefakt-Rate diese Ergebnisse letztlich nicht in die Studie mit einfließen. In den folgenden Diagrammen zeigt sich zunächst, dass die Frequenzen in den jeweiligen Untersuchungsarmen sowohl beim „Halten“, als auch bei „Bewegung“ konstant blieben:



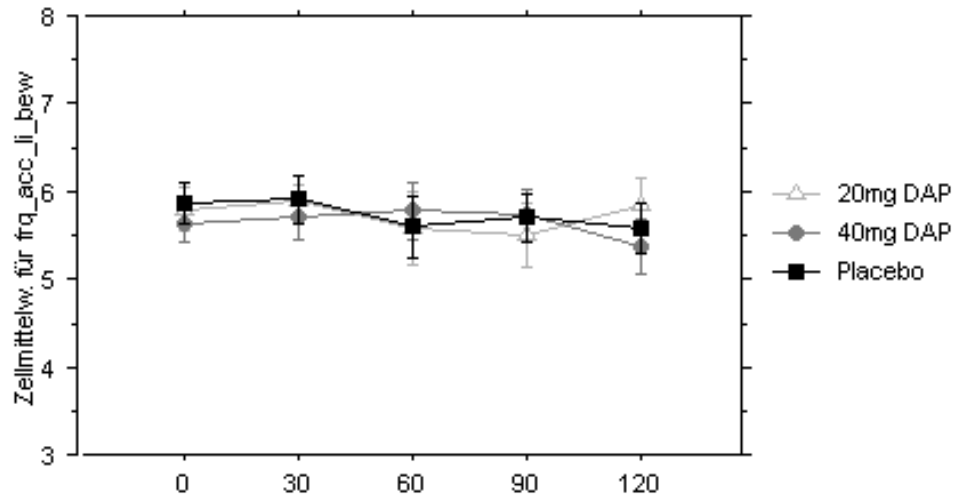
Grafik Nr. 4.5 – Darstellung der Veränderung der Tremorfrequenz in der Accelerometrie der RECHTEN Hand für den HALTETremor im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo



Grafik Nr. 4.6 – Darstellung der Veränderung der Tremorfrequenz in der Accelerometrie der LINKEN Hand für den HALTEtremor im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

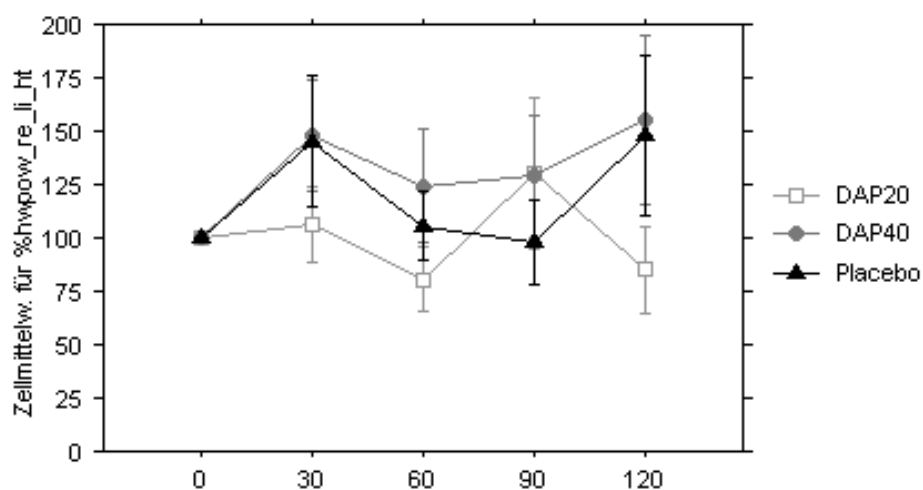


Grafik Nr. 4.7 – Darstellung der Veränderung der Tremorfrequenz in der Accelerometrie der RECHTEN Hand für den BEWEGUNGStremor im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo



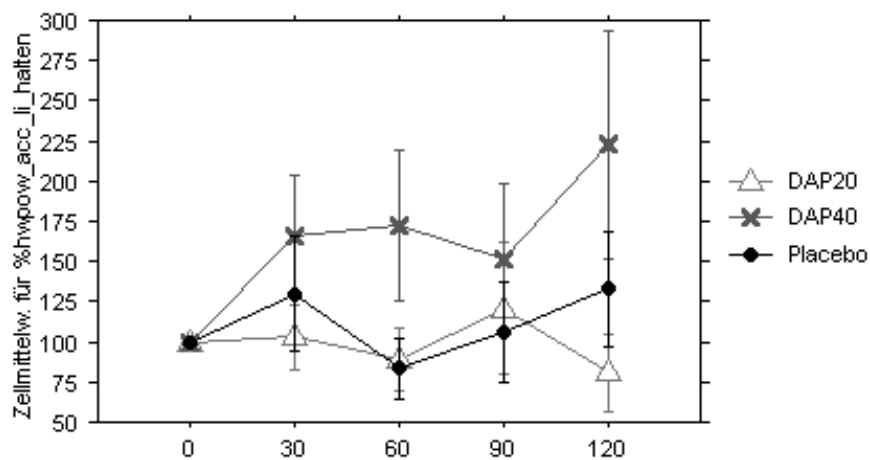
Grafik Nr. 4.8 – Darstellung der Veränderung der Tremorfrequenz in der Accelerometrie der LINKEN Hand für den BEWEGUNGStremor im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

Bezüglich der Tremorstärke zeigte sich auch in der Accelerometrie keine signifikante Verbesserung unter 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo (20mg 3,4-DAP vs. Placebo $p=0,2199$; 40mg 3,4-DAP vs. Placebo $p=0,4382$). In der nachfolgenden Grafik wurde die relative Tremorstärke der 3 Untersuchungsarme (20mg 3,4-DAP / 40mg 3,4-DAP / Placebo) über die Zeitachse verglichen (Zeitpunkt 0 = 100%):



Grafik Nr. 4.9 – Darstellung der Veränderung der Tremorstärke (in Prozentwerten) in der Accelerometrie BEIDER Hände für den HALTETremor im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

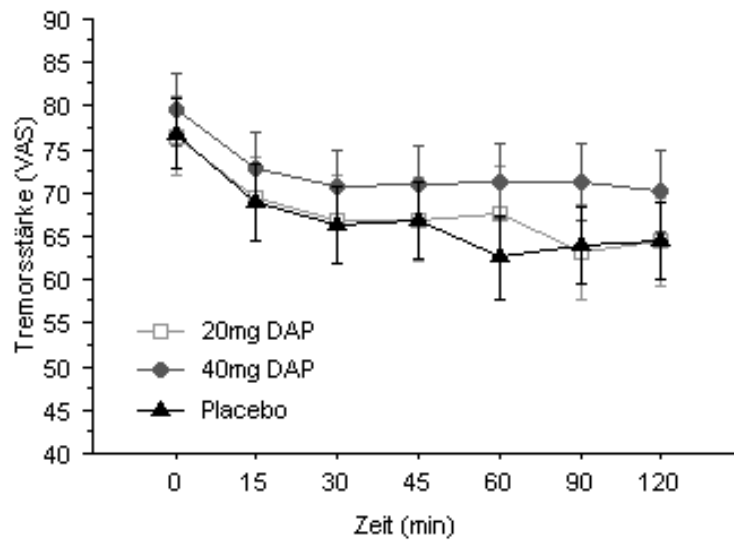
Für die relative Tremorstärke zwischen 40mg 3,4-DAP und Placebo beim „Halten“ der linken Hand zeigte sich in der Berechnung ein signifikanter Unterschied (p-Wert: 0,0180). In der folgenden Grafik sieht man jedoch, dass dieser Unterschied durch eine Tremorstärkenzunahme für 40mg 3,4-DAP gegenüber Placebo begründet ist:



Grafik Nr. 4.10 – Darstellung der Veränderung der Tremorstärke (in Prozentwerten) in der Accelerometrie der LINKEN Hand für den HALTEtremor im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

4.2 Selbsteinschätzung durch die Probanden

Die Probanden schätzten die Stärke ihres Tremors anhand einer visuellen Analogskala (0-100%) ein. Hier zeigte sich erneut ein signifikanter Unterschied zwischen Placebo und 40mg 3,4-DAP (p= 0,0292). Anhand der Grafik wird jedoch abermals deutlich, dass auch dieser Unterschied durch eine konstant höhere subjektive Tremorstärke in der 40mg 3,4-DAP-Gruppe zustande kommt:



Grafik Nr. 4.11 – Darstellung der Veränderung der Tremorstärke (in Prozentwerten) in der Selbsteinschätzung der Patienten anhand einer visuellen Analogskala (VAS) im Zeitverlauf der Untersuchungszeitpunkte für 20 und 40 mg 3,4-DAP im Vergleich zu Placebo

4.3 Unerwünschte Effekte

17 von 19 Probanden berichteten über leichte vorübergehende Nebenwirkungen an mindestens einer der Studiensitzungen. Die Häufigkeit korrelierte hierbei mit der Dosis von 3,4-DAP (40mg: 28x Auftreten von NW; 20mg: 14x; Placebo: 9x). Die häufigsten berichteten Nebenwirkungen waren hierbei Parästhesien (19x bei dem insgesamt 42maligen Auftreten von NW unter 3,4-DAP). Des Weiteren wurden von den Probanden Schwindel, Kopfschmerzen, gastrointestinale Beschwerden, Benommenheit, Übelkeit und Mundtrockenheit angegeben. Zwei Probanden berichteten über keine, zwei weitere nur bei einem Untersuchungszeitpunkt über Nebenwirkungen. Siehe hierzu auch nachfolgende Tabelle:

Nebenwirkungen

| CRF | 40 mg DAP | 20 mg DAP | Placebo |
|-----|---|-----------------------|------------------------------|
| 1 | | Kopfschmerzen | |
| 2 | P+ | | P(+) |
| 3 | | | |
| 4 | | | |
| 5 | P++ (OB und perioral), metallischer Geschmack | | |
| 6 | P++ | | P(+) |
| 7 | P++, Schwindel, "präsynkopal" | | |
| 8 | P+ | P(+) | |
| 9 | | | P(+), "benommen" |
| 10 | P(+), Schwindel | leichter Schwindel, P | |
| 11 | P(+), KS | P(+), "benommen" | |
| 12 | Bauchschmerzen, P++ | P(+) | |
| 13 | Bauchschmerzen | | |
| 14 | P+, Kopfdruck | trockener Mund | |
| 15 | | P(+) | P+ |
| 16 | P++, Benommenheit, Spannungsgefühl | P++, Schwindel | trockener Mund, Benommenheit |
| 17 | | | Müdigkeit, KS |
| 18 | P++, Schwindel, Wärmegefühl | Augenflimmern | |
| 19 | P+, Magendruck | | |

P(+)

P+

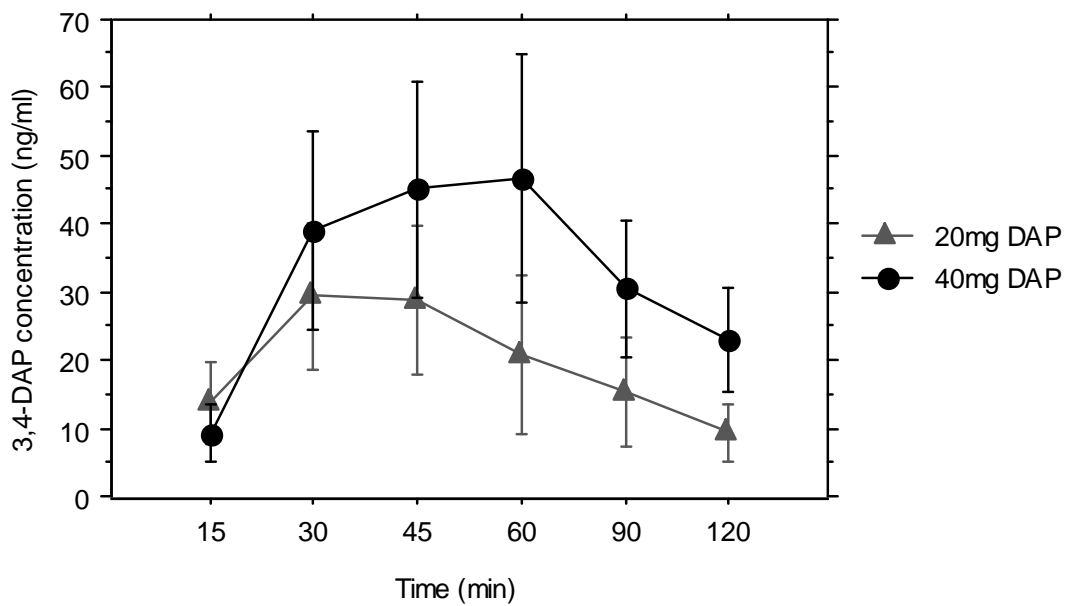
P++

CRF = Nr. der geblindeten, randomisierten Patienten

Tabelle 4.1 – Übersicht über die Nebenwirkungen der einzelnen Patienten (CRF 1-19); Patient mit der CRF-No. 5 (grau unterlegt) ist nach dem ersten Untersuchungstermin aus der Studie ausgetreten

4.4 Plasmaspiegel

Die Inter- und Intra-Tag-Variabilität der Plasmakonzentrationen betrug weniger als 10% über 4 Tage und bei verschiedenen hohen Konzentrationen (4 Replikationen). Die mittleren Plasma-Peak-Konzentrationen waren 33,6 ng/ml (SD=27,7; Bereich 0-66) in der 20mg-DAP und 56,04 ng/ml (SD=44,6; Bereich 8-122) in der 40mg-DAP Studienvsiste. Bei einem Patienten lagen die Plasmakonzentrationen unter der Quantifizierungsschwelle von 12,5ng/ml. Bei den anderen Patienten ergaben sich die 3,4-DAP „Peaks“ zwischen 30 und 60 Minuten (Siehe Grafik 4.12).



Grafik 4.12 Plasmakonzentrations-Kurve des 3,4-DAP nach oraler Gabe von 20 und 40mg

5. Diskussion

Die Pathophysiologie des ET ist aktuell nicht bekannt. Die auf der Grundlage vielfältiger Daten aus klinischen Studien, Tiermodell- und Bildgebungs-Studien derzeit favorisierte Hypothese ist die Annahme einer rhythmischen Aktivität im Guillain-Mollaret-Dreieck mit der inferioren Olive als Oszillator. Man geht dabei davon aus, dass die pathophysiologische Basis des ET die Fähigkeit verschiedener Zellen des ZNS zur Entwicklung von oszillatorischen Erregungen ist, verursacht durch eine veränderte membrane Leitfähig- und Erregbarkeit durch kleine (vermutlich erblich bedingte) Veränderungen der Struktur der Membranproteine [122]. Dies führt zu einer Störung des Gleichgewichts in der olivo-cerebellären-cortikalen Schleife, was bereits früher an diversen tierexperimentellen Versuchen gezeigt werden konnte [77-80]. Besondere Bedeutung kommt hier dem so genannten „Harmalin-Tiermodell“ zu, in welchem gezeigt werden konnte, dass bei Tieren durch Harmalin in der inferioren Olive eine gesteigerte neuronale Oszillation ausgelöst wird, welche einen (dem menschlichen ET ähnlichen) 8-12 Hz Tremor zur Folge hat [86].

In unserer Studie überprüften wir einen möglichen therapeutischen Effekt des 3,4-DAP, welches über einen stabilisierenden Effekt auf die Dysbalance der Membranleitfähigkeit und einer Modulation zerebellärer Afferenzen zu einer Reduktion der Oszillationen und somit konsekutiv zu einer Abschwächung des Tremors führen würde, auf der Grundlage des angenommenen pathophysiologischen Konzepts. Trotz des angenommenen antioszillatorischen Effektes des 3,4-DAP konnten wir in unserer Studie keinen signifikanten Effekt des 3,4-DAP auf den Tremor bei 18 ET Patienten nachweisen.

Die leichten Verbesserungen während der Untersuchungen, vor allem gegen Ende der jeweiligen Untersuchungstermine, lassen sich auf einen „Trainingseffekt“ zurückführen, da sie sich zum einen auch unter Placebogabe zeigten, zum anderen der ET bekanntermaßen unter „Stress“-Belastung (wie hier die ungewohnte Untersuchungssituation in fremder Umgebung) verstärkt wird. Evtl. doch leicht vorhandene therapeutische Effekte könnten durch Bodeneffekte in den klinischen Beurteilungsskalen verdeckt worden sein. Diese Trainingseffekte spiegeln sich hingegen in den Tremoranalysen als objektive („übungsresistente“) Untersuchungsmethode nicht wider.

Eine Erklärung für das negative Studienergebnis könnte die Annahme sein, dass die olivocerebellären Oszillationen beim ET nicht über dieselben (über Kalium-Kanäle geleiteten) Ströme vermittelt werden, welche durch das 3,4-DAP blockiert werden. Frühere „in vitro“-Studien haben jedoch gezeigt, dass eine durch 4-AP bedingte Inhibition der langsamen inaktivierenden Kalium vermittelten Ströme zu einem oszillatorischen „Feuern“ von Neuronen der inferioren Olive führt [88]. Das hydrophile 3,4-DAP hat ähnliche pharmakologische Eigenschaften wie 4-AP, penetriert jedoch die Blut-Hirn-Schranke schlechter. Eine Studie mit nachgewiesenem Effekt von 3,4-DAP bei Patienten mit „Downbeat-Nystagmus“, einer Erkrankung für welche

pathophysiologisch eine cerebelläre Störung mit beidseitiger Störung des Flocculus angenommen wird, zeigte jedoch, dass 3,4-DAP auch im zentralen Nervensystem seine pharmakologische Wirkung entfaltet [112].

Eine weitere Erklärung wäre, dass die im Harmalin-Tiermodell nachweisbaren Oszillationen der unteren Olive die Pathophysiologie des humanen ET nicht widerspiegeln. Für den ET werden mittlerweile verschiedene Ursachen angenommen [123-126], so dass die Stabilisierung bestimmter Zellmembranen einiger spezifischer Zellen nicht ausreichend sein könnte, um einen signifikanten Effekt auf den ET zu haben, da dieser durch andere Oszillatoren (einzelne Kerngebiete oder Netzwerke, welche nicht durch das 3,4-DAP beeinflusst werden) weiter unterhalten wird.

Des Weiteren konnte durch 4-AP eine Steigerung der Ruheaktivität und der Erregbarkeit von Purkinje-Zellen nachgewiesen werden. Den Purkinje-Zellen ist im Harmalin-Tiermodell über aufsteigende Fasern die Rolle als Empfänger der von der unteren Olive ausgehenden Oszillationen zugeordnet. Dieser Effekt könnte zu teilweise entgegen gesetzten Wirkungen in der funktionellen Oszillationsschleife führen.

Der fehlende Wirkeffekt des 3,4-DAP könnte zudem dadurch begründet sein, dass keine ausreichenden Mengen des 3,4-DAP im ZNS ankommen. Unsere pharmakokinetischen Untersuchungen ergaben eine große Streuung der Plasma-Spitzen-Werte des 3,4-DAP bei den 6 untersuchten Patienten mit einem Non-Responder. Das Ausmaß der messbaren klinischen Reaktion war, bei fehlender Kopplung von Tremorstärke und Plasma-Spitzen-Wert, anhand der pharmakokinetischen Messungen nicht vorhersagbar.

Eine entscheidende Schlüsselrolle beim ET scheint das Kleinhirn zu spielen, vergleicht man Symptome des ET mit den Funktionen der verschiedenen Kleinhirnbereiche:

1. Neocerebellum (ist für die Hand-Funktion/-Koordination wichtig) => bei Patienten mit fortgeschrittenem ET kann es zu einer Zunahme des Tremors bei der „Zielannäherung“ kommen, welcher vom cerebellären Intentionstremor nicht zu unterscheiden ist [127].
2. Spinocerebellum (wichtig für Gleichgewicht und Gang) => bei Patienten mit fortgeschrittenem ET kann es zu einer posturalen Instabilität und einer leichten Gangataxie kommen [128, 129].
3. Vestibulocerebellum (ist u. a. für die Okkulomotorik wichtig) => in neueren Studien konnte bei ET-Patienten eine Verschlechterung der Modellierbarkeit von sakkadierten Augenbewegungen gezeigt werden [122, 130].

Die Verbesserung nicht nur des Tremors bei vielen Patienten, sondern auch der Gangstörungen durch Alkohol [131] bzw. der Blinkreflexkoordinierung via Tiefenhirnstimulation des Thalamus [132] stützen hierbei die Hypothese, dass eine permanente starke Oscillation des motorischen Systems zu einer Störung der Kleinhirnfunktion führt [133, 134].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass selbst wenn man die individuelle Pharmakokinetik und die im Verlauf jeder Untersuchung nachweisbaren Trainingseffekte in die Beurteilung unserer Ergebnisse mit einbezieht, ein möglicherweise verdeckter therapeutischer Benefit sicherlich so gering wäre, dass das 3,4-DAP für eine Routine-Therapie des Essentiellen Tremors nicht in Betracht zu ziehen ist.

6. Zusammenfassung

Beim Essentiellen Tremor handelt es sich um die wohl häufigste Bewegungsstörung überhaupt. Dennoch sind sowohl Ätiologie, als auch Pathophysiologie nach wie vor weitgehend unbekannt. Eine Diagnosestellung und Klassifikation erfolgt bisher nach rein klinischen Kriterien.

Die Prävalenz des ET beträgt, abhängig von der jeweils zugrunde gelegten Studie, zwischen 0,41 und 3,92 %. Die Erkrankung kann zwar grundsätzlich in jedem Lebensalter auftreten, jedoch gibt es zwei Altersgipfel in der zweiten und sechsten Lebensdekade. Der ET tritt dabei meistens als Halte- und / oder Aktionstremor, teilweise auch als Intentionstremor, selten als Ruhetremor auf. Betroffene Körperteile sind dabei fast immer die Extremitäten, häufig auch der Kopf, seltener Gesicht und Stimme. Die Stärke des Tremors nimmt dabei meist bei Stress / psychischer Belastung zu. Oftmals findet sich auch eine vorübergehende Besserung des ET durch den Konsum einer geringen Menge Alkohol. Die Therapie ist bisher eine rein symptomatische, eine kurative oder neuroprotektive Behandlung steht bis dato nicht zur Verfügung.

Grundlage unserer Studie war nun die Hypothese, dass der Essentielle Tremor durch eine olivo-cerebelläre Dysfunktion generiert wird. Als zugrunde liegende Pathophysiologie wird hierbei eine intrinsische Oszillation der Neuronen im so genannten Guillain-Mollaret-Dreieck (Nucleus ruber – untere ipsilaterale Olive – kontralateraler Nucleus dentatus) vermutet. Unterstützt wird diese Theorie dabei durch das „Harmalin-Tiermodell“. Bei diesem konnten in Tierexperimenten synchronisierte Entladungen im Bereich der unteren Olive generiert werden (vermittelt durch eine elektromechanische Kopplung der Neuronen über dendrodendritische „gap junctions“). Diese Entladungen führten zu einem 8-12 Hz Tremor, ähnlich dem Essentiellen Tremor beim Menschen.

Das in unserer Studie genutzte 3,4-Diaminopyridin sollte nun durch eine Blockade von Kalium-Kanälen in o. g. Strukturen Einfluss auf diese

elektrotonische Kopplung nehmen und zu einer Modulierung der Tremorstärke führen.

In die Studie wurden insgesamt 19 Patienten in drei Randomisierungsarmen à 6 Probanden (ein Teilnehmer brach aufgrund von Nebenwirkungen die Studie nach dem ersten Untersuchungstermin ab) eingeschlossen. Hierfür wurden möglichst stark betroffene Patienten aus einer institutseigenen Datenbank nach definierten Ein- und Ausschlusskriterien ausgewählt. In den drei Untersuchungsarmen erhielten die Patienten doppelt verblindet entweder 20mg oder 40mg 3,4-DAP sowie Placebo in identisch aussehenden und geschmacklich neutralen Kapseln. Hierbei wurde während der Untersuchungstermine ein standardisiertes Videoprotokoll angelegt, anhand dessen später getrennt voneinander der ET durch die Tremorexperten Prof. Dr. J. Volkmann und PD Dr. D. Lorenz mittels der Fahn-Tolosa-Marin-Tremorskala bewertet wurde. Als zusätzliche Instrumente dienten die Bewertung der Archimedes-Spiralen anhand der Bain-Kriterien, eine quantitative Tremoranalyse per Oberflächen-EMG und Accelometrie sowie die Selbsteinschätzung des Tremors durch die Probanden mittels Visueller Analog-Skala. Zudem wurden bei einem Drittel der Teilnehmer während der Untersuchungstermine Blutproben zur Beurteilung der Plasmaspiegel des 3,4-DAP entnommen. Letztlich fanden zwei weitere Testungen jeweils am Abend und folgenden Morgen des Untersuchungstermins statt, indem die Probanden erneut die Tremorstärke per VAS beurteilten und das Formblatt „Archimedesspiralen / Schreiben“ ausfüllten.

In der Auswertung wurden dann letztlich die ermittelten Punktwerte der Fahn-Tolosa-Marin-Tremorskala für die Teile A, B und A+B sowie der Archimedes-Spiralen, Accelometrie (die Ergebnisse der Oberflächen-EMGs zeigten sich als sehr artefaktanfällig und wurden nicht mit in die Auswertung mit einbezogen) und der Selbsteinschätzung der Probanden mittels VAS verglichen.

Hierbei zeigte sich letztlich kein signifikanter Effekt des 3,4-Diaminopyridins auf den Essentiellen Tremors im Vergleich zu Placebo. Die Reduzierung der

Tremorstärke bei den Probanden in den klinischen Skalen im Verlauf der jeweiligen Untersuchungstermine sind als Trainingseffekte zu werten, bedingt durch die jeweilige Abnahme der Stressbelastung der Teilnehmer. In der davon nicht beeinträchtigten Accelometrie zeigte sich in allen drei Untersuchungsarmen keine signifikante Veränderung.

Als Nebenwirkungen zeigten sich im wesentlichen Parästhesien, teilweise auch gastrointestinale Beschwerden und Schwindel, welche maximal nur über wenige Stunden anhielten.

Die Ursache für das Nicht-Ansprechen des ET könnte zum einen darin liegen, dass vom 3,4-DAP andere Kalium-Kanäle blockiert werden, als die in der Generierung des ET involvierten. Oder die Kalium-Kanal-Blockade ist nicht ausreichend, um den ET wesentlich zu beeinflussen, da er noch durch andere Strukturen aufrechterhalten wird. Eine weitere Erklärung könnte auch sein, dass keine ausreichende Anflutung der 3,4-DAP im ZNS durch zu geringe Penetration der Blut-Hirn-Schranke erreicht werden konnte. Auch denkbar wäre, dass das für unsere Studie zugrunde liegende pathophysiologische Konzept des Harmalin-Tiermodells die ursächlichen Grundlagen des menschlichen Essentiellen Tremors nicht ausreichend widerspiegelt. Zudem scheint das Kleinhirn bei der Entstehung des ET eine wesentliche Rolle zu spielen. Das Cerebellum wurde jedoch nicht durch das 3,4-DAP beeinflusst.

7. Literaturverzeichnis:

1. Deuschl, G. and B. Koester, *Diagnose und Therapie des Tremors*, in *Bewegungsstörungen in der Neurologie*, B. Conrad and R. Benecke, Editors. 1996, Thieme: Stuttgart.
2. Elble, R.J., *Diagnostic criteria for essential tremor and differential diagnosis*. *Neurology*, 2000. **54**(11 Suppl 4): p. S2-6.
3. Bain, P.G., Findley LJ, Atchison P, Behari M, Vidailhet M, Gresty M, Rothwell JC, Thompson PD, Marsden CD, *Assessing tremor severity*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1993. **56**(8): p. 868-73.
4. Deuschl, G., P. Bain, and M. Brin, *Consensus statement of the Movement Disorder Society on Tremor. Ad Hoc Scientific Committee*. *Mov Disord*, 1998. **13 Suppl 3**: p. 2-23.
5. Findley, L.J., *Classification of tremors*. *J Clin Neurophysiol*, 1996. **13**(2): p. 122-32.
6. Lance, J.W., R.S. Schwab, and E.A. Peterson, *Action tremor and the cogwheel phenomenon in Parkinson's disease*. *Brain*, 1963. **86**: p. 95-110.
7. Findley, L.J. and L. Cleeves, *The relation of essential tremor to Parkinson's disease*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1985. **48**(2): p. 192.
8. Jedynak, C.P., A.M. Bonnet, and Y. Agid, *Tremor and idiopathic dystonia*. *Mov Disord*, 1991. **6**(3): p. 230-6.
9. Aisen, M.L., Arnold A, Baiges I, Maxwell S, Rosen M., *The effect of mechanical damping loads on disabling action tremor*. *Neurology*, 1993. **43**(7): p. 1346-50.
10. Cohen, L.G. and M. Hallett, *Hand cramps: clinical features and electromyographic patterns in a focal dystonia*. *Neurology*, 1988. **38**(7): p. 1005-12.
11. Csala, B. and G. Deuschl, *Craniocervical dystonia. Pragmatic general concept or nosologic entity?*. *Nervenarzt*, 1994. **65**(2): p. 75-94.
12. Deuschl, G., Heinen F, Kleedorfer B, Wagner M, Lücking CH, Poewe W., *Clinical and polymyographic investigation of spasmodic torticollis*. *J Neurol*, 1992. **239**(1): p. 9-15.
13. Deuschl, G. and D. Lorenz, *Essential Tremor*, in *Orphanet Encyclopedia*, T. Gasser, Editor. 2003, www.orpha.net: Kiel. p. 4.
14. Jankovic, J., *Essential tremor: clinical characteristics*. *Neurology*, 2000. **54**(11 Suppl 4): p. S21-5.

15. Louis, E.D., R. Ottman, and W.A. Hauser, *How common is the most common adult movement disorder? estimates of the prevalence of essential tremor throughout the world*. *Mov Disord*, 1998. **13**(1): p. 5-10.
16. Louis, E.D. and J.J. Ferreira, *How common is the most common adult movement disorder? Update on the worldwide prevalence of essential tremor*. *Mov Disord*, 2010. **25**(5): p. 534-41.
17. Rajput, A.H., Offord KP, Beard CM, Kurland LT, *Essential tremor in Rochester, Minnesota: a 45-year study*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1984. **47**(5): p. 466-70.
18. Benito-Leon, J., F. Bermejo-Pareja, and E.D. Louis, *Incidence of essential tremor in three elderly populations of central Spain*. *Neurology*, 2005. **64**(10): p. 1721-5.
19. Brin, M.F. and W. Koller, *Epidemiology and genetics of essential tremor*. *Mov Disord*, 1998. **13**(Suppl 3): p. 55-63.
20. Gerstenbrand, F., D. Klingler, and B. Pfeiffer, *Essential tremor: phenomenology and epidemiology (author's transl)*. *Nervenarzt*, 1982. **53**(1): p. 46-53.
21. Lou, J.S. and J. Jankovic, *Essential tremor: clinical correlates in 350 patients*. *Neurology*, 1991. **41**(2 (Pt 1)): p. 234-8.
22. Koller, W.C., K. Busenbark, and K. Miner, *The relationship of essential tremor to other movement disorders: report on 678 patients*. *Essential Tremor Study Group*. *Ann Neurol*, 1994. **35**(6): p. 717-23.
23. Larsson, T. and T. Sjogren, *Essential tremor: a clinical and genetic population study*. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 1960. **36**(144): p. 1-176.
24. Cohen, O., Pullman S, Jurewicz E, Watner D, Louis ED, *Rest tremor in patients with essential tremor: prevalence, clinical correlates, and electrophysiologic characteristics*. *Arch Neurol*, 2003. **60**(3): p. 405-10.
25. Lorenz, D., Poremba C, Papengut F, Schreiber S, Deuschl G, *The psychosocial burden of essential tremor in an outpatient- and a community-based cohort*. *Eur J Neurol*, 2011. **18**(7): p. 972-9.
26. Panicker, J.N. and P.K. Pal, *Clinical features, assessment and treatment of essential tremor*. *J Assoc Physicians India*, 2003. **51**: p. 276-9.
27. Stolze, H., Petersen G, Raethjen J, Wenzelburger R, Deuschl G, *The gait disorder of advanced essential tremor*. *Brain*, 2001. **124**(Pt 11): p. 2278-86.
28. Helmchen, C., Hagenow A, Miesner J, Sprenger A, Rambold H, Wenzelburger R, Heide W, Deuschl G, *Eye movement abnormalities in essential tremor may indicate cerebellar dysfunction*. *Brain*, 2003. **126**(Pt 6): p. 1319-32.

29. Gasparini, M., Bonifati V, Fabrizio E, Fabbrini G, Brusa L, Lenzi GL, Meco G., *Frontal lobe dysfunction in essential tremor: a preliminary study.* J Neurol, 2001. **248**(5): p. 399-402.
30. Lombardi, W.J., Woolston DJ, Roberts JW, Gross RE, *Cognitive deficits in patients with essential tremor.* Neurology, 2001. **57**(5): p. 785-90.
31. Critchley, E., *Clinical manifestations of essential tremor.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1972. **35**(3): p. 365-72.
32. Louis, E.D., Barnes LF, Ford B, Ottman R, *Family history information on essential tremor: potential biases related to the source of the cases.* Mov Disord, 2001. **16**(2): p. 320-4.
33. Louis, E.D. and R. Ottman, *How familial is familial tremor? The genetic epidemiology of essential tremor.* Neurology, 1996. **46**(5): p. 1200-5.
34. Busenbark, K., Barnes P, Lyons K, Ince D, Villagra F, Koller WC, *Accuracy of reported family histories of essential tremor.* Neurology, 1996. **47**(1): p. 264-5.
35. Lorenz, D., Frederiksen H, Moises H, Kopper F, Deuschl G, Christensen K, *High concordance for essential tremor in monozygotic twins of old age.* Neurology, 2004. **62**(2): p. 208-11.
36. Gulcher, J.R., Jónsson P, Kong A, Kristjánsson K, Frigge ML, Káráson A, Einarsdóttir IE, Stefánsson H, Einarsdóttir AS, Sigurthorardóttir S, Baldursson S, Björnsdóttir S, Hrafnkelsdóttir SM, Jakobsson F, Benedickz J, Stefánsson K., *Mapping of a familial essential tremor gene, FET1, to chromosome 3q13.* Nat Genet, 1997. **17**(1): p. 84-7.
37. Higgins, J.J., L.T. Pho, and L.E. Nee, *A gene (ETM) for essential tremor maps to chromosome 2p22-p25.* Mov Disord, 1997. **12**(6): p. 859-64.
38. Shatunov, A., Sambuughin N, Jankovic J, Elble R, Lee HS, Singleton AB, Dagvadorj A, Ji J, Zhang Y, Kimonis VE, Hardy J, Hallett M, Goldfarb LG, *Genomewide scans in North American families reveal genetic linkage of essential tremor to a region on chromosome 6p23.* Brain, 2006. **129**(Pt 9): p. 2318-31.
39. Lucotte, G., Lagarde JP, Funalot B, Sokoloff P, *Linkage with the Ser9Gly DRD3 polymorphism in essential tremor families.* Clin Genet, 2006. **69**(5): p. 437-40.
40. Jeanneteau, F., Funalot B, Jankovic J, Deng H, Lagarde JP, Lucotte G, Sokoloff P, *A functional variant of the dopamine D3 receptor is associated with risk and age-at-onset of essential tremor.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(28): p. 10753-8.

41. Higgins, J.J., Lombardi RQ, Pucilowska J, Jankovic J, Tan EK, Rooney JP, *A variant in the HSI-BP3 gene is associated with familial essential tremor*. Neurology, 2005. **64**(3): p. 417-21.
42. Higgins, J.J., Lombardi RQ, Pucilowska J, Jankovic J, Golbe LI, Verhagen L, *HSI-BP3 gene variant is common in familial essential tremor*. Mov Disord, 2006. **21**(3): p. 306-9.
43. Stefansson, H., Steinberg S, Petursson H, Gustafsson O, Gudjonsdottir IH, Jonsdottir GA, Palsson ST, Jonsson T, Saemundsdottir J, Bjornsdottir G, Böttcher Y, Thorlacius T, Haubenberger D, Zimprich A, Auff E, Hotzy C, Testa CM, Miyatake LA, Rosen AR, Kristleifsson K, Rye D, Asmus F, Schöls L, Dichgans M, Jakobsson F, Benedikz J, Thorsteinsdottir U, Gulcher J, Kong A, Stefansson K, *Variant in the sequence of the LINGO1 gene confers risk of essential tremor*. Nat Genet, 2009. **41**(3): p. 277-9.
44. Mi, S., Hu B, Hahm K, Luo Y, Kam Hui ES, Yuan Q, Wong WM, Wang L, Su H, Chu TH, Guo J, Zhang W, So KF, Pepinsky B, Shao Z, Graff C, Garber E, Jung V, Wu EX, Wu W, *LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis*. Nat Med, 2007. **13**(10): p. 1228-33.
45. Wasielewski, P.G., J.M. Burns, and W.C. Koller, *Pharmacologic treatment of tremor*. Mov Disord, 1998. **13 Suppl 3**: p. 90-100.
46. Zesiewicz, T.A., Elble R, Louis ED, Hauser RA, Sullivan KL, Dewey RB Jr, Ondo WG, Gronseth GS, Weiner WJ, *Practice parameter: therapies for essential tremor: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology*. Neurology, 2005. **64**(12): p. 2008-20.
47. Cleeves, L. and L.J. Findley, *Propranolol and propranolol-LA in essential tremor: a double blind comparative study*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1988. **51**(3): p. 379-84.
48. Koller, W.C., *Long-acting propranolol in essential tremor*. Neurology, 1985. **35**: p. 108-110.
49. O'Suilleabhain, P. and R.B. Dewey, Jr., *Randomized trial comparing primidone initiation schedules for treating essential tremor*. Mov Disord, 2002. **17**(2): p. 382-6.
50. Koller, W.C. and V.L. Royse, *Efficacy of primidone in essential tremor*. Neurology, 1986. **36**(1): p. 121-4.
51. Connor, G.S., *A double-blind placebo-controlled trial of topiramate treatment for essential tremor*. Neurology, 2002. **59**(1): p. 132-4.

52. Ondo, W.G., Jankovic J, Connor GS, Pahwa R, Elble R, Stacy MA, Koller WC, Schwarzman L, Wu SC, Hulihan JF, *Topiramate in essential tremor: a double-blind, placebo-controlled trial*. Neurology, 2006. **66**(5): p. 672-7.
53. Hulihan, J.F., G.S. Connor, and W. Shu-Chen, *Topiramate in essential tremor: pooled data from a double-blind, placebo-controlled, crossover trial*. American Academy of Neurology, 2003.
54. Galvez-Jimenez, N. and M. Hargreave, *Topiramate and essential tremor*. Ann Neurol, 2000. **47**(6): p. 837-8.
55. Connor, G.S., K. Edwards, and D. Tarsy, *Topiramate in essential tremor: findings from double-blind, placebo-controlled, crossover trials*. Clin Neuropharmacol, 2008. **31**(2): p. 97-103.
56. Jefferson, D., P. Jenner, and C.D. Marsden, *beta-Adrenoreceptor antagonists in essential tremor*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1979. **42**(10): p. 904-9.
57. Gironell, A., Kulisevsky J, Barbanoj M, López-Villegas D, Hernández G, Pascual-Sedano B, *A randomized placebo-controlled comparative trial of gabapentin and propranolol in essential tremor*. Arch Neurol, 1999. **56**(4): p. 475-80.
58. Leigh, P.N., Jefferson D, Twomey A, Marsden CD, *Beta-adrenoreceptor mechanisms in essential tremor; a double-blind placebo controlled trial of metoprolol, sotalol and atenolol*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1983. **46**(8): p. 710-5.
59. Biary, N. and W. Koller, *Kinetic predominant essential tremor: successful treatment with clonazepam*. Neurology, 1987. **37**(3): p. 471-4.
60. Thompson, C., Lang A, Parkes JD, Marsden CD, *A double-blind trial of clonazepam in benign essential tremor*. Clin Neuropharmacol, 1984. **7**(1): p. 83-8.
61. Ceravolo, R., Salvetti S, Piccini P, Lucetti C, Gambaccini G, Bonuccelli U, *Acute and chronic effects of clozapine in essential tremor*. Mov Disord, 1999. **14**(3): p. 468-72.
62. Pakkenberg, H. and B. Pakkenberg, *Clozapine in the treatment of tremor*. Acta Neurol Scand, 1986. **73**(3): p. 295-7.
63. Koller, W.C., *Nadolol in essential tremor*. Neurology, 1983. **33**(8): p. 1076-7.
64. Biary, N., Bahou Y, Sofi MA, Thomas W, al Deeb SM, *The effect of nimodipine on essential tremor*. Neurology, 1995. **45**(8): p. 1523-5.
65. Schuurman, P.R., Bosch DA, Bossuyt PM, Bonsel GJ, van Someren EJ, de Bie RM, Merkus MP, Speelman JD, *A comparison of continuous thalamic stimulation and thalamotomy for suppression of severe tremor [see comments]*. N Engl J Med, 2000. **342**(7): p. 461-8.

66. Selby, G., *Stereotactic surgery for the relief of Parkinson's disease. 2. An analysis of the results in a series of 303 patients (413 operations)*. J Neurol Sci, 1967. **5**(2): p. 343-75.
67. Matsumoto, K., F. Shichijo, and T. Fukami, *Long-term follow-up review of cases of Parkinson's disease after unilateral or bilateral thalamotomy*. J Neurosurg, 1984. **60**(5): p. 1033-44.
68. Miyamoto, T., Bekku H, Moriyama E, Tsuchida S, *Present role of stereotactic thalamotomy for parkinsonism. Retrospective analysis of operative results and thalamic lesions in computed tomograms*. Appl Neurophysiol, 1985. **48**(1-6): p. 294-304.
69. Kelly, P.J. and F.J. Gillingham, *The long-term results of stereotaxic surgery and L-dopa therapy in patients with Parkinson's disease. A 10-year follow-up study*. J Neurosurg, 1980. **53**(3): p. 332-7.
70. Giuffre, R. and D. Gambacorta, *The therapeutic possibilities of L-dopa and amantadine in Parkinsonian patients who have undergone bilateral thalamotomy*. Eur Neurol, 1971. **5**(5): p. 311-6.
71. Herzog, J., Hamel W, Wenzelburger R, Pötter M, Pinsker MO, Bartussek J, Morsnowski A, Steigerwald F, Deuschl G, Volkmann J, *Kinematic analysis of thalamic versus subthalamic neurostimulation in postural and intention tremor*. Brain, 2007. **130**(Pt 6): p. 1608-25.
72. Fields, J.A., Tröster AI, Woods SP, Higginson CI, Wilkinson SB, Lyons KE, Koller WC, Pahwa R, *Neuropsychological and quality of life outcomes 12 months after unilateral thalamic stimulation for essential tremor*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2003. **74**(3): p. 305-11.
73. Koller, W., Pahwa R, Busenbark K, Hubble J, Wilkinson S, Lang A, Tuite P, Sime E, Lazano A, Hauser R, Malapira T, Smith D, Tarsy D, Miyawaki E, Norregaard T, Kormos T, Olanow CW, *High-frequency unilateral thalamic stimulation in the treatment of essential and parkinsonian tremor*. Ann Neurol, 1997. **42**(3): p. 292-9.
74. Pahwa, R., Lyons KL, Wilkinson SB, Carpenter MA, Tröster AI, Searl JP, Overman J, Pickering S, Koller WC, *Bilateral thalamic stimulation for the treatment of essential tremor*. Neurology, 1999. **53**(7): p. 1447-50.
75. Tasker, R.R., *Deep brain stimulation is preferable to thalamotomy for tremor suppression*. Surg Neurol, 1998. **49**(2): p. 145-53; discussion 153-4.

76. Diener, H.C. and N. Putzki, *Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie*, ed. G.D. P. Berlit, C. Elger, R. Gold, W. Hacke, A. Hufschmidt, H. Mattle, U. Meier, W. H. Oertel, H. Reichmann, E Schmutzhard, C. W. Wallesch, M. Weller Vol. 4. überarbeitete Auflage. 2008: Thieme.
77. Dupuis, M.J., Delwaide PJ, Boucquey D, Gonsette RE, *Homolateral disappearance of essential tremor after cerebellar stroke*. *Mov Disord*, 1989. **4**(2): p. 183-7.
78. Nagaratnam, N. and G. Kalasabail, *Contralateral abolition of essential tremor following a pontine stroke*. *J Neurol Sci*, 1997. **149**(2): p. 195-6.
79. Urushitani, M., Inoue H, Kawamura K, Kageyama T, Fujisawa M, Nishinaka K, Udaka F, Kameyama M, *Disappearance of essential neck tremor after pontine base infarction*. *No To Shinkei*, 1996. **48**(8): p. 753-6.
80. Duncan, R., I. Bone, and I.D. Melville, *Essential tremor cured by infarction adjacent to the thalamus*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1988. **51**(4): p. 591-2.
81. Colebatch, J.G., Findley LJ, Frackowiak RS, Marsden CD, Brooks DJ, *Preliminary report: activation of the cerebellum in essential tremor*. *Lancet*, 1990. **336**(8722): p. 1028-30.
82. Hallett, M. and R.M. Dubinsky, *Glucose metabolism in the brain of patients with essential tremor*. *J Neurol Sci*, 1993. **114**(1): p. 45-8.
83. Jenkins, I.H., Bain PG, Colebatch JG, Thompson PD, Findley LJ, Frackowiak RS, Marsden CD, Brooks DJ, *A positron emission tomography study of essential tremor: evidence for overactivity of cerebellar connections*. *Ann Neurol*, 1993. **34**(1): p. 82-90.
84. Pennes, H.H. and P.H. Hoch, *Psychotomimetics, clinical and theoretical considerations: harmine, Win-2299 and nalline*. *Am J Psychiatry*, 1957. **113**(10): p. 887-92.
85. Lamarre, Y. and L.A. Mercier, *Neurophysiological studies of harmaline-induced tremor in the cat*. *Can J Physiol Pharmacol*, 1971. **49**(12): p. 1049-58.
86. Llinas, R., *Rebound excitation as the physiological basis for tremor: a biophysical study of the oscillatory properties of mammalian central neurons in vitro*. *Mov Disord*, 1984: p. 339-351.
87. Llinas, R.R., *The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function*. *Science*, 1988. **242**(4886): p. 1654-64.

88. Yarom, Y. and R. Llinas, *Long-term modifiability of anomalous and delayed rectification in guinea pig inferior olivary neurons*. J Neurosci, 1987. **7**(4): p. 1166-77.
89. Llinas, R., R. Baker, and C. Sotelo, *Electrotonic coupling between neurons in cat inferior olive*. J Neurophysiol, 1974. **37**(3): p. 560-71.
90. Llinas, R. and Y. Yarom, *Electrophysiology of mammalian inferior olivary neurones in vitro. Different types of voltage-dependent ionic conductances*. J Physiol, 1981. **315**: p. 549-67.
91. de Montigny, C. and Y. Lamarre, *Rhythmic activity induced by harmaline in the olivo-cerebello-bulbar system of the cat*. Brain Res, 1973. **53**(1): p. 81-95.
92. Llinas, R. and R.A. Volkind, *The olivo-cerebellar system: functional properties as revealed by harmaline-induced tremor*. Exp Brain Res, 1973. **18**(1): p. 69-87.
93. Lamarre, Y. and M. Weiss, *Harmaline-induced rhythmic activity of alpha and gamma motoneurons in the cat*. Brain Res, 1973. **63**: p. 430-4.
94. Weiss, M., *Rhythmic activity of spinal interneurons in harmaline-treated cats. A model for olivo-cerebellar influence at the spinal level*. J Neurol Sci, 1982. **54**(3): p. 341-8.
95. Pinto, A.D., A.E. Lang, and R. Chen, *The cerebellothalamocortical pathway in essential tremor*. Neurology, 2003. **60**(12): p. 1985-7.
96. Rajput, A.H., Rozdilsky B, Ang L, Rajput A, *Clinicopathologic observations in essential tremor: report of six cases*. Neurology, 1991. **41**(9): p. 1422-4.
97. Findley, L. and W.C. Koller, *Handbook of Tremor Disorders*, in *Handbook of Tremor Disorders*. 1995, Marcel Dekker: New York.
98. Deuschl, G. and R.J. Elble, *The pathophysiology of essential tremor*. Neurology, 2000. **54**(11): p. S14-20.
99. Smith, K.J., P.A. Felts, and G.R. John, *Effects of 4-aminopyridine on demyelinated axons, synapses and muscle tension*. Brain, 2000. **123** (Pt 1): p. 171-84.
100. Fujihara, K. and T. Miyoshi, *The effects of 4-aminopyridine on motor evoked potentials in multiple sclerosis*. J Neurol Sci, 1998. **159**(1): p. 102-6.
101. Buss, R.R., C.W. Bourque, and P. Drapeau, *Membrane properties related to the firing behavior of zebrafish motoneurons*. J Neurophysiol, 2003. **89**(2): p. 657-64.
102. David, G., J. Talbot, and E.F. Barrett, *Quantitative estimate of mitochondrial [Ca²⁺] in stimulated motor nerve terminals*. Cell Calcium, 2003. **33**(3): p. 197-206.

103. Aisen, M.L., Sevilla D, Edelstein L, Blass J, *A double-blind placebo-controlled study of 3,4-diaminopyridine in amyotrophic lateral sclerosis patients on a rehabilitation unit.* J Neurol Sci, 1996. **138**(1-2): p. 93-6.
104. Lemeignan, M., Millart H, Lamiable D, Molgo J, Lechat P, *Evaluation of 4-aminopyridine and 3,4-diaminopyridine penetrability into cerebrospinal fluid in anesthetized rats.* Brain Res, 1984. **304**(1): p. 166-9.
105. Bever, C.T., Jr., Leslie J, Camenga DL, Panitch HS, Johnson KP, *Preliminary trial of 3,4-diaminopyridine in patients with multiple sclerosis.* Ann Neurol, 1990. **27**(4): p. 421-7.
106. Newsom-Davis, J., *Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome.* Curr Treat Options Neurol, 2001. **3**(2): p. 127-131.
107. Tim, R.W., J.M. Massey, and D.B. Sanders, *Lambert-Eaton myasthenic syndrome: electrodiagnostic findings and response to treatment.* Neurology, 2000. **54**(11): p. 2176-8.
108. Sanders, D.B., Massey JM, Sanders LL, Edwards LJ, *A randomized trial of 3,4-diaminopyridine in Lambert-Eaton myasthenic syndrome.* Neurology, 2000. **54**(3): p. 603-7.
109. Davis, F.A., D. Stefoski, and J. Rush, *Orally administered 4-aminopyridine improves clinical signs in multiple sclerosis.* Ann Neurol, 1990. **27**(2): p. 186-92.
110. Polman, C.H., Bertelsmann FW, de Waal R, van Diemen HA, Uitdehaag BM, van Loenen AC, Koetsier JC, *4-Aminopyridine is superior to 3,4-diaminopyridine in the treatment of patients with multiple sclerosis.* Arch Neurol, 1994. **51**(11): p. 1136-9.
111. Bever, C.T., Jr., Anderson PA, Leslie J, Panitch HS, Dhib-Jalbut S, Khan OA, Milo R, Hebel JR, Conway KL, Katz E, Johnson KP, *Treatment with oral 3,4 diaminopyridine improves leg strength in multiple sclerosis patients: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial.* Neurology, 1996. **47**(6): p. 1457-62.
112. Strupp, M., Schüler O, Krafczyk S, Jahn K, Schautzer F, Büttner U, Brandt T, *Treatment of downbeat nystagmus with 3,4-diaminopyridine: A placebo-controlled study.* Neurology, 2003. **61**(2): p. 165-70.
113. Zee, D.S., Yamazaki A, Butler PH, Gücer G, *Effects of ablation of flocculus and paraflocculus of eye movements in primate.* J Neurophysiol, 1981. **46**(4): p. 878-99.
114. Hille, B., *Ionic channels of excitable membranes*, in 3rd ed. 1999, Sinauer Associates: Philadelphia.

115. Boerma, C.E., Rommes JH, van Leeuwen RB, Bakker J, *Cardiac arrest following an iatrogenic 3,4-diaminopyridine intoxication in a patient with Lambert-Eaton myasthenic syndrome*. J Toxicol Clin Toxicol, 1995. **33**(3): p. 249-51.
116. Smeets, J.W. and M.W. Kunst, *Severe poisoning by 4-aminopyridine in a body builder*. Ned Tijdschr Geneesk, 1995. **139**(51): p. 2667-9.
117. Velez, L., Shirazi F, Goto C, Shepherd G, Roth BA, *Opisthotonic posturing with neuromuscular irritability attributable to 4-aminopyridine ingestion by a healthy pediatric patient*. Pediatrics, 2003. **111**(1): p. e82-4.
118. Pickett, T.A. and R. Enns, *Atypical presentation of 4-aminopyridine overdose*. Ann Emerg Med, 1996. **27**(3): p. 382-5.
119. Polman, C.H., Bertelsmann FW, van Loenen AC, Koetsier JC, *4-aminopyridine in the treatment of patients with multiple sclerosis. Long-term efficacy and safety*. Arch Neurol, 1994. **51**(3): p. 292-6.
120. Fahn, S., E. Tolosa, and C. Marin, *Clinical rating scale for tremor*, in *Parkinson's disease and movement disorders*, J. Jankovic and E. Tolosa, Editors. 1993, Williams & Wilkins: Baltimore. p. 271-280.
121. Lauk, M., Timmer J, Lücking CH, Honerkamp J, Deuschl G, *A software for recording and analysis of human tremor*. Comput Methods Programs Biomed, 1999. **60**(1): p. 65-77.
122. Shaikh, A.G., Miura K, Optican LM, Ramat S, Tripp RM, Zee DS, *Hypothetical membrane mechanisms in essential tremor*. J Transl Med, 2008. **6**: p. 68.
123. Deuschl, G. and R. Elble, *Essential tremor--neurodegenerative or nondegenerative disease towards a working definition of ET*. Mov Disord, 2009. **24**(14): p. 2033-41.
124. Raethjen, J. and G. Deuschl, *Tremor*. Curr Opin Neurol, 2009. **22**(4): p. 400-5.
125. Louis, E.D., *Essential tremors: a family of neurodegenerative disorders?* Arch Neurol, 2009. **66**(10): p. 1202-8.
126. Louis, E.D., *Essential tremor*. Lancet Neurol, 2005. **4**(2): p. 100-10.
127. Deuschl, G., Wenzelburger R, Löffler K, Raethjen J, Stolze H, *Essential tremor and cerebellar dysfunction clinical and kinematic analysis of intention tremor*. Brain, 2000. **123**(Pt 8): p. 1568-80.
128. Govidan, R., J. Raethjen, and F. Kopper, *Estimation of delay by time by coherence analysis*. Physica, 2005: p. 277-295.

129. Timmermann, L., E. Florin, and C. Reck, *Pathological cerebral oscillatory activity in Parkinson's disease: a critical review on methods, data and hypotheses*. Expert Rev Med Devices, 2007. **4**(5): p. 651-61.
130. Shaikh, A.G., Miura K, Optican LM, Ramat S, Leigh RJ, Zee DS, *A new familial disease of saccadic oscillations and limb tremor provides clues to mechanisms of common tremor disorders*. Brain, 2007. **130**(Pt 11): p. 3020-31.
131. Kronenbuerger, M., Gerwig M, Brol B, Block F, Timmann D, *Eyeblink conditioning is impaired in subjects with essential tremor*. Brain, 2007. **130**(Pt 6): p. 1538-51.
132. Shill, H.A., De La Vega FJ, Samanta J, Stacy M, *Motor learning in essential tremor*. Mov Disord, 2009. **24**(6): p. 926-8.
133. Jankovic, J. and J.L. Noebels, *Genetic mouse models of essential tremor: are they essential?* J Clin Invest, 2005. **115**(3): p. 584-6.
134. Lorenz, D. and G. Deuschl, *Update on pathogenesis and treatment of essential tremor*. Curr Opin Neurol, 2007. **20**(4): p. 447-52.

8. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|---|
| 3,4-DAP | 3,4-Diaminopyridin |
| 4-AP | 4-Aminopyridin |
| ANOVA | Analysis Of Variance |
| AV-Block | Atrio-Ventrikulärer Block |
| BfArM | Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte |
| C2/C3 | Segment 2/3 des cervikalen Rückenmarks |
| Ca ²⁺ | zweifach positiv geladene Calcium-Ionen |
| DBN | Down-Beat-Nystagmus |
| DRD3 | Dopamin-D3-Rezeptor-Gen |
| ED | Encephalomyelitis Disseminata |
| EMG | Elektromyographie |
| ET | Essentieller Tremor |
| Fahn-TRS | Fahn-Tolosa-Marin-Tremorskala |
| GABA | Gamma-Aminobutric-Acid |
| HT | Harmalin-Tremor |
| HS1-BP3 | Hematopoetic Specific 1-Binding Protein 3 |
| Hz | Hertz |
| i.v.-Gabe | intravenöse Gabe |
| KH-Stiele | Kleinhirn-Stiele |
| LEMS | Lambert-Eaton-Myasthenie-Syndrom |
| LINGO | Leucine Rich Repeat and Ig Domain Containing – Gen |
| MW | Mittelwert |
| Na ⁺ | einfach positiv geladenes Natrium-Ion |
| PET | Positronen-Emissions-Tomographie |
| RM | Rückenmark |
| THS | Tiefe Hirnstimulation |
| TRIG | Tremor Investigation Group |
| UV-Detektion | Ultraviolett-Detektion |

| | |
|------|---|
| VAS | Visuelle Analog Skala |
| VGCC | Voltage Gated Calcium Channel |
| VIM | Nucleus ventro-intermedialis des Thalamus |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

9. Anlage

Anlage 1: EMA/COMP/2732/2002 Rev.4 - Committee for Orphan Medicinal Products

Anlage 2: Klinische Tremor-Beurteilungsskala (nach Fahn, Tolosa, Marin 1993)

Anlage 3: Paper der, in der Fachzeitschrift „Neurology“ der American Academy of Neurology, veröffentlichten Studie mit dem Titel: „No benefit of 3,4-diaminopyridine in essential tremor: A placebo-controlled crossover study“

Anlage 4: Ethikvotum



EUROPEAN MEDICINES AGENCY
SCIENCE MEDICINES HEALTH

14 June 2010
EMA/COMP/2732/2002 Rev.4
Committee for Orphan Medicinal Products

Public summary of opinion on orphan designation

3,4 diaminopyridine phosphate for the for the treatment of Lambert-Eaton myasthenic syndrome

On 18 December 2002, orphan designation (EU/3/02/124) was granted by the European Commission to Agence Générale des Equipements et produits de santé - Etablissement Pharmaceutique des Hôpitaux de Paris (AGEPS - EPHP), France, for 3,4 diaminopyridine phosphate for the treatment of Lambert-Eaton myasthenic syndrome.

The sponsorship was transferred to OPi, France, in April 2006. OPi changed its name to EUSA Pharma SAS in February 2008.

The sponsorship was subsequently transferred to BioMarin Europe Ltd, United Kingdom, in June 2010.

What is Lambert-Eaton myasthenic syndrome?

Lambert-Eaton myasthenic syndrome is characterised by weakness of the muscles. The weakness can be so severe that it becomes difficult to climb the stairs, or even walk. The disease is chronically debilitating, and life-threatening. In some patients the disease occurs in the presence of cancer, often a cancer of the lung.

What is the estimated number of patients affected by the condition?

At the time of designation, Lambert-Eaton myasthenic syndrome affected approximately 0.1 in 10,000 people in the European Union (EU)*. This is equivalent to a total of around 4,000 people, and is below the threshold for orphan designation, which is 5 people in 10,000. This is based on the information provided by the sponsor and the knowledge of the Committee for Orphan Medicinal Products (COMP).

What treatments are available?

Several products have been used to treat this condition, however none of them has been authorised for Lambert-Eaton myasthenic syndrome in the European Union.

*Disclaimer: The number of patients affected by the condition is estimated and assessed for the purpose of the designation, for a European Community population of 377,000,000 (Eurostat 2001) and may differ from the true number of patients affected by the condition. This estimate is based on available information and calculations presented by the sponsor at the time of the application.



How is this medicine expected to work?

Muscles are made up of fibres. The fibres of muscles are connected to the nerves. When activated, nerves release a substance into the space between the nerve and the muscle. This substance is called acetylcholine. It causes the muscle fibres to shrink. As a result, the muscle contracts. The release of acetylcholine occurs through a complex mechanism. The mechanism is based on the different flows of potassium and calcium across the surface of nerve cells. The flow is controlled by certain proteins called potassium channels. 3,4-diaminopyridine phosphate is able to block these proteins. As a result, more calcium is taken up by the cells. This in turn causes release of acetylcholine. This is expected to increase muscle strength.

What is the stage of development of this medicine?

At the time of submission of the application for orphan designation, clinical trials were ongoing.

Another sponsor has received orphan designation in the United States FDA for Lambert-Eaton myasthenic syndrome in 1990.

The medicinal product was not marketed anywhere worldwide for Lambert-Eaton myasthenic syndrome.

In accordance with Regulation (EC) No 141/2000 of 16 December 1999, the COMP adopted a positive opinion on 15 November 2002 recommending the granting of this designation.

Update: 3,4 diaminopyridine phosphate (Firdapse) has been authorised in the EU since 23 December 2009 for symptomatic treatment of Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS) in adults.

For more information on Firdapse, see:

<http://www.ema.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/firdapse/firdapse.htm>

Opinions on orphan medicinal product designations are based on the following three criteria:

- the seriousness of the condition;
- the existence of alternative methods of diagnosis, prevention or treatment;
- either the rarity of the condition (affecting not more than 5 in 10,000 people in the European Union) or insufficient returns on investment.

Designated orphan medicinal products are products that are still under investigation and are considered for orphan designation on the basis of potential activity. An orphan designation is not a marketing authorisation. As a consequence, demonstration of quality, safety and efficacy is necessary before a product can be granted a marketing authorisation.

For more information

Sponsor's contact details:

BioMarin Europe Ltd
164 Shaftesbury Avenue
London WC2H 8HL
United Kingdom
Telephone: +44 207 420 0800
Telefax: +44 207 420 0829
E-mail: biomarin-europe@bmrn.com

Patient associations' contact points

Association Française contre les Myopathies (AFM)

1, rue de l'Internationale
91002 – EVRY
France
Telephone: +33 1 69 13 22 20
Telefax: +33 1 69 13 22 22
E-mail: ssolbeslatourette@afm.genethon.fr

Translations of the active ingredient and indication in all official EU languages¹, Norwegian and Icelandic

| Language | Active Ingredient | Indication |
|------------|------------------------------------|---|
| English | 3,4-diaminopyridine phosphate | Treatment of Lambert-Eaton myasthenic syndrome |
| Bulgarian | 3,4 диаминопиридин фосфат | Лечение на миастенен синдром на Lambert-Eaton |
| Czech | 3,4 diaminopyridine phosphate | Léčba myastenického syndromu Lambert- Eaton |
| Danish | 3,4-diaminopyridinfosfat | Behandling af Lambert-Eaton myastheni syndrom. |
| Dutch | 3,4-diaminopyridine-fosfaat | Behandeling van het myasthenie syndroom van Lambert-Eaton |
| Estonian | 3,4-diaminopüridiinfosfaat | Lambert-Eatoni müasteenilise sündroomi ravi |
| Finnish | 3,4-diaminopyridiinifosfaatti | Lambert-Eatonin lihasheikkoussyndrooman hoito |
| French | Phosphate de 3,4-diaminopyridine | Traitement du syndrome myasthénique de Lambert-Eaton |
| German | 3,4-Diaminopyridin-Phosphat | Behandlung des Lambert-Eaton-Myasthenie-Syndroms |
| Greek | Φωσφορικό άλας 3,4-διαμινοπυριδίνη | Θεραπεία του μυασθενικού συνδρόμου Lambert-Eaton |
| Hungarian | 3,4-diaminopiridin foszfát | Eaton-Lambert szindróma kezelése |
| Italian | Fosfato di 3,4-diaminopiridina | Trattamento della sindrome miastenica di Lambert-Eaton |
| Latvian | 3,4 diaminopiridīnfosfāts | Lamberta-Ītona miastēniskais sindroms |
| Lithuanian | 3,4 diaminopiridino fosfatas | Lambert-Eaton'o miasteninio sindromo gydymas |
| Maltese | 3,4-diaminopyridine phosphate | Kura tas-sindrome miasteniku ta' Lambert-Eaton |
| Polish | 3,4-diaminopyrydyny fosforan | Leczenie zespołu mistanicznego Lambert-Eaton'a |
| Portuguese | Fosfato de 3,4-diaminopiridina | Tratamento do síndrome miasténico de Lambert-Eaton |
| Romanian | Fosfat de 3,4 diaminopiridină | Tratamentul sindromului miastenic Lambert-Eaton |
| Slovak | 3,4-diaminopyridínfosfát | Liečba Lambertovho-Eatonovho myastenického syndrómu |
| Slovenian | 3,4 diaminopiridinfosfat | Zdravljenje miasteničnega sindroma Lambert-Eaton |
| Spanish | Fosfato de 3,4-diaminopiridina | Tratamiento del síndrome de Eaton-Lambert. |
| Swedish | 3,4-diaminopyridinfosfat | Behandling av Lambert-Eatons myastenisyndrom |

¹ At the time of transfer of sponsorship

Klinische Tremor-Beurteilungsskala (nach Fahn, Tolosa, Marin 1993)

Datum :

A

1.-9. Tremor:

Beurteilung von Zungen-, Stimm-, Kopf-, Rumpf- und Kopftremor in Ruhe-, Halte-, Aktions- und Intentionsbedingung (**s. Tab. A**)

(**in Ruhe:** für Kopf und Rumpf im Liegen; **in Haltebedingung:** o.Extr.: Arme ausgestreckt, Hände leicht gestreckt, Finger leicht gespreizt; u.Extr.: Beine in Hüfte und Knie gebeugt; Füße dorsalflektiert; Zunge hervorgestreckt; Kopf und Rumpf: im Sitzen o. Stehen; **in Aktion o. Intention:** o.Extr.: FNV u.a.; u.Extr.: Zeh zum Finger in gebeugter Haltung u.a.)

- 0 = Nicht vorhanden
- 1 = Gering ausgeprägt (<0.5cm); kaum wahrnehmbar; kann intermittierend auftreten.
- 2 = Mäßig ausgeprägt; Amplitude (0.5-1cm); kann intermittierend auftreten.
- 3 = Deutlich ausgeprägt (1-2cm).
- 4 = Stark ausgeprägt (>2cm).

B

10. Handschrift

Schreiben des Standardsatzes "Dies ist eine Probe meiner besten Handschrift" mit Unterschrift und Datum.

- 0 = Normal
- 1 = Geringe Beeinträchtigung; etwas unordentlich, zittrig.
- 2 = Mäßige Beeinträchtigung; leserlich aber mit erheblichem Zittern.
- 3 = Deutliche Beeinträchtigung; unleserlich.
- 4 = Starke Beeinträchtigung; unfähig einen Stift zum Papier zu führen ohne Mithilfe der anderen Hand.

11.-13. Zeichnen

Es müssen jeweils die beiden markierten Punkte der einzelnen Zeichnungen verbunden werden, ohne daß sich die Linien kreuzen. Prüfung beider Hände, Beginn mit der weniger stark beeinträchtigten Seite, **ohne Aufstützen der Hand oder des Arms.**

- 0 = Normal
- 1 = Leichtes Zittern; Linien kreuzen sich gelegentlich
- 2 = Mäßiges Zittern; Linien kreuzen sich häufig.
- 3 = Große Schwierigkeiten beim Lösen der Aufgabe. Viele Fehler.
- 4 = Kann die Zeichnung nicht ergänzen.

14. Gießen

Eine Tasse aus Hartplastik (8 cm) wird bis 1 cm unter den Rand mit Wasser gefüllt. Der Patient muß das Wasser von einer in die andere Tasse gießen. Jede Hand wird einzeln geprüft.

- 0 = Normal
- 1 = Vorsichtiger als Personen ohne Tremor, verschüttet jedoch nichts.
- 2 = Verschüttet wenig (bis 10%).
- 3 = Verschüttet eine beträchtliche Menge (>10-50%).
- 4 = Aufgabe kann nicht ausgeführt werden, ohne das meiste zu verschütten.

C

15. Sprache

(**durch den Untersucher geratet**; einschließlich spasmodische Dysphonie, falls vorhanden)

- 0 = Normal.
- 1 = Leichtes Zittern der Stimme, nur bei Nervosität.
- 2 = Ständig leichtes Zittern der Stimme.
- 3 = Mäßiges Zittern der Stimme
- 4 = Starkes Zittern der Stimme. Einige Wörter schwer zu verstehen.

(Items 16-22 nach Anamnese geratet)

16. Essen

- 0 = Normal
- 1 = Leichte Beeinträchtigung. Kann feste Nahrung zum Mund führen, wobei nur selten etwas herunterfällt.
- 2 = Mäßige Beeinträchtigung. Erbsen u.ä. fallen häufig herunter, muß den Kopf weit über den Teller beugen.
- 3 = Deutliche Beeinträchtigung. Kann nicht selbständig schneiden oder braucht beide Hände zum Essen.
- 4 = Starke Beeinträchtigung. Braucht Hilfe beim Essen.

17. Aufnahme flüssiger Nahrung

- 0 = Normal
- 1 = Leichte Beeinträchtigung. Kann noch einen Löffel benutzen, wenn dieser nicht ganz gefüllt ist.
- 2 = Mäßige Beeinträchtigung. Kann keinen Löffel mehr benutzen, benutzt Tasse oder Glas.
- 3 = Deutliche Beeinträchtigung. Kann nur aus der Tasse trinken, wenn sie mit beiden Händen gehalten wird.
- 4 = Schwere Beeinträchtigung. Kann nur mit Strohhalm trinken.

18. Hygiene

- 0 = Normal.
- 1 = Leichte Beeinträchtigung. Kann alle Tätigkeiten allein ausführen, ist jedoch überdurchschnittlich vorsichtig.
- 2 = Mäßige Beeinträchtigung. Kann alle Tätigkeiten selbständig ausführen, jedoch mit Fehlern; benützt elektrischen Rasierapparat wegen des Tremors.
- 3 = Deutlichen Beeinträchtigung, feinmotorische Tätigkeiten, wie auflegen von Lippenstift, Rasieren (auch mit elektr. Rasierapparat) nur unter Zuhilfenahme der zweiten Hand möglich.
- 4 = Starke Beeinträchtigung. Unfähig feinmotorische Tätigkeiten auszuführen.

19. Anziehen

- 0 = Normal

- 1 = Leichte Beeinträchtigung. Kann alle Verrichtungen allein ausführen, ist jedoch überdurchschnittlich vorsichtig.
- 2 = Mäßige Beeinträchtigung. Kann alle Verrichtungen selbständig ausführen, jedoch mit Fehlern.
- 3 = Deutlichen Beeinträchtigung. Braucht z.B. Hilfe beim Zuknöpfen oder Binden der Schuhbänder.
- 4 = Starke Beeinträchtigung. Braucht bei einfachen motorischen Tätigkeiten Hilfe.

20. Schreiben

- 0 = Normal
- 1 = Leichte Beeinträchtigung. Leserlich kann noch Briefe schreiben.
- 2 = Mäßige Beeinträchtigung. Leserlich kann keine Brief mehr schreiben.
- 3 = Deutliche Beeinträchtigung. Unleserlich.
- 4 = Starke Beeinträchtigung. Unfähig Schecks o.ä. zu unterschreiben.

21. Beruf

- 0 = Keine berufliche Beeinträchtigung.
- 1 = Kann noch arbeiten, muß jedoch vorsichtiger sein als der Durchschnitt.
- 2 = Kann noch arbeiten, jedoch mit Fehlern. Berufliche Beeinträchtigung durch den Tremor.
- 3 = Kann nicht mehr in seinem Beruf arbeiten. Arbeitswechsel wegen des Tremors. Tremor beeinträchtigt auch Hausarbeit, wie z.B. Bügeln.
- 4 = Kann keinem Beruf mehr nachgehen; starke Beeinträchtigung bei der Hausarbeit.

Soziale Aktivitäten (Zusatz-Item)

- 0 = Unverändert
- 1 = Geringfügige Veränderung, hält Sozialkontakte aufrecht.
- 2 = Mäßige Veränderung, meidet Kontakt mit Fremden.
- 3 = Deutliche Veränderung, meidet Kontakt mit Freunden.
- 4 = Starke Veränderung, meidet jeglichen Kontakt mit der Außenwelt

A

(in Ruhe: für Kopf und Rumpf im Liegen; in Haltebedingung: o.Extr.: Arme ausgestreckt, Hände leicht gestreckt, Finger leicht gespreizt; u.Extr.: Beine in Hüfte und Knie gebeugt; Füße dorsalflektiert; Zunge hervorgestreckt; Kopf und Rumpf: im Sitzen o. Stehen; in Aktion o. Intention: o.Extr.: FNV u.a.; u.Extr.: Zeh zum Finger bei flektiertem Bein u.a.)

| | Ruhetremor | Haltetremor | Aktions-/Int.tremor | Summe |
|-----------------------|------------|-------------|---------------------|-------|
| 1.Gesichtstremor | | ----- | ----- | |
| 2.Zungentremor | | | ----- | |
| 3.Stimmtremor | ----- | ----- | | |
| 4.Kopftremor | | | ----- | |
| 5.Tremor o. Extr. re. | | | | |
| 6.Tremor o. Extr. li. | | | | |
| 7.Rumpftremor | | | ----- | |
| 8.Tremor u. Extr. re. | | | | |
| 9.Tremor u. Extr. li. | | | | |

Gesamt:

(80P)

B

| 10.Handschrift (nur dominante Seite) | | | |
|--------------------------------------|--------|-------|-------|
| | rechts | links | Summe |
| 11.Zeichnung A | | | |
| 12.Zeichnung B | | | |
| 13.Zeichnung C | | | |
| 14.Wasser umfüllen | | | |

Gesamt:

(36P)

C

| | |
|---------------|--|
| 15. Sprache | |
| 16. Essen | |
| 17. Trinken | |
| 18. Hygiene | |
| 19. Anziehen | |
| 20. Schreiben | |
| 21. Arbeit | |

Gesamt: _____ (28P)

Gesamtsumme A/B/C: _____ (144P)

Schweregrad (erreichte Gesamtsumme x 100 / max.Summe (144P)): _____ (%)

Allg. Einschätzung des Untersuchers der funktionellen Einschränkung durch den Tremor:
Tremor:

- O = keine
- 1 = leicht (1-24%)
- 2 = mäßig (25-49%)
- 3 = deutlich (50-74%)
- 4 = schwer (75-100%)

Allg. Einschätzung des Patienten der funktionellen Einschränkung durch den

- O = keine
- 1 = leicht (1-24%)
- 2 = mäßig (25-49%)
- 3 = deutlich (50-74%)
- 4 = schwer (75-100%)

B

10. Schreiben:

Dies ist eine Probe meiner besten Handschrift.

Name

Datum

11.-13.

rechts

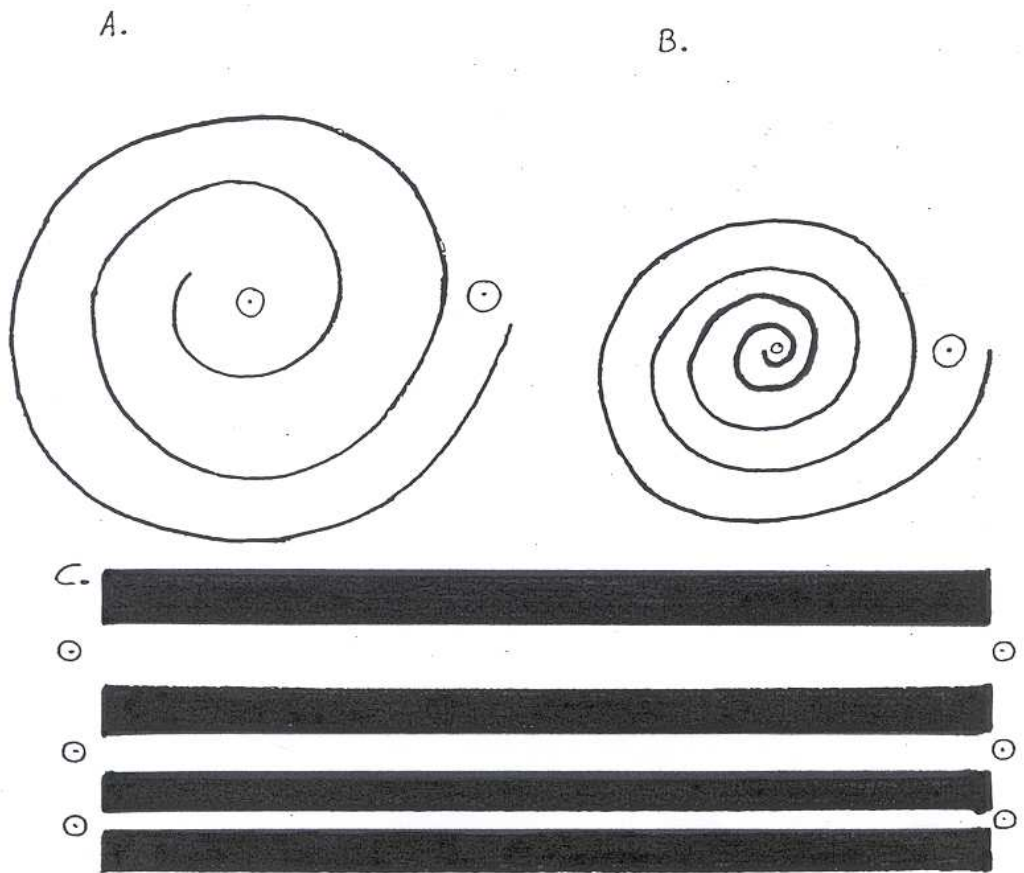


Figure 17.1. Continued.

links

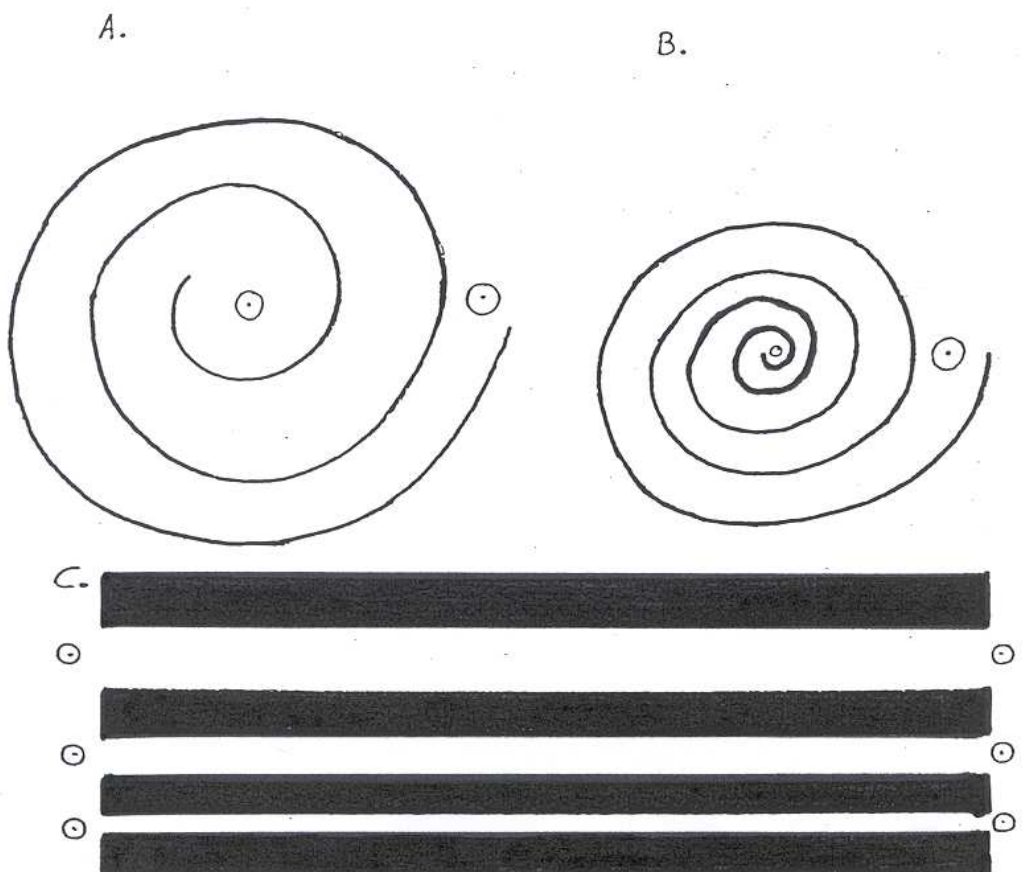


Figure 17.1. Continued.

NEUROLOGY

No benefit of 3,4-diaminopyridine in essential tremor: A placebo-controlled crossover study

D. Lorenz, K. Hagen, M. Ufer, I. Cascorbi, G. Deuschl and J. Volkmann

Neurology 2006;66:1753-1755

DOI: 10.1212/01.wnl.0000218297.90054.28

This information is current as of June 13, 2006

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

<http://www.neurology.org/cgi/content/full/66/11/1753>

Neurology is the official journal of AAN Enterprises, Inc. A bi-monthly publication, it has been published continuously since 1951. Copyright © 2006 by AAN Enterprises, Inc. All rights reserved. Print ISSN: 0028-3878. Online ISSN: 1526-632X.



No benefit of 3,4-diaminopyridine in essential tremor: A placebo-controlled crossover study

Abstract—3,4-Diaminopyridine (3,4-DAP) is a potassium channel blocker that has recently demonstrated an antioscillatory effect in humans by significantly reducing downbeat nystagmus. Based on the presumed role of intrinsic oscillations in the pathophysiology of essential tremor (ET), the authors conducted a double-blind, placebo-controlled crossover study assessing the antitremor effect of a single dose of 3,4-DAP in 19 patients with ET. They did not find any significant change in tremor severity as measured by clinical ratings or accelerometry.

NEUROLOGY 2006;66:1753–1755

D. Lorenz, MD; K. Hagen, BSc; M. Ufer, MD, PhD; I. Cascorbi, MD, PhD; G. Deuschl, MD, PhD; and J. Volkmann, MD, PhD

Essential tremor (ET) may result from abnormal intrinsic oscillations originating in the inferior olive (IO) and spreading throughout the olivocerebellar network.^{1,2} Harmaline, which induces synchronized rhythmic activity of IO neurons by increasing their electrotonic coupling, causes a tremor in laboratory animals that is similar to ET in humans.³ The membrane conductances enabling single IO cells to oscillate have been extensively studied in guinea pig brainstem slices. Low concentrations of 4-aminopyridine (4-AP) block a slowly inactivating potassium current, thereby reducing the excitability of IO neurons and their tendency to exhibit oscillations.¹ 4-AP and 3,4-diaminopyridine (3,4-DAP), which have similar pharmacologic effects, have been used as orphan drugs to enhance axonal conduction in several neurologic conditions such as the Lambert-Eaton syndrome and multiple sclerosis. More recently, clinical improvement of downbeat nystagmus was demonstrated after a single 20-mg dose of 3,4-DAP.⁴ Downbeat nystagmus is thought to result from a disinhibition of cerebellar input to the vestibular nucleus, suggesting a clinically relevant antioscillatory effect of 3,4-DAP in humans. Based on the presumed pathophysiology of ET and pilot data in two patients with ET, our hypothesis was that 3,4-DAP might also have a therapeutic antitremor effect by reducing abnormal olivocerebellar oscillations.

Methods. Eighteen patients with a clinical diagnosis of definite ET⁵ were randomized to receive 20 or 40 mg 3,4-DAP or placebo in identical capsules at three visits (separated by 4 to 7 days) in a double-blind crossover study. Antitremor medication was discontinued 24 hours before each visit, and the patients had to fast for at least 2 hours.

The patients were monitored at baseline and at 15, 30, 45, 60,

90, and 120 minutes after drug intake. Tremor severity was rated from standardized videos by two neurologists (D.L., J.V.) using the Fahn tremor rating scale (TRS)⁶ and by scoring Archimedes spirals.⁷ The patients rated their tremor severity on a visual analogue scale and were asked about adverse effects (AEs) after each examination. An additional self-rating and Archimedes spirals were obtained in the evening and next morning after each visit. A quantitative tremor analysis was performed at baseline and at 30, 60, 90, and 120 minutes after drug intake. Hand accelerometry and surface EMG from forearm flexors and extensors were recorded at rest with (1,000 g) and without weight loading of the outstretched arm, and during slow hand movements.⁸

Blood samples were obtained in the final six patients after each examination. After centrifugation, plasma was stored at -20°C . For determination of 3,4-DAP concentrations by high-performance liquid chromatography, samples were purified by solid phase extraction using Sep Pak Silica cartridges. After conditioning and equilibration, 1 mL of plasma was passed through the cartridges. After washing (1 mL of chloroform followed by 2 mL of purified water), samples were eluted with 1 mL of acetic acid/water 2/98%. The eluate was subsequently vacuum centrifuged to a final volume of about 250 μL and 10 μL of the remainder was injected into the chromatographic system (chromatographic conditions: mobile phase: 10% acetonitrile/90% buffer, UV detection at 229 nm; column: Lichrosphere 250 \times 4.0 mm with 5- μm particle size).

Statistical analysis. The sample size was determined to detect a 30% improvement from a mean TRS score of 30 (SD = 10) with a power of 0.9 and $p < 0.05$. We used analysis of variance with the between-subject factor treatment group and the within-subject factor time to assess treatment effects.

The study was approved by the local ethics committee (AZ117/04) and the BfArM (4021782).

Results. Baseline measurements. Nineteen patients participated in this study (15 men, four women; average duration of disease, 40.2 ± 18 years). Because one patient discontinued the study after the first visit due to side effects, an additional patient was included in the same randomization block. Tremor severity ranged from 19 to 72 points on the TRS (mean \pm SD = 31.05 ± 12.87).

Tolerability. Seventeen of 19 patients reported mild and transient AEs in at least one of the study visits. The frequency of AE was dose dependent (40-mg 3,4-DAP visits: 28 events; 20-mg 3,4-DAP: 14 events; placebo: nine events). In the 3,4-DAP visits, paresthesias were most frequent (19/42 events) followed by dizziness, headache, gastrointestinal symptoms, drowsiness, impaired coordination, dry mouth, abnormal taste, and impaired vision. In the placebo visits, paresthesias were most frequent (4/9 events) followed by drowsiness, headache, bad taste, and dry mouth.

From the Department of Neurology (D.L., K.H., G.D., J.V.) and the Institute of Pharmacology (M.U., I.C.), University Hospital Schleswig-Holstein, Kiel, Germany.

Disclosure: The authors report no conflicts of interest.

Received October 6, 2005. Accepted in final form February 20, 2006.

Address correspondence and reprint requests to Dr. Jens Volkmann, Department of Neurology, Christian-Albrechts-University Kiel, Schittenhelmstr. 10, 24105 Kiel, Germany; e-mail: j.volkmann@neurologie.uni-kiel.de

Copyright © 2006 by AAN Enterprises, Inc. 1753

Downloaded from www.neurology.org at UNIVERSITAETS KINDERKLINIK on June 13, 2006
Copyright © by AAN Enterprises, Inc. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

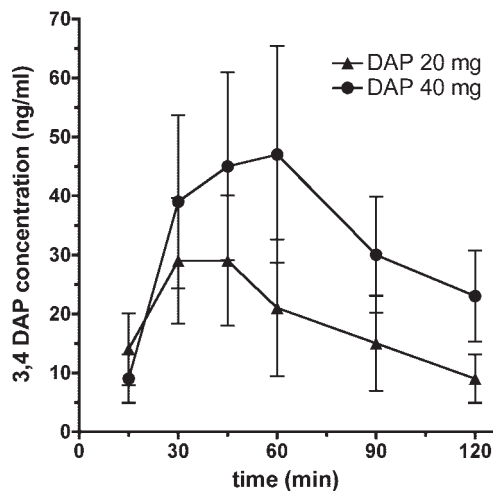


Figure 1. Plasma concentration time curve of 3,4-diaminopyridine (DAP) after oral administration of 20 and 40 mg.

Plasma concentrations. Inter- and intraday variability was <10% over 4 days and at different concentrations (four replicates). Average plasma peak concentrations were 33.6 ng/mL (SD = 27.7, range 0 to 66) in the 20-mg and 56.04 ng/mL (SD = 44.6, range 8 to 122) in the 40-mg 3,4-DAP visits (figure 1). In one patient, the plasma concentrations were below the quantification limit of 12.5 ng/mL. In the other patients, 3,4-DAP levels peaked between 30 and 60 minutes and ranged from 24% to 66% of the individual peak levels at 120 minutes after drug intake.

Tremor measurements. We found no significant differences between 3,4-DAP and placebo in tremor severity as assessed by clinical (figure 2), self-rating, or objective tremor recordings (figure 3). All patients showed a progressive improvement in motor performance toward the end of each visit (figure 2). However, this short-term training effect was not stable, as indicated by a return to baseline in the evening and morning examinations after each

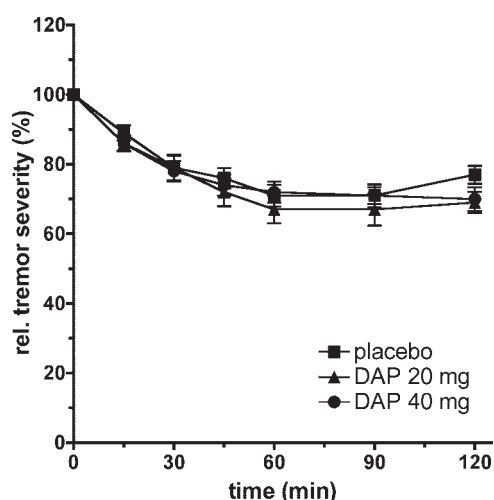


Figure 2. The time course of normalized tremor severity (baseline = 100%) as measured by the Fahn tremor scale parts A and B (mean of two raters) before and 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes after ingestion of placebo or 20 or 40 mg 3,4-diaminopyridine (DAP). No significant difference was noted between the three therapy groups.

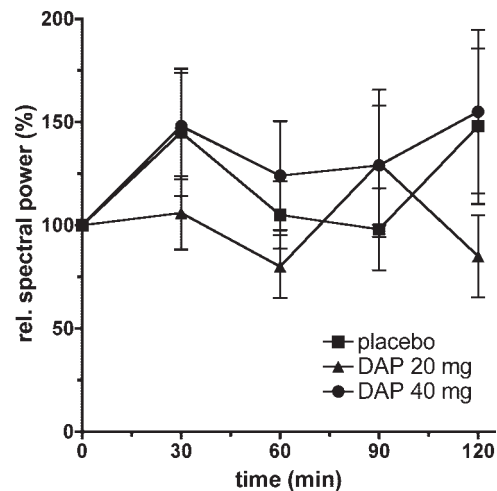


Figure 3. The time course of the spectral power (mg^2) of postural tremor from accelerometry recordings normalized to baseline before and 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes after ingestion of placebo or 20 or 40 mg 3,4-diaminopyridine (DAP). No significant difference was noted between the three therapy groups.

visit and identical baseline scores for the three visits (mean \pm SD, first visit: 27 ± 11.8 , second visit: 26.1 ± 11.9 , third visit: 26.1 ± 11.9). A comparison of tremor parameters at the individual plasma peak with the corresponding examinations of the placebo visits did neither reveal a significant difference.

Discussion. Despite the hypothetical antioscillatory effect of 3,4-DAP, our study did not reveal any significant antitremor effect in ET. One explanation would be that olivocerebellar oscillations in ET are not mediated through the same potassium conductances that are blocked by 3,4-DAP. However, previous in vitro studies demonstrated an inhibition of the slowly inactivating potassium current leading to oscillatory firing of IO neurons by 4-AP.¹ The hydrophilic 3,4-DAP has similar pharmacologic properties but penetrates the blood-brain barrier less easily than 4-AP. Nevertheless, equivalent doses of 3,4-DAP were effective in reducing downbeat nystagmus,⁴ thus proving a pharmacologic action on the CNS. Another explanation may be that IO oscillations as studied by the harmaline tremor model do not adequately reflect the pathophysiology of human ET. Finally, 4-AP has recently been shown to increase the resting activity and excitability of Purkinje cells,⁹ which would serve as the recipient of IO oscillations via the climbing fibers in the harmaline tremor model. This might lead to partially opposing effects on the ensemble activity.

All patients showed a remarkable adaptation and training effect toward the end of each visit (figure 2), such that small therapeutic benefits might have been concealed by a floor effect in the clinical ratings. This training effect, which was not observed in the accelerometry, underlines once more the necessity of an accompanying objective tremor assessment in pharmacologic trials of ET.

Our study showed a wide interindividual range of plasma peak levels of 3,4-DAP. One out of six patients was a nonresponder, rendering any clinical response unstable and hardly predictable.

Even if these uncertainties about the variable individual pharmacokinetics¹⁰ and the training effect during the study visits were considered in the interpretation of our results, a potentially concealed therapeutic benefit of 3,4-DAP would be so small that it had no relevance for the routine treatment of patients with ET.

References

1. Yarom Y, Llinas R. Long-term modifiability of anomalous and delayed rectification in guinea pig inferior olivary neurons. *J Neurosci* 1987;7:1166–1177.
2. Deuschl G, Elble RJ. The pathophysiology of essential tremor. *Neurology* 2000;54:S14–20.
3. Wilms H, Sievers J, Deuschl G. Animal models of tremor. *Mov Disord* 1999;14:557–571.
4. Strupp M, Schuler O, Krafczyk S, et al. Treatment of downbeat nystagmus with 3,4-diaminopyridine: a placebo-controlled study. *Neurology* 2003;61:165–170.
5. Deuschl G, Bain P, Brin M. Consensus statement of the Movement Disorder Society on Tremor. Ad Hoc Scientific Committee. *Mov Disord* 1998;13:2–23.
6. Fahn S, Tolosa E, Marin C. Clinical rating scale for tremor. In: Jankovic J, Tolosa E, eds. *Parkinson's disease and movement disorders*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993:271–280.
7. Bain PG, Findley LJ. Assessing tremor severity. In: *Standards in neurology*. London: Smith Gordon and Company Ltd., 1993.
8. Raethjen J, Lauk M, Koster B, et al. Tremor analysis in two normal cohorts. *Clin Neurophysiol* 2004;115:2151–2156.
9. Etzion Y, Grossman Y. Highly 4-aminopyridine sensitive delayed rectifier current modulates the excitability of guinea pig cerebellar Purkinje cells. *Exp Brain Res* 2001;139:419–425.
10. Bever CT Jr, Leslie J, Camenga DL, Panitch HS, Johnson KP. Preliminary trial of 3,4-diaminopyridine in patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1990;27:421–427.

APPLY NOW FOR 2007 DONALD M. PALATUCCI ADVOCACY LEADERSHIP FORUM

Since 2003, 120 AAN Members have trained to become stronger advocates for their patients and profession. Is it time you join them? If you have the vision, the dedication, and the determination, visit www.aan.com/palf and apply today.

No benefit of 3,4-diaminopyridine in essential tremor: A placebo-controlled crossover study

D. Lorenz, K. Hagen, M. Ufer, I. Cascorbi, G. Deuschl and J. Volkmann

Neurology 2006;66;1753-1755

DOI: 10.1212/01.wnl.0000218297.90054.28

This information is current as of June 13, 2006

| | |
|---|---|
| Updated Information & Services | including high-resolution figures, can be found at: http://www.neurology.org/cgi/content/full/66/11/1753 |
| Subspecialty Collections | This article, along with others on similar topics, appears in the following collection(s): Tremor http://www.neurology.org/cgi/collection/tremor All Clinical trials http://www.neurology.org/cgi/collection/all_clinical_trials Clinical trials Observational study (Cohort, Case control) http://www.neurology.org/cgi/collection/clinical_trials_observational_study_cohort_case_control |
| Permissions & Licensing | Information about reproducing this article in parts (figures, tables) or in its entirety can be found online at: http://www.neurology.org/misc/Permissions.shtml |
| Reprints | Information about ordering reprints can be found online: http://www.neurology.org/misc/reprints.shtml |





ETHIK-KOMMISSION

Universitäts-Kinderklinik · Schwanenweg 20 · 24105 Kiel

Herrn
PD Dr. med. J. Volkmann
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
Klinik für Neurologie
Niemannsweg 147
24105 Kiel

Schwanenweg 20
D-24105 Kiel
Telefon 04 31 / 597-18 09
Telefax 04 31 / 597-18 31

Datum:

20.4.2004

AZ: A 117/04

Studienplan:

Eine doppelblinde, randomisierte und Placebo-kontrollierte Crossover-Studie zur Wirkung von 3,4-Diaminopyridin bei Patienten mit essentiellen Tremor

Studienprotokoll mit Patienteninformation und Einverständniserklärung – geänderte Version vom 12.4.2004

Versicherungsbestätigung Gerling vom 24.3.2004

Antragsteller:

PD Dr. Volkmann, Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

Datum des

Erstantrages: 16.2.2004 /24.3.2004

Datum des

überarb. Antrages: 12.4.2004

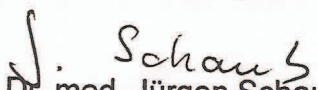
V o t u m

Die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel hat die zu dem oben bezeichneten Versuchsplan eingereichten Unterlagen auf mögliche berufsethische und berufsrechtliche Bedenken hin überprüft. Die Kommission stimmt darin überein, daß gegen die Durchführung der Studie nunmehr keine Bedenken bestehen.

Es wird darauf hingewiesen, daß künftig eventuell für zweckmäßig und notwendig erachtete Änderungen und Erweiterungen des Versuchsplanes der Ethik-Kommission anzuzeigen sind und gegebenenfalls eine erneute Beratung erforderlich machen.

Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, muß die Kommission umgehend benachrichtigt werden.

Nach Abschluß der Studie erbittet die Kommission einen kurzen Bericht mit einem Hinweis, ob im Laufe der Studie ethische oder juristische Probleme aufgetreten sind.


Prof. Dr. med. Jürgen Schaub
Vorsitzender der Ethik-Kommission
der Medizinischen Fakultät der CAU zu Kiel

Nachfolgend sind die Mitglieder der Ethik-Kommission aufgeführt, die diese Studie im Umlaufverfahren beurteilt haben:

Prof. Dr. med. J. Schaub (Pädiatrie)
Vorsitzender der Ethik-Kommission

Prof. Dr. med. H.M. Mehdorn (Neurochirurgie)
Stellv. Vorsitzender der Ethik-Kommission

Prof. Dr. med. Dr. jur. H.-J. Kaatsch (Rechtsmedizin)

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. B. Kimmig (Strahlentherapie)

Prof. Dr. med. H. Mönig (Innere Medizin)

Frau E. Mosch-Brockstedt (Pastorin)

Priv.-Doz. Dr. med. D. Proppe (Innere Medizin und Klinische Pharmakologie)

Prof. Dr. med. R. Simon (Innere Medizin)

Frau Priv.-Doz. Dr. med. I. Vogel (Chirurgie)

10. Danksagung

Ich möchte an dieser Stelle zu allererst meinen „Doktoreltern“ (Prof. Dr. Volkmann als meinem Doktorvater, PD Dr. Lorenz als mitbetreuende Mitarbeiterin) danken. Hierbei danke ich vor allem für ihre Geduld (von welcher in erster Linie PD Dr. Lorenz bei mir viel benötigte), welche sie trotz der Jahre die seit Beginn der Arbeit ins Land gegangen sind, mit mir nicht verloren haben und immer bereitwillig auf jede meiner vielen Fragen geantwortet haben, auch nachdem sie die Uni-Klinik Kiel bereits verlassen hatten.

Hierbei danke ich auch der Medizinischen Fakultät der Uni-Klinik Kiel, welche es gestattete, dass Prof. Volkmann trotz seines Wechsels an die Uni-Klinik Würzburg die Arbeit bis zum Schluss betreuen durfte.

Weiterhin danke ich allen Patienten, welche an der Studie teilgenommen haben, für ihre Zeit und Geduld, da die einzelnen Untersuchungstermine doch relativ lange gedauert haben, zumal die Studie ja bzgl. einer optionalen Behandlung des ET mit 3.4-DAP leider negativ ausfiel.

Ich danke den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Motorik-Labors der Neurologischen Klinik der Uni-Klinik Kiel, welche ebenfalls stets freundlich und geduldig auf meine Fragen geantwortet und mir bei technischen Problemen geholfen haben.

Letztlich danke ich noch meiner Familie und meinen Freunden, welche durch stetiges Nachfragen über den Stand der Arbeit, mich doch immer wieder dazu motiviert haben, diese fertig zustellen. Aufgrund diverser Erkrankungen im Laufe der Jahre, welche zu rezidivierenden Verzögerungen führten, hätte ich dies wohl sonst nicht geschafft.

11. Lebenslauf

Name: Kai Hagen

Geburtsdatum: 27.08.1979

Geburtsort: Ankum, Niedersachsen

Schullaufbahn: Mitte 1986 – 07/1990
Grundschule für Schüler aller Bekenntnisse in Fürstenau, Niedersachsen

07/1990 – 07/1992
Realschule der Fürstenbergschule Recke, Westfalen

07/1992 – 06/1999
Gymnasium der Fürstenbergschule Recke, Westfalen mit Schulabschluss Abitur

Weiterer Werdegang nach der Schule:

07/1999
Eintritt in die Bundeswehr als Grundwehrdienstleistender

01/2000 – 02/2000
Übernahme als Sanitätsoffiziersanwärter und zunächst Verbleib in der Stammeinheit

03/2000 – 09/2000
Präuniversitäre militärische Ausbildung und Krankenpflegepraktikum

10/2000 – 12/2006
Studium der Medizin an der Christian-Albrechts-Universität Kiel;

hierbei Praktisches Jahr:

- 10/2005 – 05/2006: Internistisches und Chirurgisches Tertial am Friedrich-Ebert Krankenhaus in Neumünster
- 05/2006 – 09/2006: Neurologisches Tertial in der Neurologischen Klinik der Uni-Klinik Kiel
- 04.12.2006
Abschluss des Studiums mit Absolvierung des Dritten Staatsexamen

12/2006 – 01/2008

1. neurologisches Weiterbildungsjahr in der
Fachuntersuchungsstelle Neurologie / Psychiatrie am
Fachsanitätszentrum Bonn

02/2008 – 07/2009

2. neurologisches Weiterbildungsjahr in der Sektion
Neurologie des Bundeswehr-Zentralkrankenhauses
Koblenz

07/2009 – 03/2012

Tätigkeit als Truppenarzt und Leiter der Arztgruppe Bad
Neuenahr (Außenstelle des Fachsanitätszentrums Bonn)

04/2012 – 03/2013

Psychiatrisches Weiterbildungsjahr (3. Weiterbildungsjahr
im Rahmen der neurologischen Facharztausbildung) im
Zentrum für seelische Gesundheit des Bundeswehr-
Zentralkrankenhauses Koblenz

ab 04/2013

3. neurologisches Weiterbildungsjahr
(4. Weiterbildungsjahr im Rahmen der neurologischen
Facharztausbildung) in der Abteilung Neurologie des
Bundeswehr-Zentralkrankenhauses Koblenz

