

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

INSTITUT FÜR HUMANGENETIK

**RESTLESS LEGS SYNDROM BEI
MONOZYGOTEN UND DIZYGOTEN
ZWILLINGEN**

Nadine B. Groß

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

Doktors der Medizin

genehmigte Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. J. Winkelmann
2. Univ.-Prof. Dr. Dr. Th. R. Tölle

Die Dissertation wurde am 28.09.2009 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 24.03.2010 angenommen.

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
1.1. Klinische Symptomatik und Diagnostik des Restless Legs Syndroms	1
1.2. Epidemiologie des Restless Legs Syndroms	6
1.3. Primäres und sekundäres Restless Legs Syndrom, Assoziationen mit anderen Erkrankungen	7
1.4. Familiäres Restless Legs Syndrom	8
1.4.1. Kopplungsstudien bei Restless Legs Syndrom	9
1.4.2. Assoziationsstudien bei Restless Legs Syndrom	9
1.5. Therapie des Restless Legs Syndroms	10
1.6. Pathophysiologie des Restless Legs Syndroms	12
1.6.1. Neurotransmittersysteme	12
1.6.2. Eisen	13
1.7. Zwillingsforschung	14
1.7.1. Geschichte der Zwillingsforschung	14
1.7.2. Methoden der Zwillingsforschung	15
1.7.3. Restless Legs Syndrom bei Zwillingen	15
2. FRAGESTELLUNG	17
3. PROBANDEN UND METHODIK	18
3.1. Probandenpopulation	18
3.1.1. Probandenrekrutierung über das Zwillingsregister von HealthTwiSt	18
3.1.2. Probandenrekrutierung über Spezialambulanzen für Restless Legs Syndrom und die Deutsche Restless Legs Vereinigung (RLS e.V.)	19
3.2. Untersuchungsmethoden	20
3.2.1. Diagnostisches Telefoninterview	20
3.2.2. Blutprobe zur Zygotiebestimmung	22
3.3. Laborteil zum Nachweis der Zygotie	22
3.3.1. DNA-Extraktion aus Leukozyten des peripheren Blutes	22
3.3.2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	23
3.3.3. Fragmentanalyse	25
3.4. Statistische Auswertung	26
4. ERGEBNISSE	28
4.1. Probandenrekrutierung über das Zwillingsregister HealthTwiSt	28

4.2.	Probandenrekrutierung über Spezialambulanzen für Restless Legs Syndrom und die Deutsche Restless Legs Vereinigung, RLS e.V.	31
4.3.	Demographische Daten der Zwillinge.....	32
4.4.	Zygotie und Geschlechtsverteilung innerhalb der Zwillingspaare.....	36
4.5.	Berechnung der Konkordanzen.....	40
4.6.	Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell).....	41
4.7.	Familienanamnese.....	42
4.8.	Klinische Symptomatik des Restless Legs Syndrom bei den betroffenen Zwillingindividuen	43
4.9.	Sekundäres Restless Legs Syndrom und assoziierte Erkrankungen	47
5.	DISKUSSION	48
5.1.	Bisherige Zwillingstudien bei Patienten mit Restless Legs Syndrom.....	48
5.1.1.	Probandenrekrutierung.....	49
5.1.1.1.	Probandenkollektiv.....	49
5.1.1.2.	Diagnose des Restless Legs Syndroms	54
5.1.2.	Zygotie der Zwillinge.....	58
5.1.3.	Konkordanzen, deren beeinflussende Faktoren und Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell).....	61
5.1.4.	Zusammenhang zwischen ACE-Modell und der aktuellen genetischen Grundlage des Restless Legs Syndrom	68
5.1.5.	Familienanamnese.....	71
5.1.6.	Klinische Daten zum Restless Legs Syndrom.....	72
5.1.7.	Sekundäres Restless Legs Syndrom.....	74
5.2.	Vergleich mit Zwillingstudien zu anderen neurologischen Erkrankungen	76
6.	KRITISCHE BETRACHTUNG DER ARBEIT.....	81
7.	ZUSAMMENFASSUNG	83
8.	LITERATURVERZEICHNIS	86
9.	DANKSAGUNG	98
10.	LEBENS LAUF	99

ANHANG

1 Gesundheitsfragebogen

2 Patientenanschreiben

3 Rückantwortschreiben

4 Diagnosefragebogen des diagnostischen Telefoninterviews

5 Schweregrad-Skala (IRLS) der IRLSSG

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Diagnosekriterien der IRLSSG von 2003	3
Tabelle 2:	Differentialdiagnosen des RLS	5
Tabelle 3:	RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens	18
Tabelle 4:	Definition RLS-Diagnoseziffern	21
Tabelle 5:	Auswahl hochpolymorpher Mikrosatellitenmarker (AmpF/STR® Identifiler® PCR Amplifikation Kit)	25
Tabelle 6:	Vergleich Ergebnisse des RLS-Diagnosefragebogens und des diagnostischen Telefoninterviews	31
Tabelle 7:	Zwillingsindividuen mit RLS, N= 48	33
Tabelle 8:	Alters- und Geschlechtsverteilung der Zwillingsindividuen mit RLS, N= 48	33
Tabelle 9:	Gesamtübersicht ausgewertete Zwillingsindividuen, N= 58 (N= 48 RLS-positiv, N= 10 RLS-negativ)	34
Tabelle 10:	Auswertung Fragmentanalyse bei gleichgeschlechtlichen Zwillingspaaren, N= 25	37
Tabelle 11:	Zygotie und Geschlechtsverteilung Zwillingspaare mit RLS, N= 29	40
Tabelle 12:	Konkordanzen (PWC, CWC), Relatives Risiko (RR)	41
Tabelle 13:	Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell)	41
Tabelle 14:	Familienanamnese Zwillingsindividuen mit RLS, N= 48	42
Tabelle 15:	Alter bei Symptombeginn bei Zwillingsindividuen mit RLS, N= 47	43
Tabelle 16:	Latenz des Alters bei Symptombeginn bei konkordanten Zwillingspaaren, N= 18	44
Tabelle 17:	Häufigkeit des Auftretens der RLS-Symptome bei Zwillingsindividuen mit RLS, N= 48	44
Tabelle 18:	Konkordanzen in Bezug auf Frequenz der RLS-Symptome bei konkordanten Zwillingspaaren, N= 17	45
Tabelle 19:	Auswertung Punktwert-Intervall der RLS Schweregrad-Skala bei Zwillingsindividuen, N= 48	45
Tabelle 20:	Kategorien der Schweregrad-Skala nach Punktwerten	46

Tabelle 21:	Extremitätenlokalisierung der RLS-Symptome bei Zwillingsindividuen mit RLS, N= 48	46
Tabelle 22:	Konkordanzen der Extremitätenlokalisierung der RLS-Symptome bei konkordanten Zwillingspaaren, N= 17	47
Tabelle 23:	Zwillingspopulation und Prävalenzen bisheriger RLS-Zwillingsstudien	50
Tabelle 24:	Diagnosemethoden bisheriger RLS-Zwillingsstudien im Vergleich	55
Tabelle 25:	RLS-Diagnosefragen aus der Studie von Desai et al.	56
Tabelle 26:	Methode der Zygotiebestimmung der bisherigen RLS-Zwillingsstudien im Vergleich	59
Tabelle 27:	Konkordanzen (PWC, CWC) der bisherigen RLS-Zwillingsstudien im Vergleich	62
Tabelle 28:	Formelübersicht h^2 , (V_E)	64
Tabelle 29:	RLS-Loci in Abwandlung nach Pichler (Pichler <i>et al.</i> 2008)	69
Tabelle 30:	RLS-assozierte Genvarianten, Funktion und möglicher Zusammenhang mit RLS, in Abwandlung nach Mignot (Mignot 2007)	70
Tabelle 31a:	Zwillingsstudien bei Parkinson-Syndrom	77
Tabelle 31b:	Zwillingsstudien bei Essentiellem Tremor	78
Tabelle 31c:	Zwillingsstudien bei Narkolepsie	78
Tabelle 31d:	Zwillingsstudien bei Tourette-Syndrom	79

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Einflussfaktoren auf die Ätiopathogenese des RLS	17
Abbildung 2: Auswertung der RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens	29
Abbildung 3: Anschlussuntersuchung nach Auswertung der RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens	30
Abbildung 4: Diagnosesicherung im diagnostischen Telefoninterview in der Übersicht	32
Abbildung 5: Fragmentanalyse Zwillingspaar 002-A/B, MZ, Marker D8S1179	39
Abbildung 6: Fragmentanalyse Zwillingspaar 015-A/B, DZ, Marker D8S1179	39
Abbildung 7: Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell)	42
Abbildung 8: Vergleich ACE-Modell Desai et al. versus aktuelle Studie	66

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

CWC	Casewise Concordance, Probandenweise Konkordanz
DZ	Dizygot, zweieiig
ET	Essentieller Tremor
ICD	International Classification of Disease
IRLSSG	Internationale Restless Legs Syndrome Study Group
k.A.	keine Angaben
N	Anzahl
n	Normalwert
N.A.	nicht anwendbar/verfügbar/zutreffend
m	Männlich
Mean	Mittelwert
Min	Minuten
MZ	Monozygot, eineiig
OSA	Obstruktives Schlafapnoe-Syndrom
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD	Parkinson Disease, Parkinson-Syndrom
PLM	Periodic Limb Movements, Periodische Beinbewegungen
PLMD	Periodic Limb Movement Disorder
PLMS	Periodic Limb Movements in Sleep, Periodische Beinbewegungen im Schlaf
PLMW	Periodic Limb Movements while awake, Periodische Beinbewegungen im Wachzustand
PWC	Pairwise Concordance, Paarweise Konkordanz
RLS	Restless Legs Syndrom
rpm	revolutions per minute, Umdrehungen pro Minute
RR	Relatives Risiko
sec	Sekunden
SD	Standardabweichung
TS	Tourette-Syndrom
UBC	University of British Columbia
UdeM	Université de Montreal
vs.	Versus
w	Weiblich

1. EINLEITUNG

1.1. Klinische Symptomatik und Diagnostik des Restless Legs Syndroms

Das Restless Legs Syndrom (RLS), auch Syndrom der unruhigen Beine genannt, zählt zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen. Es ist durch einen Bewegungsdrang der Beine, seltener auch der Arme charakterisiert, der mit unangenehmen Missempfindungen in den jeweiligen Extremitäten einhergeht. Für die Patienten sind diese quälenden Empfindungen schwer zu benennen und werden durch Begriffe wie „Ziehen“, „Reißen“, „Kribbeln“, „Muskel- oder Nervenspannen“ beschrieben. Die Empfindungsqualität „Schmerz“ kann oftmals deutlich von den Missempfindungen im Rahmen eines RLS differenziert werden (Ekbom 1960; Allen & Earley 1996). Als häufigste Lokalisation wird die Region zwischen Sprunggelenk und Knie im Bereich der Wadenmuskulatur angegeben. Die Haut scheint dabei meist keine Irritationen aufzuweisen, vielmehr werden die Beschwerden als von „innen heraus“ kommend empfunden, mit Beteiligung von Muskel und/oder Knochen (Ekbom 1960). Typischerweise treten die Beschwerden nur in Ruhe- und Entspannungsphasen auf, wenn der Patient sich hinsetzt oder hinlegt. Der imperative Bewegungsdrang in Verbindung mit den Sensationen zwingt den Patienten die betroffene Extremität zu bewegen. Verschiedene Manöver werden angewandt, die mit einer Muskelaktivität einhergehen, wie z.B. Muskelanspannen, Kreisen der Füße, Strecken oder Massieren. Häufig genügen diese Aktivitäten nicht, eine ausreichende Erleichterung zu erfahren, und der Patient muss letztendlich aufstehen und umherlaufen. Zumindest für die Zeit der Bewegung wird eine Besserung der Symptomatik erreicht. Begibt sich der Patient wieder in Ruhe, kommt es nach kurzer Zeit meist erneut zum Auftreten der Beschwerden. Das RLS hat eine zirkadiane Rhythmik, mit einem Maximum der Beschwerden am Abend sowie in der frühen Nacht und einer Besserung der Symptome zum Morgen hin (Trenkwalder *et al.* 1999a; Hening *et al.* 1999b). Dies führt bei über 90% der Patienten im Verlauf der Erkrankung zu Ein- und Durchschlafstörungen; folglich zeigt sich bei den betroffenen Patienten eine erhöhte Tagesmüdigkeit (Montplaisir *et al.* 1997) und eine herabgesetzte Lebensqualität (Abetz *et al.* 2004; Allen *et al.* 2005; Cuellar *et al.* 2007). Darüber hinaus treten bei 80-90% der RLS-Patienten auch motorische Störungen in Form von periodischen Beinbewegungen auf, die als PLMs (periodic leg movements) bezeichnet werden. Diese können sowohl im Schlaf als auch im Wachzustand auftreten und werden daher in „periodic leg movements during sleep

(PLMS) and during wakefulness (PLMW)“ unterschieden (Montplaisir *et al.* 1997). Es handelt sich dabei um eine ruckartige, stereotype, unwillkürliche Dorsalflexion des oberen Sprunggelenks und der Großzehe, teilweise auch um eine Flexionsbewegung im Knie- und Hüftgelenk. Die Bewegungen treten ein- oder beidseitig auf und wiederholen sich in regelmäßigen Intervallen. Das Auftreten dieser PLMs muss per se keinen Krankheitswert besitzen. Erst eine Frequenz von mehr als fünf PLMS pro Stunde Schlaf (PLMS-Index > 5 pro Stunde Schlaf) wird ebenso, wie jegliche PLMs im Wachzustand (PLMW) als erhöht angesehen. Dabei können PLMS auch unabhängig von einem RLS auftreten, z.B. bei Narkolepsie oder Morbus Parkinson, ihre Präsenz ist somit nicht spezifisch für ein RLS (Montplaisir *et al.* 1997; Montplaisir *et al.* 1998).

Beim RLS handelt es sich um eine chronisch progrediente Erkrankung. Meist treten die Symptome zu Beginn in Intervallen auf, wodurch es immer wieder zu monate- bis jahrelangen Zeiträumen mit völliger Beschwerdefreiheit kommen kann. Im Verlauf der Erkrankung werden die Intervalle immer kürzer und die Symptomstärke nimmt zu, so dass stark betroffene Patienten über tägliche Beschwerden klagen. Vollständige Remissionen werden nur in Einzelfällen beschrieben (Ekbom 1960; Walters *et al.* 1996).

Die Diagnose eines RLS wird rein klinisch gestellt. Hierfür wurden von der Internationalen Restless Legs Study Group (IRLSSG) erstmals 1995 einheitliche Diagnosekriterien festgelegt (Walters 1995), die 2003 aufgrund neuer Forschungsergebnisse überarbeitet wurden (Allen *et al.* 2003). In der vorliegenden Arbeit wurden die modifizierten Diagnosekriterien von 2003 verwendet. Zur Diagnose des RLS müssen vier essentielle Kriterien obligat erfüllt sein. Drei weitere klinische Merkmale werden als „supportive Kriterien“ abgehandelt und sollen in unklaren Fällen die Diagnose eines RLS unterstützen. Darüber hinaus wurden zusätzlich noch drei Kriterien als „assoziierte Charakteristika“ des RLS festgelegt, die Patienten mit einem möglichen RLS genauer bewerten sollen (Allen *et al.* 2003) (Tabelle 1).

Tab. 1: Diagnosekriterien des Restless Legs Syndroms

Diagnosekriterien des RLS nach der Internationalen Restless Legs Study Group (IRLSSG) von 2003 (Allen <i>et al.</i> 2003)
ESSENTIELLE MINIMALKRITERIEN
<ol style="list-style-type: none"> 1. Bewegungsdrang der Beine, gewöhnlich begleitet von oder verursacht durch unbehagliche unangenehme Empfindungen in den Beinen. (Manchmal besteht der Bewegungsdrang ohne die unangenehmen Empfindungen und manchmal sind auch die Arme oder andere Körperregionen zusätzlich zu den Beinen betroffen.) 2. Der Bewegungsdrang bzw. die unangenehmen Empfindungen beginnen oder verschlechtern sich während Ruhephasen oder bei Inaktivität wie Sitzen oder Liegen. 3. Der Bewegungsdrang bzw. die unangenehmen Empfindungen werden durch Bewegung wie Laufen oder Dehnen teilweise oder vollständig gebessert. Die Besserung hält zumindest so lange an, wie diese Aktivität ausgeführt wird. 4. Der Drang sich zu bewegen bzw. die unangenehmen Empfindungen sind abends und nachts schlimmer als während des Tages oder treten ausschließlich am Abend oder in der Nacht auf. (Wenn die Symptome stark sind, kann es sein, dass die Verschlechterung in der Nacht nicht mehr bemerkbar ist, sie muss aber früher einmal bestanden haben.)
SUPPORTIVE KRITERIEN DES RLS
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Positive Familienanamnese</i> Die Prävalenz des RLS ist unter Angehörigen ersten Grades von RLS-Patienten drei- bis fünfmal höher als bei Personen ohne RLS. • <i>Ansprechen auf eine dopaminerge Therapie</i> Nahezu alle RLS-Patienten zeigen einen zumindest initial positiven therapeutischen Effekt auf die Gabe von L-Dopa oder eines Dopaminagonisten in einer Dosis, die im Vergleich zur klassischen Therapiedosis eines Morbus Parkinson niedriger ist. Der initiale Effekt bleibt jedoch im Verlauf der Erkrankung nicht immer erhalten. • <i>Periodische Beinbewegungen (im Wachzustand oder während des Schlafs)</i> Periodische Beinbewegungen im Schlaf (PLMS) treten bei etwa 85% der RLS-Patienten auf. PLMS kommen aber auch häufig in Zusammenhang mit anderen Erkrankungen in der älteren Bevölkerung vor. Bei Kindern finden sich PLMS seltener als bei Erwachsenen.

Fortsetzung Tab. 1

ASSOZIIERTE CHARAKTERISTIKA DES RLS

- ***Klinische Verlauf***

Der klinische Verlauf der Erkrankung kann erheblich variieren. Findet sich eine Erstmanifestation der RLS-Symptome bereits vor dem 50. Lebensjahr, ist der Verlauf in der Regel schleichend. Bei erstmaligem Auftreten der Symptome nach dem 50. Lebensjahr, zeigt sich meist eine schnellere Progredienz mit schwererem Verlauf. Bei einigen Patienten kann das RLS intermittierend auftreten oder sogar spontan für einige Jahre remittieren.

- ***Schlafstörungen***

Ein- und Durchschlafstörungen stellen ein häufiges und wichtiges Begleitsymptom eines RLS dar, die einer besonderen Aufmerksamkeit bedürfen. Meistens sind sie der initiale Grund dafür, dass Patienten im Rahmen ihres RLS einen Arzt aufsuchen.

- ***Körperliche Untersuchung***

Die körperliche, vor allem die neurologische Untersuchung, ist meistens unauffällig und trägt nicht zur Diagnosestellung bei, mit Ausnahme der Identifizierung sekundärer Formen eines RLS. Das Vorliegen von peripheren Neuropathien und Radikulopathien sollte ebenfalls eruiert werden, da diese in einer bisher unbekanntem Weise mit einem RLS assoziiert sein können und eine spezielle Behandlung benötigen.

Darüber hinaus ermöglichen verschiedene technische und laborchemische Zusatzuntersuchungen eine Beurteilung der Patienten bei unklarer Diagnose sowie eine weitere differentialdiagnostische Einordnung. Elektrophysiologische Untersuchungen mit Bestimmung der Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) und der Elektromyographie (EMG) sollen hierbei die Abgrenzung zu einer Polyneuropathie (PNP), die eine häufige und wichtige Differentialdiagnose eines RLS darstellt, ermöglichen. Dies kann durch die Tatsache erschwert werden, dass einige Patienten die Symptome beider Erkrankungen parallel aufweisen. Auch der Verdacht des assoziierten Auftretens einer Polyneuropathie und eines RLS wurde bereits in der Literatur diskutiert (Gemignani *et al.* 2006). Eine Polyneuropathie kann aber auch unabhängig von einem RLS auftreten, die sensorischen Symptome ein RLS imitieren und somit eine eindeutige Abgrenzung erschweren. Laborchemische Untersuchungen (Blutbild, Ferritin, Serumeisen, Kreatinin, Harnstoff, TSH, fT3, fT4, Vitamin B12 und Folsäure) sind zur Klassifikation eines sekundären RLS geeignet. Patienten mit idiopathischen RLS zeigen in der Regel einen unauffälligen neurologischen,

elektrophysiologischen und laborchemischen Untersuchungsbefund (Allen *et al.* 2003). Eine Abgrenzung des RLS von Erkrankungen mit ähnlichen Symptomen ist unter anderem aus therapeutischen Gründen von großer Bedeutung. Eine Auflistung der wichtigsten Differentialdiagnosen ist in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tab. 2: Differentialdiagnosen des Restless Legs Syndroms

Differentialdiagnosen des Restless Legs Syndroms (Leitlinie für Diagnostik und Therapie in der Neurologie (Diener H-C. <i>et al.</i> 2008))
<ul style="list-style-type: none"> • Polyneuropathie, Radikulopathie • Venöse und arterielle Erkrankungen der Beine (Varizen, pAVK) • “painful legs and moving toes syndrome” (Symptome sind nicht unbedingt abends oder nachts schlimmer und bessern sich nicht durch Bewegung) • Chronische Schmerzsyndrome anderer Ätiologie • Benigne Muskel-/ und Wadenkrämpfe • Akathisie (neuroleptika-induziert) • Einschlafmyoklonien • Myelopathien, enger Spinalkanal • Generalisierte innere Unruhe (z.B. im Rahmen psychischer Erkrankungen) • Schlaf-Apnoe-Syndrom • Periodic Limb Movement Disorder (PLMD) ohne subjektive RLS-Symptomatik

Die Durchführung einer Polysomnographie ermöglicht den Nachweis von PLMS, die als „supportive Kriterien“ die Diagnose eines RLS unterstützen können (Allen *et al.* 2003). Durch die detaillierte Analyse des Schlafprofils im Rahmen der polysomnographischen Untersuchung kann das Ausmaß der Schlafstörung bei RLS-Patienten präzise eingeschätzt werden. Es können aber auch andere schlafbezogene Erkrankungen aufgedeckt werden, die zu einem gestörten Schlafprofil mit Tagesmüdigkeit führen können (z.B. Schlaf-Apnoe-Syndrom). Weniger genau, jedoch von geringem Aufwand, sind aktigraphische Verfahren und der Immobilisationstest. Die Aktigraphie dient der Aufzeichnung motorischer Aktivität von Patienten während der Nacht und außerhalb eines Schlaflabors. Beim Immobilisationstest wird das Auftreten von sensorischen und motorischen Symptomen eines RLS sowie von periodischen Beinbewegungen im Wachen (PLMW) durch Inaktivität des Patienten provoziert. Dieser Immobilisationstest wurde 1998 von Montplaisir als Provokationstest zur Diagnosesicherung entwickelt (Montplaisir *et al.* 1998). Eine weitere Möglichkeit die

Diagnose eines RLS zu stützen bzw. Differentialdiagnosen abzugrenzen, ermöglicht der L-Dopa-Test, der zur Bestätigung des supportiven Diagnosekriterium „Ansprechen auf eine dopaminerge Therapie“ von Stiasny-Kolster *et al.* validiert wurde. Patienten sollen nach einmaliger Einnahme von 100/25 mg L-Dopa/Benserazid über einen Zeitraum von 2 Stunden ihre Symptome beobachten und alle 15 Minuten eine Intensitätsskala ausfüllen. Bei einer 50%igen Besserung der Beschwerden konnte eine 80 - 88%ige Sensitivität und 100%ige Spezifität erreicht werden (Stiasny-Kolster *et al.* 2006).

1.2. Epidemiologie des Restless Legs Syndroms

Unter Verwendung der Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003) wurden in zahlreichen epidemiologischen Studien mit regional unterschiedlichen Probandenkollektiven Prävalenzen zwischen <1% und 15,3% erhoben (Rothdach *et al.* 2000; Tan *et al.* 2001; Nichols *et al.* 2003; Berger *et al.* 2004; Allen *et al.* 2005). Dabei handelte es sich bei den zugrunde liegenden Studienpopulationen entweder um ein Kollektiv aus der Allgemeinbevölkerung (Berger *et al.* 2004; Allen *et al.* 2005) oder um eine RLS-Klinikpopulation (Nichols *et al.* 2003; Hening 2004), was eine Ursache für die abweichenden Prävalenzergebnisse aus diesen Studien sein kann. Die Prävalenzen von Bevölkerungskollektiven unterschiedlicher Ethnitäten zeigen deutliche Abweichungen. So finden sich die niedrigsten Werte mit 0,1% bis 3,19% in Asien und der Türkei (Tan *et al.* 2001; Sevim *et al.* 2003; Mizuno *et al.* 2005b; Rangarajan *et al.* 2007), während bei Studienpopulationen aus dem europäischen Raum und den USA Prävalenzen bis zu 10% in der Bevölkerung > 65 Jahren erhoben werden konnten (Rothdach *et al.* 2000; Phillips *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004; Bjorvatn *et al.* 2005; Hogl *et al.* 2005). Ob die ethnische Zugehörigkeit oder die geographische Lage einen Einfluss auf die Entstehung eines RLS haben, ist zum aktuellen Zeitpunkt nicht abschließend geklärt. Zudem wurde eine geschlechtsspezifische Häufung in der weiblichen Bevölkerung beschrieben. Im europäischen Raum zeigten sich in einigen Studien bis zu doppelt so hohe Prävalenzen bei Frauen im Vergleich zu Männern (13,9% vs. 6,1% (Rothdach *et al.* 2000), 11,4% vs. 5,8% (Ulfberg *et al.* 2001a; Ulfberg *et al.* 2001b), 13,4% vs. 7,6% (Berger *et al.* 2004), 14,2% vs. 6,6% (Hogl *et al.* 2005), 10,8% vs. 5,8% (Tison *et al.* 2005) und 9,0% vs. 5,4% (Allen *et al.* 2005)). Ebenso zeigt das Auftreten der Erkrankung eine deutliche Altersabhängigkeit. Die Anzahl der RLS-Betroffenen nimmt mit steigendem Alter bis zum Erreichen eines Plateaus um das 60. –

70. Lebensjahr kontinuierlich zu (Lavigne & Montplaisir 1994; Rothdach *et al.* 2000; Phillips *et al.* 2000; Ohayon & Roth 2002; Nichols *et al.* 2003; Berger *et al.* 2004). In einigen Studien wurde sogar eine Abnahme der Prävalenz nach dem nach dem 60. Lebensjahr beschrieben (Nichols *et al.* 2003; Berger *et al.* 2004).

1.3. Primäres und sekundäres Restless Legs Syndrom, Assoziationen mit anderen Erkrankungen

Das RLS wird in ein primäres bzw. idiopathisches und ein sekundäres bzw. symptomatisches RLS eingeteilt. Beim primären RLS findet sich keine zugrunde liegende Erkrankung, die die Symptomatik auslöst. Das sekundäre RLS entsteht dagegen im Zusammenhang mit einer Erkrankung oder mit einer metabolischen oder hormonellen Veränderung. Hierzu zählen z.B. Eisenmangel (O'Keeffe *et al.* 1994; Sun *et al.* 1998), Urämie (Winkelman *et al.* 1996; Gigli *et al.* 2004; Siddiqui *et al.* 2005) und Schwangerschaft (Manconi & Ferini-Strambi 2004). Auch im Rahmen einer medikamentösen Therapie mit Antidepressiva, Neuroleptika und anderen Dopaminantagonisten kann es zu einem iatrogen verursachten sekundären RLS kommen (Kraus *et al.* 1999; Wetter *et al.* 2002; Chang *et al.* 2006; Rottach *et al.* 2008). Durch die Behandlung der zugrunde liegenden Erkrankung sowie nach Absetzen der auslösenden Medikamente kann bei einem sekundären RLS meist eine deutlichen Besserung, bis hin zum vollständigen Verschwinden der Symptomatik, erzielt werden (O'Keeffe *et al.* 1994; Winkelmann *et al.* 2002; Wetter *et al.* 2002; Manconi *et al.* 2004; Page *et al.* 2008). Auch von Patientinnen, die im Rahmen einer Schwangerschaft erstmals unter einem symptomatischen RLS leiden oder eine Verschlimmerung ihrer RLS-Beschwerden erfahren, wird meist eine Symptombesserung oder ein Symptomverlust postpartum beschrieben (Goodman *et al.* 1988; Allen *et al.* 2003; Manconi *et al.* 2004). Darüber hinaus konnte ein erhöhtes Auftreten eines RLS in Patientenpopulationen mit Polyneuropathie (Rutkove *et al.* 1996; Gemignani & Marbini 2002), Diabetes mellitus (Merlino *et al.* 2007) und Multipler Sklerose (Manconi *et al.* 2008) gezeigt werden, was auf eine Assoziation dieser Erkrankungen mit einem RLS hindeutet. Das Auftreten eines RLS bei weiteren Familienmitgliedern eines RLS-Betroffenen findet sich häufiger bei der primären als bei der sekundären Form der Erkrankung (Ondo & Jankovic 1996). Bei der Untersuchung von 300 RLS-Patienten zeigte sich, dass innerhalb der Gruppe mit einem primären RLS der Prozentsatz der betroffenen Familienmitglieder signifikant höher lag, als in der Gruppe der Patienten mit einem sekundären – speziell urämischen – RLS

(42,3% vs. 11,7%) (Winkelmann *et al.* 2000). In der Ausprägung der RLS-Symptome wurde bisher innerhalb der beiden Gruppen (primäres vs. sekundäres RLS) kein besonderer Unterschied beschrieben. Ebenso wenig lassen sich sekundäre Formen eines RLS durch klinische Charakteristika deutlich von einem primären RLS abgrenzen, was die Identifizierung oftmals erschwert (Walters 1995; Winkelmann *et al.* 2000). Bei den meisten sekundären RLS-Patienten findet sich jedoch ein späterer Symptombeginn (Allen & Earley 2000).

1.4. Familiäres Restless Legs Syndrom

Etwa 40-60% der Patienten mit einem primären RLS haben eine positive Familienanamnese (Walters *et al.* 1996; Montplaisir *et al.* 1997; Winkelmann *et al.* 2000). Bereits Ekbohm berichtete von einer familiären Häufung bei etwa einem Drittel der von ihm untersuchten RLS-Patienten und vermutete innerhalb dieser Familien einen dominanten Erbgang (Ekbohm 1960). Ondo und Jankovic konnten bei einer Untersuchung von 54 Patienten mit einem primären RLS sogar bei 92% eine positive Familienanamnese erheben (Ondo & Jankovic 1996). Der klinische Verlauf und die Symptomatik ist bei familiären und sporadische primären RLS-Patienten ähnlich (Winkelmann *et al.* 2000). Unterschiede fanden sich jedoch im Alter bei Symptombeginn. Je früher die RLS-Symptome auftraten, desto häufiger konnten weitere betroffene Familienmitglieder ermittelt werden (Walters *et al.* 1996; Winkelmann *et al.* 2000; Allen *et al.* 2002). So konnte in einer Studie bei Patienten mit einem primären RLS und positiver Familienanamnese ein signifikant niedrigeres Alter bei Symptombeginn gezeigt werden, als bei Patienten ohne positive Familienanamnese (35,45 Jahre vs. 47,17 Jahre) (Winkelmann *et al.* 2000). Das Erkrankungsrisiko für Familienmitglieder von Patienten mit einem primären RLS ist signifikant höher für Verwandte ersten und zweiten Grades von RLS-Betroffenen im Gegensatz zu Verwandten von gesunden Probanden (19,9% vs. 3,5%, $p < 0,001$ für Verwandte ersten Grades, 4,1% vs. 0,5%, $p < 0,003$ für Verwandte zweiten Grades) (Allen *et al.* 2002). Darüber hinaus konnte ein Einfluss des Alters bei Symptombeginn auf das Erkrankungsrisiko für weitere Familienmitglieder demonstriert werden. Das Risiko für Verwandte ersten Grades steigt dabei mit sinkendem Alter bei Symptombeginn (Allen *et al.* 2002). Zudem fand sich ein Zusammenhang zwischen dem Alter der RLS-Patienten und dem Verlauf der Erkrankung. Patienten mit einem sporadischen RLS und einem späten Beginn ihrer Symptome zeigen die Tendenz zu einer schnelleren

Krankheitsprogression, als RLS-Patienten mit einem frühen Beginn ihrer RLS-Symptome (Ondo & Jankovic 1996; Allen & Earley 2000). Die familiäre Aggregation des RLS ist ein Hinweis auf eine genetische Grundlage der Erkrankung. Es wird angenommen, dass es sich beim RLS um eine komplexe genetische Erkrankung handelt, deren phänotypische Ausprägung durch das Zusammenspiel der Effekte mehrerer Gene sowie durch die Interaktion mit zusätzlichen nicht-genetischen Faktoren und Umweltfaktoren zustande kommt.

1.4.1. Kopplungsstudien bei Restless Legs Syndrom

In Kopplungsstudien innerhalb Familien unterschiedlicher Herkunft wurden bisher sechs Gen-Loci (Chromosom 12q, 14q, 9p, 2q, 20p, 16p) identifiziert, die mit einem RLS assoziiert sind (Desautels *et al.* 2001; Bonati *et al.* 2003; Chen *et al.* 2004; Pichler *et al.* 2006; Levchenko *et al.* 2006; Levchenko *et al.* 2008). Zusätzlich zeigte eine kürzlich durchgeführte genomweite Kopplungsanalyse in einer italienischen RLS-Familie Hinweise auf einen siebten RLS-Locus auf Chromosom 19p (Kemlink *et al.* 2008). Die Berechnungen der Kopplungsanalysen beruhen auf der Annahme, dass es sich um einen autosomal-dominanten Erbgang handelt (Bonati *et al.* 2003; Chen *et al.* 2004; Pichler *et al.* 2006; Levchenko *et al.* 2006; Levchenko *et al.* 2008; Kemlink *et al.* 2008). Nur beim zuerst identifizierte Locus auf Chromosom 12q in einer französisch-kanadischen Familie liegt den Berechnungen ein autosomal-rezessiven Erbgang zugrunde, der aufgrund der hohen Allelfrequenz pseudodominant erscheint (Desautels *et al.* 2001).

In keiner dieser Kopplungsregionen ließ sich eine kausale Sequenzvariante identifizieren.

1.4.2. Assoziationsstudien bei Restless Legs Syndrom

Durch genomweite Assoziationsstudien (GWA), bei denen häufige genetische Varianten zwischen RLS-Patienten und gesunden Kontrollprobanden aus der Normalbevölkerung verglichen wurden, konnten Varianten in den Genen MEIS1, BTBD9, LBXCOR1/MAP2K5 und PTPRD identifiziert werden, die mit einem erhöhten Risiko für ein RLS einhergehen (Winkelmann *et al.* 2007; Stefansson *et al.* 2007; Schormair *et al.* 2008). Bei den identifizierten Genen handelt es sich um Faktoren, die in der frühen embryonalen Entwicklung eines Organismus eine Rolle spielen. MEIS1 spielt z.B. eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der proximodistalen Extremitätenachse (Mercader *et al.* 1999) und hat auch eine wichtige Funktion bei der Entwicklung des Neuralrohrs (Winkelmann *et al.* 2007). Die Rolle der identifizierten Genvarianten bei der Entstehung eines RLS ist bisher noch nicht bekannt und ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Eine neue Arbeitshypothese ist, dass das

RLS Komponenten einer neurologischen Entwicklungsstörung hat, und dass es während der Embryonalphase bereits zu einer Prädisposition für die Entstehung eines RLS kommt. Es ist aber auch möglich, dass die identifizierten Gene im Erwachsenen und im Zusammenhang mit der RLS-Erkrankung eine völlig andere Funktion haben. Möglicherweise handelt es sich bei den identifizierten Varianten nicht um Mutationen innerhalb kodierender Regionen, vielmehr könnten die identifizierten genomischen Varianten auf Genregulationsebene zum Tragen kommen (Mignot 2007). Eine diagnostische Option bieten die vier identifizierten Genvarianten allerdings nicht. Es handelt sich um genetische Risikovarianten, mit einem kleinen Effekt auf den Phänotyp. Träger eines Risikoallels haben ein erhöhtes Risiko an RLS zu erkranken (Odds ratio (OR): bis zu 1,7). Bei Trägern aller Risikoallele steigt das Risiko auf eine OR von bis zu 9.

1.5. Therapie des Restless Legs Syndroms

Wichtigste Therapieform zur pharmakologischen Behandlung eines RLS ist die dopaminerge Therapie mit Levodopa (in Kombination mit einem Decarboxylasehemmer) oder mit einem Dopaminagonisten. Die dopaminerge Therapie hat sowohl einen Effekt auf die sensible, als auch auf die motorische Komponenten des RLS, mit Reduzierung des PLM-Index (Hening *et al.* 1999a). Vorteil der Therapie mit Levodopa/Decarboxylasehemmer ist der rasche Wirkungseintritt von etwa 30 Minuten, sodass es als Bedarfsmedikation und bei intermittierend auftretendem RLS besonders geeignet ist (Silber *et al.* 2004). Therapie der ersten Wahl bei täglich auftretendem mittlerem bis schwerem RLS stellen Dopaminagonisten dar (Hening *et al.* 2004; Hening 2007). Die längere Halbwertszeit im Gegensatz zu Levodopa/Decarboxylasehemmer ermöglicht eine Symptombesserung über einen längeren Zeitraum. Hierdurch kann die Häufigkeit der Medikamenteneinnahmen reduziert werden und eine Wirkung über die gesamte Schlafphase in der Nacht erreicht werden. Redundphänomene, mit einem Wirkverlust der Medikamente vor Ende der RLS-Symptomatik und Wiederauftreten der Beschwerden, treten unter Dopaminagonisten daher seltener auf (Guilleminault *et al.* 1993). Als spezifische Nebenwirkung einer dopaminergen Therapie bei RLS-Patienten findet sich das Phänomen der Augmentation. Hierbei handelt es sich um eine Verschlechterung der Beschwerden mit früherem Einsetzen der Symptome im Tagesverlauf und/oder Befall von anderen Körperregionen unter konstanter dopaminergem Therapie. Etwa 70-80% der Patienten entwickeln unter einer täglichen Einnahme von

Levodopa/Decarboxylasehemmer eine Augmentation, die meist ein Absetzen des Medikamentes und den Wechsel auf ein alternatives Präparat erfordert (Allen & Earley 1996; Earley & Allen 1996). Deutlich seltener und in milderer Ausprägung findet sich eine Augmentation bei der Therapie mit Dopaminagonisten (Earley & Allen 1996; Ondo *et al.* 2004). Bei unzureichendem Behandlungserfolg oder Komplikationen durch die dopaminergen Medikamente (z.B. Augmentation) bietet sich ein Therapieversuch mit Opioiden an, die ebenfalls einen positiven Effekt auf die sensible und motorische (PLM-Index) Komponente des RLS haben (Walters *et al.* 2001). Alternativ werden auch Antiepileptika wie Gabapentin sowie Benzodiazepine, meist als Kombinationstherapie eingesetzt (Hening *et al.* 1999a; Garcia-Borreguero *et al.* 2002; Happe *et al.* 2003).

Sekundäre RLS-Fälle müssen anamnestisch von der primären Form differenziert werden, da sich der Therapieansatz bei beiden Formen unterscheidet. So sollten erniedrigte Serumeisen- und/oder Ferritinwerte durch Eisensubstitution auf hochnormale Werte eingestellt werden. Oftmals lässt sich hierdurch eine deutliche Besserung der Beschwerdesymptomatik erzielen (O'Keeffe *et al.* 1994; Earley *et al.* 2004). Patienten, die im Rahmen einer terminalen Niereninsuffizienz eine RLS-Symptomatik entwickeln, berichten nach einer Nierentransplantation in den meisten Fällen von einer deutlichen Besserung ihrer Beschwerden (Winkelmann *et al.* 2002). Beim Auftreten eines RLS in der Schwangerschaft sollte möglichst auf eine medikamentöse Therapie verzichtet werden. Ist eine medikamentöse Therapie nicht zu umgehen, stehen Benzodiazepine und Opiate als Medikamentengruppen zur Verfügung. Die bisherige Datenlage zur Sicherheit dieser Medikamente bei der Verabreichung in der Schwangerschaft wird als ausreichend bewertet (Djokanovic *et al.* 2008). Alternativ bieten sich konservativ lindernde Verfahren, wie z.B. Bewegungstherapie an, sowie die Gewährleistung einer optimalen Eisensubstitution. Ultima ratio ist die vorzeitige Beendigung der Schwangerschaft mittels Sectio, da es nach der Geburt meist zu einer akuten Besserung der Beschwerden kommt (Manconi *et al.* 2004).

1.6. Pathophysiologie des Restless Legs Syndroms

Bis heute ist die pathophysiologische Grundlage zur Entstehung eines RLS nicht genau geklärt. Es spielen sowohl genetische, als auch nicht-genetische Faktoren, wie z.B. metabolische Veränderungen (veränderter Eisenstoffwechsel, Schwangerschaft, Urämie) und/oder Umweltfaktoren bei der Entstehung eines RLS eine entscheidende Rolle (Winkelman 2006).

Genetische Faktoren könnten hierbei das Risiko erhöhen ein RLS zu entwickeln. Treffen zusätzlich nicht-genetische Faktoren auf eine bestimmte Konstellation von Risiko-Varianten, könnte das Zusammenspiel genetischer und nicht-genetischer Faktoren letztendlich zur Manifestation eines RLS führen.

1.6.1. Neurotransmittersysteme

Das Ansprechen der RLS-Symptome auf eine dopaminerge Therapie deutet auf eine Beteiligung des dopaminergen Neurotransmittersystems hin (Montplaisir *et al.* 1986; Trenkwalder *et al.* 1995; Earley & Allen 1996; Stiasny *et al.* 2000). Meist fanden sich in Untersuchungen des nigrostriatalen dopaminergen Systems mittels funktioneller bildgebender Verfahren unauffällige Messergebnisse im Vergleich von RLS-Patienten und gesunden Kontrollpersonen (Eisensehr *et al.* 2001; Michaud *et al.* 2002; Tribl *et al.* 2004). Wenige Studien lieferten dagegen Hinweise auf eine Affinitätsstörung oder absolute Verminderung striataler postsynaptischer Dopamin-D2-Rezeptoren (Michaud *et al.* 2002) sowie auf eine zentrale striatale und extrastriatale dopaminerge Hypo- bzw. Dysfunktion (Turjanski *et al.* 1999; Ruottinen *et al.* 2000; Cervenka *et al.* 2006). Diese Messergebnisse konnten in einer weiteren Untersuchung jedoch nicht verifiziert werden (Trenkwalder *et al.* 1999b). Insgesamt lieferten die bisher durchgeführten vergleichenden Bildgebungsstudien zur Beurteilung der striatalen Rezeptorkonzentration und deren Bindungsverhalten uneinheitliche Resultate.

Der positive Behandlungserfolg zahlreicher RLS-Patienten mit Opiaten gibt zudem Hinweise auf eine mögliche Beteiligung des endogenen Opiatsystems (Trzepacz *et al.* 1984; Hening *et al.* 1986; Walters *et al.* 1993; Lauerma & Markkula 1999). Veränderungen im Bindungsverhalten von Opioidrezeptoren konnten in einer PET-Untersuchung jedoch nicht gezeigt werden (von Spiczak *et al.* 2005).

1.6.2. Eisen

Das Auftreten eines sekundären RLS wird häufig durch einen latenten oder manifesten Eisenmangel mit erniedrigtem Ferritinspiegel im Serum ausgelöst (O'Keeffe *et al.* 1994; Sun *et al.* 1998). Eine Besserung der Symptome lässt sich bei dieser sekundären Form des RLS oftmals durch eine adäquate Eisensubstitution erzielen (O'Keeffe *et al.* 1994; Earley *et al.* 2004). Gegenstand mehrere Studien war die Untersuchung des Zusammenhangs von Eisenstoffwechsel und RLS-Symptomen. Mittels MRT-Untersuchung konnte bei RLS-Patienten eine signifikant erniedrigte, regionale Eisenverteilung in der Substantia nigra und, zu einem geringeren Ausmaß, auch im Putamen gezeigt werden (Allen *et al.* 2001). Zudem korrelierte das Ausmaß dieses regionalen Eisendefizits mit der Schwere der RLS-Symptome, d.h. bei Patienten mit niedrigstem zentralen Eisengehalt wurden die schwersten Symptome anamnestiziert (Allen *et al.* 2001). Histopathologisch ließen sich bei der Untersuchung von post mortem Gehirngewebe von RLS-Patienten im Vergleich zu Gehirngewebe von neurologisch gesunden Kontrollpersonen, bezüglich der Zellform keine Unterschiede feststellen. Es fanden sich jedoch in der gleichen Studie eine verminderte Färbung von Eisen und H-Ferritin (Speicherform des Ferritins) sowie eine Reduzierung der Transferrin-Rezeptoren (Connor *et al.* 2003). Eine funktionelle Störungen des Eisentransportes in neuromelaninhaltigen Zellen als pathologische Grundlage des RLS wird daher von einigen Arbeitsgruppen diskutiert (Connor *et al.* 2003). Liquoruntersuchungen ergaben bei RLS-Patienten im Vergleich zu Kontrollen erniedrigte Ferritin-Werte bei erhöhtem Transferrin (Earley *et al.* 2000; Clardy *et al.* 2006), während der Serumspiegel dieser Eisenparameter in beiden Gruppen unauffällig war (Earley *et al.* 2000). In Zusammenhang mit dem in der MRT ermittelten erniedrigten Eisengehalt in den Basalganglien (Allen *et al.* 2001) deuten diese Ergebnisse auf einen erniedrigten Eisenmetabolismus im zentralen Nervensystem von RLS-Patienten hin.

Ein Zusammenhang zwischen Eisenstoffwechsel und dopaminerger Funktion wird über die Aktivität der Tyrosinhydroxylase angenommen, die das geschwindigkeitsbestimmende Enzym bei der Synthese von Dopamin darstellt und deren Aktivität eisenabhängig ist. Niedrige Aktivitäten dieses Enzyms könnten zu einer verminderten Dopaminsynthese führen, wodurch für die adäquate Signalübertragung an der postsynaptischen Membran weniger Transmitter zur Verfügung steht (Beard & Connor 2003).

1.7. Zwillingsforschung

1.7.1. Geschichte der Zwillingsforschung

Die Methode der Zwillingsforschung wurde im Jahr 1875 durch den britischen Wissenschaftler Francis Galton durch die Veröffentlichung eines Artikels über Zwillinge mit dem Titel „*The History of Twins, as a Criterion of the Relative Powers of Nature and Nurture*“ begründet (Galton 1876). Er vermutete durch die Untersuchung von Zwillingen, dass deren Lebensgeschichte sowohl anlagebedingt, als auch durch Umweltfaktoren geprägt sein könnte (Galton 1876). Die Unterscheidung monozygoter (MZ) und dizygoter (DZ) Zwillinge war damals nicht möglich, so wurde von Francis Galton auch kein Vergleich der Ähnlichkeiten in Bezug auf bestimmte Eigenschaften zwischen MZ und DZ Zwillingspaaren beschrieben. Um das Jahr 1920 wurde erkannt, dass es zwei unterschiedliche Typen von Zwillingen gibt (Rende *et al.* 1990). MZ Zwillinge entstehen aus einer einzigen, durch ein Spermium befruchteten Eizelle und haben daher identische Erbanlagen, während DZ Zwillinge aus zwei Eizellen entstehen, die von zwei Spermien befruchtet wurden. Sie stimmen durchschnittlich nur in der Hälfte ihrer Gene überein und sind verwandt wie normale Geschwister. Durch dieses Verständnis bot die Zwillingsforschung neue Möglichkeiten (Rende *et al.* 1990). Im Jahr 1924 wurden zeitgleich von dem deutschen Dermatologen Hermann Siemens und von Curtis Merriman, einem Dozenten der Universität in Wisconsin, die klassische Methoden der Zwillingsforschung beschrieben (Rende *et al.* 1990; Boomsma *et al.* 2002). Durch den Vergleich des Auftretens bestimmter Merkmale oder Erkrankungen bei MZ und DZ Zwillingen sollte der erbliche Einfluss auf diese Merkmale abgeschätzt werden (Rende *et al.* 1990; Boomsma *et al.* 2002). Zu dieser Zeit wurde der Einfluss des Erbgutes auf das Wesen des Menschen überbewertet, Umweltfaktoren spielten nach damaliger Ansicht keine relevante Rolle. Diese Ideologie war im Nationalsozialismus die Basis für zahlreiche menschenunwürdige und kriminelle Experimente mit Zwillingen, wodurch die Zwillingsforschung ein äußerst negatives Ansehen erhielt (Matalon Lagnado & Cohn Deke 1994). Erst in der heutigen Zeit wurde klar, dass der Einfluss des Erbgutes in intensiver Wechselwirkung mit Faktoren aus der Umwelt steht. Der Begriff der Epigenetik, also die Beeinflussung einer Merkmalsausprägung durch molekulare Veränderungen DNA, ohne Veränderung der definierten DNA-Sequenz, die durch nicht-genetische Faktoren aus der Umwelt ausgelöst werden, lieferte neue Ansätze zur Interpretation von Zwillingsstudien und vergrößerte deren Aussagekraft.

1.7.2. Methoden der Zwillingsforschung

Bei der Entstehung von Krankheiten oder Merkmalen eines Phänotyps spielen sowohl genetische Faktoren als auch Umweltfaktoren eine Rolle. Ziel der Untersuchung von MZ und DZ Zwillingen ist es, den genetischen Beitrag bei der Entstehung von Erkrankungen abzuschätzen. Darüber hinaus soll die Frage beantwortet werden, in welchem Ausmaß Erkrankungen durch genetische Faktoren bedingt sind und wie stark der Einfluss der Umwelt auf die Ätiologie und Ausprägung von Krankheiten ist. Kann der Einfluss nicht-genetischer Faktoren aus der Umwelt gezeigt werden, erhofft man mit dieser Methode eine mögliche Identifizierung spezieller Umweltfaktoren. Seit Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts wird hierfür die Methode der „Klassischen Zwillingsforschung“ verwendet, bei der die Ähnlichkeit in Bezug auf ein phänotypisches Merkmal, z.B. eine Krankheit, zwischen MZ und DZ Zwillingspaaren verglichen wird (Boomsma *et al.* 2002). Gemeinsam aufwachsende MZ und DZ Zwillinge entwickeln sich zudem in einem ähnlichen Umfeld und erfahren die gleiche Erziehung. Sind sich MZ Zwillinge hinsichtlich einer Krankheit ähnlicher als DZ Zwillinge, so deutet dies auf einen größeren genetischen Einfluss bei der Entstehung der Erkrankung hin. Wenn jedoch die Ähnlichkeit hinsichtlich einer Krankheit bei monozygoten und dizygoten Zwillingen keinen großen Unterschied zeigt, haben Umweltfaktoren einen größeren Einfluss (Boomsma *et al.* 2002).

Für die Studie in der vorliegenden Arbeit wird die zuvor beschriebene Methode der „Klassischen Zwillingsforschung“ angewandt. Weiterführende Modelle im Rahmen der Zwillingsforschung sollen hier nur kurz erwähnt werden. So besteht zusätzlich die Möglichkeit getrennt aufwachsende MZ Zwillinge auf ein Merkmal zu untersuchen und diese gegebenenfalls mit zusammen aufgewachsenen MZ Zwillingen zu vergleichen. Hierdurch lässt sich der Einfluss nicht-genetischer Faktoren abschätzen mit der Möglichkeit diese zu identifizieren. Ebenso können die Korrelationen zwischen MZ und DZ Zwillingen mit normalen Geschwistern, Adoptivgeschwistern, anderen Familienmitgliedern oder mit einer Kontrollgruppe aus der Allgemeinbevölkerung verglichen werden (Andrew *et al.* 2001; Boomsma *et al.* 2002).

1.7.3. Restless Legs Syndrom bei Zwillingen

Ekbohm, einer der Erstbeschreiber des RLS im letzten Jahrhundert, berichtete bereits über ein MZ Zwillingespaar. Bei beiden Zwillingesgeschwistern konnte er leichte RLS-Symptome diagnostizieren. Die Mutter der Zwillinge war schwer an RLS erkrankt (Ekbohm 1960). Bisher wurden drei Zwillingesstudien zur Beurteilung des Einflusses genetischer Faktoren auf die

Entstehung und Ausprägung eines RLS veröffentlicht (Ondo *et al.* 2000; Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007). In einer US-amerikanischen Studie mit zwölf MZ Zwillingspaaren konnte innerhalb von zehn Paaren bei beiden Zwillingsgeschwistern ein RLS diagnostiziert werden. Hieraus wurde eine Paarweise Konkordanz von 83,3% ermittelt. DZ Zwillingspaare wurden in dieser Studie nicht untersucht, ein Vergleich der Konkordanzen zwischen MZ und DZ Zwillingspaaren und somit die Abschätzung des Anteils genetischer und nicht-genetischer Faktoren bei der Entstehung eines RLS war nicht möglich (Ondo *et al.* 2000). Eine aktuellere Studie aus Großbritannien untersuchte 911 MZ und 983 DZ weibliche Zwillingspaare in Bezug auf eine RLS. Es ergaben sich Probandenweise Konkordanzen (CWC) von 61% bei den MZ und 45% bei den DZ Zwillingen und eine Heritabilität von 54%. Eine ungenaue Phänotypisierung des RLS durch die Verwendung von zwei Diagnosefragen, die unabhängig von den Diagnosekriterien der IRLSSG erstellt wurden sowie der Einschluss von nur weiblichen Probanden schränkt die Aussagekraft der Ergebnisse ein. Die Zygote wurde größtenteils mittels standardisierten Fragebögen und nur bei einer Minderheit durch Genotypisierung bestimmt (Desai *et al.* 2004). In einer weiteren Untersuchung des RLS bei 140 MZ und 132 DZ kanadischen Zwillingspaaren wurden kürzliche Probandenweise Konkordanzen (CWC) von 53,7% für MZ und 15,4% für DZ Zwillingspaare errechnet. Sekundäre RLS-Formen, deren Familiarität möglicherweise niedriger als beim primären RLS eingeschätzt werden muss, wurden nicht aus der Studie ausgeschlossen. Die Zygotebestimmung der Zwillinge erfolgte bei allen Zwillingspaaren mittels Zygotefragebogen, auf eine molekulargenetische Untersuchung wurde verzichtet (Xiong *et al.* 2007).

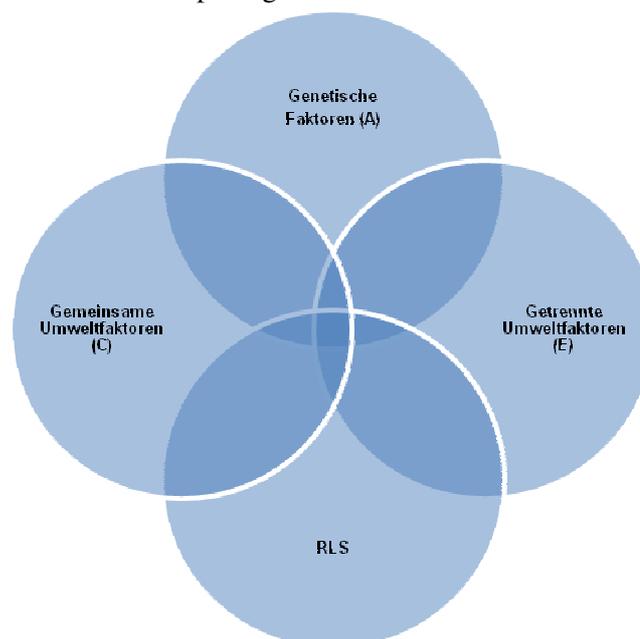
Zur genauen Beurteilung der Konkordanzen bei MZ und DZ Zwillingen und dem Vergleich dieser untereinander ist eine sorgfältige Phänotypisierung notwendig. Es sollte daher auf die Verwendung der einheitlichen Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003) zur Diagnose eines RLS geachtet werden. Ein persönlicher oder telefonischer Kontakt erhöht dabei gegenüber der Verwendung von Selbstbeurteilungsfragebögen die Diagnosesicherheit. Hierdurch wird auch der Vergleich der Ergebnisse aus verschiedenen RLS-Studien möglich. Nicht nur die sorgfältige klinische Phänotypisierung des RLS, sondern auch die korrekt und einheitlich determinierte Zygote mittels Genotypisierung, sichert die Qualität der Studienergebnisse und ermöglicht eine Vergleichbarkeit von Zwillingstudien untereinander. Zudem bedarf das zugrundeliegende Probandenkollektiv einer besonderen Auswahl mit dem Anspruch möglichst die Allgemeinbevölkerung zu repräsentieren.

2. FRAGESTELLUNG

Das RLS ist eine komplex-genetische Erkrankung. Es wird vermutet, dass sowohl genetische, als auch nicht-genetische Faktoren an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt sind. Nicht-genetische Faktoren können hierbei bestimmte Umweltfaktoren sein (z.B. Ernährungszustand und Ernährungsgewohnheiten, geographischer Lebensraum, psychische Belastungssituationen und dauerhafte Stresssituationen) oder metabolische Faktoren (z.B. Hormon- und Stoffwechselveränderungen) sein. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die erbliche Komponente bei der Entstehung eines RLS abzuschätzen und das Ausmaß der Interaktion von genetischen und nicht-genetischen Faktoren zu beurteilen.

Das Modell der Zwillingsuntersuchung bietet hierfür eine geeignete Methode. Wir haben in dieser Arbeit MZ und DZ Zwillingspaare auf das Vorhandensein eines RLS untersucht und die jeweiligen Konkordanzen ermittelt. Anhand dieser soll in einer Konkordanz-Diskordanz-Analyse die Häufigkeit der konkordanten und diskordanten Zwillinge zwischen den MZ und DZ Zwillingspaaren verglichen werden. Aus diesen Daten sollen Erblichkeitsschätzungen berechnet werden, die Informationen darüber geben sollen, zu welchem Anteil additiv-genetische Einflüsse (A) sowie gemeinsame (C) und getrennte Umwelteinflüsse (E) an der Ausprägung eines RLS beteiligt sind (Abbildung 1). Nicht-genetische Einflussfaktoren werden im Folgenden als Umwelteinflüsse bezeichnet.

Abb. 1: Einflussfaktoren auf die Ätiopathogenese des RLS



3. PROBANDEN UND METHODIK

3.1. Probandenpopulation

Die Probandenpopulation wird aus zwei unterschiedlichen Kollektiven zusammengestellt. Das erste Kollektiv repräsentiert Zwillingspaare aus der Allgemeinbevölkerung, die sich dem Zwillingsregister des Unternehmens HealthTwiSt GmbH in Berlin angeschlossen haben. Das zweite Probandenkollektiv wurde aus einer RLS-Patientenpopulation über die RLS-Ambulanz des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München in Zusammenarbeit mit dem Institut für Humangenetik des Helmholtz Zentrums in München sowie der Deutschen Restless Legs Vereinigung (RLS e.V.), einer Patientenorganisation, rekrutiert.

3.1.1. Probandenrekrutierung über das Zwillingsregister von HealthTwiSt

Der Grundgedanke zum Aufbau des Berliner Zwillingsregisters HealthTwiSt wurde 1994 im Rahmen einer Studie gelegt, die zur Erforschung der Erbllichkeit des Blutdrucks und der Reaktion auf Stress durchgeführt worden ist. Im Jahr 2006 verzeichnete das Zwillingsregister, das als Privatunternehmen geführt wird, mehr als 1700 Zwillingspaare (Busjahn 2006). Zur Registrierung füllen interessierte Zwillingspaare einen *Gesundheitsfragebogen* aus, der Daten zur Person, zu Lebensgewohnheiten und zum Gesundheitszustand beinhaltet (Anhang 1). Diesem Gesundheitsfragebogen wurden für unsere Studie zusätzlich drei Fragen zur Diagnose eines RLS hinzugefügt (Anhang 1, Fragen 12.3; 12.4; 12.5), die in Tabelle 3 aufgeführt sind.

Tab. 3: RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens

RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens (Berger et al. 2004)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Haben Sie Missempfindungen wie Kribbeln, „Ameisenlaufen“ oder Schmerzen in den Beinen, verbunden mit einem Bewegungsdrang? (Anhang 1, Frage 12.3) 2. Treten diese Symptome nur in Ruhe bzw. beim Einschlafen auf und lassen sie sich durch Bewegung bessern? (Anhang 1, Frage 12.4) 3. Sind die Symptome abends schlimmer als morgens? (Anhang 1, Frage 12.5)

Diese „diagnostischen Fragen“ wurden in bisherigen epidemiologischen Studien zum RLS verwendet (Rothdach *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004) und beinhalten die essentiellen Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003).

Die drei RLS-Diagnosefragen wurden von den Probanden persönlich ausgefüllt. Mit Hilfe dieser RLS-Diagnosefragen sollten alle über HealthTwiST registrierten Zwillingspaare ermittelt werden, die potentiell von der Symptomatik eines RLS betroffen sind. So konnte durch eine erste Selektion RLS-verdächtiger Zwillingspaare eine Eingrenzung des gesamten Zwillingsskollektivs, das im Zwillingregister registriert ist, erreicht werden. Dabei wurden alle Zwillingspaare, von denen mindestens ein Zwillingspartner innerhalb eines untersuchten Paares mindestens eine der drei RLS-Diagnosefragen mit „Ja“ beantwortet hatte, als Zwillingspaare mit „*möglichem RLS*“ klassifiziert. Die Namen und Kontaktdaten der entsprechenden Zwillingspaare wurden im Einverständnis der Probanden an das Institut für Humangenetik des Helmholtz Zentrums in München weitergeleitet. Diese Zwillingspaare erhielten daraufhin ein Anschreiben (Anhang 2), in dem sie über den Ablauf und den Hintergrund einer anschließenden Studie informiert wurden, die zur weiteren Untersuchung der von ihnen beantworteten RLS-Diagnosefragen bezüglich eines „*möglichen RLS*“ durchgeführt werden soll. Diese Anschlussuntersuchung wurde mit dem Ziel der Diagnosesicherung eines „*möglichen RLS*“ durchgeführt. Um an der Studie teilnehmen zu können, sollten alle kontaktierten Zwillinge ein Rückantwortschreiben (Anhang 3) mit Name, Adresse, Telefonnummer und der bevorzugten Erreichbarkeit ausfüllen und an das Institut für Humangenetik des Helmholtz Zentrums in München in einem vorgefertigten Rückumschlag zurückschicken. Alle Zwillingspaare, die keine Rückantwort zurücksendeten, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Zwillinge, von dessen Zwillingspartner lediglich die Rückantwort fehlte, wurden angerufen und über die Notwendigkeit der Teilnahme beider Zwillingspartner informiert. Falls einer der Zwillingspartner nicht teilnehmen wollte, wurden beide Zwillinge aus der Studie ausgeschlossen. Es wurden nur vollständige Zwillingspaare, die ihre mündliche oder schriftliche Studieneinwilligung gegeben hatten, in die Anschlussuntersuchung zur Diagnosesicherung eines RLS eingeschlossen.

3.1.2. Probandenrekrutierung über Spezialambulanzen für Restless Legs Syndrom und die Deutsche Restless Legs Vereinigung (RLS e. V.)

Aus den Klinikakten und Stammbäumen von RLS-Patienten, die sich bis 2006 in ambulanter oder stationärer Behandlung im Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München befanden oder an Familienuntersuchungen zur genetischen Erforschung des RLS durch das Institut für

Humangenetik des Helmholtz Zentrums in München teilnahmen, wurden zusätzlich Zwillingspaare mit RLS ermittelt. Die Patienten wurden telefonisch oder während ihres stationären oder ambulanten Krankenhausaufenthaltes kontaktiert und über die Studie zur Untersuchung des RLS bei MZ und DZ Zwillingen informiert.

Weitere Zwillingspaare wurden über die Deutsche Restless Legs Vereinigung (RLS e.V.) rekrutiert. Hierfür wurde auf Informationsveranstaltungen der Deutschen Restless Legs Vereinigung die Studie zur Untersuchung eines RLS bei MZ und DZ Zwillingen vorgestellt. Zudem wurde in der Zeitschrift der Deutschen Restless Legs Vereinigung eine Studienanzeige mit Informationen zum Hintergrund und Ziel der Studie sowie den Kontaktdaten der Studienzentrale zur weiteren Probandensuche veröffentlicht.

3.2. Untersuchungsmethoden

Die Untersuchungsmethode gliedert sich in zwei Abschnitte:

1. Diagnostisches Telefoninterview zur Sicherung der klinischen Diagnose eines RLS
2. Asservierung von Blut zur genetischen Untersuchung der Zygotie

3.2.1. Diagnostisches Telefoninterview

Die Sicherung der klinischen Diagnose eines RLS erfolgte bei allen Zwillingenindividuen in einem standardisierten telefonischen Interview von ca. 45-minütiger Dauer. Dieses wurde zu den von den Zwillingen im Rückantwortschreiben bevorzugt angegebenen Zeiten durchgeführt. Alle untersuchten Zwillingenindividuen erhielten nach dem Telefoninterview eine Identifikationsnummer zur Anonymisierung der erhobenen Daten.

Grundlage des telefonischen Interviews war ein für diese Zwillingenstudie erstellter Fragebogen (Anhang 4). Dieser lässt sich in vier Abschnitte gliedern. Im ersten Abschnitt werden Daten zur Identifikation der Zwillingenindividuen (Name, Geschlecht und Geburtsdatum), zur Zwillingengeburt und zur Sozialanamnese erhoben. Es folgen im zweiten Abschnitt Fragen zum Schlafverhalten bzw. Schlafrhythmus sowie zu Schlafstörungen. Der dritte Abschnitt befasst sich mit der Diagnosestellung des RLS anhand der vier essentiellen Diagnosekriterien sowie der drei Zusatzkriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003). Zusätzliche Fragen zu den klinischen Charakteristika des RLS (z.B. Alter bei Symptombeginn, Lokalisation der Beschwerden, Auftreten in der Schwangerschaft,

individuelle Beschreibung der Beschwerden) sowie zu assoziierten Symptomen und Erkrankungen (z.B. ein Eisenmangel, Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom (ADHS), Wachstums-schmerzen in der Kindheit, Einfluss von Alkohol und des weiblichen Zyklus auf die RLS-Symptomatik) werden hier ebenfalls abgefragt. Im letzten Abschnitt werden die Krankheitsanamnese weiterer Vorerkrankungen und die aktuelle Medikamentenanamnese erhoben. Diesem Fragebogen folgt die Schweregrad-Skala (IRLS) der IRLSSG zur Selbstbeurteilung, die ebenfalls im telefonischen Interview abgefragt wurde (Walters *et al.* 2003) (Anhang 5).

Die Diagnosesicherheit wurde nach Auswertung des diagnostischen Telefoninterviews anhand von Diagnoseziffern weiter differenziert. Tabelle 4 zeigt die Definition und Verteilungskriterien der Diagnoseziffern.

Tab. 4: Definition RLS-Diagnoseziffern

Diagnoseziffer	Diagnose
1	RLS <i>sicher</i> und alle vier diagnostischen Kriterien erfüllt + unterstützt durch Ansprechen auf dopaminerge Therapie <i>oder</i> Polysomnographie (PSG)
2	RLS <i>sicher</i> und alle vier diagnostischen Kriterien erfüllt
3	RLS <i>wahrscheinlich</i> (nur drei von vier Kriterien erfüllt)
4	RLS <i>möglich</i> (weniger als drei Kriterien erfüllt)
5	sicher <i>kein</i> RLS
6	Diagnose unbekannt
7	Sonstige (Anamnese unklar etc.)

Zwillingsindividuen, die alle *vier* Diagnosekriterien erfüllt haben und zusätzlich eine Besserung der RLS-Symptomatik durch eine dopaminerge Therapie („Supportives Kriterium“) erfahren, erhalten die Diagnoseziffer „1“. Zwillingsindividuen ohne den Nachweis des Ansprechens auf eine dopaminerge Therapie, bei allen *vier* erfüllten Diagnosekriterien, erhalten die Diagnoseziffer „2“. Die Diagnoseziffer „3“ wurde allen Zwillingsindividuen mit *drei* erfüllten Diagnosekriterien zugeteilt.

Als „*sicher RLS-positiv*“ wurden alle Zwillingsindividuen mit den Diagnoseziffern „1“ und „2“ klassifiziert. Als „*wahrscheinlich RLS-positiv*“ galten Zwillingsindividuen mit der Diagnoseziffer „3“. Als „*möglich RLS-positiv*“ wurden Zwillingsindividuen mit der

Diagnoseziffer „4“ klassifiziert. Diese Zwillinge wurden in der Studie nicht ausgewertet, da sie nicht sicher als RLS positiv oder negativ bewertet werden konnten.

3.2.2. Blutprobe zur Zygotiebestimmung

Bei jedem Individuum innerhalb eines gleichgeschlechtlichen Zwillingspaars mit RLS erfolgte eine Blutabnahme zur genetischen Untersuchung der Zygotie. Hierfür erhielten die jeweiligen Zwillinge auf dem Postweg je zwei beschriftete EDTA-Röhrchen (je 7,5 ml) und Transportbehälter. Die hinzugefügten Informationsschreiben für Probanden und Hausärzte sollten die ordnungsgemäße Probengewinnung und Versendung der Blutröhrchen sichern. Zusätzlich enthielt die Sendung eine Einverständniserklärung, die vom Patienten unterschrieben zurückgesendet werden musste. Ein frankierter und adressierter Rückumschlag lag der Postsendung bei. Die Zwillinge wurden gebeten, eine Blutentnahme mit dem zugesandten „Blutset“ und unter Vorlage des Informationsschreiben bei der nächsten Vorstellung beim Hausarzt vornehmen zu lassen. Diese Blutabnahme konnte mit einer Routineblutabnahme verbunden werden.

3.3. Laborteil zum Nachweis der Zygotie

Das Prinzip des Zygotienachweises beruht auf der Amplifikation spezieller DNA-Fragmente (hochpolymorphe Mikrosatellitenmarker) mittels Polymerasen-Ketten-Reaktion (PCR). In der anschließenden Fragmentanalyse wird die Größe der erhaltenen PCR-Produkte der Zwillinge ermittelt und mit den PCR-Produkten des jeweiligen Zwillingspartners verglichen. Abweichungen in der Fragmentgröße innerhalb eines Zwillingspaars sprechen für ein DZ Zwillingsspaar.

3.3.1. DNA-Extraktion aus Leukozyten des peripheren Blutes

Von allen gleichgeschlechtlichen Zwillingspaaren wurde zur Gewinnung der genomischen DNA venöses EDTA-Blut verwendet (Miller, III & Costa 1988). 10 ml EDTA-Blut wurden mit 30 ml eiskaltem RBC Lysis Puffer versetzt, 15 min auf Eis inkubiert und mehrere Male durch Invertieren gut gemischt. In dieser Zeit lysieren die Erythrozyten im hypotonen Puffer, während die Leukozyten intakt bleiben und im anschließenden Zentrifugationsschritt (2500 rpm, 10 min bei 4°C) sedimentiert werden können. Nach vorsichtigem Abkippen des

Überstandes wurde das Leukozyten-Pellet in 5 ml SE-Puffer resuspendiert und 25 µl Proteinkinase K (10mg/ml) und 250 µl SDS (20%) zugegeben. Die Suspension wurde bei Raumtemperatur über Nacht inkubiert. Durch Zugabe von 3 ml saturiertem NaCl (ca. 6M, autoklaviert) wurden danach die abgebauten Proteinreste ausgefällt und bei 40°C abzentrifugiert (15 min bei 3500 rpm). Der klare DNA-haltige Überstand wurde abgegossen und mit einem Volumen Isopronalol ausgefällt. Die DNA, als ausgefallenes Knäuel, wurde mit einem sterilen Glashäkchen entnommen und in 0,2 ml 70%igem Ethanol gewaschen, anschließend in 1000-1800 µl sterilem TE-Puffer bei Raumtemperatur über Nacht gelöst.

3.3.2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Prinzip:

Die Amplifikation der spezifischen DNA-Abschnitte wird durch eine thermostabile DNA-Polymerase enzymatisch katalysiert. Zwei Startersequenzen, die sogenannten Primer, grenzen dabei den zu vervielfältigenden DNA-Abschnitt ein und bilden die Bindungsstelle für die DNA-Polymerase. Die Reaktion erfolgt in einem Thermocycler unter Durchlauf definierter temperaturabhängiger Zyklen.

Reaktionsablauf:

Um einen korrekten Ablauf der Reaktion zu ermöglichen, ist ein definierter Standard-Reaktionsansatz mit folgenden Komponenten nötig:

Standard-Reaktionsansatz:

	Einzelansatz:
10 x PCR-Puffer (Art: Qiagen)	2,0 µl
MgCl ₂ (Puffer enthält 15.mM,+25 mM Lösung)	
dNTP-Mix	2,0 µl
Forward Primer (100 pmol/µl)	0,1 µl
Reverse Primer (100 pmol/µl)	0,1 µl
H ₂ O (Millipore /Ampuwa /Reinstwasser)	14,7 µl
Probanden-DNA (Template)	1,0 µl
Taq-Polymerase (Art : Qiage, 5U/µl)	0,1 µl
	20,0 µl

Diese Komponenten werden in 96er PCR-Mikrotiterplatten zusammenpipettiert und gut miteinander vermischt. Das Reaktionsgemisch durchläuft in einem programmierten Thermocycler folgende temperaturabhängigen Schritte, die sich in Zyklen wiederholen:

- **Denaturierung:** Die doppelsträngige DNA wird auf + 95°C für 20 sec erhitzt, um durch die Auflösung der Wasserstoffbrückenbindungen die beiden DNA-Stränge voneinander zu trennen, so dass nur noch Einzelstränge vorliegen.
- **Annealing (Primerhybridisierung):** Die Temperatur wird im Anschluss an die Denaturierung für 30 sec auf + 55°C gesenkt, wodurch es zur Anlagerung der Primer an das 3`-Ende der DNA-Einzelstränge kommt.
- **Extension:** Es folgt wieder ein Anstieg der Temperatur auf + 72°C für 60 sec. Während dieser Phase wird die DNA-Polymerase aktiv und synthetisiert durch Anlagerung freier Nukleotide an den Primer in 5` → 3` Richtung einen neuen Doppelstrang.

Durch die Verdopplung des Ausgangssubstrats bei jedem Amplifikationszyklus kommt es zu einer exponentiellen Vermehrung der kopierten DNA-Fragmente. Insgesamt werden 35 PCR-Zyklen im Thermocycler durchgeführt. Vor der Einleitung des ersten Zyklus erfolgt eine *Initiale Denaturierung* über 15 min bei + 95°C. Dieser Schritt ist notwendig, um die thermostabile *hot start Taq-Polymerase* zu aktivieren. Nach Abschluss des letzten Zyklus erfolgt die *Finale Extension* bei + 72°C für 10 min, um die Amplifikationsschritte zu beenden und eine doppelsträngige DNA zu erhalten.

Verwendete Mikrosatellitenmarker:

Unter Verwendung von acht hochpolymorphen Tetranukleotid-Mikrosatellitenmarker wurden für jedes zu untersuchende Zwillingsindividuum acht spezifische DNA-Fragmente in getrennten Ansätzen amplifiziert. Die verwendeten acht Mikrosatellitenmarker wurde aus dem „AmpF/STR® Identifiler® PCR Amplification Kit“ ausgewählt. Hierbei handelt es sich um ein „Standard-Kit“, das in der forensischen Medizin zur Identifizierung menschlicher Individuen verwendet wird. Dieses „Kit“ enthält insgesamt 15 fluoreszierende Mikrosatellitenmarker (CSF1P0, D2S1338, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, FGA, TH01, TPOX, vWA) zur Koamplifikation von 15 STR-Loci (Sort-Tandem-Repeat). Die in dieser Arbeit verwendeten Tetranukleotid-Mikrosatellitenmarker sind im Folgenden aufgelistet (Tabelle 5).

Tab. 5: Auswahl hochpolymorpher Mikrosatellitenmarker (AmpF/STR® Identifiler® PCR Amplification Kit)

	Mikrosatellitenmarker
1	D8S1179
2	D13S317
3	D5S818
4	D16S539
5	D3S1358
6	D21S11
7	D18S51
8	D7S820

3.3.3. Fragmentanalyse

Prinzip:

Die amplifizierte DNA-Fragmente wurden durch eine Gelelektrophorese im elektrischen Feld nach ihrer Molekülgröße aufgetrennt. Größere DNA-Fragmente laufen langsamer durch das Gel als kürzere. Anhand eines mitlaufenden Größenstandards (Formamid-GS500LIZ) mit genau definierten Banden lässt sich die Länge der einzelnen DNA-Fragmente bestimmen.

Reaktionsansatz:

PCR-Produkt (1:100 verdünnt)	1,0 µl
Formamid-GS500LIZ (1:100 verdünnt)	12,0 µl
	13,0 µl

Durchführung:

Der oben aufgeführte Reaktionsansatz wurde für jede Probe auf eine 96er Sequenzierplatte pipettiert. Im Thermocycler erfolgte bei + 95°C für 2 min die Denaturierung der doppelsträngigen DNA in einen DNA-Einzelstrang. Im Anschluss an den Denaturierungsschritt wurde das Reaktionsgemisch 5 min auf Eiswasser abgekühlt. Die nun wieder als Einzelstrang vorliegenden DNA-Fragmente wurden in dem Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer (ABI 3730 Sequenzer) analysiert, wo sie im POP7-Gel anhand ihrer Fragmentgröße aufgetrennt wurden.

Auswertung:

Die Auswertung der Fragmentanalyse erfolgte mit der *GeneMapper*TM Software Version 3.0. Innerhalb jedes Zwillingspaares mussten mindestens sieben der acht Mikrosatellitenmarker auswertbar sein. Der Ausfall eines Markers wurde in dieser Arbeit akzeptiert, da in der Literatur die Wahrscheinlichkeit einer korrekt determinierter Zygotie bei der Auswertung von fünf Mikrosatellitenmarkern mit 99% angegeben wird (Becker *et al.* 1997). Erbrachten alle Mikrosatellitenmarker (mindestens sieben auswertbare Marker) identische Fragmentgrößen auf beiden Allelen, wurden die Zwillingspaare als MZ klassifiziert, beim Nachweis einer abweichenden Fragmentgröße nur eines Allels, wurde eine erneute Genotypisierung des betreffenden Zwillingspaares mit zusätzlichen Marker durchgeführt, um technische Fehler auszuschließen. Beim Nachweis abweichender Fragmentgröße mehrerer Allele (mindestens zwei abweichende Fragmentgrößen) innerhalb eines Zwillingspaares, wurde dieses als DZ klassifiziert.

3.4. Statistische Auswertung

Zur Beurteilung der Korrelation zwischen den Zwillingspaaren wurden Paarweise Konkordanzraten (pairwise concordance, PWC) und Probandenweise Konkordanzraten (casewise concordance, CWC) für MZ und DZ Zwillingspaare berechnet. Die PWC ist definiert als die Anzahl der konkordanten Zwillingspaare geteilt durch die Summe aus konkordanten und diskordanten Zwillingspaaren ($C/C+D$, mit C = Anzahl der konkordanten Zwillingspaare und D = Anzahl der diskordanten Zwillingspaare). Die CWC ist definiert als die Anzahl der konkordanten Zwillingsindividuen geteilt durch die Summe aus konkordanten Zwillingsindividuen und diskordanten Zwillingspaaren ($2C/2C+D$, mit C = Anzahl der konkordanten Zwillingspaare und D = Anzahl der diskordanten Zwillingspaare). Aus der PWC wurde die Erblichkeit mittels Strukturgleichungsmodell (structural equation modelling, ACE-Modell) unter Verwendung der Mx Software (Neale *et al.* 2002) abgeschätzt. Hierzu wurde die tetrachorischen Korrelation berechnet. Diese Berechnung beruht auf der Annahme, dass eine latente normalverteilte Risikovariablen mit einem Schwellenwert vorliegt, der zu der beobachteten Häufigkeit der Erkrankung führt. Die Korrelation dieser latenten Risikovariablen wird jeweils innerhalb der MZ und DZ Zwillinge ermittelt. Basierend auf der tetrachorischen Korrelation, wurde der relative Varianzanteil additiv-genetischer Einflüsse (A) sowie gemeinsamer (C) und getrennter (E) Umwelteinflüsse bestimmt. Im Rahmen dieses

Modells werden genetische und umweltbedingte Effekte gebildet, die als ungemessene (latente) Variable einen Beitrag zu einer möglichen multivariaten phänotypischen Differenz zwischen MZ und DZ Zwillingen leisten (Boomsma *et al.* 2002).

Die statistische Auswertung der vorliegenden Daten erfolgte mittels des SPSS Software Paketes 16.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) sowie mittels Microsoft Excel 2003. p-Werte < 0,05 wurden dabei als signifikant erachtet. Kategoriale Variablen wurden untereinander mittels des exakten Tests nach Fisher verglichen.

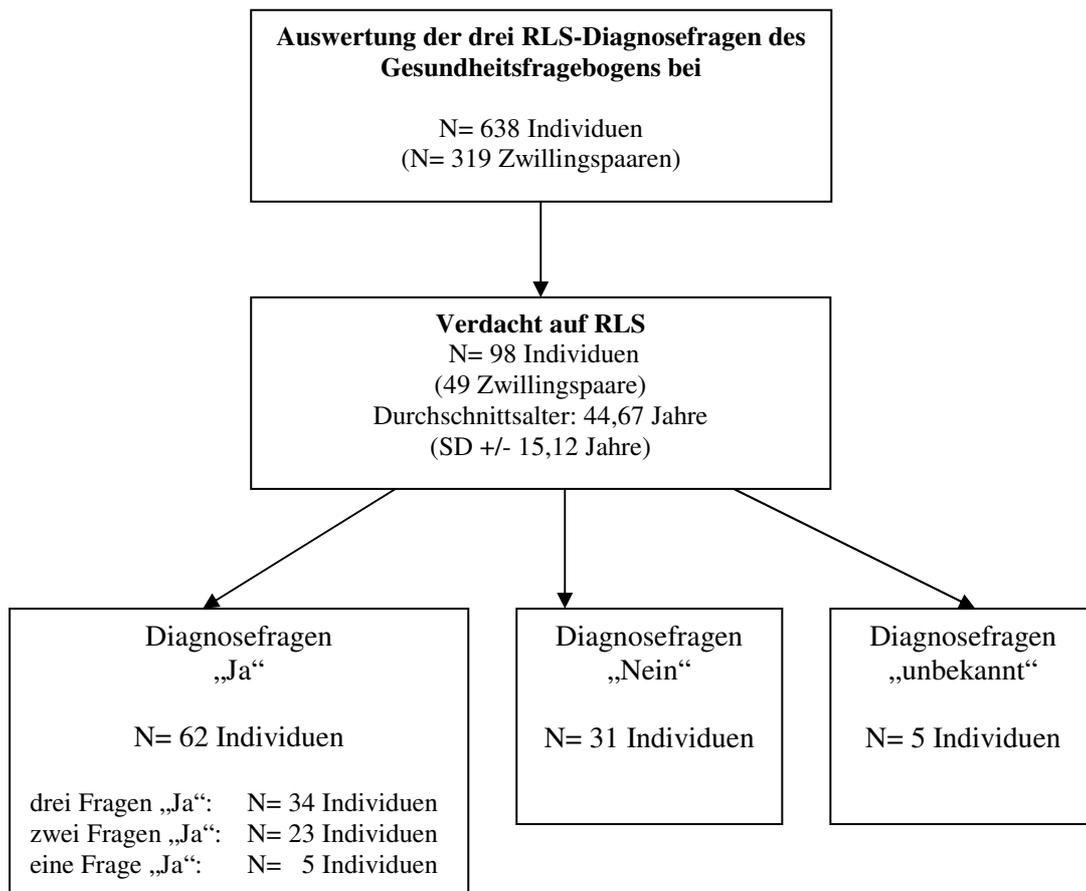
4. ERGEBNISSE

4.1. Probandenrekrutierung über das Zwillingsregister HealthTwiSt

Insgesamt wurde der Gesundheitsfragebogen, der die drei RLS-Diagnosefragen beinhaltet (Walters 1995; Berger *et al.* 2004), an 638 MZ und DZ Zwillingsindividuen aus 319 Zwillingspaaren aus dem Berliner Zwillingsregister von HealthTwiSt geschickt. Hieraus konnten insgesamt 49 MZ und DZ Zwillingspaare (N= 98 Zwillingsindividuen) für die anschließende Untersuchung ermittelt werden, innerhalb derer mindestens eine der drei RLS-Diagnosefragen positiv beantwortet wurde.

Die erste Frage (Frage 12.3: Missempfinden und Bewegungsdrang, siehe Anhang 1) wurde von 62 Individuen (9,7%) positiv beantwortet. Die zweite Frage (Frage 12.4: Symptome in Ruhe mit Besserung bei Bewegung, siehe Anhang 1) wurde von 50 Probanden (7,8%) positiv beantwortet. Die dritte Frage (Frage 12.5: Symptome abends oder nachts schlimmer, siehe Anhang 1) wurde von 42 Zwillingsindividuen (6,6%) positiv beantwortet. Innerhalb der 49 Zwillingspaare (N= 98 Individuen) haben insgesamt 34 Zwillingsindividuen (34,7%) alle drei Diagnosefragen mit „Ja“ beantwortet, 23 Zwillingsindividuen (23,5%) haben zwei Diagnosefragen mit „Ja“ beantwortet und fünf Zwillingsindividuen (5,1%) haben jeweils nur eine Diagnosefrage mit „Ja“ beantwortet (Abbildung 2).

Das Alter der 49 Zwillingspaare (N= 98 Zwillingsindividuen) lag zwischen 19 und 75 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 44,67 Jahre (SD +/- 15,12 Jahre). Der Anteil an Frauen überwog mit 74,5% (N= 73) gegenüber den männlichen Zwillingsindividuen mit 25,5% (N= 25).

Abb. 2: Auswertung der RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens

Insgesamt bestätigten 57 der 98 Zwillingsindividuen ihre Bereitschaft zur Teilnahme an der Studie zur weiteren Untersuchung der anhand der Diagnosefragen erhobenen möglichen RLS-Beschwerden. Hieraus lässt sich eine Rücklaufquote von 58,2% errechnen. Von den 41 Individuen (41,8%), die keine Rückantwort zurückschickten, waren neun Zwillingsindividuen (9,2%) unbekannt verzogen. Gründe für eine fehlende Rückantwort konnten bei den restlichen 32 Individuen nicht eruiert werden. Aus den 57 Zwillingsindividuen ließen sich 27 komplette Zwillingspaare bilden. Drei Zwillingsindividuen wurden aufgrund fehlender Zusage des jeweiligen Zwillingspartners aus der Studie ausgeschlossen. Einer dieser Zwillingspartner war verstorben, ein weiterer konnte aufgrund einer Alzheimer-Demenz nicht befragt werden und der dritte Zwillingspartner war auch nach mehrfachen Versuchen nicht zu kontaktieren. Ein weiteres Zwillingspaar konnte wegen Aufenthalt in Neuseeland und USA telefonisch nicht befragt werden und wurde ebenfalls aus der Studie ausgeschlossen. Insgesamt wurde bei 26 vollständigen Zwillingspaaren (53,1% der 49 Zwillingspaare, die mittels drei RLS-Diagnosefragen ermittelt wurden) ein telefonisches Interview zur anschließenden Diagnosesicherung eines RLS erfolgreich durchgeführt (Abbildung 3).

Insgesamt konnten im Rahmen des diagnostischen Telefoninterviews von den 26 untersuchten Zwillingspaaren 17 Zwillingspaare (N= 34 Zwillingseindividuen) mit einem RLS identifiziert werden. Das bedeutet, dass mindestens ein Zwillingseindividuum innerhalb eines Zwillingspaars einmal im Leben die Symptome eines RLS wahrgenommen hatte. Innerhalb dieser 17 Zwillingspaare (N= 34 Zwillingseindividuen) wurden 24 Zwillingseindividuen als „sicher RLS-positiv“, vier Zwillingseindividuen als „möglich RLS-positiv“ und weitere sechs Zwillingseindividuen als „RLS-negativ“ klassifiziert (Abbildung 3).

Abb. 3: Anschlussuntersuchung nach Auswertung der RLS-Diagnosekriterien des Gesundheitsfragebogens



Von den 24 Zwillingenindividuen, bei denen im diagnostischen Telefoninterview ein „sicheres RLS“ diagnostiziert wurde, haben elf Zwillingenindividuen (45,8%) alle drei RLS-Diagnosefragen im Gesundheitsfragebogens positiv beantwortet, fünf Zwillingenindividuen (20,8%) haben zwei RLS-Diagnosefragen positiv beantwortet und zwei Zwillingenindividuen (8,4%) haben eine RLS-Diagnosefragen positiv beantwortet. Weitere sechs Zwillingenindividuen (25,0%) wurden im Rahmen des diagnostischen Telefoninterviews als „sicher RLS-positiv“ diagnostiziert, sie beantworteten jedoch keine der drei RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens positiv (Tabelle 6).

Tab. 6: Vergleich Ergebnisse der RLS-Diagnosefragen und des diagnostischen Telefoninterviews

		Diagnostischen Telefoninterview ⁽²⁾		
		RLS sicher (n)	RLS möglich (n)	RLS negativ (n)
RLS- Diagnosefragen ⁽¹⁾ des Gesundheits- fragebogens	3 positive Diagnosefragen	11	1	1
	2 positive Diagnosefragen	5	3	1
	1 positive Diagnosefragen	2	-	-
	keine positive Diagnosefragen	6	-	4

(1) Rekrutierung der Zwillinge mittels drei RLS-Diagnosefragen aus dem Zwillingenregister von HealthTwiSt (Walters 1995; Berger *et al.* 2004)

(2) Telefonisches Interview mittels vier Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003)

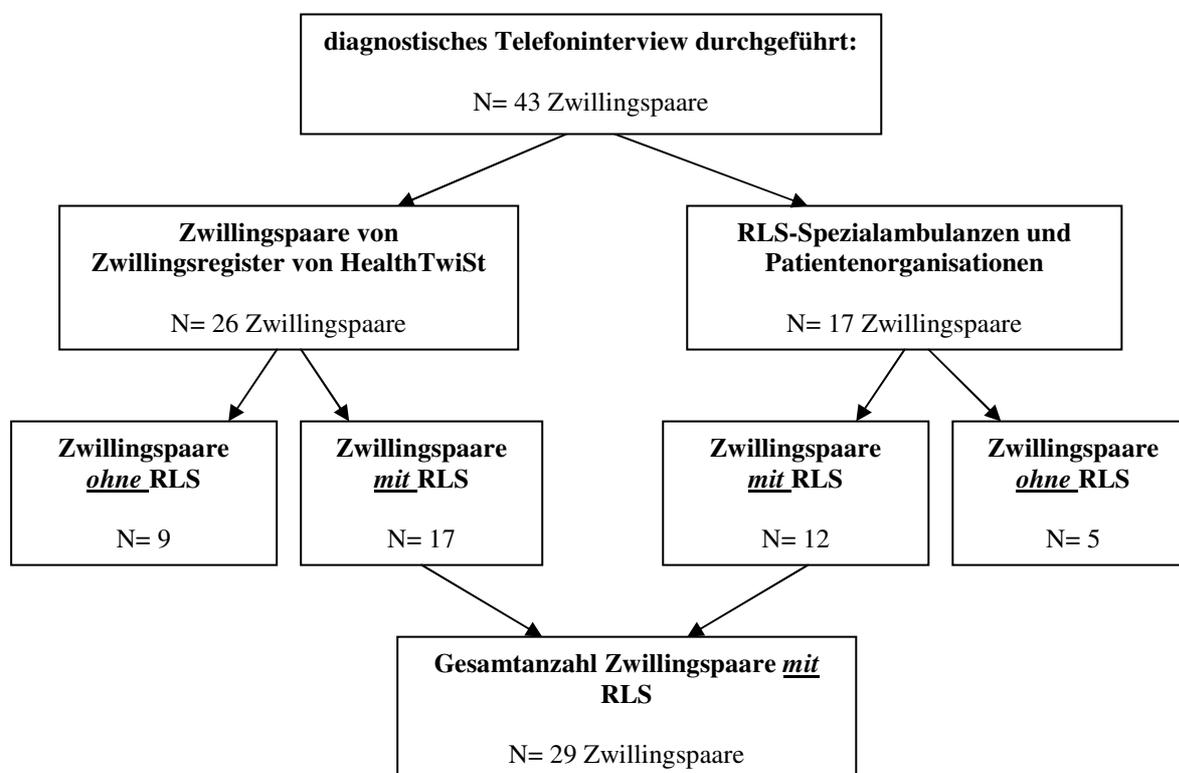
4.2. Probandenrekrutierung über Spezialambulanzen für Restless Legs Syndrom und die Deutsche Restless Legs Vereinigung, RLS e.V.

Weitere 17 Zwillingenpaare wurden über RLS-Spezialambulanzen und die Deutsche Restless Legs Vereinigung (RLS e.V.) rekrutiert und in einem standardisierten diagnostischen Telefoninterview auf das mögliche Vorhandensein eines RLS untersucht. Aus diesen 17 Zwillingenpaaren konnten zwölf weitere Zwillingenpaare mit einem RLS ermittelt werden. Bei fünf der untersuchten Zwillingenpaare konnte kein RLS diagnostiziert werden. Innerhalb der zwölf Zwillingenpaare mit RLS (N= 24 Zwillingenindividuen) wurden 20 Zwillingenindividuen (83,3%) als „sicher RLS-positiv“ und weitere vier Zwillingenindividuen (16,7%) als „RLS-negativ“ diagnostiziert.

4.3. Demographische Daten der Zwillinge

Aus den beiden Probandenkollektiven (Zwillingsregister und RLS-Population aus Spezialambulanzen und Patientenvereinigung) wurden insgesamt 29 Zwillingspaare im Rahmen des diagnostischen Telefoninterviews mit einem RLS diagnostiziert (17 Zwillingspaare über Zwillingsregister HealthTwist; 12 Zwillingspaare über die RLS-Spezialambulanzen und Patientenorganisationen). Abbildung 4 gibt eine zusammenfassende Übersicht über die Diagnosestellung eines RLS mittels diagnostischem Telefoninterview bei allen Zwillingspaaren aus den beiden Probandenkollektiven.

Abb. 4: Diagnosesicherung im diagnostischen Telefoninterview in der Übersicht



Innerhalb dieser diagnostizierten 29 Zwillingspaare (N= 58 Zwillingindividuen) haben 48 Zwillingindividuen Symptome eines RLS angegeben (Gesamtübersicht Tabelle 9). Davon wurden nach Auswertung der Diagnosekriterien 13 Zwillingindividuen (27,1%) mit der Diagnoseziffer „1“ bewertet, da vier Diagnosekriterien erfüllt waren und die Diagnose durch das Ansprechen auf eine dopaminerge Therapie unterstützt wurde. Ebenfalls alle vier Diagnosekriterien haben weitere 31 Zwillingindividuen (64,6%) erfüllt. Diese erhielten jedoch wegen unbekannter Wirkung einer dopaminergen Medikation die Diagnoseziffer „2“.

Somit konnten 44 Individuen (91,7%) als „sicher RLS-positiv“ (Diagnoseziffer „1“ oder „2“) klassifiziert werden. Weitere vier Individuen (8,3%) erhielten die Diagnoseziffer „3“ (drei Diagnosekriterien erfüllt) und galten somit als „wahrscheinlich RLS-positiv“ (Tabelle 7).

Tab. 7: Zwillingindividuen mit RLS, N= 48

„sicher RLS-positiv“ N= Zwillingindividuen		„wahrscheinlich RLS-positiv“ N= Zwillingindividuen
<i>Vier</i> Diagnosekriterien + Zusatzkriterium (DZ „1“)	<i>Vier</i> Diagnosekriterien (DZ „2“)	<i>Drei</i> Diagnosekriterien (DZ „3“)
13 (27,1%)	31 (64,6%)	4 (8,3%)
44 (91,7%)		4 (8,3%)
48 (100,0%)		

DZ: Diagnoseziffer (Definition siehe 3.2.1., Tabelle Nr. 4)

Das durchschnittliche Alter aller RLS-betroffenen Zwillinge beträgt bei Diagnoseerhebung 50,4 Jahre (SD +/-13,12 Jahre) mit einer Alterspanne von 21 bis 67 Jahren (Tabelle 8).

Tab. 8: Alters-, Geschlechtsverteilung der Zwillingindividuen mit RLS, N= 48

	N		%	
Geschlecht	Frauen	32	66,7	
	Männer	16	33,3	
Altersgruppe	21-40	12	25,0	
	41-50	10	20,8	
	51-60	13	27,1	
	61-70	13	27,1	
Alter bei Untersuchung	Mittel	SD	Min	Max
	50,4	13,3	21	67

Mittel: Durchschnittsalter in Jahren

SD: Standardabweichung in Jahren

Min/Max: Minimalalter/Maximalalter der Zwillinge in Jahren

Tab. 9: Gesamtübersicht ausgewertete Zwillinge, N= 58 (N= 48 RLS-positiv, N= 10 RLS-negativ)

Zwilling	Alter bei Daten-erhebung	Geschl	Zygotie	RLS	Alter bei Symptom-beginn	Familien-anamnese	Schwere-grad
002-A	37	♀	MZ	ja	18	positiv	12
002-B	37	♀	MZ	ja	22	positiv	14
003-A	55	♂	MZ	nein	/	positiv	/
003-B	55	♂	MZ	ja	54	positiv	27
004-A	55	♀	MZ	ja	50	positiv	22
004-B	55	♀	MZ	ja	25	positiv	20
005-A	42	♀	MZ	möglich	38	positiv	0
005-B	42	♀	MZ	nein	/	positiv	/
006-A	66	♂	MZ	ja	50	positiv	6
006-B	66	♂	MZ	ja	50	positiv	6
007-A	52	♀	DZ	ja	/	positiv	7
007-B	52	♂	DZ	ja	20	positiv	13
008-A	32	♂	MZ	ja	28	positiv	8
008-B	32	♂	MZ	möglich	20	positiv	8
009-A	56	♀	DZ	möglich	21	negativ	21
009-B	56	♀	DZ	nein	/	negativ	/
010-A	37	♂	MZ	ja	20	negativ	23
010-B	37	♂	MZ	nein	/	negativ	/
011-A	65	♀	DZ	ja	60	positiv	21
011-B	65	♀	DZ	ja	60	positiv	19
013-A	53	♀	MZ	ja	44	negativ	32
013-B	53	♀	MZ	nein	/	negativ	/
014-A	21	♀	DZ	ja	15	negativ	14
014-B	21	♂	DZ	nein	/	negativ	/
015-A	66	♀	DZ	ja	59	positiv	/
015-B	66	♀	DZ	ja	62	positiv	21
016-A	54	♀	MZ	nein	/	negativ	/
016-B	54	♀	MZ	ja	47	negativ	21
017-A	25	♀	MZ	ja	13	positiv	0
017-B	25	♀	MZ	ja	4	positiv	0
018-A	50	♀	MZ	ja	30	positiv	19
018-B	50	♀	MZ	ja	15	positiv	19
019-A	40	♀	MZ	ja	10	positiv	29
019-B	40	♀	MZ	ja	10	positiv	24
022-A	67	♂	MZ	ja	50	positiv	21
022-B	67	♂	MZ	ja	40	positiv	24

Fortsetzung Tab. 9:

Zwilling	Alter bei Daten- erhebung	Geschl	Zygotie	RLS	Alter bei Symptom- beginn	Familien- anamnese	Schwere- grad
023-A	65	♀	DZ	ja	20	positiv	18
023-B	65	♀	DZ	nein	/	positiv	/
024-A	66	♀	MZ	ja	35	positiv	8
024-B	67	♀	MZ	ja	57	positiv	11
025-A	42	♀	MZ	ja	35	positiv	9
025-B	42	♀	MZ	ja	36	positiv	7
026-A	27	♂	DZ	ja	18	positiv	14
026-B	27	♂	DZ	ja	13	positiv	10
027-A	54	♂	MZ	ja	40	positiv	8
027-B	54	♂	MZ	ja	30	positiv	0
028-A	52	♀	MZ	ja	44	positiv	10
028-B	52	♀	MZ	ja	49	positiv	0
029-A	58	♂	DZ	ja	25	positiv	0
029-B	58	♂	DZ	nein	/	positiv	/
030-A	60	♂	DZ	ja	50	positiv	/
030-B	60	♀	DZ	nein	/	positiv	/
031-A	65	♀	MZ	ja	45	positiv	34
031-B	65	♀	MZ	ja	45	positiv	33
032-A	46	♀	MZ	ja	20	positiv	10
032-B	46	♀	MZ	ja	29	positiv	2
033-A	52	♂	DZ	ja	32	positiv	38
033-B	52	♀	DZ	ja	40	positiv	28

MZ: monozygot; DZ: dizygot

♀: weiblich ♂: männlich

Geschl: Geschlecht

Schweregrad: Punktwert der Schweregrad-Skala

Familienanamnese:

positiv = bei mindestens einem weiteren Familienmitglied, inklusive dem Zwillingspartner, bestand ebenfalls eine diagnostizierte RLS-Symptomatik, oder konnte diese aufgrund geäußerter typischer Beschwerden ohne bisher gesicherte Diagnose angenommen werden.

negativ = es waren keine weiteren Familienmitglieder bekannt, bei denen ein RLS diagnostiziert wurde oder bei denen Symptome eines RLS ohne bisherige Diagnosestellung bestanden.

4.4. Zygotie und Geschlechtsverteilung innerhalb der Zwillingspaare

Die Genotypisierung zum Nachweis der Zygotie wurde bei 25 gleichgeschlechtlichen Zwillingspaaren durchgeführt. Gegengeschlechtliche Zwillingspaare wurden ohne genetischen Zygotienachweis der Gruppe der DZ Zwillingspaare zugeordnet. Nach der Auswertung mit Hilfe des Programms *GeneMapper Version 3.5*, konnten die diagnostizierten Zwillingspaare in 19 MZ und sechs DZ Zwillingspaare klassifiziert werden. Zusätzliche vier Zwillingspaare wurden aufgrund ihrer Gegengeschlechtlichkeit als DZ klassifiziert. Somit wurden in dieser Studie insgesamt 19 MZ und zehn DZ Zwillingspaare identifiziert. Bei zwei Zwillingspaaren (006-A/B; 018-A/B) konnte jeweils ein hochpolymorpher Mikrosatellitenmarker nicht ausgewertet werden, sieben Mikrosatellitenmarker zeigten identische Tetranukleotidrepeatfrequenzen. Diese Zwillingspaare wurden als MZ klassifiziert, da eine Treffsicherheit von mindestens 99% bereits bei der Auswertung von fünf Mikrosatellitenmarkern in einer früheren Studie gezeigt werden konnte (Becker *et al.* 1997). Die Tabelle 10 zeigt alle ausgewerteten 29 Zwillingspaare und die „Repeatfrequenzen“ der beiden Allele für die acht im Methodenteil unter Punkt 3.3.2 aufgeführten hochpolymorphen Mikrosatellitenmarker. In der Abbildung 5 und 6 ist die Auswertung für den Mikrosatellitenmarker *D8S1179* für jeweils ein MZ und DZ Zwillingspaar im Vergleich dargestellt.

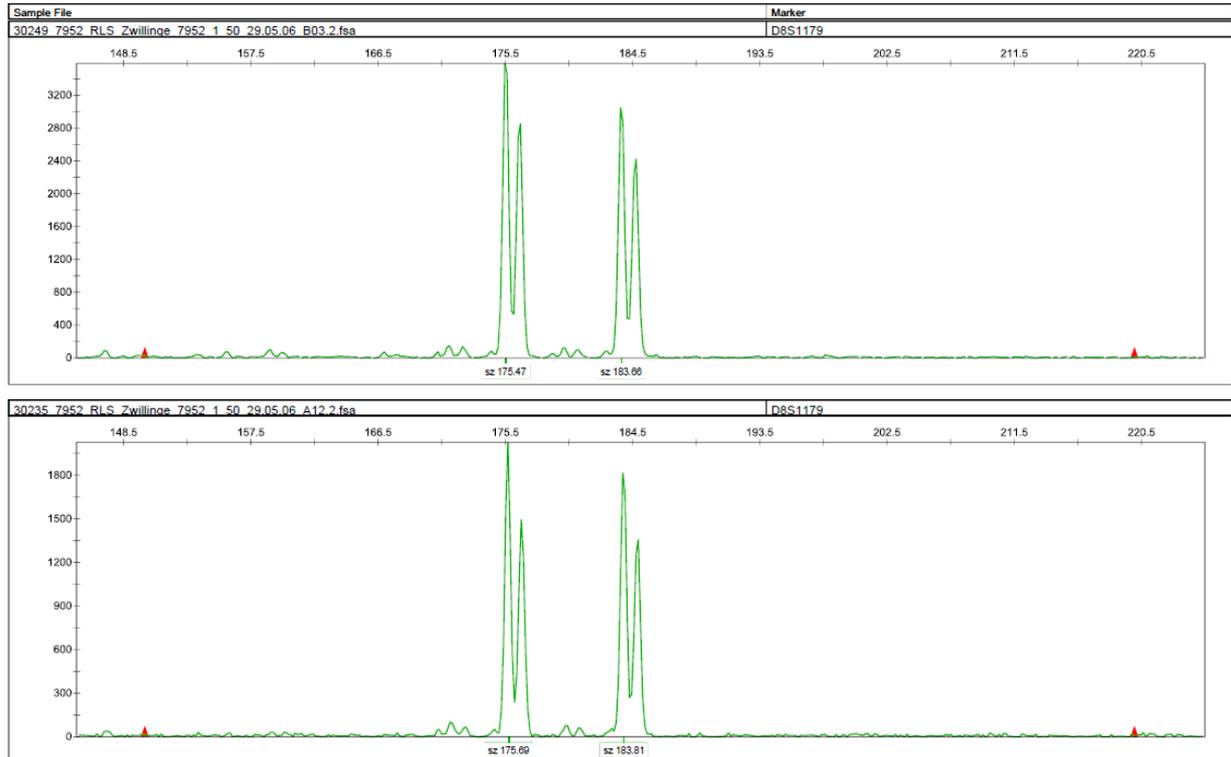
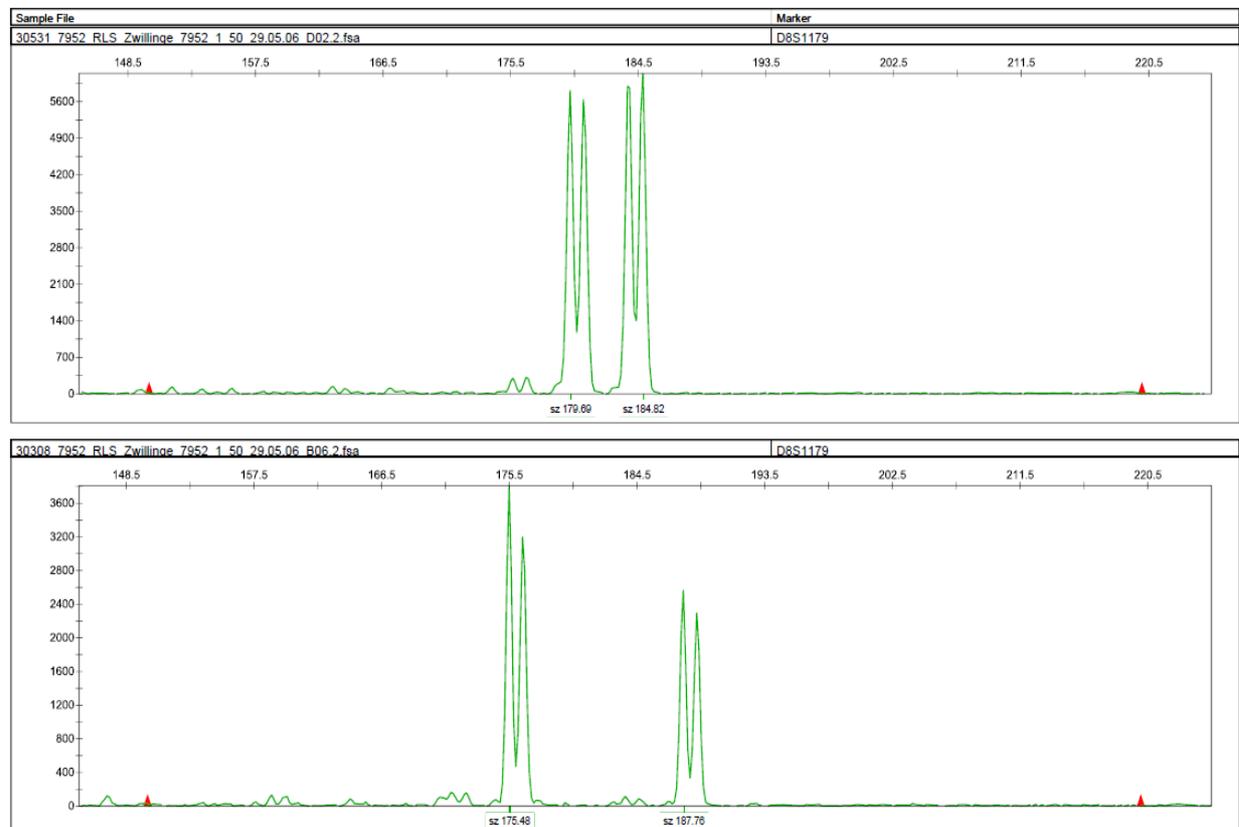
Tab. 10: Auswertung Fragmentanalyse, N= 25 gleichgeschlechtliche Zwillingspaare

ID	Mikrosatellitenmarker																Zygotie
	D8S1179		D13S317		D5S818		D16S539		D3S1358		D21S11		D18S51		D7S820		
002-A	176	184	186	190	148	152	148	160	129	137	228	238	290	294	210	214	MZ
002-B	176	184	186	190	148	152	148	160	129	137	228	238	290	294	210	214	MZ
003-A	184	184	174	178	152	152	160	160	129	133	214	230	294	298	206	218	MZ
003-B	184	184	174	178	152	152	160	160	129	133	214	230	294	298	206	218	MZ
004-A	180	184	190	198	148	152	148	160	133	137	214	218	290	294	218	218	MZ
004-B	180	184	190	198	148	152	148	160	133	137	214	218	290	294	218	218	MZ
005-A	172	180	174	186	144	156	156	164	121	129	230	238	278	294	222	222	MZ
005-B	172	180	174	186	144	156	156	164	121	129	230	238	278	294	222	222	MZ
006-A			186	194	152	152	156	160	121	137	226	234	278	298	210	210	MZ
006-B	168	168	186	194	152	152	156	160	121	137	226	234	278	298	210	210	MZ
007-A	Keine Fragmentanalyse, da Zwillingsspaar gegengeschlechtlich																DZ
007-B																	DZ
008-A	184	184	186	190	148	156	156	164	129	133	222	226	282	290	214	214	MZ
008-B	184	184	186	190	148	156	156	164	129	133	222	226	282	290	214	214	MZ
009-A	184	188	174	182	148	160	152	160	125	137	226	230	298	302	214	226	DZ
009-B	184	188	174	194	156	160	148	160	133	137	218	222	298	302	214	214	DZ
010-A	176	180	186	186	152	164	156	160	137	137	214	238	290	306	218	218	MZ
010-B	176	180	186	186	152	164	156	160	137	137	214	238	290	306	218	218	MZ
011-A	180	180	178	186	144	152	156	164	133	137	218	222	282	302	214	222	DZ
011-B	168	188	178	190	144	156	156	156	125	133	222	226	282	302	214	222	DZ
013-A	184	196	186	190	148	148	148	156	129	133	222	222	286	294	214	214	MZ
013-B	184	196	186	190	148	148	148	156	129	133	222	222	286	294	214	214	MZ
014-A	Keine Fragmentanalyse, da Zwillingsspaar gegengeschlechtlich																DZ
014-B																	DZ
015-A	180	184	190	190	148	152	156	160	125	137	222	222	290	294	218	218	DZ
015-B	176	188	174	190	148	152	156	160	125	133	218	238	282	286	210	218	DZ
016-A	180	184	186	186	148	152	156	156	125	125	222	222	290	302	214	218	MZ
016-B	180	184	186	186	148	152	156	156	125	125	222	222	290	302	214	218	MZ
017-A	180	180	186	186	148	156	160	164	129	133	218	238	286	290	218	218	MZ
017-B	180	180	186	186	148	156	160	164	129	133	218	238	286	290	218	218	MZ

Fortsetzung Tab. 10:

ID	Mikrosatellitenmarker																Zygotie
	D8S1179		D13S317		D5S818		D16S539		D3S1358		D21S11		D18S51		D7S820		
018-A	180	184	182	190	152	156	156	164	125	125	218	222	294	302	210	210	MZ
018-B	180	184	182	190	152	156	156	164	125	125	218	222			210	210	MZ
019-A	168	180	174	194	152	156	156	160	125	133	238	238	274	278	206	222	MZ
019-B	168	180	174	194	152	156	156	160	125	133	238	238	274	278	206	222	MZ
022-A	176	184	186	198	148	148	156	160	125	129	222	234	278	298	210	214	MZ
022-B	176	184	186	198	148	148	156	160	125	129	222	234	278	298	210	214	MZ
023-A	164	176	178	186	148	152	156	164	125	137	230	234	282	290	218	218	DZ
023-B	164	176	178	178	148	152	156	164	125	125	226	230	286	294	214	218	DZ
024-A	172	184	190	194	148	152	156	160	109	121	226	238	282	302	218	218	MZ
024-B	172	184	190	194	148	152	156	160	109	121	226	238	282	302	218	218	MZ
025-A	164	168	178	190	148	152	164	164	129	129	222	226	294	302	214	218	MZ
025-B	164	168	178	190	148	152	164	164	129	129	222	226	294	302	214	218	MZ
026-A	172	184	170	194	148	152	160	160	125	129	226	230	282	286	210	214	DZ
026-B	168	192	190	194	148	152	160	164	125	129	214	226	282	298	218	218	DZ
027-A	180	184	178	190	136	160	148	156	129	129	222	226	282	290	214	214	MZ
027-B	180	184	178	190	136	160	148	156	129	129	222	226	282	290	214	214	MZ
028-A	180	184	190	194	156	156	148	156	125	129	226	238	282	294	206	218	MZ
028-B	180	184	190	194	156	156	148	156	125	129	226	238	282	294	206	218	MZ
029-A	184	188	190	198	148	156	156	156	133	133	218	242	286	286	214	222	DZ
029-B	180	188	186	190	136	152	156	160	133	133	218	242	286	290	214	218	DZ
030-A	Keine Fragmentanalyse, da Zwillingsspaar gegengeschlechtlich																DZ
030-B																	DZ
031-A	180	180	178	186	152	152	156	156	125	129	230	234	278	302	214	218	MZ
031-B	180	180	178	186	152	152	156	156	125	129	230	234	278	302	214	218	MZ
032-A	176	180	186	190	140	148	160	172	125	137	230	238	278	294	210	210	MZ
032-B	176	180	186	190	140	148	160	172	125	137	230	238	278	294	210	210	MZ
033-A	Keine Fragmentanalyse, da Zwillingsspaar gegengeschlechtlich																DZ
033-B																	DZ

MZ: monozygot, DZ dizygot

Abb. 5: Fragmentanalyse Zwillingpaar 002-A/B, MZ, Marker *D8S1179***Abb. 6:** Fragmentanalyse Zwillingpaar 015-A/B, DZ, Marker *D8S1179*

Der Anteil der weiblichen Zwillingsindividuen war mit 65,5% (N= 38) größer als der Anteil der männlichen Zwillingsindividuen mit 34,5% (N= 20). Dreizehn MZ Zwillingspaare waren weiblich und sechs MZ Zwillingspaare männlich. Unter den DZ Zwillingspaaren waren vier Zwillingspaare gleichgeschlechtlich weiblich, zwei Zwillingspaare gleichgeschlechtlich männlich und weitere vier Zwillingspaare waren gegengeschlechtlich. Insgesamt waren 17 MZ und DZ Zwillingspaare (59,6%) gleichgeschlechtlich weiblich und acht MZ und DZ Zwillingspaare (27,6%) gleichgeschlechtlich männlich. Die gegengeschlechtlichen Zwillingspaare (N= 4 Zwillingspaare) nahmen an der Gesamtmenge einen Anteil von 13,8 % ein (Tabelle 11).

Tab. 11: Zygote und Geschlechtsverteilung Zwillingspaare mit RLS, n = 29

	N= Zwillingspaare		
	MZ	DZ	Gesamt (%)
Geschlecht			
weiblich/weiblich	13	4	17 (59,6)
männlich/männlich	6	2	8 (27,6)
weiblich/männlich	/	4	4 (13,8)
Gesamt	19	10	29 (100)

4.5. Berechnung der Konkordanzen

Insgesamt waren 14 MZ und fünf DZ Zwillingspaare konkordant und fünf MZ und fünf DZ Zwillingspaare diskordant für ein RLS. Es ergaben sich hieraus Paarweise Konkordanzen (pairwise concordance, PWC) von 73,68% für MZ und 50,0% für DZ Zwillingspaare und Probandenweise Konkordanzen (casewise concordance, CWC) von 84,84% für MZ und 66,67% für DZ Zwillingspaare. Das Relative Risiko (RR) für einen nicht betroffenen Zwilling an einem RLS zu erkranken, wenn sein Zwillingsgeschwister von dieser Erkrankung betroffen ist war bezogen auf die Paarweise Konkordanz (PWC) 1,47, bezogen auf die Probandenweise Konkordanz (CWC) 1,27. Bezogen auf die Paarweise Konkordanz (PWC) hat ein Zwilling ein mehr als 50% erhöhtes Risiko ein RLS zu entwickeln, wenn sein Zwillingspartner bereits unter der Erkrankung leidet. Tabelle 12 zeigt eine Übersicht über die Ergebnisse der Konkordanzberechnungen und der Berechnung des Relativen Risikos.

Tab.12: Konkordanzen (PWC, CWC), Relatives Risiko (RR)

	RLS „sicher + wahrscheinlich“	
	MZ	DZ
konkordant	14	5
diskordant	5	5
PWC	73,68%	50,00%
CWC	84,84%	66,67%
RR PWC	1,47	
RR CWC	1,27	

PWC: Paarweise Konkordanz (pairwise concordance)

CWC: Probandenweise Konkordanz (casewise concordance)

RR: Relatives Risiko (Risk Ratio)

4.6. Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell)

Für die Tetrachorische Korrelation errechneten sich Werte von 0,984 für MZ und 0,826 für DZ Zwillinge. Ausgehend von diesen Werten wurde das Strukturgleichungsmodell angewendet. Der relative Varianzanteil der additiv-genetische Faktoren (A) bei der Entstehung eines RLS beträgt 32%, der relative Varianzanteil der gemeinsamen Umwelteinflüsse (C) beträgt 67%. Der geringste relative Varianzanteil wurde mit 2% für den Einfluss getrennter Umweltfaktoren (E) im ACE-Modell errechnet (Tabelle 13 und Abbildung 7).

Tab. 13: Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell)

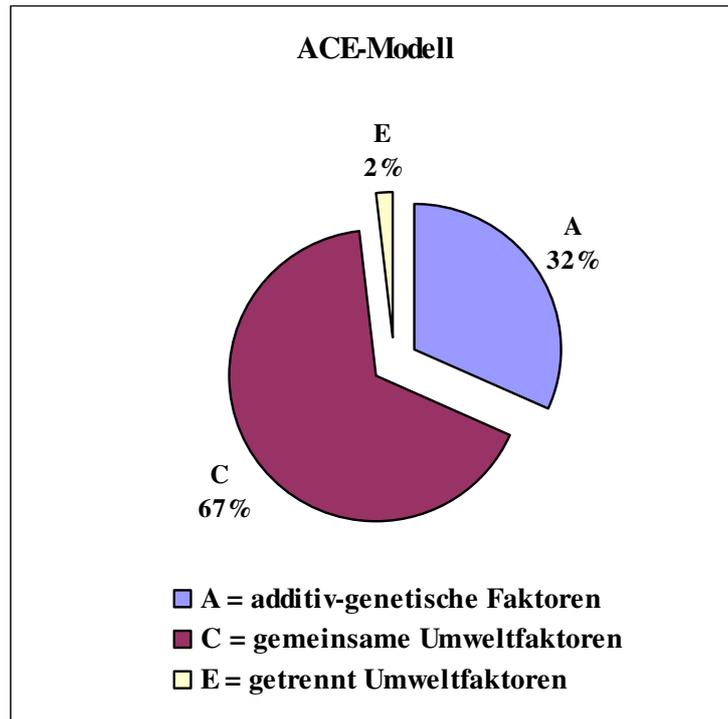
	RLS „sicher + wahrscheinlich“	
	MZ	DZ
$r_{tet}^{(1)}$	0,984	0,826
Varianzanteil A⁽²⁾	32%	
Varianzanteil C⁽³⁾	67%	
Varianzanteil E⁽⁴⁾	2%	

(1) Tetrachorische Korrelation

(2) additiv-genetische Faktoren

(3) gemeinsame Umweltfaktoren

(4) getrennte Umweltfaktoren

Abb. 7: Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell)

4.7. Familienanamnese

Von den insgesamt 48 Zwillingsindividuen mit RLS konnten 43 Individuen über eine positive Familienanamnese berichten (89,6%), d.h., dass bei mindestens einem weiteren Familienmitglied, inklusive dem Zwillingspartner, ebenfalls eine diagnostizierte RLS-Symptomatik besteht, oder diese aufgrund geäußerter Beschwerden angenommen werden könnte, jedoch bisher keine gesicherte Diagnose gestellt wurde. Bei fünf Zwillingsindividuen (10,4%) waren keine weiteren RLS-betroffenen Familienmitglieder bekannt.

Tab. 14: Familienanamnese Zwillingsindividuen mit RLS, N= 48

	N= Zwillingsindividuen (%)			
	Positive FA		Negative FA	
	MZ	DZ	MZ	DZ
konkordant	28 (50,3%)	10 (20,8%)	-	-
diskordant	2 (4,2%)	3 (6,3%)	3 (6,3%)	2 (4,2%)
gesamt	43 (89,6%)		5 (10,4%)	
Alter bei Symptombeginn	34,5 Jahre (SD +/- 16,1 Jahre)		29,4 Jahre (SD +/- 14,9 Jahre)	

FA: Familienanamnese

Bei allen 38 Zwillingen (79,2%) aus den 19 konkordanten Zwillingspaaren (14 MZ/5 DZ Zwillingspaare) konnte eine positive Familienanamnese bestätigt werden, da der jeweilige Zwillingspartner ebenfalls betroffen war. Innerhalb der zehn diskordanten Zwillingspaare berichteten zwei MZ und drei DZ Zwillingen mit RLS (10,4%) über weitere betroffene Familienmitglieder, drei MZ und zwei DZ diskordante Zwillingen (10,4%) mit RLS berichteten über eine negative Familienanamnese. Das durchschnittliche Alter bei Symptombeginn lag bei Zwillingen mit positiver Familienanamnese mit 34,5 Jahren (SD +/- 16,1 Jahre) über dem durchschnittlichen Alter bei Symptombeginn bei negativer Familienanamnese mit 29,4 Jahren (SD +/- 14,9 Jahre) (Tabelle 14).

4.8. Klinische Symptomatik des Restless Legs Syndrom bei den betroffenen Zwillingen

Alter bei Symptombeginn

Das Alter bei Symptombeginn betrug bei den Zwillingen mit RLS durchschnittlich 34,0 Jahre (SD +/- 15,9 Jahre), mit Altersangaben zwischen 4 und 62 Jahren (Tabelle 15).

Tab. 15: Alter bei Symptombeginn bei Zwillingen mit RLS, N= 47*

	N			
ausgewertet Zwillinge*	Zwillingen	47		
Alter bei Symptombeginn	Mean	SD	Min	Max
	34,0	15,9	4,0	62,0

*die Angabe zum Alter bei Symptombeginn von einem Zwillingenindividuum fehlte.

Bei neun (50,0%) der insgesamt 18 auswertbaren konkordanten Zwillingspaaren lag die Differenz des Alters bei Symptombeginn innerhalb des Zwillingspaars unter fünf Jahren, d.h. die Zwillingspartner berichteten über einen zeitnahen Beginn ihrer RLS-Beschwerden. Vier Zwillingspaare (22,2%) gaben identische Alter bei Symptombeginn an. Ein Drittel der Zwillingspaare (33,3%; N= 6) berichtet über eine Differenz zwischen fünf und zehn Jahren. Drei Zwillingspaare (16,7%) berichteten über eine Differenz von >10 Jahren (Tabelle 16).

Tab. 16: Differenz Alter bei Symptombeginn bei konkordanten Zwillingspaaren, N= 18

Differenz Alter bei Symptombeginn	Individuen gesamt	Zwillingspaare	
	N (%)	MZ	DZ
≤ 5 Jahre	18(50,0%)	6 (42,9%)	3 (75,0%)
> 5 ≤ 10 Jahre	12 (33,3%)	5 (35,7%)	1 (25,0%)
> 10 Jahre	6 (16,7%)	3 (21,4)	0 (0%)
Gesamt	36 (100%)	14* (100%)	4* (100%)

*es wurden nur insgesamt 18 konkordante Zwillingspaare (14 MZ/4 DZ) ausgewertet, da die Angaben eines Zwillingpartners innerhalb eines konkordanten Paares fehlten.

Frequenz des Restless Legs Syndroms

Insgesamt gaben 62,5% (N= 30) der 48 RLS-betroffenen Zwillingindividuen an, dass mehrmals in der Woche RLS-Beschwerden bei ihnen auftreten. 25% (N= 12 Zwillingindividuen) gaben an, nur einmal im Monat an RLS-Symptomen zu leiden. Einmalige oder sehr seltene (weniger als einmal pro Jahr) Symptome eines RLS hatten 8,3% (N= 4) der betroffenen Zwillingindividuen (Tabelle 17).

Tab. 17: Häufigkeit des Auftretens der RLS-Symptome bei Zwillingindividuen mit RLS, N= 48

Häufigkeit des Auftretens der RLS-Symptome	Zwillingindividuen	
	N	%
6-7 x wöchentlich	15	31,2
4-5 x wöchentlich	2	4,2
2-3 x wöchentlich	13	27,1
2-4 x monatlich	7	14,6
1 x monatlich	5	10,4
mind. 1 x jährlich	3	6,2
weniger als einmal jährlich	1	2,1
keine Angaben*	2	4,2
Gesamt	48	100,0

* die Angaben von zwei Zwillingindividuen mit RLS aus zwei unterschiedlichen Zwillingspaaren fehlten.

Von den 19 konkordanten Zwillingspaaren konnten nur 17 konkordante Paare bezüglich der Häufigkeit des Auftretens der RLS-Symptome ausgewertet werden, da bei zwei Zwillingspaaren die Angaben des Zwillingpartners fehlten (siehe Tabelle 17 und 18). Die konkordanten MZ und DZ Zwillingspaare unterschieden sich hinsichtlich der Frequenz des Auftretens der RLS-Symptome. Bei den MZ Zwillingspaaren waren 66,7% (N= 8 Zwillingspaare) diskordant in Bezug auf die Frequenz ihrer RLS-Beschwerden. Bei den DZ

Zwillingspaaren waren 80,0% (N= 4 Zwillingspaare) diskordant. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Frequenz der RLS-Symptome innerhalb konkordanter MZ Zwillingspaare und DZ Zwillingspaare (Fisher-Test, $p = 1,000$) (Tabelle 18).

Tab. 18: Konkordanzen in Bezug auf Frequenz der RLS-Symptome bei konkordanten Zwillingspaaren, N= 17 *

	N= Zwillingspaare (%)		p-Wert†
	MZ	DZ	
konkordant	4 (33,3%)	1 (20,0%)	1,000
diskordant	8 (66,7%)	4 (80,0%)	
Gesamt	12 (100,0%)	5 (100,0%)	

*zwei konkordante Zwillingspaare nicht auswertbar, da Angaben vom jeweiligem Zwillingspartner fehlten

†Fisher-Test, $p > 0,05$ nicht signifikant

Schweregrad des Restless Legs Syndroms

Der durchschnittliche Schweregrad aller betroffener Zwillinge, erhoben mittels der RLS-Schweregrad-Skala (Walters *et al.* 2003), betrug 15,1 (SD +/- 10,1), im Punktebereich von 1 bis maximal 37 Punktwerten. Es zeigte sich bei 19 Zwillingen (39,6%) eine milde Schwere ihrer Symptomatik mit einem Punktwert im Bereich von 1-10. Bei jeweils zwölf Zwillingsindividuen (25,0%) wurde ein mittelgradiges (Punktwert-Intervall 11-20) und schweres (Punktwert-Intervall 21-30) RLS ermittelt. Eine sehr schwere Ausprägung der Beschwerden (Punktwert-Intervall 31-40) konnte bei vier Zwillingsindividuen (8,3%) erhoben werden (Tabelle 19).

Tab. 19: Auswertung Punktwert-Intervall der RLS Schweregrad-Skala bei Zwillingsindividuen, N= 48

	N	%		
Gesamtzahl	48			
Punktwert-Intervall	1-10 mildes RLS	19	39,6	
	11-20 mittelgradiges RLS	12	25,0	
	21-30 schweres RLS	12	25,0	
	31-40 sehr schweres RLS	4	8,3	
	k.A.	1	2,1	
Punktwert	Mean	SD	Min	Max
	15,1	10,1	0	37

Beim Vergleich der Schweregrad-Skalen innerhalb der 18 konkordanten Zwillingspaaren (ein Zwillingpaar nicht auswertbar, wegen unvollständiger Daten) zeigte sich bei allen Zwillingspaaren (N= 18) ein maximaler Unterschied von 10 Punktwerten. Zwölf Zwillingspaare (66,7%) wurden in identische Schweregrad-Kategorien eingeteilt, da ihre Punktwerte innerhalb des gleichen Punktwerte-Intervalls (Tabelle 20) lagen. Sechs Zwillingspaare (33,3%) wurden in unterschiedliche Schweregrad-Kategorien eingeteilt, ihre Punktwerte lagen in verschiedenen Punktwerte-Intervallen.

Tab. 20: Kategorien der Schweregrad-Skala nach Punktwerten

Punktwert Intervall	Schweregrad-Kategorie
1-10	mildes RLS
11-20	mittelgradiges RLS
21-30	schweres RLS
31-40	sehr schweres RLS

Extremitätenlokalisierung des Restless Legs Syndroms

Darüber hinaus waren bei mehr als der Hälfte (52,1%; N= 25) der insgesamt 48 Zwillingindividuen mit RLS die RLS-Symptome auf den Unterschenkel und Kniebereich lokalisiert, ohne Beteiligung des Oberschenkels. Bei 29,2% (N= 14) Zwillingindividuen war der Unterschenkel und der Oberschenkel betroffen. Deutlich seltener waren ausschließlich der Fuß (2,1%; N= 1 Zwillingindividuum), der Oberschenkel (6,2%; N= 3 Zwillingindividuen) oder die oberen Extremitäten (2,1%; N= 1 Zwillingindividuum) betroffen (Tabelle 21).

Tab. 21: Extremitätenlokalisierung der RLS-Symptome bei Zwillingindividuen mit RLS, N= 48

Extremitäten - Lokalisation der RLS-Symptome	Zwillingindividuen	
	N	%
Fuß	1	2,1
US + Knie	25	52,1
OS	3	6,2
US + OS	14	29,2
UE + OE	1	2,1
keine Angaben	4	8,3
Gesamt	48	100,0

Der Vergleich der Extremitätenlokalisierung der RLS-Symptome innerhalb 17 konkordanter MZ und DZ Zwillingspaare (zwei konkordante Zwillingspaare wegen fehlender Angaben zur

Extremitätenlokalisierung nicht auswertbar) weist bei 69,2% der MZ Zwillingspaaren (N= 9) und bei 50,0% der DZ Zwillingspaaren (N= 2) konkordante Angaben zur Extremitätenlokalisierung nach. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Extremitätenlokalisierung innerhalb konkordanter MZ und DZ Zwillingspaare (Fisher-Test, $p = 0,294$) (Tabelle 22).

Tab. 22: Konkordanzen der Extremitätenlokalisierung der RLS-Symptome bei konkordanten Zwillingspaaren, N= 17 *

	Anzahl Zwillingspaare n (%)		p-Wert†
	MZ	DZ	
konkordant	9 (69,2%)	2 (50,0%)	0,294
diskordant	4 (30,8%)	2 (50,0%)	
Gesamt	13 (100,0%)	4(100,0%)	

* zwei konkordante Zwillingspaare nicht auswertbar, da keine Angaben von diesen Paaren gemacht wurden

†Fisher-Test, $p > 0,05$ nicht signifikant

4.9. Sekundäres Restless Legs Syndrom und assoziierte Erkrankungen

Bei der Anamnese der Zusatzerkrankungen wurde besonders Wert auf Erkrankungen gelegt, die ein sekundäres RLS hervorrufen können oder gehäuft mit einem RLS assoziiert sind. Bei keinem der Zwillingindividuen mit einem RLS wurde eine Dialysepflichtigkeit oder terminale Niereninsuffizienz (Urämie) anamnestiziert. Vier Zwillingindividuen mit RLS (8,3%) berichteten über einen Eisenmangel. Die Objektivierung eines latenten oder manifesten Eisenmangels war wegen fehlender aktueller Laborwerte für Eisen und/oder Ferritin jedoch nicht möglich. Drei Zwillingindividuen (6,3%), die an den Symptomen eines RLS litten, berichteten als Zusatzerkrankung über einen Diabetes mellitus. Der Zwillingspartner eines dieser drei Zwillingindividuen litt ebenfalls an einem Diabetes mellitus, verneinte jedoch jegliche RLS-Symptome und war somit konkordant für einen Diabetes mellitus und diskordant für RLS. Weitere vier Zwillingindividuen (8,3%) berichtet über eine Polyneuropathie, auch hier lag keine diagnostische Dokumentation verschiedener Untersuchungsverfahren zur Objektivierung des Befundes vor. Lediglich zwei Zwillingindividuen (4,2%) aus unterschiedlichen Zwillingspaaren gaben eine Verschlechterung der RLS-Symptomatik während der Schwangerschaft mit Besserung der Symptome nach der Geburt an.

5. DISKUSSION

5.1. Bisherige Zwillingsstudien bei Patienten mit Restless Legs Syndrom

Es wurden bisher drei Zwillingsuntersuchungen bei RLS-Patienten durchgeführt (Ondo *et al.* 2000; Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007). In der ersten Studie aus den USA wurden zwölf MZ Zwillingspaare mit einem RLS untersucht (Ondo *et al.* 2000). Drei MZ Zwillingspaare waren Patienten aus der eigenen Klinik des Autors, neun weitere MZ Zwillingspaare wurden über eine Zeitungsanzeige in der Patientenzeitschrift von „The Nightwalkers“, einer Patientenvereinigung für RLS-Betroffene in den USA, rekrutiert. Alle Probanden wurden zu den Symptomen eines RLS persönlich oder telefonisch befragt und die Diagnose anschließend durch Ausfüllen eines Fragebogens bestätigt. Zur Diagnosesicherung verwendete der Autor Diagnosefragen auf der Grundlage der vier essentiellen Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995). Zusätzlich beantworteten die Zwillinge einen detaillierten Fragebogen zum Schweregrad der Erkrankung und Fragen zur Ausprägung ihrer RLS-Symptomatik. Bei jedem Probanden wurde eine Laboruntersuchung der Ferritinwerte durchgeführt. Da nicht alle Ferritinproben in einem zentralen Labor analysiert werden konnten, wurde darauf geachtet, dass zumindest die Proben von beiden Zwillingspartnern eines Zwillingspaares im gleichen Labor analysiert wurden. Die Genotypisierung zur Beurteilung der Zygotie erfolgte nach DNA-Extraktion aus Blutlymphozyten mittels Fragmentanalyse von elf hochpolymorphen Mikrosatellitenmarkern (Ondo *et al.* 2000).

Desai *et al.* untersuchte 1937 MZ und DZ Zwillingspaare (N= 3874 Zwillingsindividuen) aus dem Britischen Zwillingsregister St. Thomas` UK Adult Twin Registry (Spector & MacGregor 2002) hinsichtlich eines Obstruktiven Schlafapnoe Syndroms (OSA) und eines RLS. Alle untersuchten Zwillingspaare waren gleichgeschlechtlich weiblich. Die Daten wurden mittels eines per Post versendeten Fragebogens erhoben. Dieser Fragebogen enthielt zwei Diagnosefragen zur Beurteilung eines RLS, die jedoch nicht die vier essentiellen Diagnosekriterien der IRLSSG beinhalteten (Walters 1995; Allen *et al.* 2003). Der Zygotienachweis erfolgte anhand eines standardisierten Zygotie-Fragebogens (Martin & Martin 1975), nur bei unklaren Fällen wurde eine Genotypisierung vorgenommen (Desai *et al.* 2004).

Eine dritte Zwillingsstudie, die den RLS-Phänotyp untersuchte, wurde in Kanada durchgeführt. Insgesamt wurden 272 MZ und DZ Zwillingspaare hinsichtlich eines möglichen RLS untersucht, die über das Kanadische Zwillingsregister der Universität von British

Columbia (UBC) sowie über Familienstudien an der Universität von Montreal rekrutiert wurden. Insgesamt wurde 600 Zwillingenindividuen aus dem kanadischen Zwillingenregister der UBC ein validierter Diagnosefragebogen zur Beurteilung eines RLS per Post zugesandt. Dieser Fragebogen wurde bereits in früheren Untersuchung von RLS-Familien verwendet (Montplaisir *et al.* 1997; Xiong *et al.* 2007). Weitere 86 Zwillingenindividuen aus der Studiendatenbank der Universität von Montreal wurden im Rahmen eines telefonischen Interviews mit Hilfe des gleichen RLS-Diagnosefragebogens untersucht. Die Bestimmung der Zygote erfolgte bei allen Zwillingen durch einen standardisierten Zygote-Fragebogen (Kasriel & Eaves 1976). Anschließend wurden die betroffenen Zwillingenindividuen in „definitiv betroffen“ (alle vier Diagnosekriterien erfüllt) und „wahrscheinlich betroffen“ (drei erfüllte Diagnosekriterien + \geq ein unterstützender Hinweis) eingeteilt. Als unterstützende Hinweise wurden eine positive Familienanamnese, eine dopaminerge Therapie, ein RLS-Schweregrad ≥ 7 , ein Auftreten der RLS-Symptomatik ≥ 1 Tag/Woche sowie eine Bestehen der RLS-Symptomatik seit ≥ 5 Jahren definiert (Xiong *et al.* 2007).

5.1.1. Probandenrekrutierung

5.1.1.1. Probandenkollektiv

Das Probandenkollektiv kann erhebliche Auswirkungen auf die Auswertung verschiedener Daten haben, die im Rahmen einer Studie erhoben werden. Es muss unterschieden werden, ob es sich um ein Kollektiv aus der Allgemeinbevölkerung handelt, von dem man eine Normalverteilung für das Auftreten bestimmter Erkrankungen oder Merkmale (Prävalenz) erwartet, oder ob die Probanden einem Kollektiv entstammen, welches sich durch erhöhte Prävalenzen bezüglich spezieller Eigenschaften (z.B. Erkrankungen) von der Allgemeinbevölkerung unterscheidet. Tabelle 23 zeigt eine Übersicht über die unterschiedlichen Probandenkollektive (Population und Nationalität) und die ermittelten Prävalenzen der bisher durchgeführten RLS-Zwillingenstudien (Tabelle 23).

Tab. 23: Zwillingpopulation und Prävalenzen bisheriger RLS-Zwillingstudien

Studie	Population	Nationalität	ausgewertete Individuen N		Individuen RLS positiv N	Prävalenz des RLS
Ondo et al. 2000	RLS-Klinikpopulation/ Patientenorganisation	USA	24		22 (m/w: 4/18)	N.A. ⁽⁶⁾
Desai et al. 2004	Zwillingregister ⁽¹⁾	Groß-Britannien	3874 ⁽⁵⁾		1416 (m/w: 0/1416)	36,6%
Xiong et al. 2007	Zwillingregister ⁽²⁾	Kanada	470	544	114 (m/w: 26/88)	29,9%
	Studienpopulation ⁽³⁾	Kanada	74			
aktuelle Arbeit	Zwillingregister ⁽⁴⁾	Deutschland	638		68 (m/w: 9/19)	10,7%
	RLS-Klinikpopulation/ Patientenorganisation	Deutschland	24		20 (m/w: 7/13)	N.A. ⁽⁶⁾

(1) St. Thomas`UK Adult Twin Registry, Twin Research Unit, St Thomas`Hospital, London (Spector & MacGregor 2002; Spector & Williams 2006)

(2) University of British Columbia Twin Projekt (Jang *et al.* 2002)

(3) Familienstudien der Université de Montreal

(4) Berliner Zwillingregister von HealthTwiSt (Busjahn 2006)

(5) nur weibliche Individuen

(6) nicht anwendbar, da bei RLS-Patientenpopulationen keine Normalverteilung gegeben ist

Zwillingregister können nicht uneingeschränkt als Repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung angesehen werden. Meist werden Zwillingregister durch die freiwillige Teilnahme von Zwillingspaaren unterschiedlicher geographischer Regionen aufgebaut, die über spezielle Medien (z.B. Rundfunk, Fernsehen und Zeitungen) rekrutiert werden. Es kann also davon ausgegangen werden, dass sich dieses Zwillingsskollektiv sowohl von der Gesamtwillingpopulation in einer Gesellschaft, als auch von der Allgemeinbevölkerung in bestimmten Eigenschaften unterscheidet. Möglicherweise sind in Zwillingregistern Individuen niedriger Schulbildung unterrepräsentiert, da allein der Zugang zu den oben genannten Medien, wie auch die Aufmerksamkeit und das Interesse für Zwillingregister sowie das Verständnis für die Vorteile dieser Institution für Wissenschaft und Forschung einen entsprechenden Intellekt voraussetzen müssen.

In der Zwillingstudie dieser Arbeit wurden die Zwillingspaare aus zwei unterschiedlichen Populationen rekrutiert. Das Berliner Zwillingregister von HealthTwiSt (Busjahn 2006) war dabei mit insgesamt 638 Zwillingindividuen aus 319 Zwillingspaaren das größte

Probandenkollektiv. Weitere Zwillingspaare konnten über RLS-Spezialambulanzen und die RLS-Patientenorganisation (Deutsche Restless Legs Vereinigung, RLS e.V.) in die Studie eingeschlossen werden. Diese Zwillingspaare repräsentieren, ähnlich wie das Gesamtkollektiv in der US-amerikanischen Zwillingstudie (Ondo *et al.* 2000) und ein Teilkollektiv in der Kanadischen Zwillingstudie (Xiong *et al.* 2007), eine definierte und möglicherweise sensibilisierte RLS-Patientengruppe.

Die beiden Probandenkollektive aus dieser Arbeit unterscheiden sich dahingehend, dass die Zwillinge aus dem Zwillingregister von HealthTwiSt keine Kenntnis über die RLS-Erkrankung hatten. Allen Zwillingspaaren, die über die RLS-Spezialambulanzen und die RLS-Patientenorganisation ermittelt wurden, waren die Symptome eines RLS dagegen bereits bekannt. Aufgrund der uneinheitlichen Probandenkollektive (Kollektiv aus dem Zwillingregister und RLS-Patientenkollektiv) war eine Abschätzung der Prävalenz eines RLS nur bei den Zwillingen aus dem Zwillingregister von HealthTwiSt, nach Auswertung der RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens, möglich. Ein Anteil von 9,7% der Zwillingen aus dem Zwillingregister konnte als „RLS-verdächtig“ (mindestens eine der drei RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens wurden mit „Ja“ beantwortet) klassifiziert werden und sollte im Rahmen des diagnostischen Telefoninterviews bezüglich eines RLS weiter untersucht werden. Zur Abschätzung der Prävalenz eines RLS wurden im Rahmen epidemiologischer Studien bisher nur Probanden als „RLS-positiv“ bewertet, wenn diese alle drei RLS-Diagnosefragen mit „Ja“ beantwortet haben (Rothdach *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004). In unserer Studie wurden alle drei RLS-Diagnosefragen von 5,3% der untersuchten Zwillingen mit „Ja“ beantwortet und fallen entsprechend früherer epidemiologischer Studien somit unter die Klassifizierung „RLS-positiv“. Dieser Wert kann zur Prävalenzschätzung herangezogen werden, da ein Vergleich mit Ergebnissen aus epidemiologischen Studien möglich ist. Der in dieser Studie ermittelte Anteil von Probanden, die als „RLS-positiv“ klassifiziert wurden, liegt mit 5,3% innerhalb des in der Literatur angegebenen Prävalenzbereiches von 5-10% in der Allgemeinbevölkerung (Phillips *et al.* 2000; Allen *et al.* 2005). Dies deutet einerseits darauf hin, dass Zwillingkollektive als Repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung verwendet werden können, auch wenn sie sich wie bereits zuvor diskutiert in einigen Aspekten von der Allgemeinbevölkerung unterscheiden (Siribaddana *et al.* 2008). Andererseits wird die Validität der verwendeten RLS-Diagnosefragen (Rothdach *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004) durch ihre Reproduzierbarkeit unterstützt. Für Probanden aus den RLS-Spezialambulanzen und der RLS-Patientenorganisation konnten keine Prävalenzberechnungen durchgeführt werden, da sie

bereits eine definierte RLS-Patientengruppe darstellen. Betroffene Zwillinge aus der RLS-Patientenpopulation neigen zudem möglicherweise zu einem schwerer ausgeprägten RLS, da sich diese Patienten primär mit der Frage nach einer möglichen Therapie in den Ambulanzen vorstellten. Es ist anzunehmen, dass innerhalb dieser Zwillingspaare die Konkordanzen höher liegen, als bei den Zwillingspaaren aus dem Zwillingregister. Durch die meist schwerere Ausprägung des RLS bei Zwillingen aus dem RLS-Patientenkollektiv könnte es zu einer Steigerung des Krankheitsbewusstseins für ein RLS innerhalb dieser Familien gekommen sein. Eine Beeinflussung des Zwillingspartners durch erhöhte Aufmerksamkeit für die RLS-Symptomatik bis hin zur unbewussten Nachahmung kann in dieser Arbeit daher nicht ausgeschlossen werden. Dies könnte eine Erklärung für die hohen Konkordanzen von 74% (PWC) bei MZ und 50% (PWC) bei DZ Zwillingspaaren sein.

In der US-amerikanischen Studie waren die eingeschlossenen Probanden entweder RLS-Patienten aus der Klinik oder sie meldeten sich auf eine Anzeige in einer Zeitschrift für RLS-Betroffene (Ondo *et al.* 2000). Es kann davon ausgegangen werden, dass bei mindestens einem Zwillingenindividuum eines jeden Zwillingspaars die Diagnose eines RLS bekannt war und die Ausprägung der Symptome bereits Krankheitswert angenommen hatten, da sonst weder eine klinische Behandlung noch eine Kontaktaufnahme des jeweiligen Zwillingen zu einer Patientenvereinigung für RLS-Betroffene stattgefunden hätte. Auch in dieser Studie könnte die Kenntnis der Diagnose eines RLS in der Familie durch erhöhte Krankheitsaufmerksamkeit zu unbewusstem Nachahmen der RLS-Symptomatik innerhalb der Zwillingspaare geführt haben, was auch hier die stärkere Korrelation bezüglich der RLS-Symptomatik bei den untersuchten MZ Zwillingspaaren und somit die erhöhten Konkordanzen bewirkt haben könnte.

Das Probandenkollektiv aus der Britischen Zwillingenstudie entstammt dagegen einem Zwillingenregister (St. Thomas` UK Adult Twin Registry), welches durch die freiwillige Teilnahme von Zwillingen seit 1993 aufgebaut wurde und überwiegend Daten zu gleichgeschlechtlich weiblichen MZ und DZ Zwillingspaaren beinhaltet (Spector & MacGregor 2002; Spector & Williams 2006). Eine erhöhte Aufmerksamkeit bezüglich eines RLS ist bei den Zwillingenindividuen im Gegensatz zur RLS-Klinikpopulation unwahrscheinlich. Ob die Ergebnisse zu den Prävalenzberechnungen in der Britischen Zwillingenstudie auf die Allgemeinbevölkerung übertragen werden können, bleibt umstritten. Wie bereits weiter oben erwähnt, zeigen sich Unterschiede zwischen Zwillingenkollektiven und der Allgemeinbevölkerung, wodurch eine uneingeschränkte Gleichstellung beider Kollektive nicht möglich ist (Siribaddana *et al.* 2008). Im Gegensatz hierzu kam eine Studie zu dem

Schluss, dass die Ergebnisse aus der Britischen Zwillingsstudie repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung angesehen werden (Andrew *et al.* 2001). Die Autoren vergleichen die Prävalenzen bezüglich bestimmter Erkrankungen und Eigenschaften (z.B. Osteoporose, Arthritis, Hypertonie, Anamnese einer Hysterektomie oder Ovariectomie, Größe, Gewicht, Menopausenstatus) sowie bezüglich Charakteristika des Lebensstils (z.B. Alkohol- und Tabakkonsum) bei den weiblichen Zwillingen aus dem Britischen Zwillingsregister (St. Thomas` UK Adult Twin Registry) mit den Prävalenzen bei Nicht-Zwillingen aus der Allgemeinbevölkerung. Lediglich bezüglich des Gewichtes fand sich ein Unterschied zwischen Zwillingen und Nicht-Zwillingen, wobei MZ Zwillinge leichter waren und im Gewicht weniger voneinander abwichen, als DZ Zwillinge und Nicht-Zwillinge (Andrew *et al.* 2001). Ausschlaggebender für die eingeschränkte Aussagekraft der Prävalenzberechnung in der Britischen Zwillingsstudie ist der Aspekt, dass in dieser Studie nur weibliche Zwillinge eingeschlossen wurden. Innerhalb der weiblichen Bevölkerung wurden mit altersabhängigen Prävalenzen von bis 15% in zahlreichen Studien etwa doppelt so hohe Werte, wie in der männlichen Bevölkerung dokumentiert (Rothdach *et al.* 2000; Ulfberg *et al.* 2001a; Ulfberg *et al.* 2001b; Berger *et al.* 2004; Allen *et al.* 2005). Dieser Umstand könnte mitunter einen geringen Beitrag zu der hohen RLS-Prävalenz von 36,6% in der Britischen Zwillingsstudie leisten, kann jedoch aufgrund der großen Differenz zwischen beiden Prävalenz-Werten nicht als einzige Ursache hierfür angenommen werden. Diese Prävalenz der Britischen Studie liegt etwa dreifach höher im Vergleich zu anderen epidemiologischen Studien in der kaukasischen Bevölkerung, die eine altersabhängige RLS-Prävalenz von bis zu 10% in der Allgemeinbevölkerung > 65 Jahren ermittelt haben (Rothdach *et al.* 2000; Phillips *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004; Hogg *et al.* 2005). Erhöhte Prävalenzen könnten zu höheren Konkordanzen bezüglich eines RLS bei den MZ und DZ Zwillingspaaren führen. Nach Angaben des Autors war die Erkrankung den Probanden in der Britischen RLS-Zwillingsstudie nicht bekannt, wodurch eine Sensibilisierung für ein RLS bei den Zwillingen unwahrscheinlich erscheint (Desai *et al.* 2004).

In der Kanadischen Zwillingsstudie wurde der größte Anteil der eingeschlossenen Zwillingspaare (N= 272) über das kanadische Zwillingsregister der UBC rekrutiert. Dieses begann 1991 mit der Rekrutierung von Zwillingspaaren aus der Allgemeinbevölkerung über Medienaufrufe (Rundfunk, Fernsehen, Zeitungen) (Jang *et al.* 2002). Weitere 37 Zwillingspaare wurden in einer Patientendatenbank ausfindig gemacht, die an der Universität von Montreal für Familienstudien angelegt wurden. Die erhöhte RLS-Prävalenz von 20,9%, die in der Kanadischen Zwillingsstudie ermittelt wurde, könnte auf das Probandenkollektiv

aus den Familienstudien der Universität von Montreal, die möglicherweise eine RLS-Patientenpopulation definiert, zurückzuführen sein. Angaben, ob es sich bei den Familien aus der Datenbank der Universität von Montreal nur um RLS-Familien handelt, wurden nicht gemacht (Xiong *et al.* 2007). Die deutlich niedrigeren Konkordanzen (MZ: CWC 53,5%, PWC 36,6%; DZ: CWC 15,4%, PWC 8,3%) sowohl bei MZ als auch bei DZ Zwillingen lassen sich hierdurch jedoch nicht erklären (Xiong *et al.* 2007).

Darüber hinaus spielt die Größe der Probandenpopulationen bei der Auswertung der erhobenen Daten und der Beurteilung der Ergebnisse eine entscheidende Rolle. Je größer eine Probandenanzahl ist, desto genauer können Prävalenzen und Konkordanzen bei Zwillingen berechnet und klinische Charakteristika in einem repräsentativen Populationsquerschnitt beurteilt werden. Sowohl in der US-amerikanischen, als auch in der Kanadischen Zwillingsstudie finden sich kleine Studienpopulationen (Ondo *et al.* 2000; Xiong *et al.* 2007). In der Britischen Zwillingsstudie wurde eine weitaus größere Anzahl von Zwillingspaaren rekrutiert, eingeschränkt durch den Aspekt, dass es sich nur um weibliche Probanden handelt sowie durch die ungenaue Diagnosestellung mit nur zwei Diagnosefragen (Desai *et al.* 2004).

5.1.1.2. Diagnose des Restless Legs Syndroms

Die Anwendung der Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003) ermöglicht einen Vergleich der Ergebnisse aus unterschiedlichen RLS-Studien. In den bisher publizierten RLS-Zwillingsstudien wurden unterschiedliche Methoden zur Diagnosestellung eines RLS verwendet (Tabelle 24).

Die Identifizierung „möglicher RLS-betroffener“ Zwillingspaare aus dem Berliner Zwillingsregister von HealthTwiSt erfolgte in dieser Arbeit mittels drei RLS-Diagnosefragen (Rothdach *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004) auf der Grundlage der Diagnosekriterien der IRLSSG von 1995 (Walters 1995). Gesichert wurde die Diagnose eines RLS bei allen Zwillingen im Rahmen eines diagnostischen Telefoninterviews durch einen speziell geschulten Untersucher mittels der überarbeiteten Diagnosekriterien der IRLSSG von 2003 (Walters 1995; Allen *et al.* 2003).

In der Kanadischen Zwillingsstudie wurde die RLS-Diagnose ebenfalls mittels der überarbeiteten Diagnosekriterien der IRLSSG gestellt (Walters 1995; Allen *et al.* 2003), jedoch im Rahmen eines Selbstbeurteilungsfragebogens (Xiong *et al.* 2007). Unklare RLS-Diagnosen ließen sich in der Studie aus dieser Arbeit durch gezielte Fragen innerhalb des diagnostischen Telefoninterviews möglicherweise besser beurteilen, als in der Kanadischen

Zwillingsstudie. Leider war es auch uns in den meisten Fällen nicht möglich, die Patienten persönlich zu untersuchen, die Diagnose durch den Nachweis von PLM in der Polysomnographie zu objektivieren oder Differentialdiagnosen mittels elektrophysiologischer Untersuchungen abzuklären. Fehldiagnosen sind daher auch in dieser Arbeit letztendlich nicht auszuschließen. Mögliche Auswirkungen auf Konkordanzen und Prävalenzen mit Verschiebungen zu sowohl falsch erhöhten, als auch zu falsch erniedrigten Werten könnten die Folge sein.

Tab. 24: Diagnosemethoden bisheriger RLS-Zwillingsstudien im Vergleich

Studie	Probandenkollektiv	Zwillingspaare (N)	Diagnose	
			Methode	Kriterien
Ondo et al. 2000	RLS-Klinikpopulation/ Patientenorganisation	12 ⁽⁹⁾	Erste Diagnose: telefonisches/persönliches Interview Diagnosebestätigung: Selbstbeurteilungfragebogen ⁽⁵⁾	IRLSSG von 1995 ⁽⁶⁾ IRLSSG von 1995 ⁽⁶⁾
Desai et al. 2004	Zwillingsregister ⁽¹⁾	1937 ⁽¹⁰⁾	Selbstbeurteilungfragebogen ⁽⁵⁾	keine ⁽⁷⁾
Xiong et al. 2007	Zwillingsregister ⁽²⁾	235	Selbstbeurteilungfragebogen ⁽⁵⁾	IRLSSG von 2003 ⁽⁸⁾
	Studienpopulation ⁽³⁾	37	telefonisches Interview	IRLSSG von 2003 ⁽⁸⁾
aktuelle Arbeit	Zwillingsregister ⁽⁴⁾	319	Erste Diagnose: Selbstbeurteilungfragebogen ⁽⁵⁾	IRLSSG von 1995 ⁽⁶⁾
		26	Diagnosebestätigung: telefonisches Interview	IRLSSG von 2003 ⁽⁸⁾
	RLS-Klinikpopulation/ Patientenorganisation	17	telefonisches/persönliches Interview	IRLSSG von 2003 ⁽⁸⁾

(1) Britisches Zwillingsregister der Twin Research Unit des St Thomas Hospital in London

(2) Kanadisches Zwillingsregister der University of British Columbia (UBC) (Jang *et al.* 2002)

(3) Probandenpopulation aus Familienstudien der Université de Montreal in Quebec

(4) Berliner Zwillingsregister von HealthTwiSt GmbH (Busjahn 2006)

(5) Fragebogen vom Probanden eigenständig ausgefüllt, kein telefonischen/persönlichen Interview

(6) Diagnosekriterien der IRLSSG von 1995 (Walters 1995)

(7) zwei Fragen, unabhängig von Diagnosekriterien der IRLSSG von 1995/2003 (Walters 1995; Allen *et al.* 2003)

Frage 1: „.....,ever experience an urge to move (their) legs during the night to relieve tingling or numbness.“

Frage 2: „.....,ever find (their) legs jerk involuntarily during the night.“

(8) Diagnosekriterien der IRLSSG von 2003 (Allen *et al.* 2003)

(9) nur MZ Zwillingspaare

(10) nur gleichgeschlechtlich weibliche MZ und DZ Zwillingspaare

In der US-amerikanischen Zwillingsstudie wurde die Diagnose anhand der Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995) im Rahmen eines standardisierten telefonischen oder persönlichen Interviews durch einen speziell geschulten Untersucher gestellt (Ondo *et al.* 2000).

In der Britischen Zwillingsstudie war die Diagnosestellung dagegen unsicher. Lediglich zwei RLS-Diagnosefragen, die unabhängig von den Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003) erstellt wurden, wurden zur Diagnosestellung herangezogen (Tabelle 25).

Tab. 25: RLS-Diagnosefragen aus der Studie von Desai *et al.* (Desai *et al.* 2004)

Diagnosefragen (Desai <i>et al.</i> 2004)
Frage A: „haben Sie jemals in der Nacht einen Drang die Beine zu bewegen verspürt, um dadurch ein Kribbeln und Taubheitsgefühl zu bessern?“
Frage B: „haben Sie jemals ein unwillkürliches Zucken Ihrer Beine in der Nacht erlebt?“

Im Gegensatz zu den essentiellen Diagnosekriterien der IRLSSG wurden in den beiden RLS-Diagnosefragen der Britischen Studie die klinischen Charakteristika eines RLS nicht konkret abgefragt. Der abgefragte „Bewegungsdrang“ aus Frage A der Britischen Studie bezieht sich nur auf die Nacht, und nicht auf Ruhesituationen und/oder sonstige Phasen motorischer Inaktivität, wie es im zweiten Diagnosekriterium der IRLSSG formuliert ist (Walters 1995; Allen *et al.* 2003). Auch der charakteristische Rhythmus der RLS-Beschwerden, mit einer Verschlechterung der Symptome abends und nachts (*viertes* Diagnosekriterium der IRLSSG), wird in den beiden RLS-Diagnosefragen (Tabelle 25) nicht herausgearbeitet. Der Bewegungsdrang, der oftmals mit Missempfindungen einhergeht, wird in Frage A als „Kribbeln oder Taubheitsgefühl“ abgefragt. Oftmals können die Sensationen im Rahmen eines RLS von betroffenen Patienten nur als „unangenehm“ und „unbeschreibbar“ definiert werden. Die genaue Vorgabe der Empfindung in Frage A schränkt somit die Antwortfreiheit von RLS-Patienten deutlich ein. Das *erste* Diagnosekriterium der IRLSSG bezieht sich dagegen auf eine allgemeine Formulierung der Sensationen und bezeichnet diese als „unbehagliche und unangenehme Empfindungen“, was die Empfindungen von RLS-Patienten meist deutlicher trifft und somit einfacher bestätigt werden kann. Darüber hinaus wird das Phänomen der Besserung der Symptome durch motorische Aktivität und/oder Bewegung der betroffenen Extremität, zumindest für den Zeitraum der Aktivität (*drittes* Diagnosekriterium der IRLSSG), in den beiden RLS-Diagnosefragen der Britischen Studie ebenfalls nicht konkretisiert. Die Frage B (Tabelle 25) der Britischen Zwillingsstudie bezieht sich auf das

Auftreten „Periodischer Beinbewegungen während des Schlafes“ (PLMS), die bei etwa 85% der RLS-Patienten auftreten (Montplaisir *et al.* 1997). Die IRLSSG klassifiziert „Periodische Beinbewegungen im Wachen und/oder im Schlaf“ (PLMW/PLMS) als „Supportives Diagnosekriterium“, das die Diagnose eines RLS weiter unterstützen soll (Allen *et al.* 2003). Das Auftreten von PLMs soll von den Zwillingen der Britischen Studie subjektiv beurteilt werden, wobei der Begriff PLM's nur ungenau als „Zucken der Beine in der Nacht“ umschrieben wurde. Eine objektive Beurteilung (z.B. Polysomnographie) wurde nicht durchgeführt, Differentialdiagnosen (z.B. Einschlafmyoklonien) konnten somit nicht abgegrenzt werden. Diese RLS-Diagnosefragen waren Teil eines Selbstbeurteilungsbogens. Eine Befragung im Rahmen eines persönlichen oder telefonischen Interviews wurde nicht durchgeführt. Unklare Fälle konnten hierdurch nicht individuell beurteilt werden (Desai *et al.* 2004). Hier kann es zu erheblichen Differenzen gekommen sein, die durch telefonischen oder persönlichen Kontakt mit einem geschulten Untersucher möglicherweise hätten abgeschwächt werden können. Im Rahmen dieser unvollständigen und unsicheren Diagnostik in der Britischen Studie muss davon ausgegangen werden, dass „falsch-positive“ RLS-Patienten eingeschlossen wurden. Ebenso ist es möglich, dass einige RLS-Patienten nicht identifiziert werden konnten und somit als „falsch-negative“ RLS-Patienten ausgewertet wurden. Die hohe Prävalenz des RLS mit 36,6% deutet auf den Einschluss „falsch positiver“ RLS-Patienten hin. Diese haben zwar die ungenauen RLS-Diagnosefragen positiv beantwortet, die Ursache hierfür war aber nicht ein zugrunde liegendes RLS, sondern möglicherweise eine andere Erkrankung. Die Fehlermöglichkeit des Einschlusses „falsch negativer“ Probanden scheint eine untergeordnete Rolle zu spielen. Dieser Fehler würde zu „falsch niedrigen“ Prävalenzen führen und steht somit im Widerspruch zu der hohen Prävalenz von 36,6% in der Britischen Zwillingsstudie (Desai *et al.* 2004). Auswirkungen auf die Konkordanzen bei MZ und DZ Zwillingspaaren sind durch die Fehler bei der Diagnosestellung in beide Richtungen zu erwarten. Die niedrigen Konkordanzen bei MZ (CWC 61,0%, PWC 43,6%) und DZ Zwillingspaaren (CWC 45,0%, PWC 29,0%) deutet ebenfalls auf den Einschluss „falsch positiver“ RLS-Patienten hin (Desai *et al.* 2004). „Falsch positive“ RLS-Diagnosen aufgrund von anderen Erkrankungen wie z.B. eine periphere Arterielle Verschlusskrankheit oder eine Polyneuropathie, sind meist nicht in beiden Zwillingsindividuen zu finden, wodurch eine Korrelation bezüglich dieser durch andere Erkrankungen „imitierten“ RLS-Symptome innerhalb eines solchen Zwillingspaares nicht zu erwarten ist. Die Kanadische Zwillingsstudie verwendete zur RLS-Diagnosesicherung die überarbeiteten Diagnosekriterien der IRLSSG von 2003 (Allen *et al.* 2003). Eine

Vergleichbarkeit mit der US-Amerikanischen Zwillingsstudie und der Studie aus dieser Arbeit ist auf der Ebene der Diagnosestellung daher möglich. Die Konkordanzen bei den MZ (CWC 53,7%, PWC 36,6%) und DZ (CWC 15,4%, PWC 8,3%) Zwillingspaaren weichen deutlich von der hohen PWC von 83,3% aus der US-Amerikanischen Zwillingsstudie ab (Ondo *et al.* 2000), liegen sogar noch niedriger, als die Konkordanzen aus der Britischen Zwillingsstudie (MZ: CWC 61,0%, PWC 43,6% und DZ: CWC 45,0%, PWC 29,0%) (Desai *et al.* 2004). Eine Erklärung für die niedrigen Konkordanzergebnissen ist möglicherweise nicht bei den verwendeten Diagnosekriterien zu suchen. Vielmehr könnte der zusätzliche Einschluss von Patienten mit sekundärem RLS diese Berechnungen in gegebenem Ausmaß beeinflusst haben, was unter Punkt 5.1.5 nochmals genauer diskutiert wird (Xiong *et al.* 2007). Dagegen ermittelt die Kanadische Zwillingsstudie eine relativ hohe Prävalenz von 20,9% (definitives + mögliches RLS). Auch hier könnte der Einschluss sekundärer RLS-Patienten einen erheblichen Beitrag zu einer „falsch hohen“ Prävalenz beigetragen haben.

5.1.2. *Zygotie der Zwillinge*

Eine korrekt determinierte Zygotie ist die Voraussetzung zur Anwendung der klassischen Zwillingsmethode, mit der Berechnung der Konkordanzen bei MZ und DZ Zwillingspaaren sowie dem aussagefähigen Konkordanzvergleich zwischen beiden Zygotiegruppen. Hierfür stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Zum einen besteht die Möglichkeit, die Zygotie mittels validierter und standardisierter Fragebögen zu bestimmen. Im Rahmen verschiedener Studien wurden Zygotiefragebögen erstellt, die von erwachsenen oder jugendlichen bzw. kindlichen Zwillingen selbst und/oder von deren Eltern ausgefüllt werden mussten. Die Ergebnisse wurden anschließend anhand biologischer Verfahren (Blutgruppenserologie, Genotypisierung von Mikrosatellitenmarkern) geprüft. Die Genauigkeit der Methode der Zygotiefragebögen schwankte in den Studien zwischen 91-98% (Cederlof *et al.* 1961; Nichols & Bilbro, Jr. 1966; Torgersen 1979; Jackson *et al.* 2001; Christiansen *et al.* 2003). Die Fragebögen beinhalten Fragen zur „allgemeinen Ähnlichkeit“ der Zwillinge zueinander, zur Verwechslungshäufigkeit durch dritte Personen sowie zu bestimmten physischen Merkmalen (Haarfarbe, Haarform, Augenfarbe usw.).

Eine weitere Methode ist die Genotypisierung von Mikrosatellitenmarkern. Bei der Verwendung von fünf Mikrosatellitenmarkern liegt die Wahrscheinlichkeit für eine korrekt bestimmte Zygotie bei 99% (Becker *et al.* 1997). In den bisher veröffentlichten RLS-Zwillingsstudien wurden beide Verfahren zur Zygotiebestimmung verwendet (Tabelle 26).

Für die Zygotiebestimmung in dieser Arbeit wurden acht hochpolymorphe Tetranukleotid-Mikrosatellitenmarker genotypisiert. Mikrosatelliten sind kurze, sich oft wiederholende DNA-Sequenzen an bestimmten Loci innerhalb des Genoms, mit einer Basenlänge von zwei bis vier Nukleotiden, die keine kodierenden Informationen enthalten. Die Wahrscheinlichkeit der korrekt determinierten Zygotie liegt in dieser Arbeit bei der Auswertbarkeit von mindestens sieben der acht verwendeten Mikrosatellitenmarkern bei >99% (Becker *et al.* 1997).

Tab. 26: Methode der Zygotiebestimmung der bisherigen RLS-Zwillingsstudien im Vergleich

Studie	Methode	Zygotiebestimmung	
		klassifizierte Zwillingspaare	
		MZ	DZ
Ondo <i>et al.</i> 2000	Genotypisierung ⁽¹⁾	N= 12	-
Desai <i>et al.</i> 2004	Stufe 1: ⁽²⁾ Zygotiefragebogen Stufe 2: ⁽³⁾ Genotypisierung	N= 933	N= 1004
Xiong <i>et al.</i> 2007	Zygotiefragebogen ⁽⁴⁾	N= 140	N= 132
aktuelle Arbeit	Genotypisierung ⁽⁵⁾	N= 19	⁽⁶⁾ N= 10

(1) Genotypisierung von elf hochpolymorphen Mikrosatellitenmarkern

(2) Stufe 1: alle Zwillinge erhielten einen standardisierten Zygotiefragebogen (Martin & Martin 1975).

(3) Stufe 2: Zwillinge mit unklarem Zygotiefragebogen wurden durch Genotypisierung klassifiziert. Anzahl der genotypisierten Zwillingspaare und Methode unbekannt.

(4) standardisierter Zygotiefragebogen (Kasriel & Eaves 1976)

(5) Genotypisierung von acht hochpolymorphen Mikrosatellitenmarkern bei allen gleichgeschlechtlichen Zwillingspaaren.

(6) Vier Paare gegengeschlechtlich, keine Genotypisierung

Die US-amerikanische Zwillingsstudie bestätigte bei allen zwölf Zwillingspaaren die „Monozygotie“ durch Genotypisierung von elf hochpolymorphen Mikrosatellitenmarkern, ausgewählt aus dem CHLC Human Screening Set/Version 8 (Research Genetics) (Ondo *et al.* 2000). In der Britischen Studie wurde die Zygotie mittels eines standardisierten Fragebogens bestimmt. Detaillierte Angaben über die darin enthaltenen Fragen werden nicht gemacht, es findet sich jedoch der Verweis auf den ersten Teil einer Zwillingsstudie von 1975 zur Beurteilung der Vererbung schulischer Fähigkeiten innerhalb einer Auswahl von Zwillingen (Martin & Martin 1975). Diese Studie beurteilt die Zygotie durch Fragen zur Ähnlichkeit des äußeren Erscheinungsbilds sowie zur Verwechslungshäufigkeit durch externe Personen, die auf der Grundlage bereits getesteter Zygotie-Fragebögen, für die eine > 90% Korrektheit nachgewiesen werden konnte (Cederlof *et al.* 1961; Nichols & Bilbro, Jr. 1966), basieren. Darüber hinaus wurden Personen des täglichen Umfelds der Zwillinge (z.B. Schuldirektoren)

von den Autoren zu ihrer Meinung in Bezug auf die Zygote der jeweiligen Zwillingspaare befragt. Diese Ergebnisse wurden bei 47 Zwillingspaaren durch serologische Verfahren kontrolliert und in 100% bestätigt (Martin & Martin 1975). Unklare Ergebnisse aus den Fragebögen wurden in der Britischen Zwillingsstudie durch zusätzliche Genotypisierung geklärt (Desai *et al.* 2004). Die Kanadische RLS-Zwillingsstudie verwendet zur Zygotebestimmung ebenfalls einen standardisierten Fragebogen. Auch hier finden sich keine konkreten Angaben zu den verwendeten Fragen. Die Autoren verweisen hier auf eine Studie, bei der die Zygotebeurteilung aus einem Fragebogen mit zwei Fragen zur äußerlichen Ähnlichkeit und zur Verwechslungshäufigkeit von 178 Zwillingspaaren mit den Analyseergebnissen der jeweiligen Blutgruppenmarker verglichen wurden und nur bei sieben Zwillingspaaren von 178 abwich (Kasriel & Eaves 1976; Xiong *et al.* 2007). Eine Fremdbeurteilung der Zygote durch die Eltern und/oder dritte Personen aus dem Umfeld der Zwillinge sowie eine zusätzliche Beurteilung anhand von Fotos beider Zwillingspartner, wurde nach Angaben der Autoren weder in der Britischen, noch in der Kanadischen Zwillingsstudie durchgeführt (Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007).

Da die Wahrscheinlichkeit korrekter Zygote-Bestimmung nach Literaturangaben bei Verwendung von Mikrosatellitenmarkern größer ist (Becker *et al.* 1997), als bei der Verwendung von Zygote-Fragebögen (Cederlof *et al.* 1961; Nichols & Bilbro, Jr. 1966; Torgersen 1979; Christiansen *et al.* 2003), wird das Ausmaß falscher Zygote-Bestimmung in dieser Arbeit geringer eingeschätzt, als in der Britischen und Kanadischen RLS-Zwillingsstudie (Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007).

Sowohl in der Britischen, als auch in der Kanadischen RLS-Zwillingsstudie ist aufgrund der Zygotebeurteilung mittels Fragebögen eine ungenaue Einteilung in MZ oder DZ Zwillingspaare nicht auszuschließen. DZ Zwillingspaare, die äußerlich sehr ähnlich sind, könnten nach Ausfüllen der Fragebögen fälschlicherweise als MZ klassifiziert worden sein. Da in der Regel die Konkordanzen bei DZ Zwillingspaaren in Bezug auf ein RLS niedriger sind, würden diese „falsch MZ“ klassifizierten Zwillingspaare die Konkordanzen der MZ Zwillinge erniedrigen. In der Britischen und Kanadischen Zwillingsstudie finden wir im Vergleich zur US-Amerikanischen Studie und zu der aktuellen Arbeit deutlich erniedrigte Konkordanzen für MZ Zwillinge. Die Möglichkeit der falschen Klassifikation DZ Zwillingspaare als MZ bei der Verwendung von Zygote-Fragebögen, könnte eine Erklärung für die in der Britischen und Kanadischen Zwillingsstudie niedrigen Konkordanzergebnissen sein. Der umgekehrte Fall, d.h. die falsche Einteilung MZ Zwillingspaare in die Gruppe der

DZ Zwillinge, erklärt die niedrigen Konkordanzen aus den Studien jedoch nicht, da diese Fehlermöglichkeit eher zu „falsch hohen“ Konkordanzen bei den DZ Zwillingen führen würde (Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007).

5.1.3. Konkordanzen, deren beeinflussende Faktoren und Strukturgleichungsmodell (ACE-Modell)

Ekbom berichtete über ein MZ Zwillingspaar unter seinen Patienten, das in Bezug auf die Symptome eines RLS konkordant war (Ekbom 1960). Beide Zwillingspartner verspürten nur eine leichte RLS-Symptomatik, während ihre Mutter an einem schweren RLS litt. Unklar bleibt jedoch, ob es sich wirklich um ein MZ Zwillingspaar handelte, da über einen Zygogenachweis mittels Fragebogen oder Blutgruppenserologie keine Angaben gemacht werden. Eine Genotypisierung der Zwillinge auf molekulargenetischer Basis kann in Anbetracht des Publikationsdatums (1960) als ausgeschlossen angesehen werden (Ekbom 1960). Eine familiäre Häufung des RLS ist seit dieser Beschreibung in zahlreichen Studien mit unterschiedlichen Prävalenzen von 30% bis zu 92% gezeigt worden (Ekbom 1960; Ondo & Jankovic 1996; Walters *et al.* 1996; Montplaisir *et al.* 1997; Winkelmann *et al.* 2000; Allen *et al.* 2003). Die Konkordanzraten aus den bisher veröffentlichten Zwillingstudien konnten die Vermutung eines starken genetischen Einflusses auf die Entstehung eines RLS und die dadurch bedingte familiäre Aggregation ebenfalls erhärten (Ondo *et al.* 2000; Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007). Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass im Rahmen dieser Studien unterschiedliche Konkordanzraten berechnet wurden, entweder die „Paarweise Konkordanz“ (PWC) oder die „Probandenweise Konkordanz“ (CWC).

In der vorliegenden Arbeit wurde eine PWC von 73,7% für MZ und 50% für DZ Zwillingspaare und eine CWC von 84,8% für MZ und 66,7% für DZ Zwillingspaare errechnet.

In der US-amerikanischen Zwillingstudie wurde die Paarweise Konkordanz (PWC) berechnet (Ondo *et al.* 2000), die Britische und Kanadische Zwillingstudie berechneten dagegen die Probandenweise Konkordanz (CWC) (Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007). In dieser Arbeit wurden beide Konkordanzen (PWC und CWC) berechnet. Um die bisherigen RLS-Zwillingstudien besser vergleichen zu können, wurden die Konkordanzen aus diesen Studien rechnerisch angepasst. Von den zwölf MZ Zwillingspaaren aus der US-amerikanischen Zwillingstudie waren zehn Zwillingspaare konkordant für ein RLS, woraus eine PWC von 83,3% errechnet wurde, was einer CWC von 90,1% entspricht (Ondo *et al.*

2000). Die Britische Zwillingstudie diagnostizierte 493 betroffene MZ und 549 betroffene DZ Zwillingspaare und bestimmte eine CWC von 61% für MZ und 45% für DZ Zwillingspaare. Diese Ergebnisse entsprechen einer PWC von 43,6% für MZ und 29,0% für DZ Zwillingspaare (Desai *et al.* 2004). In der Kanadischen Zwillingstudie wurden 30 betroffene MZ Zwillingspaare diagnostiziert, von denen elf Zwillingspaare konkordant und 19 Zwillingspaare diskordant waren. Hieraus wurde eine CWC von 53,7% berechnet ($\hat{=}$ PWC 36,6%). Zusätzlich wurden 24 DZ Zwillingspaare diagnostiziert (zwei Zwillingspaare konkordant; 22 Zwillingspaare diskordant), woraus eine CWC von 15,4% ($\hat{=}$ PWC 8,3%) berechnet wurde (Xiong *et al.* 2007). Tabelle 27 zeigt die abweichenden Ergebnisse der Konkordanzberechnung (PWC und CWC) aus den bisher veröffentlichten RLS-Zwillingstudien und der aktuellen Studie (Ondo *et al.* 2000; Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007) (Tabelle 27).

Tab. 27: Konkordanzen (PWC, CWC) der bisherigen RLS-Zwillingstudien im Vergleich

Studie	Anzahl Zwillingspaare (n)		PWC (%)		CWC (%)	
	MZ	DZ	MZ	DZ	MZ	DZ
Ondo <i>et al.</i> 2000	12	/	83,3%	/	90,1%	/
Desai <i>et al.</i> 2004	493	549	43,6%	29,0%	61,0%	45,0%
Xiong <i>et al.</i> 2007	30	24	36,6%	8,3%	53,7%	15,4%
aktuelle Studie dieser Arbeit	19	10	73,7%	50,0%	84,8%	66,7%

PWC: „Pairwise Concordance“ = Paarweise Konkordanz:

Anzahl der konkordanten Zwillingspaare (C) geteilt durch die Summe aus konkordanten und diskordanten Zwillingspaaren (C+D), wobei C die Anzahl der konkordanten Zwillingspaare und D die Anzahl der diskordanten Zwillingspaare sind ($C/C+D$)

CWC: „Casewise Concordanz“ = Probandweise Konkordanz:

Anzahl der konkordanten Zwillingindividuen (2C) geteilt durch die Summe aus konkordanten Zwillingindividuen und diskordanten Zwillingspaare (2C + D), wobei C die Anzahl der konkordanten Zwillingspaare und D die Anzahl der diskordanten Zwillingspaare sind ($2C/2C+D$)

Die in der US-amerikanischen Zwillingstudie ermittelte hohe Konkordanz für MZ Zwillingspaare (Ondo *et al.* 2000) konnte in der Britischen und Kanadischen Zwillingstudie nicht verifiziert werden (Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007). In den vorherigen Abschnitten wurden bereits einigen Faktoren diskutiert, die die Konkordanzen in den jeweiligen Zwillingstudien beeinflussen und zu den divergenten Ergebnissen führen. Die PWC von 73,7% für MZ Zwillingspaare aus der Studie dieser Arbeit nähern sich am ehesten der Konkordanz, die in der US-amerikanischen Zwillingstudie ermittelt wurde (PWC 83,3%)

(Ondo *et al.* 2000). Ein Vergleich der US-amerikanischen und dieser Studie ist nur bei den MZ Zwillingspaaren möglich, da in der US-amerikanischen Zwillingsstudie keine DZ Zwillingspaare rekrutiert wurden (Ondo *et al.* 2000). Auch in dieser Arbeit kann die hohe Konkordanz bei MZ und DZ Zwillingen dadurch bedingt sein, dass ein Teil der Zwillingspaare über eine RLS-Klinikpopulation rekrutiert wurde. Es kann davon ausgegangen werden, dass diese Zwillinge, wie möglicherweise auch in der US-amerikanischen Studie, an einer schwereren Form des RLS litten, wodurch eine gesteigerte Aufmerksamkeit für die RLS-Symptomatik innerhalb des Zwillingspaares nicht auszuschließen ist. Dieser Effekt, der zu höheren Konkordanzen führen könnte, wird bei unserer Untersuchung dadurch etwas abgeschwächt, dass der größere Anteil der Zwillingspaare aus einem Zwillingsregister, mit einer RLS-Prävalenz ähnlich der Allgemeinbevölkerung, rekrutiert wurde. Zudem waren alle Zwillingspaare aus dem Zwillingsregister in Unkenntnis über den Hintergrund der Untersuchung, oftmals war der Begriff „RLS“ innerhalb dieses Kollektivs sogar unbekannt. Die intensive Diagnosesicherung durch einen geschulten Interviewer hat möglicherweise verhindert, Probanden mit leichter RLS-Symptomatik ohne Krankheitscharakter als „falsch-negativ“ zu diagnostizieren. Somit konnte die Fehlerwahrscheinlichkeit einer „falsch-niedrig“ ermittelten Konkordanz aufgrund nicht identifizierter RLS-Fälle limitiert werden. Diese Vermutung kann dadurch bekräftigt werden, dass oftmals zu Beginn des Interviews ein RLS verneint wurde, bei genauer Befragung der Probanden aber eine RLS-Diagnose bestätigt werden konnte. Im Laufe ihres Lebens hatten diese Probanden zwar bereits die Erfahrung einer RLS-Symptomatik in speziellen Situationen gemacht, aufgrund der geringen Frequenz und Ausprägung wurde den Symptomen jedoch kein Krankheitswert zugeordnet.

Die geringe Probandenzahl stellt in dieser Arbeit einen limitierenden Faktor dar, wodurch die Aussagekraft der Konkordanzen zusätzlich eingeschränkt wird. Eine Interpretation der ermittelten Konkordanzen sollte daher möglichst unter kritischer Betrachtung aller Einflussfaktoren durchgeführt werden, um falsche Schlussfolgerungen zu vermeiden.

Die Berechnung der Heritabilität bzw. Erblichkeit des RLS im Rahmen von Zwillingsstudien erfordert den Vergleich der Konkordanzen zwischen MZ und DZ Zwillingspaaren. Da MZ Zwillinge genetisch identisch sind, DZ Zwillinge dagegen wie normale Geschwister nur die Hälfte ihrer genetischen Information teilen, wird vermutet, dass die Konkordanz in Bezug auf die Ausprägung eines RLS bei MZ Zwillingspaaren höher ist, als bei DZ Zwillingspaaren. Die Heritabilität ist als der Anteil der genetischen Varianz an der phänotypischen Varianz definiert (Murken *et al.* 2006). Sie lässt sich in diesem Fall als die Differenz der

Konkordanzen von MZ und DZ Zwillingen multipliziert mit dem Faktor 2 errechnen (Tabelle 29) (Boomsma *et al.* 2002). Zusätzlich können auch Umweltfaktoren die Ausprägung eines RLS beeinflussen und tragen somit ebenfalls zur phänotypischen Varianz bei. Der Anteil der Varianz, die durch die Faktoren aus der Umwelt bedingt ist, errechnet sich als Differenz aus der Gesamtkonkordanz minus dem Anteil, der durch die Heritabilität bedingt ist, jeweils für MZ und DZ Zwillinge (Tabelle 28) (Boomsma *et al.* 2002).

Tab. 28: Formelübersicht h^2 , (V_E)

Variable	Formel
Heritabilität h^2	$h^2 = 2 * (r_{MZ} - r_{DZ})$
Umweltbedingter Varianzanteil (V_E)	MZ: $r_{MZ} - h^2$ DZ: $r_{DZ} - h^2 / 2$

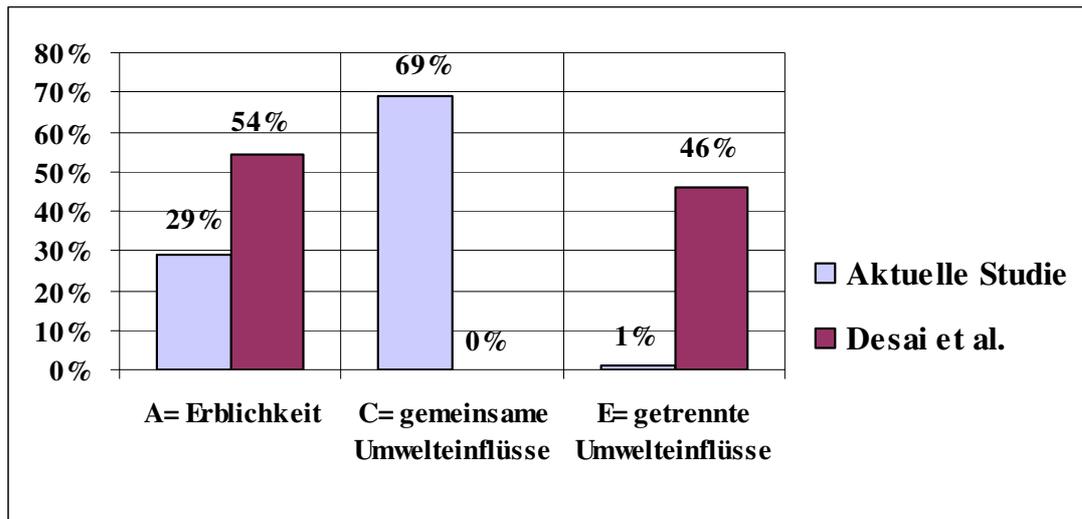
r_{MZ} : Konkordanz (Korrelation) MZ Zwillinge in Bezug auf ein Merkmal

r_{DZ} : Konkordanz (Korrelation) DZ Zwillinge in Bezug auf ein Merkmal

Eine weitere Möglichkeit den Anteil genetischer und nicht-genetischer Einflussfaktoren auf die Ätiologie und phänotypische Ausprägung komplexer Erkrankungen im Rahmen der Zwillingsforschung abzuschätzen, bietet die Anwendung des Strukturgleichungsmodells (structural equation modelling, SEM). Mittels dieses Modells können die Anteile additiv-genetischer (A) und dominant-genetischer (D) Faktoren sowie die Anteile geteilter (C) und getrennter (E) Umweltfaktoren bestimmt werden, die an der Pathogenese des RLS beteiligt sind. Unter geteilten (gemeinsamen) Umweltfaktoren versteht man nicht-genetische Faktoren aus der Umwelt, die auf beide Zwillingsindividuen während des gemeinsamen Aufwachsens einwirken (z.B. Erkrankung der Mutter während der Schwangerschaft, spezielle innerfamiliäre Noxen, prä- und/oder postnatale Mangelversorgung, klimatische Besonderheiten, usw.). Nichtgeteilte (getrennte) Umweltfaktoren (E) bezeichnen dagegen nicht-genetische Faktoren aus der Umwelt, die nur auf einen Zwillingspartner innerhalb eines Paares einwirken und meist zu deren Unterschiedlichkeit beitragen (z.B. Unfälle, erworbene Erkrankungen, usw.). Zudem lässt sich die Interaktion zwischen genetischen Faktoren und Umweltfaktoren durch dieses Modell ebenfalls abschätzen. Diese Gen-Umwelt-Interaktion überschreitet die additiven Effekte der jeweiligen Einzelfaktoren. Es kommt zu einer gegenseitigen Beeinflussung, wie z.B. der Änderung der Genexpression, bedingt durch bestimmte Umweltfaktoren. Spezielle statistische Programme wurden zur Berechnung dieses Modells entwickelt. In dieser Arbeit wurde die Software Mx, die von Neale entwickelt wurde, zur Berechnung des Strukturgleichungsmodell verwendet (Neale *et al.* 2002; Boomsma *et al.* 2002).

In der Britischen RLS-Zwillingsstudie wurde ebenfalls das Strukturgleichungsmodell angewendet (Desai *et al.* 2004). In dieser Studie wurden die Varianzanteile der Einflussfaktoren A, D, C, und E, die an der Pathogenese des RLS beteiligt sind, in verschiedenen Kombinationen berechnet (ADCE-Modelle). Nach der Analyse dieser verschiedenen Modelle schloss der Autor einen signifikanten Einfluss gemeinsamer Umweltfaktoren (C) sowie dominant-genetischer Faktoren (D) bei der Entstehung des RLS aus. Den größten Einfluss auf die Varianz der RLS-Symptome innerhalb der Studienpopulation zeigten die additiv-genetischen Faktoren (A) mit 54% (\triangleq Heritabilität) sowie die getrennten Umweltfaktoren (E) mit 46%. Er begrenzte sich daher auf die Darstellung der Varianzanteile mittels AE-Modell (Desai *et al.* 2004).

In der Zwillingsstudie aus dieser Arbeit haben wir uns für die Anwendung des Strukturgleichungsmodells trotz kleiner Probandenzahl entschlossen. Verschiedene Kombinationen der relativen Varianzanteile additiv- (A) und dominant- (D) genetischer Faktoren sowie gemeinsamer (C) und getrennter (E) Umweltfaktoren wurden getestet. Hier konnte für das Modell mit Berechnung der Komponenten A, C, und E (ACE-Modell) die besten Ergebnisse für die Varianzanteile ermittelt werden. Es zeigte sich, dass der Anteil additiv-genetischer Faktoren (A) mit 32% deutlich niedriger als in der Britischen Zwillingsstudie (A= 54%) ausfällt. Während der Autor in der Britischen Zwillingsstudie den Varianzanteil der gemeinsamen Umweltfaktoren (C) wegen zu schwachem Effekt aus seiner Berechnung ausgeschlossen hat, bildete dieser in unserer Studie den Hauptvarianzanteil von 67%. Kontroverse Ergebnisse finden sich in den beiden Studien auch bezüglich der Anteile der getrennten Umweltweinflüsse (E), die in der Studie aus dieser Arbeit mit 2% nur einen unwesentlichen Beitrag zur Ausprägung eines RLS leisten, in der Britischen Zwillingsstudie dagegen mit 46% einen starken Varianzanteil einnehmen (Desai *et al.* 2004) (Abbildung 8).

Abb. 8: Vergleich ACE-Modell Desai et al. versus aktuelle Studie

Aufgrund der geringen Anzahl an Probanden wurde in der Kanadischen RLS-Zwillingsstudie auf die Anwendung dieses Modells verzichtet (Xiong *et al.* 2007). Da ein Vergleich der Korrelationen zwischen MZ und DZ Zwillingspaaren die Voraussetzung für die Anwendung des Strukturgleichungsmodells ist, in der US-amerikanischen RLS-Zwillingsstudie jedoch nur MZ Zwillingspaare untersucht wurden, konnte in dieser Studie das Strukturgleichungsmodell nicht angewendet werden (Ondo *et al.* 2000).

Die Ergebnisse in dieser Arbeit weisen darauf hin, dass bei der Entstehung eines RLS auch nicht-genetische Faktoren bzw. Umweltfaktoren beteiligt sind. Genetische Faktoren sind relevant, spielen aber möglicherweise eine geringere Rolle als bisher angenommen. Dieses Modell könnte daher ebenfalls eine Erklärung für RLS-Familienstammbäume mit einer hohen Anzahl (>50%) betroffener Nachkommen sein. Gemeinsame Umwelteinflüsse (C) verlieren sich bei Zwillingspaaren mit steigendem Lebensalter, ihr Haupteffekt ist daher in der frühen Entwicklung zu suchen, d.h. diese nicht-genetischen Faktoren bzw. Umweltfaktoren können innerfamiliäre Einflüsse sein. Bereits während der Embryonalentwicklung können gemeinsamen Umweltfaktoren zum Tragen kommen und sollten daher nicht nur in der postnatalen Entwicklungsphase der Individuen gesucht werden. Dabei könnte es sich auch um epigenetische Effekte handeln. Das bedeutet, Umweltfaktoren beeinflussen die Expression und Regulation bestimmter Gene durch Veränderungen der DNA, die nicht auf Sequenzebene (abweichende Abfolge der Basensequenz) lokalisiert sind, sondern sich in der Methylierung von Cytosin-Basen oder durch Histon-Acetylierung manifestieren und so bei identischem Genotypen zu phänotypischen Unterschieden führen können. DNA-Methylierungen führen zu Veränderungen der Chromatinstruktur, wodurch bestimmte DNA-Abschnitte für Transkriptionsfaktoren nicht mehr zugänglich sind und die Genexpression gehemmt wird.

Von Bedeutung sind hierbei insbesondere Regionen unterschiedlicher Basenlänge im Promotorbereich von Genen, mit einem erhöhten Gehalt an CG-Dinukleotiden, die durch einen Phosphodiester miteinander verbunden sind (sog. CpG-Inseln). Diese CpG-Inseln liegen, im Gegensatz zu Cytosin-Basen in den übrigen Regionen des Genoms, in der Regel in nicht-methylierter Form vor. Eine Methylierung der Cytosin-Basen innerhalb der CpG-Inseln führt durch Inaktivierung des zugehörigen Gens zu einer reduzierten Genexpression (De Sario 2009).

Epigenetische Mechanismen könnten sich somit hinter dem im ACE-Modell errechneten Anteil von 67% für die gemeinsamen Umweltfaktoren (C) verbergen. Da sich epigenetische Veränderungen im Laufe des gesamten Lebens manifestieren, können sie somit sowohl durch gemeinsame Umweltfaktoren (C), als auch durch getrennte Umweltfaktoren (E) ausgelöst werden. Es hat sich gezeigt, dass durch epigenetische Effekte bedingte Veränderungen der DNA innerhalb MZ Zwillinge mit zunehmendem Alter stärker voneinander differieren (Fraga *et al.* 2005). Bei dieser Untersuchung wurde beispielsweise der Gesamtgehalt der methylierten Cytosin-Basen in der DNA und die Histon H3- und H4-Acetylierung quantifiziert sowie genomweit Loci mit abweichenden DNA-Methylierungen identifiziert. Hieraus wurde eine Erklärung für die phänotypische Varianz bestimmter Merkmale und Erkrankungen bei identischem Genotypen innerhalb MZ Zwillinge abgeleitet (Fraga *et al.* 2005). Da frühe gemeinsame Umweltfaktoren (C) auf beide Zwillinge eines MZ und DZ Paares in ähnlichem Ausmaß einwirken, dürften MZ und DZ Zwillingspaare in jungen Jahren nur geringe epigenetische Unterschiede innerhalb der jeweiligen Paare aufweisen. Man erwartet daher sowohl bei jungen MZ, als auch bei jungen DZ Zwillingspaaren eine hohe Konkordanz bezüglich epigenetisch geprägter Eigenschaften mit geringer Differenz zwischen MZ und DZ Zwillingen. Ist der Einfluss der späten, getrennten Umweltfaktoren (E) größer, so erwartet man durch stärker differierende epigenetische Muster sowohl bei älteren MZ, als auch bei älteren DZ Zwillingen eine abweichende Genexpression innerhalb der jeweiligen Zwillingspaare, was zu reduzierten Konkordanzen in beiden Gruppen (MZ und DZ) führen könnte. Daher könnte auch das Strukturgleichungsmodell der Britischen Zwillingstudie, mit einem hohen Varianzanteil für getrennte Umweltfaktoren (E= 46%) durch den Einfluss epigenetischer Effekte bedingt sein (Desai *et al.* 2004). Der späte Effekt epigenetischer Faktoren wäre zusätzlich eine Erklärung dafür, dass das idiopathische RLS eine Erkrankung des höheren Alters ist, mit den höchsten Prävalenzen um das 60.-70. Lebensjahr (Rothdach *et al.* 2000; Nichols *et al.* 2003; Berger *et al.* 2004; Allen *et al.* 2005; Hogl *et al.* 2005). Das

Phänomen der abnehmenden Prävalenz nach dem 70. Lebensjahr lässt sich mittels Epigenetik nicht erklären.

Der Varianzanteil E (getrennte Umweltfaktoren) führt in Zwillingspaaren zu unterschiedlicher Ausprägung des Phänotyps und somit zu einer geringeren Übereinstimmung (Konkordanz). Dagegen trägt der Varianzanteil C (gemeinsame Umweltfaktoren) in Zwillingspaaren zu einer Übereinstimmung bezüglich eines Phänotyps und somit zu höheren Konkordanzen bei. Dies entspricht einerseits den Ergebnissen der Britischen Zwillingsstudie mit niedrigen Konkordanzen von 43,6% (PWC) bei MZ und 29,0% (PWC) bei DZ Zwillingen bei hohem Einfluss von E und niedrigem Einfluss von C. Andererseits lassen sich auch in der vorliegenden Zwillingsstudie die höheren Konkordanzen bei MZ (PWC 73,7%) und DZ (PWC 50,0%) durch den hohen Einfluss von C und bei niedrigem Einfluss von E erklären. Die geringen Konkordanzunterschiede zwischen MZ und DZ Zwillingen ($r_{DZ} > 0,5 * r_{MZ}$) in beiden Studien deuten wiederum darauf hin, dass Umweltfaktoren insgesamt bei der Pathogenese des RLS einen bedeutenden Einfluss haben, der den der genetischen Faktoren übertreffen könnte (Boomsma *et al.* 2002).

Die abweichenden Ergebnisse bei der Berechnung der Strukturgleichungsmodelle in der Britischen Zwillingsstudie und in dieser Arbeit (siehe Abbildung Nr. 8) sind möglicherweise auf die ungenaue RLS-Diagnostik und den Einschluss sekundärer RLS-Fälle in der Britischen Zwillingsstudie zurückzuführen. Erkrankungen oder Bedingungen, die einem sekundären RLS zugrunde liegen, könnten als nichtgeteilte Umweltfaktoren (d.h. Faktoren, die nur auf einen Zwillingspartner einwirken) identifiziert werden, und somit diesen Varianzanteil (E) beeinflusst haben (Desai *et al.* 2004).

5.1.4. Zusammenhang zwischen ACE-Modell und der aktuellen genetischen Grundlage des Restless Legs Syndrom

Die bisher identifizierten sechs Kopplungsregionen (RLS-Loci) auf den Chromosomen 12q, 14q, 9p, 2p, 20p, und 16p (Desautels *et al.* 2001; Bonati *et al.* 2003; Chen *et al.* 2004; Pichler *et al.* 2006; Levchenko *et al.* 2006; Levchenko *et al.* 2008) sowie der Hinweis auf eine siebte Kopplungsregion auf Chromosom 19p (Kemlink *et al.* 2008), deuten auf eine Locusheterogenität hin. Das bedeutet, dass möglicherweise mehrere Mutationen innerhalb verschiedener Genen oder innerhalb verschiedener genregulatorischer Regionen, auch unabhängig voneinander, ein RLS auslösen können. Die Kopplungsergebnisse wurden in unterschiedlichen Populationen ermittelt. Tabelle 29 gibt einen Überblick über alle bisher

identifizierten RLS-Loci (Pichler *et al.* 2008). Einige dieser Kopplungssignale (Chromosom 12q, 14q, 9p) ließen sich auch in unabhängigen Familien anderer Herkunft bestätigen (Winkelmann *et al.* 2006; Liebetanz *et al.* 2006; Kemlink *et al.* 2007). Das Kopplungssignal auf Chromosom 12q konnte jedoch in drei Familien aus Südtirol nicht bestätigt werden (Kock *et al.* 2002; Vogl *et al.* 2006). Die variablen Ergebnisse aus Kopplungsstudien in Familien unterschiedlicher Herkunft deuten auf eine genetische Komplexität des RLS hin.

Tab. 29: RLS-Loci in Abwandlung nach Pichler (Pichler *et al.* 2008)

RLS-Locus	Chromosom	Erbgang	Diagnose	Population	Quelle
RLS1	12q22-23.3	AR, pseudodominant	IRLSSG-Kriterien von 1995 ⁽¹⁾	Französisch-kanadisch	(Desautels <i>et al.</i> 2001)
RLS2	14q13-22	AD	IRLSSG-Kriterien von 1995 ⁽¹⁾	Italien	(Bonati <i>et al.</i> 2003)
RLS3	9p24-22	AD	IRLSSG-Kriterien von 1995 ⁽¹⁾	USA	(Chen <i>et al.</i> 2004)
RLS4	2q33	AD	Stufe 1: IRLSSG-Kriterien von 1995 ⁽¹⁾ Stufe 2: IRLSSG-Kriterien von 2003 ⁽²⁾	Südtirol, Italien	(Pichler <i>et al.</i> 2006)
RLS5	20p13	AD	IRLSSG-Kriterien von 2003 ⁽²⁾	Französisch-kanadisch	(Levchenko <i>et al.</i> 2006)
-	16p12.1.	AD	IRLSSG-Kriterien von 2003 ⁽²⁾	Französisch-kanadisch	(Levchenko <i>et al.</i> 2008)

AD: autosomal dominant;

AR: autosomal recessi

IRLSSG: Internationale Restless Legs Syndrome Study Group

(1) Diagnosekriterien der IRLSSG von 1995 (Walters 1995)

(2) Modifizierte Diagnosekriterien der IRLSSG von 2003 (Allen *et al.* 2003)

Die in zwei Assoziationsstudien identifizierten genetischen Varianten in den Genen MEIS1, BTBD9, LBXCOR1/MAP2K5 und PTPRD (Winkelmann *et al.* 2007; Stefansson *et al.* 2007; Schormair *et al.* 2008), die mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung eines RLS einhergehen, verdeutlichen ebenfalls die Komplexität dieser Erkrankung (Tabelle 30).

Tab. 30: RLS-assoziierte Genvarianten, Funktion und möglicher Zusammenhang mit RLS, in Abwandlung nach Mignot (Mignot 2007)

Gen	Funktion	möglicher Zusammenhang mit RLS	Referenz
MEIS1 (Homöobox-Gen, Transkriptionsfaktor) <i>Locus: 2p14-p13</i>	Entwicklung der proximodistalen Extremitäten (Zellspezifizierung und Determinierung der Strukturen entlang der proximodistalen Extremitätenachse) und der Neuralleiste, Expression in dopaminergen Neuronen der Substantia nigra.	Bewegungsdrang, PLM	(Mercader <i>et al.</i> 1999; Winkelmann <i>et al.</i> 2007)
BTBD9 (<i>Locus: 6p21</i>)	unbekannt; bei Drosophila Einfluss auf Extremitätenentwicklung während der Embryogenese.	PLM	(Winkelmann <i>et al.</i> 2007; Stefansson <i>et al.</i> 2007)
MAP2K5 (Kinase) <i>Locus: 15q23</i>	Beteiligung bei Wachstumsfaktor-stimulierter Proliferation und Differenzierung von Muskelzellen	unbekannt	(Winkelmann <i>et al.</i> 2007)
LBXCOR1 (Corepressor für den Transkriptionsfaktor LBX1) <i>Locus: 15q23</i>	Einfluss auf Differenzierung von GABAergen Interneuronen im dorsalen Rückenmark während der Embryonalentwicklung	sensible Symptome, Missempfindung und/oder Schmerzempfindung	(Mizuhara <i>et al.</i> 2005; Cheng <i>et al.</i> 2005; Winkelmann <i>et al.</i> 2007)
PTPRD (Signaltransduktionsmolekül) <i>Locus: 9p23-p24.3</i>	Regulation von Neuronen- und Axonwachstum; möglicherweise Beeinflussung der embryonalen Motoneuronenentwicklung	Motorische Komponente des RLS	(Schormair <i>et al.</i> 2008)

Dabei konnte lediglich die genetische Variante im Gen PTPRD der Kopplungsregion auf Chromosom 9p23-24 zugeordnet werden (Schormair *et al.* 2008). Die übrigen drei genetischen Varianten liegen außerhalb der bisher identifizierten Kopplungsregionen.

Ob es sich bei den vier identifizierten Assoziationssignalen im genomischen Intronbereich der Gene MEIS1; BTBD9, LBXCOR1/MAP2K5 und PTPRD (Winkelmann *et al.* 2007; Stefansson *et al.* 2007; Schormair *et al.* 2008) um Varianten in der DNA-Sequenz handelt, oder ob diese auf Genregulationsebene zum Tragen kommen, ist nicht geklärt. Auch epigenetische Veränderungen, z.B. durch Modifikationen von Histon-Proteinen oder durch DNA-Methylierung, dürfen nicht ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse aus den Kopplungs- und Assoziationsstudien widersprechen somit keinesfalls der Möglichkeit, dass gemeinsame Umweltfaktoren (C) über die Initiierung epigenetischer Effekte einen bedeutenden Einfluss auf die Entstehung eines RLS haben können. Um welche Faktoren aus der Umwelt es sich

dabei handelt und auf welcher Ebene diese Umweltfaktoren wirken, lässt sich zum gegebenen Zeitpunkt nicht abschätzen. In Anbetracht der diskutierten genetischen Studien scheint eine Wirkung spezifischer Umweltfaktoren auf genomischer Ebene, möglicherweise durch epigenetische Effekte, jedoch durchaus denkbar und sollten zukünftig neue Forschungsansätze liefern, die das pathophysiologischen Verständnis des RLS erweitern könnten.

Die Ergebnisse aus den Berechnungen des Strukturgleichungsmodells dieser Arbeit müssen aufgrund der geringen Probandenzahl vorsichtig interpretiert werden. Sie sollten eher eine Tendenz anzeigen, die Anleitung zur Entwicklung neuer Forschungs- und Denkansätzen liefern soll und nicht als Absolutwerte angesehen werden.

5.1.5. Familienanamnese

In dieser Arbeit konnte bei insgesamt 43 Zwillingsindividuen (89,6%) eine positive Familienanamnese erhoben werden. 38 dieser Individuen stammten aus konkordanten Zwillingspaaren (14 MZ/5DZ Zwillingspaare). Zusätzlich berichteten fünf Zwillingsindividuen aus diskordanten Paaren (2 MZ/3 DZ Zwillingspaare) bei nicht-betroffenem Zwillingsgeschwister über weitere betroffene Familienmitglieder. In bisherigen Studien zeigte sich, dass das durchschnittliche „Alter bei Symptombeginn“ bei Patienten mit einer positiven Familienanamnese jünger ist, als bei Patienten mit negativer Familienanamnese (Walters *et al.* 1996; Winkelmann *et al.* 2000; Tison *et al.* 2005).

In der vorliegenden Arbeit konnte dieses Ergebnis nicht verifiziert werden. Das durchschnittliche „Alter bei Symptombeginn“ lag bei Patienten mit positiver Familienanamnese mit 34,5 Jahren (SD +/- 16,1 Jahre) über dem der Patienten mit negativer Familienanamnese (29,4 Jahre, SD +/- 14,9 Jahre). Allerdings ist das Erkrankungsalter bei positiver Familienanamnese (34,5 Jahren, SD +/- 16,1 Jahre) mit dem früherer Studien (35,45 Jahre, SD +/- 1,83) vergleichbar (Winkelmann *et al.* 2000). Aufgrund der Größendifferenz der beurteilten Untergruppen (positive Familienanamnese: N= 43 vs. negative Familienanamnese: N= 5) ist in dieser Arbeit das „Alter bei Symptombeginn“ möglicherweise nicht zu vergleichen. Das Kollektiv von fünf Patienten zur genauen Beurteilung des Erkrankungsalters bei negativer Familienanamnese ist zu niedrig um aussagekräftige Durchschnittswerte zu ermitteln. Aufgrund der Differenz und schlechten Vergleichbarkeit der beiden Gruppen (34,5 Jahre bei positiver Familienanamnese, N= 43 vs. 29,4 Jahre bei negativer Familienanamnese, N= 5) haben wir auf einen Signifikanztest verzichtet.

In der US-amerikanischen Zwillingsstudie konnten bei allen zehn konkordanten MZ Zwillingspaaren und insgesamt bei elf (91,7%) der untersuchten zwölf MZ Zwillingspaare weitere Familienmitglieder mit einem sicheren oder fraglichen RLS identifiziert werden. Der Zusammenhang von Alter bei Symptombeginn und Familienanamnese wurde vom Autor bei den zwölf MZ Zwillingspaaren nicht ausgewertet (Ondo *et al.* 2000). Sowohl die Britische, als auch die Kanadische Zwillingsstudie erhob keine Daten zur Familienanamnese (Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007).

Durch die geringe Probandenzahl und das besondere Kollektiv aus MZ und DZ Zwillingen sowie die verwendete Definition einer positiven Familienanamnese bereits bei betroffenem Zwillingspartner lassen sich die Ergebnisse der aktuellen Arbeit nicht uneingeschränkt auf die früheren epidemiologischen Studien (Walters *et al.* 1996; Winkelmann *et al.* 2000; Allen *et al.* 2002) und die US amerikanische Zwillingsstudie übertragen (Ondo *et al.* 2000).

5.1.6. Klinische Daten zum Restless Legs Syndrom

Oftmals zeigt sich eine phänotypisch stark variable klinische Ausprägung des RLS bei mehreren betroffenen Mitgliedern innerhalb einer Familie. Das Alter bei Symptombeginn kann dabei in der betroffenen Familie variieren. In zwei Studien zeigte sich die Tendenz eines früheren Beginn der Symptomatik in den nachfolgenden Generationen (Trenkwalder *et al.* 1996; Lazzarini *et al.* 1999). Zusätzlich konnten im Rahmen mehrerer Familienuntersuchungen unterschiedliche Penetranzen in den verschiedenen Familien beobachtet werden (Lazzarini *et al.* 1999). Auch dieser Aspekt lässt wiederum eine Gen-Umwelt-Interaktion vermuten, was mit Hilfe des Zwillingsmodells gut zu beurteilen ist. Aus diesem Grund bietet sich besonders innerhalb konkordanter Zwillingspaare ein Vergleich der klinischen Charakteristika des RLS an.

In der Studie aus dieser Arbeit lag bei 50% der Zwillingspaare die Differenz des Alters bei Symptombeginn unter fünf Jahren, mit einem Maximalwert von 25 Jahren bei nur einem MZ Zwillingspaar. Ähnlichkeiten fanden sich auch im Schweregrad der Erkrankung. Die ermittelten Werte der Schweregrad-Skala, mit zu erreichenden Punktwerten von 1-40 (Kategorie-Intervall: 1-10 leicht, 11-20 mittel, 21-30 stark, 31-40 sehr stark) wichen bei allen Zwillingspaaren nicht mehr als 10 Punkte (max. 25%) voneinander ab, wodurch die Zwillinge sich maximal um eine Schweregrad-Kategorie unterschieden. Durchschnittlich erreichten die betroffenen Zwillinge einen Schweregrad von 15,1 (SD +/- 10,1). Die Klinische Ausprägung des RLS in Bezug auf Häufigkeit des Auftretens der Symptome ($p=1,0$) sowie der

Extremitätenlokalisation ($p= 0,294$) zeigte keine signifikant höheren Korrelationen bei MZ Zwillingen gegenüber DZ Zwillingen. Die in dieser Arbeit ermittelten p-Werte für die Signifikanz der beiden klinischen Ausprägungen entstehen möglicherweise aufgrund der geringen Anzahl an Zwillingspaaren und lassen sich daher nicht abschließend interpretieren. Zusammengefasst konnten wir keine deutlichen Korrelationen im Krankheitsverlauf erkennen und fanden ebenso wenig signifikante Unterschiede beim Vergleich zwischen MZ und DZ Zwillingspaaren.

In der US-amerikanischen und Kanadischen Zwillingstudie zeigten sich diesbezüglich innerhalb aller konkordanten Zwillingspaare widersprüchliche Ergebnisse (Ondo *et al.* 2000; Xiong *et al.* 2007). Trotz einer hohen Konkordanzrate fanden sich in der US-amerikanischen Studie deutliche Unterschiede im Alter bei Symptombeginn sowie in der Ausprägung bzw. Beschreibung der RLS-Symptomatik innerhalb der konkordanten Zwillingspaare (Ondo *et al.* 2000). Dagegen berichtet die Kanadische Zwillingstudie, bei insgesamt niedrigeren Konkordanzen, von einem scheinbar ähnlichen Krankheitsverlauf innerhalb der konkordanten Zwillingspaare, mit einer hohen Korrelation in Bezug auf das Alter bei Symptombeginn und den Schweregrad der Symptome (Xiong *et al.* 2007). Das niedrigste durchschnittliche Alter bei Symptombeginn wurde in der US-amerikanischen Studie mit 21,5 Jahre (SD +/- 16,0 Jahre) ermittelt. Die Kanadische Studie ermittelte ein durchschnittliches Alter bei Symptombeginn für „definitives RLS“ von 30,7 Jahren (SD +/- 18,3 Jahre) und für „wahrscheinliches RLS“ von 25,9 Jahren (SD +/- 19,0 Jahre) (Xiong *et al.* 2007). Die Britische Zwillingstudie macht keine Angaben zum Alter bei Symptombeginn bei betroffenen Zwillingenindividuen (Desai *et al.* 2004). In der Studie aus dieser Arbeit findet sich das bisher im Rahmen von Zwillingstudien ermittelte höchste durchschnittliche Alter bei Symptombeginn von 34,0 Jahren (SD +/- 15,9 Jahre). Gründe für die unterschiedlichen Alter bei Symptombeginn innerhalb der RLS-Zwillingstudien sind im Probandenkollektiv zu suchen. Alle Zwillingspaare aus der US-amerikanischen Studie entstammen einer RLS-Klinikpopulation (Ondo *et al.* 2000). Es kann davon ausgegangen werden, dass Probanden aus einer RLS-Klinikpopulation bereits länger und schwerer an einem RLS leiden, da erst ab einem gewissen Leidensdruck eine Arztkonsultation mit medikamentöser Behandlung der Beschwerden in Betracht gezogen wird. In der Kanadischen Studie und der Studie dieser Arbeit wurde nur der kleinere Anteil der Probanden aus einer RLS-Klinikpopulation, der größte Anteil dagegen aus Zwillingregistern rekrutiert (Xiong *et al.* 2007). Bei Probanden aus Zwillingregistern erwartet man eine mildere Ausprägung und einen späteren Beginn der RLS-Symptome. Der Effekt des zugrunde liegenden Probandenkollektivs lässt sich auch auf den durchschnittlichen

Schweregrad der RLS-Symptome übertragen. Höchste durchschnittliche Schweregrad-Punktwerte finden sich mit 23,0 (SD +/- 8,2) Punktwerten in der US-amerikanischen Studie innerhalb der RLS-Klinikpopulation (Ondo *et al.* 2000). Die ermittelten durchschnittlichen Schweregrade aus dem Mischkollektiv einer Klinikpopulation und eines Zwillingsregisters aus der Kanadischen Studie („definitives RLS“: 13,0 SD +/- 6,1 Punktwerte; „wahrscheinliches RLS“: 14,4 SD +/- 7,7 Punktwerte) und der aktuellen Studie dieser Arbeit (15,1 SD +/- 10,1 Punktwerte) sind deutlich niedriger und in beiden Studien fast identisch (Xiong *et al.* 2007).

In der Britischen Zwillingsstudie wurden keine weiteren Daten zur RLS-Symptomatik bei betroffenen Zwillingsindividuen erhoben, eine Analyse der klinischen Ausprägung des RLS innerhalb konkordanter Zwillingspaare konnte daher nicht durchgeführt werden (Desai *et al.* 2004).

Somit konnten in der Zwillingsstudie aus dieser Arbeit die Erkenntnisse aus der Kanadischen Zwillingsstudie bezüglich der klinischen Ausprägung der Symptome und des Krankheitsverlaufs innerhalb der konkordanten Zwillingspaare nicht reproduziert werden (Xiong *et al.* 2007), tendieren dagegen in Richtung der Ergebnissen der US-amerikanischen Studie (Ondo *et al.* 2000). Wie jedoch bereits erwähnt, schränken die niedrigen Probandenzahlen die Aussagefähigkeit der Ergebnisse ein. Die Ursache der widersprüchlichen Ergebnisse aus den Zwillingsstudien lässt sich an dieser Stelle nicht abschließend erörtern. Gerade in der US-amerikanischen Zwillingsstudie würde man aufgrund des RLS-Patientenkollektivs mit möglicher Beeinflussung der Zwillingspartner stärkere Korrelationen bezüglich der klinischen Charakteristika des RLS erwarten, was jedoch nicht bestätigt werden konnte (Ondo *et al.* 2000).

5.1.7. Sekundäres Restless Legs Syndrom

Ein sekundäres RLS entsteht auf der Basis einer Erkrankung oder Veränderung des Körpers, wie z.B. Niereninsuffizienz, Schwangerschaft oder Eisenmangel. Ob die Prädisposition zur Entstehung eines sekundären RLS wie beim primären RLS genetisch determiniert ist, konnte bisher nicht geklärt werden. Aus diesem Grund sollten Familien- und Zwillingsuntersuchungen sowie molekulargenetische Untersuchungen, die dazu dienen die Erbllichkeit der Erkrankung abzuschätzen und mögliche Genvarianten zu identifizieren, nur bei Patienten mit primärem RLS durchgeführt werden. Hierdurch sollen abschwächende

Effekte auf genetische Untersuchungsergebnisse, die beim Vermischen primärer und sekundärer RLS-Phänotypen zustande kommen können, vermieden werden.

Der Einschluss sekundärer RLS-Fälle kann in der Studie aus dieser Arbeit nicht ausgeschlossen werden. Serumeisen und Serumferritinwerte, sowie Ferritin im Liquor wurden bei keinem der Zwillinge bestimmt. Anamnestisch lag bei keinem der eingeschlossenen Zwillinge eine terminale Niereninsuffizienz mit Dialysepflicht vor. Diabetes mellitus und Polyneuropathie wurde in 6,3% bzw. 8,3% der RLS-Fälle anamnestiziert, eine kausale Assoziation zur RLS-Symptomatik konnte in diesen Fällen jedoch nicht beurteilt werden. Die Konkordanzraten, die in dieser Arbeit ermittelt wurden, könnten durch den Einschluss nicht diagnostizierter sekundärer RLS-Fälle, sowohl bei den MZ als auch bei den DZ Zwillingspaaren „falsch niedrige“ Werte annehmen, wodurch Aussagen über die Erblichkeit eines RLS beeinflusst werden.

Der Autor der US-amerikanischen RLS-Zwillingstudie schließt ebenfalls nicht aus, in seiner Studie nicht erkannte sekundäre RLS-Fälle eingeschlossen zu haben. Ein sekundäres RLS aufgrund eines manifesten Eisenmangels scheint unwahrscheinlich, da bei keinem Zwillingindividuum erniedrigte Werte für Ferritin im Serum nachgewiesen werden konnten (Ondo *et al.* 2000). Allerdings kann dies nicht sicher ausgeschlossen werden, da der Ferritinwert des Liquors nicht bestimmt wurde (Ondo *et al.* 2000). Ein zerebraler Eisenmangel kann somit nicht ausgeschlossen werden. Es konnte nachgewiesen werden, dass trotz normaler Serum-Ferritinwerte der Ferritinwert im Liquor erniedrigt und mit einem RLS assoziiert sein kann (Mizuno *et al.* 2005a).

Auch in der Britischen RLS-Zwillingstudie können die Studienergebnisse durch nicht identifizierte sekundäre RLS-Fälle beeinflusst worden sein und müssen daher kritisch betrachtet werden. Eine genaue Differenzierung zwischen primärem und sekundärem RLS wurde in dieser Studie nicht durchgeführt (Desai *et al.* 2004). Der Einschluss sekundärer RLS-Fälle kann einerseits zu erhöhten Prävalenzen eines RLS führen, die in der Britischen Zwillingstudie mit 36,6% deutlich über der in zahlreichen epidemiologischen Studien gezeigten Prävalenz von etwa 10% liegt (Rothdach *et al.* 2000; Phillips *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004; Höggl *et al.* 2005). Möglicherweise führt der Einschluss sekundärer RLS-Zwillinge zu falsch niedrigen Konkordanzen bei den Zwillingspaaren, da in diesen Fällen eher eine nicht-erblich bedingte Grunderkrankung, und nicht eine genetische Prädisposition als Auslöser des RLS in Betracht kommt (Desai *et al.* 2004). Die Kanadische Zwillingstudie gibt keine Auskunft über den definitiven Ausschluss sekundärer RLS-Fälle (Xiong *et al.*

2007). Aus diesem Grund kann in dieser Zwillingsstudie eine Beeinflussung der Konkordanz zu niedrigeren Werten nicht ausgeschlossen werden. Trotzdem wurden Daten zu fünf Erkrankungen, die häufig mit einem RLS assoziiert sind, beziehungsweise Ursache eines sekundären RLS sein können, erhoben. Die Prävalenzen dieser RLS-assoziierten Erkrankungen wurden im Vergleich zur Prävalenz des RLS bei den 272 untersuchten Zwillingspaaren aufgeführt, mit dem Ergebnis, dass eine Anämie bzw. ein Eisenmangel (Prävalenz 22,64%) sowie eine Arthritis (Prävalenz 22,37%) zusammen mit einem „definitiven RLS“ (Prävalenz 12,25%) die drei häufigsten Erkrankungen innerhalb der untersuchten 272 Zwillingspaare waren. Darüber hinaus konnte in der Kanadischen Zwillingsstudie gezeigt werden, dass ein „definitives RLS“ in hohem Maß mit dem Auftreten einer Anämie und Arthritis assoziiert ist, unabhängig von der Zygote der untersuchten Zwillingspaare. Anhand dieser Ergebnisse stellten sich eine Anämie (RR 2,51) und Arthritis (RR 2,57) als signifikante Risikofaktoren für die Ausbildung eines RLS innerhalb des Probandenkollektives heraus, das bedeutet, dass alle Zwillinge aus der Kanadischen Zwillingsstudie ein etwa 2,5fach erhöhtes Risiko aufweisen an einem „definitiven RLS“ zu erkranken, sofern sie entweder anämisch sind oder an einer Arthritis leiden. Über die Assoziation von RLS mit einer Urämie (Prävalenz 1,08%), einem Diabetes mellitus (Prävalenz 3,58%) oder einer Polyneuropathie (Prävalenz 0,65%) innerhalb des Probandenkollektives wurden keine weiteren Aussagen gemacht (Xiong *et al.* 2007). Es wird daher angenommen, dass keine auffälligen Risikoprofile zur Ausbildung eines RLS bei Probanden mit diesen Erkrankungen in der Kanadischen Zwillingsstudie ermittelt werden konnten.

5.2. Vergleich mit Zwillingsstudien zu anderen neurologischen Erkrankungen

Nachfolgend wird auf Studien mit Zwillingen bei anderen neurologischen Erkrankungen wie Morbus Parkinson, Essentieller Tremor, Narkolepsie und Tourette Syndrom eingegangen. In Tabelle 31a-d sind einige Zwillingsstudien bezüglich der zuvor erwähnten neurologischen Erkrankungen mit den entsprechenden Konkordanzen aufgeführt.

Zwillingsstudien beim Parkinson-Syndrom zeigen uneinheitliche Ergebnisse für Konkordanzen bei MZ und DZ Zwillingen. Diese schwanken bei den in der Tabelle 32a zitierten Studien zwischen 0% - 33,3% für MZ und 0% - 25% für DZ Zwillingspaare (Ward *et al.* 1983; Marsden 1987; Marttila *et al.* 1988; Vieregge *et al.* 1992; Tanner *et al.* 1999;

Vieregge *et al.* 1999; Wirdefeldt *et al.* 2004). Schon der geringe Unterschied der Konkordanzen zwischen MZ und DZ Zwillingspaaren deutet eher auf den Einfluss von Umweltfaktoren auf die Pathophysiologie eines Parkinson-Syndroms hin, als auf eine starke genetische Komponente (Ward *et al.* 1983; Boomsma *et al.* 2002; Wirdefeldt *et al.* 2004) (Tabelle 31a).

Tab. 31a: Zwillingsstudien bei Morbus Parkinson

Morbus Parkinson in MZ und DZ Zwillingspaaren						
Studie	Eingeschlossene Zwillingspaare (N)		Konkordante Zwillingspaare (N)		PWC (%)	
	MZ	DZ	MZ	DZ	MZ	DZ
Ward <i>et al.</i> 1983	43	19	1	0	2,3%	0%
Marsden <i>et al.</i> 1987	11	11	1	1	9,1%	9,1%
Marttila <i>et al.</i> 1988	18	14	0	1	0%	7,1%
Vieregge <i>et al.</i> 1992	9	12	3	3	33,3%	25,0%
Vieregge <i>et al.</i> 1999 Follow-Up von 1992	9	14	3	6	33,3%	42,9%
Tanner <i>et al.</i> 1999	71	90	11	10	15,5%	11,1%
Wirdefeldt <i>et al.</i> 2004 mögliches Parkinson-Syndrom	33	80	0	2	0%	2,5%
V.a. Parkinsonismus oder Bewegungsstörung	101	182	6	8	5,9%	4,4%

Hohe Konkordanzen bei MZ Zwillingspaaren finden sich für das Auftreten eines Essentiellen Tremors (ET). In zwei Studien konnten fast identische Konkordanzen (PWC) von 60% (Tanner *et al.* 2001) und 63% (Lorenz *et al.* 2004) ermittelt werden. Die Konkordanzen für DZ Zwillingspaare waren in beiden Studien weniger als die Hälfte der Konkordanzen für MZ Zwillingspaaren (PWC DZ 27% und PWC DZ 14%) (Tanner *et al.* 2001; Lorenz *et al.* 2004). Das weist auf eine deutliche hereditäre Komponente beim Essentiellen Tremor hin, an deren phänotypischer Ausprägung möglicherweise zusätzliche Umwelteffekte beteiligt sind (Tanner *et al.* 2001)(Tabelle 31b).

Tab. 31b: Zwillingsstudien bei Essentiellem Tremor

Essentieller Tremor (ET) in MZ und DZ Zwillingspaaren						
Studie	Eingeschlossene Zwillingspaare (N)		Konkordante Zwillingspaare (N)		PWC (%)	
	MZ	DZ	MZ	DZ	MZ	DZ
Tanner et al. 2001	5	11	3	3	60%	27%
Lorenz et. al. 2004 „definitive ET-Diagnose“	8	14	5	2	63%	14%

Es gibt nur sehr wenige Untersuchungen zur Narkolepsie bei Zwillingen. Eine größere Narkolepsie-Zwillingsstudie ermittelte Konkordanzen von 15,5% (PWC) für MZ und 12,4% (PWC) für DZ Zwillingspaare. Hublin et al. konnte lediglich drei DZ Zwillingspaare mit Narkolepsie aus dem Finnischen Zwillingsregister ermitteln, die zudem alle diskordant waren (Hublin *et al.* 1994). Die meisten Berichte beschränken sich auf Fallbeschreibungen einzelner MZ Zwillingspaare (Imlah 1961; Montplaisir & Poirier 1987; Douglass *et al.* 1989; Honda *et al.* 2001; Dauvilliers *et al.* 2004). Bis zum Jahr 2004 waren in der Literatur 17 MZ Zwillingspaare mit Narkolepsie beschrieben, sechs Paare waren wahrscheinlich konkordant (Khatami *et al.* 2004). Kaprio et al. vermutet, dass genetische Faktoren eher die Schlafkomponenten beeinflussen, während die Ausprägung der Kataplexie-Symptome möglicherweise in stärkerem Ausmaß durch Umweltfaktoren bedingt ist (Kaprio *et al.* 1996) (Tabelle 31c).

Tab. 31c: Zwillingsstudien bei Narkolepsie

Narkolepsie in MZ und DZ Zwillingspaaren						
Studie	Eingeschlossene Zwillingspaare (N)		Konkordante Zwillingspaare (N)		PWC (%)	
	MZ	DZ	MZ	DZ	MZ	DZ
Kaprio et al. 1996	348	631	54	78	15,5%	12,4%
Hublin et al. 1994	0	3	0	0	0%	0%

Ebenso selten finden sich Konkordanzstudien bei MZ und DZ Zwillingen mit einem Tourette-Syndrom (TS) innerhalb großer Studienpopulationen. Price et al. ermittelte bei 30 MZ und 13 DZ Zwillingspaaren eine Konkordanz für ein Tourette-Syndrom von 53% (PWC) bei MZ und 8% (PWC) bei DZ Paaren. Weitete der Autor die Diagnosekriterien zum Einschluss zusätzlicher Tic-Erkrankungen etwas aus, so erhöhen sich die Konkordanzen auf 77% (PWC)

bei MZ und 23% (PWC) bei DZ Zwillingen. Anhand dieser Zahlen wird deutlich, dass beim Tourette-Syndrom eine deutliche genetische Komponente vorhanden ist. Die erhebliche Differenz zwischen den Konkordanzraten der MZ (r_{MZ}) und DZ (r_{DZ}) Zwillingspaare, mit einer mehr als doppelt so hohen Konkordanz für MZ im Vergleich zur DZ Zwillinge ($r_{MZ} > 2 * r_{DZ}$), deutet auf einen geringen Einfluss umweltbedingter Faktoren hin (Boomsma *et al.* 2002). Dieser kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, da MZ Zwillinge keine 100%ige Konkordanz zeigen (Price *et al.* 1985). Zusätzlich zu den in der Tabelle 32d aufgeführten Untersuchungen bei MZ Zwillingen durch Hyde *et al.* und Randolph *et al.*, mit der Intention die Korrelationen in Bezug auf Charakteristika und Ausprägung der Erkrankung zu untersuchen (Hyde *et al.* 1992; Randolph *et al.* 1993), finden sich noch zahlreiche Fallbeschreibungen MZ konkordanter Zwillingspaare in der Literatur (Jenkins & Ashby 1983; Wasserman *et al.* 1983; Vieregge 1987; Goetz & Tanner 1990) (Tabelle 31d).

Tab. 31d: Zwillingsstudien bei Tourette-Syndrom

Tourette-Syndrome (TS) in MZ und DZ Zwillingspaaren						
Studie	Eingeschlossene Zwillingspaare (N)		Konkordante Zwillingspaare (N)		PWC (%)	
	MZ	DZ	MZ	DZ	MZ	DZ
Price <i>et al.</i> 1985						
TS	30	13	16	1	53%	8%
TS und/oder Tics	30	13	23	3	77%	23%
Hyde <i>et al.</i> 1992						
TS	16	0	9	0	56%	0%
Tic-Erkrankungen	16	0	15	0	94%	0%
Randolph <i>et al.</i> 1993	12	0	11	0	91,7%	0%

In Bezug auf die Chorea Huntington-Erkrankung, deren molekulargenetische Grundlage durch die Identifikation der Mutation (expandierendes CAG-Triplett-Repeat) im Huntington-Gen (HTT, Chr. 4p16.3) mittlerweile besser verstanden ist, sind bisher nur einzelne MZ Zwillingspaare bezüglich ihrer klinischen Charakteristika untersucht worden (Schjott-Christensen 1969; Bird & Omenn 1975; Sudarsky *et al.* 1983; Anca *et al.* 2004; Friedman *et al.* 2005; Gomez-Esteban *et al.* 2007). Fallberichte MZ Zwillingspaare zeigten trotz identischer Anzahl von CAG-Triplett-Repeats eine unterschiedliche Symptomatik und/oder einen abweichenden Verlauf der Erkrankung (Georgiou *et al.* 1999; Anca *et al.* 2004; Friedman *et al.* 2005; Gomez-Esteban *et al.* 2007). Aufgrund dieser Ergebnisse kann, trotz der

Kenntnis der Mutation, der Einfluss weiterer genetischer und/oder epigenetischer Effekte bedingt durch Umweltfaktoren auf die klinischen Ausprägung der Erkrankung nicht ausgeschlossen werden kann.

6. KRITISCHE BETRACHTUNG DER ARBEIT

Das grundlegende Problem dieser Studie war es, eine ausreichend große Studienpopulation zu gewinnen, die möglichst die Allgemeinbevölkerung repräsentiert. Etwa 1,2% aller Geburten in Mitteleuropa sind Zwillingsgeburten, was der „Zwillingsprävalenz“ entspricht. Die durchschnittliche Prävalenz eines RLS wird mit 5-10% in der Gesamtbevölkerung angegeben (Rothdach *et al.* 2000; Phillips *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004; Hogl *et al.* 2005). Das bedeutet, dass unter 10 000 Individuen nur etwa 6-12 Zwillinge mit einem RLS zu finden sind. Mit Hilfe eines bestehenden Zwillingsregisters (Busjahn 2006) konnte eine Zwillingspopulation zur Verfügung gestellt werden, die annähernd als Repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung angesehen werden kann. Wir konnten daher von einer RLS-Prävalenz von 5-10% innerhalb des Zwillingsregisters ausgehen.

Aus verschiedenen Gründen ließen sich nur etwa 50% der insgesamt 49 Zwillingspaare (N=26), die durch positives Ausfüllen der RLS-Diagnosefragen des Gesundheitsfragebogens ermittelt wurden, für die weitere Untersuchung gewinnen. Die Ausbeute war demnach mit 17 auswertbaren Zwillingspaaren aus einem ursprünglichen Zwillingskollektiv von 319 Paaren entsprechend gering. Wir entschlossen uns daher, die Zahl der auswertbaren Zwillingspaare durch den Einschluss weiterer zwölf Zwillingspaare über RLS-Spezialambulanzen und Patientenorganisationen auf insgesamt 29 Zwillingspaare zu erhöhen. Die Aussagekraft der Ergebnisse aus dem RLS-Patientenkollektiv ist gegenüber dem Zwillingsregister deutlich eingeschränkt, von einer Normalverteilung eines RLS ist hier nicht auszugehen. Prävalenzberechnungen sind innerhalb dieser RLS-Patientengruppe nicht durchzuführen. Außerdem müssen wir davon ausgehen, dass die 12 Zwillingspaare aufgrund der Ausprägung eines schwereren RLS und einer möglichen innerfamiliären Sensibilisierung für die Erkrankung zu einer Verschiebung der Konkordanzen geführt haben. Ein Mischen der beiden unterschiedlichen Kollektive schränkt die Aussagekraft unserer Ergebnisse daher erheblich ein.

Darüber hinaus war es uns auch nicht möglich die Probanden persönlich zu sehen, um eine neurologische und elektrophysiologische Untersuchung durchzuführen oder die Diagnose mittels Polysomnographie zu verifizieren. Lediglich für einzelne RLS-Zwillinge aus der Klinikpopulation lagen entsprechende Befunde vor. Auch eine einheitliche

Laboruntersuchung zum Ausschluss eines manifesten Eisenmangels oder einer Anämie wurde nicht durchgeführt. Der Einschluss möglicher sekundärer Fälle ist daher nicht auszuschließen. Unsere Diagnose stützte sich somit lediglich auf die klinische Symptomatik, die mittels der Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995; Allen *et al.* 2003) im Rahmen eines diagnostischen Telefoninterviews erhoben wurde.

Die errechneten Konkordanzen und Ergebnisse aus dem Strukturgleichungsmodell sind aufgrund der geringen Probandenzahl vorsichtig zu interpretieren. Für repräsentative Aussagen mittels des Strukturgleichungsmodells sind in der Regel weitaus größere Probandenkollektive notwendig. In Kenntnis der unsicheren Berechnungen, beabsichtigten wir jedoch mit der Anwendung des ACE-Modells eine bestimmte Ergebnisstendenz zu ermitteln, die neue Forschungsansätze liefern soll.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Das Restless Legs Syndrom (RLS) ist eine häufige neurologische Erkrankung, deren Symptomatik mit einem unbeugsamen Bewegungsdrang, insbesondere der unteren Extremitäten, verbunden mit unangenehmen Missempfindungen, einhergeht. Die Beschwerden treten vorwiegend in Ruhephasen auf und folgen typischerweise einer zirkadianen Rhythmik, mit einem Maximum am Abend und in der Nacht (Trenkwalder *et al.* 1999a; Hening *et al.* 1999b). Die familiäre Häufung (Montplaisir *et al.* 1997; Winkelmann *et al.* 2000) sowie die Ergebnisse aus drei RLS-Zwillingsstudien (Ondo *et al.* 2000; Desai *et al.* 2004; Xiong *et al.* 2007), deuten auf eine genetische Grundlage der Erkrankung hin. Bisher konnten häufige genetische Varianten mit schwachem Effekt auf den Phänotyp in vier Genen identifiziert werden, die mit dem Auftreten eines RLS assoziiert sind (Winkelmann *et al.* 2007; Stefansson *et al.* 2007; Schormair *et al.* 2008). Es ließ sich jedoch bis zum jetzigen Zeitpunkt keine seltene Genvariante mit starkem Effekt auf den RLS-Phänotyp identifizieren. Beim RLS handelt es sich um eine komplex-genetische Erkrankung, an deren Pathogenese und Ausprägung genetische und nicht-genetische Faktoren oder Umweltfaktoren beteiligt sind.

In der vorliegenden Arbeit wenden wir die Methode der Zwillingsforschung an, die sich dafür eignet, sowohl die genetischen als auch die umweltbedingten (nicht-genetischen) Komponenten einer Erkrankung abzuschätzen und das Ausmaß der Interaktion dieser Faktoren zu beurteilen.

Hierfür wurden 638 MZ und DZ Zwillingsindividuen aus dem Berliner Zwillingsregister von HealthTwiSt (Busjahn 2006) durch drei RLS-Diagnosefragen innerhalb eines Gesundheitsfragebogens auf das mögliche Vorhandensein eines RLS untersucht. Die drei RLS-Diagnosefragen zur Beurteilung eines RLS enthalten die vier essentiellen Diagnosekriterien der IRLSSG (Walters 1995) und wurden als Selbstbeurteilungsfragebogen bereits in mehreren epidemiologischen Studien verwendet (Rothdach *et al.* 2000; Berger *et al.* 2004). Die Diagnose wurde bei allen Zwillingspaaren, die durch die drei RLS-Diagnosefragen als RLS-verdächtig ermittelt wurden, durch ein diagnostisches Telefoninterview gesichert (Walters 1995; Allen *et al.* 2003). Zusätzliche 34 Zwillingsindividuen wurden aus einer

Klinikpopulation von RLS-Patienten rekrutiert und ebenfalls in einem diagnostischen Telefoninterview auf das Vorhandensein eines RLS untersucht.

Von allen gleichgeschlechtlichen Zwillingspaaren wurde eine Blutprobe erbeten, um durch Genotypisierung von hochpolymorphen Tetranukleotid-Mikrosatellitenmarkern die Zygotie zu bestimmen und die Zwillingspaare als MZ oder DZ zu klassifizieren. Gegengeschlechtliche Paare wurden ohne molekulargenetischen Nachweis als DZ klassifiziert.

Insgesamt konnten 19 MZ und 10 DZ Zwillingspaare mit einem RLS diagnostiziert werden. Vierzehn MZ und fünf DZ Zwillinge waren konkordant für ein RLS. Die Konkordanz (PWC) bei den MZ Zwillingspaaren ergab 73,7%. Für die DZ Zwillinge wurde eine Konkordanz (PWC) von 50% errechnet.

Die klinische Symptomatik zeigte auch innerhalb betroffener Zwillingspaare variable Verläufe. Der Schweregrad unterschied sich um maximal zehn Punktwerte, was höchstens einer Schweregradstufe entspricht. Bei der überwiegenden Anzahl der Zwillingspaare unterschied sich das Alter bei Symptombeginn um weniger als fünf Jahre. Aufgrund der geringen Probandenzahl sind jedoch keine Aussagen über signifikanten Korrelationen innerhalb MZ und DZ Zwillingspaaren in Bezug auf die klinischen Charakteristika und den Verlauf des RLS zu treffen.

Zur Beurteilung der relativen Varianzanteile genetischer und nicht-genetischer Faktoren, die an der Pathogenese des RLS beteiligt sind, wurden mittels Strukturgleichungsmodells ideale Ergebnisse durch das ACE-Modell errechnet. Es zeigte sich, dass genetische Faktoren (A), die mit der Heritabilität gleichgesetzt werden können, mit 32% zwar eine Rolle bei der Pathogenese eines RLS spielen, jedoch der Anteil gemeinsamer Umweltfaktoren (C) mit 67% einen weitaus größeren Einfluss auf die Entstehung eines RLS hat, als der Anteil der genetischen Faktoren. Getrennte Umweltfaktoren (E) scheinen mit einem Varianzanteil von 2% keinen bedeutenden Einfluss auf die Pathogenese eines RLS zu haben.

Der hohe Varianzanteil der gemeinsamen Umweltfaktoren (C) sowie die große Differenz zum Anteil der getrennten Umweltfaktoren (E) deuten darauf hin, dass es sich um sehr frühe, möglicherweise auch prä- und/oder perinatale Effekte in der Entwicklung der Zwillinge

handelt, die zur späteren Ausprägung eines RLS führen. Da diese gemeinsamen Umweltfaktoren (C), im Gegensatz zu den getrennten Umweltfaktoren (E), auf beide Zwillingeindividuen gleichermaßen einwirken, tragen sie, zusätzlich zu den genetischen Faktoren (A), zu deren Gleichheit bei.

Die Ergebnisse des starken Effekts gemeinsamer Umweltfaktoren (C) dürfen wegen der geringen Probandenzahl nicht als absolute Werte missverstanden werden. Vielmehr sollten die Berechnungen richtungweisend sein und dazu führen, in der Erforschung der Ätiologie und Pathogenese des RLS neue Denkansätze zu formulieren.

Auch epigenetische Effekte könnten eine Erklärung für den hohen Varianzanteil der gemeinsamen Umweltfaktoren (C) sein. Durch epigenetische Mechanismen könnte es zu Veränderungen der Genexpression und/oder Genregulation kommen, wodurch sich die Grundlage der Pathogenese eines RLS manifestieren könnte. Es besteht die Möglichkeit den Methylierungsgrad von Cytosin-Basen innerhalb genregulatorischer Bereiche von RLS-assoziierten Genen bei konkordanten und diskordanten Zwillingspaaren zu vergleichen um Aktivitätsunterschiede zu identifizieren. Darüber hinaus könnte durch genomweiten Vergleich des Methylierungsgrades der gesamten DNA und insbesondere CpG-reicher Regionen in RLS-Patienten und gesunden Kontrollpersonen gewebsspezifische Unterschiede und somit weitere Risikogene für das RLS identifiziert werden (Rakyan *et al.* 2008).

Abschließend ist festzuhalten, dass bei der Entstehung eines RLS auch innerfamiliäre Einflüsse beteiligt sind. Genetische Faktoren sind relevant, spielen aber möglicherweise eine geringere Rolle als bisher angenommen. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu bisherigen Studien, die von einer Heredität von bis zu 0,6 ausgegangen sind. Das in der vorliegenden Arbeit errechnete Strukturgleichungsmodell könnte ebenfalls eine Erklärung für RLS-Familienstammbäume mit einer hohen Anzahl (>50%) betroffener Nachkommen sein. Adoptionsstudien und Untersuchungen von getrennt aufwachsenden diskordanten MZ und DZ Zwillingspaaren ermöglichen in Zukunft die Identifizierung spezifischer Einflussfaktoren aus der Umwelt. Qualitative und quantitative Untersuchungen epigenetischer Veränderungen, sowohl bei Zwillingen, als auch im Vergleich von betroffenen und nicht-betroffenen Probanden sollten zukünftig ebenfalls Gegenstand neuer Forschungsmodelle bei RLS sein.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Reference List

- Abetz,L., Allen,R., Follet,A., Washburn,T., Earley,C., Kirsch,J. & Knight,H. 2004. Evaluating the quality of life of patients with restless legs syndrome. *Clin.Ther.*, **26**, 925-935.
- Allen,R.P., Barker,P.B., Wehr,F., Song,H.K. & Earley,C.J. 2001. MRI measurement of brain iron in patients with restless legs syndrome. *Neurology*, **56**, 263-265.
- Allen,R.P.& Earley,C.J. 1996. Augmentation of the restless legs syndrome with carbidopa/levodopa. *Sleep*, **19**, 205-213.
- Allen,R.P.& Earley,C.J. 2000. Defining the phenotype of the restless legs syndrome (RLS) using age-of-symptom-onset. *Sleep Med.*, **1**, 11-19.
- Allen,R.P., La Buda,M.C., Becker,P. & Earley,C.J. 2002. Family history study of the restless legs syndrome. *Sleep Med.*, **3 Suppl**, S3-S7.
- Allen,R.P., Picchiotti,D., Hening,W.A., Trenkwalder,C., Walters,A.S. & Montplaisir,J. 2003. Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the National Institutes of Health. *Sleep Med.*, **4**, 101-119.
- Allen,R.P., Walters,A.S., Montplaisir,J., Hening,W., Myers,A., Bell,T.J. & Ferini-Strambi,L. 2005. Restless legs syndrome prevalence and impact: REST general population study. *Arch.Intern.Med.*, **165**, 1286-1292.
- Anca,M.H., Gazit,E., Loewenthal,R., Ostrovsky,O., Frydman,M. & Giladi,N. 2004. Different phenotypic expression in monozygotic twins with Huntington disease. *Am.J.Med.Genet.A*, **124A**, 89-91.
- Andrew,T., Hart,D.J., Snieder,H., de Lange,M., Spector,T.D. & MacGregor,A.J. 2001. Are twins and singletons comparable? A study of disease-related and lifestyle characteristics in adult women. *Twin.Res.*, **4**, 464-477.
- Beard,J.L.& Connor,J.R. 2003. Iron status and neural functioning. *Annu.Rev.Nutr.*, **23**, 41-58.
- Becker,A., Busjahn,A., Faulhaber,H.D., Bähring,S., Robertson,J., Schuster,H. & Luft,F.C. 1997. Twin zygosity. Automated determination with microsatellites. *J.Reprod.Med.*, **42**, 260-266.
- Berger,K., Luedemann,J., Trenkwalder,C., John,U. & Kessler,C. 2004. Sex and the risk of restless legs syndrome in the general population. *Arch.Intern.Med.*, **164**, 196-202.
- Bird,T.D.& Omenn,G.S. 1975. Monozygotic twins with Huntington's disease in a family expressing the rigid variant. *Neurology*, **25**, 1126-1129.
- Bjorvatn,B., Leissner,L., Ulfberg,J., Gyiring,J., Karlsborg,M., Regeur,L., Skeidsvoll,H., Nordhus,I.H. & Pallesen,S. 2005. Prevalence, severity and risk factors of restless legs

- syndrome in the general adult population in two Scandinavian countries. *Sleep Med.*, **6**, 307-312.
- Bonati,M.T., Ferini-Strambi,L., Aridon,P., Oldani,A., Zucconi,M. & Casari,G. 2003. Autosomal dominant restless legs syndrome maps on chromosome 14q. *Brain*, **126**, 1485-1492.
- Boomsma,D., Busjahn,A. & Peltonen,L. 2002. Classical twin studies and beyond. *Nat.Rev.Genet.*, **3**, 872-882.
- Busjahn,A. 2006. HealthTwiSt: the Berlin Twin Registry. *Twin.Res.Hum.Genet.*, **9**, 778-782.
- Cederlof,R., Friberg,L., Jonsson,E. & Kaij,L. 1961. Studies on similarity diagnosis in twins with the aid of mailed questionnaires. *Acta Genet.Stat.Med.*, **11**, 338-362.
- Cervenka,S., Palhagen,S.E., Comley,R.A., Panagiotidis,G., Cselenyi,Z., Matthews,J.C., Lai,R.Y., Halldin,C. & Farde,L. 2006. Support for dopaminergic hypoactivity in restless legs syndrome: a PET study on D2-receptor binding. *Brain*, **129**, 2017-2028.
- Chang,C.C., Shiah,I.S., Chang,H.A. & Mao,W.C. 2006. Does domperidone potentiate mirtazapine-associated restless legs syndrome? *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry*, **30**, 316-318.
- Chen,S., Ondo,W.G., Rao,S., Li,L., Chen,Q. & Wang,Q. 2004. Genomewide linkage scan identifies a novel susceptibility locus for restless legs syndrome on chromosome 9p. *Am.J.Hum.Genet.*, **74**, 876-885.
- Cheng,L., Samad,O.A., Xu,Y., Mizuguchi,R., Luo,P., Shirasawa,S., Goulding,M. & Ma,Q. 2005. Lbx1 and Tlx3 are opposing switches in determining GABAergic versus glutamatergic transmitter phenotypes. *Nat.Neurosci.*, **8**, 1510-1515.
- Christiansen,L., Frederiksen,H., Schousboe,K., Skytthe,A., Wurmb-Schwark,N., Christensen,K. & Kyvik,K. 2003. Age- and sex-differences in the validity of questionnaire-based zygosity in twins. *Twin.Res.*, **6**, 275-278.
- Clardy,S.L., Earley,C.J., Allen,R.P., Beard,J.L. & Connor,J.R. 2006. Ferritin subunits in CSF are decreased in restless legs syndrome. *J.Lab Clin.Med.*, **147**, 67-73.
- Connor,J.R., Boyer,P.J., Menzies,S.L., Dellinger,B., Allen,R.P., Ondo,W.G. & Earley,C.J. 2003. Neuropathological examination suggests impaired brain iron acquisition in restless legs syndrome. *Neurology*, **61**, 304-309.
- Cuellar,N.G., Strumpf,N.E. & Ratcliffe,S.J. 2007. Symptoms of restless legs syndrome in older adults: outcomes on sleep quality, sleepiness, fatigue, depression, and quality of life. *J.Am.Geriatr.Soc.*, **55**, 1387-1392.
- Dauvilliers,Y., Maret,S., Bassetti,C., Carlander,B., Billiard,M., Touchon,J. & Tafti,M. 2004. A monozygotic twin pair discordant for narcolepsy and CSF hypocretin-1. *Neurology*, **62**, 2137-2138.
- De Sario,A. 2009. Clinical and molecular overview of inherited disorders resulting from epigenomic dysregulation. *Eur.J.Med.Genet.*

- Desai,A.V., Cherkas,L.F., Spector,T.D. & Williams,A.J. 2004. Genetic influences in self-reported symptoms of obstructive sleep apnoea and restless legs: a twin study. *Twin.Res.*, **7**, 589-595.
- Desautels,A., Turecki,G., Montplaisir,J., Sequeira,A., Verner,A. & Rouleau,G.A. 2001. Identification of a major susceptibility locus for restless legs syndrome on chromosome 12q. *Am.J.Hum.Genet.*, **69**, 1266-1270.
- Diener H-C., Putki N. & Kommission für Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie 2008. *Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, 4., überarb. Aufl.*
- Djokanovic,N., Garcia-Bournissen,F. & Koren,G. 2008. Medications for restless legs syndrome in pregnancy. *J.Obstet.Gynaecol.Can.*, **30**, 505-507.
- Douglass,A.B., Harris,L. & Pazderka,F. 1989. Monozygotic twins concordant for the narcoleptic syndrome. *Neurology*, **39**, 140-141.
- Earley,C.J.& Allen,R.P. 1996. Pergolide and carbidopa/levodopa treatment of the restless legs syndrome and periodic leg movements in sleep in a consecutive series of patients. *Sleep*, **19**, 801-810.
- Earley,C.J., Connor,J.R., Beard,J.L., Malecki,E.A., Epstein,D.K. & Allen,R.P. 2000. Abnormalities in CSF concentrations of ferritin and transferrin in restless legs syndrome. *Neurology*, **54**, 1698-1700.
- Earley,C.J., Heckler,D. & Allen,R.P. 2004. The treatment of restless legs syndrome with intravenous iron dextran. *Sleep Med.*, **5**, 231-235.
- Eisensehr,I., Wetter,T.C., Linke,R., Noachtar,S., von Lindeiner,H., Gildehaus,F.J., Trenkwalder,C. & Tatsch,K. 2001. Normal IPT and IBZM SPECT in drug-naive and levodopa-treated idiopathic restless legs syndrome. *Neurology*, **57**, 1307-1309.
- Ekbom,K.A. 1960. Restless legs syndrome. *Neurology*, **10**, 868-873.
- Fraga,M.F., Ballestar,E., Paz,M.F., Ropero,S., Setien,F., Ballestar,M.L., Heine-Suner,D., Cigudosa,J.C., Urioste,M., Benitez,J., Boix-Chornet,M., Sanchez-Aguilera,A., Ling,C., Carlsson,E., Poulsen,P., Vaag,A., Stephan,Z., Spector,T.D., Wu,Y.Z., Plass,C. & Esteller,M. 2005. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, **102**, 10604-10609.
- Friedman,J.H., Trieschmann,M.E., Myers,R.H. & Fernandez,H.H. 2005. Monozygotic twins discordant for Huntington disease after 7 years. *Arch.Neurol.*, **62**, 995-997.
- Galton,F. 1876. The History of Twins, as a Criterion of the Relative Powers of Nature and Nurture. *The Journal of the Antropological Institute of Great Britain and Ireland*.
- Garcia-Borreguero,D., Larrosa,O., de la,L.Y., Verger,K., Masramon,X. & Hernandez,G. 2002. Treatment of restless legs syndrome with gabapentin: a double-blind, cross-over study. *Neurology*, **59**, 1573-1579.
- Gemignani,F., Brindani,F., Negrotti,A., Vitetta,F., Alfieri,S. & Marbini,A. 2006. Restless legs syndrome and polyneuropathy. *Mov Disord.*, **21**, 1254-1257.

- Gemignani,F.& Marbini,A. 2002. Restless legs syndrome and peripheral neuropathy. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*, **72**, 555.
- Georgiou,N., Bradshaw,J.L., Chiu,E., Tudor,A., O'Gorman,L. & Phillips,J.G. 1999. Differential clinical and motor control function in a pair of monozygotic twins with Huntington's disease. *Mov Disord.*, **14**, 320-325.
- Gigli,G.L., Adorati,M., Dolso,P., Piani,A., Valente,M., Brotini,S. & Budai,R. 2004. Restless legs syndrome in end-stage renal disease. *Sleep Med.*, **5**, 309-315.
- Goetz,C.G.& Tanner,C.M. 1990. Gilles de la Tourette's syndrome in twins: clinical and neurochemical data. *Mov Disord.*, **5**, 173-175.
- Gomez-Esteban,J.C., Lezcano,E., Zarranz,J.J., Velasco,F., Garamendi,I., Perez,T. & Tijero,B. 2007. Monozygotic twins suffering from Huntington's disease show different cognitive and behavioural symptoms. *Eur.Neurol.*, **57**, 26-30.
- Goodman,J.D., Brodie,C. & Ayida,G.A. 1988. Restless leg syndrome in pregnancy. *BMJ*, **297**, 1101-1102.
- Guilleminault,C., Cetel,M. & Philip,P. 1993. Dopaminergic treatment of restless legs and rebound phenomenon. *Neurology*, **43**, 445.
- Happe,S., Sauter,C., Klosch,G., Saletu,B. & Zeitlhofer,J. 2003. Gabapentin versus ropinirole in the treatment of idiopathic restless legs syndrome. *Neuropsychobiology*, **48**, 82-86.
- Hening,W., Allen,R., Earley,C., Kushida,C., Picchietti,D. & Silber,M. 1999a. The treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder. An American Academy of Sleep Medicine Review. *Sleep*, **22**, 970-999.
- Hening,W.A. 2004. Restless legs syndrome: the most common and least diagnosed sleep disorder. *Sleep Med.*, **5**, 429-430.
- Hening,W.A. 2007. Current guidelines and standards of practice for restless legs syndrome. *Am.J.Med.*, **120**, S22-S27.
- Hening,W.A., Allen,R.P., Earley,C.J., Picchietti,D.L. & Silber,M.H. 2004. An update on the dopaminergic treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder. *Sleep*, **27**, 560-583.
- Hening,W.A., Walters,A., Kavey,N., Gidro-Frank,S., Cote,L. & Fahn,S. 1986. Dyskinesias while awake and periodic movements in sleep in restless legs syndrome: treatment with opioids. *Neurology*, **36**, 1363-1366.
- Hening,W.A., Walters,A.S., Wagner,M., Rosen,R., Chen,V., Kim,S., Shah,M. & Thai,O. 1999b. Circadian rhythm of motor restlessness and sensory symptoms in the idiopathic restless legs syndrome. *Sleep*, **22**, 901-912.
- Hogl,B., Kiechl,S., Willeit,J., Saletu,M., Frauscher,B., Seppi,K., Muller,J., Rungger,G., Gasperi,A., Wenning,G. & Poewe,W. 2005. Restless legs syndrome: a community-based study of prevalence, severity, and risk factors. *Neurology*, **64**, 1920-1924.

- Honda,M., Honda,Y., Uchida,S., Miyazaki,S. & Tokunaga,K. 2001. Monozygotic twins incompletely concordant for narcolepsy. *Biol.Psychiatry*, **49**, 943-947.
- Hublin,C., Kaprio,J., Partinen,M., Koskenvuo,M., Heikkila,K., Koskimies,S. & Guilleminault,C. 1994. The prevalence of narcolepsy: an epidemiological study of the Finnish Twin Cohort. *Ann.Neurol.*, **35**, 709-716.
- Hyde,T.M., Aaronson,B.A., Randolph,C., Rickler,K.C. & Weinberger,D.R. 1992. Relationship of birth weight to the phenotypic expression of Gilles de la Tourette's syndrome in monozygotic twins. *Neurology*, **42**, 652-658.
- Imlah,N.W. 1961. Narcolepsy in identical twins. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*, **24**, 158-160.
- Jackson,R.W., Snieder,H., Davis,H. & Treiber,F.A. 2001. Determination of twin zygosity: a comparison of DNA with various questionnaire indices. *Twin.Res.*, **4**, 12-18.
- Jang,K.L., Livesley,W.J. & Vernon,P.A. 2002. The etiology of personality function: the University of British Columbia Twin Project. *Twin.Res.*, **5**, 342-346.
- Jenkins,R.L.& Ashby,H.B. 1983. Gilles de la Tourette's syndrome in identical twins. *Arch.Neurol.*, **40**, 249-251.
- Kaprio,J., Hublin,C., Partinen,M., Heikkila,K. & Koskenvuo,M. 1996. Narcolepsy-like symptoms among adult twins. *J.Sleep Res.*, **5**, 55-60.
- Kasriel,J.& Eaves,L. 1976. The zygosity of twins: further evidence on the agreement between diagnosis by blood groups and written questionnaires. *J.Biosoc.Sci.*, **8**, 263-266.
- Kemlink,D., Plazzi,G., Vetrugno,R., Provini,F., Polo,O., Stiasny-Kolster,K., Oertel,W., Nevsimalova,S., Sonka,K., Hogg,B., Frauscher,B., Hadjigeorgiou,G.M., Pramstaller,P.P., Lichtner,P., Meitinger,T., Muller-Myshok,B., Winkelmann,J. & Montagna,P. 2008. Suggestive evidence for linkage for restless legs syndrome on chromosome 19p13. *Neurogenetics.*, **9**, 75-82.
- Kemlink,D., Polo,O., Montagna,P., Provini,F., Stiasny-Kolster,K., Oertel,W., de Weerd,A., Nevsimalova,S., Sonka,K., Hogg,B., Frauscher,B., Poewe,W., Trenkwalder,C., Pramstaller,P.P., Ferini-Strambi,L., Zucconi,M., Konofal,E., Arnulf,I., Hadjigeorgiou,G.M., Happe,S., Klein,C., Hiller,A., Lichtner,P., Meitinger,T., Muller-Myshok,B. & Winkelmann,J. 2007. Family-based association study of the restless legs syndrome loci 2 and 3 in a European population. *Mov Disord.*, **22**, 207-212.
- Khatami,R., Maret,S., Werth,E., Retey,J., Schmid,D., Maly,F., Tafti,M. & Bassetti,C.L. 2004. Monozygotic twins concordant for narcolepsy-cataplexy without any detectable abnormality in the hypocretin (orexin) pathway. *Lancet*, **363**, 1199-1200.
- Kock,N., Culjkovic,B., Maniak,S., Schilling,K., Muller,B., Zuhlke,C., Ozelius,L., Klein,C., Pramstaller,P.P. & Kramer,P.L. 2002. Mode of inheritance and susceptibility locus for restless legs syndrome, on chromosome 12q. *Am.J.Hum.Genet.*, **71**, 205-208.
- Kraus,T., Schuld,A. & Pollmacher,T. 1999. Periodic leg movements in sleep and restless legs syndrome probably caused by olanzapine. *J.Clin.Psychopharmacol.*, **19**, 478-479.

- Lauerma,H.& Markkula,J. 1999. Treatment of restless legs syndrome with tramadol: an open study. *J.Clin.Psychiatry*, **60**, 241-244.
- Lavigne,G.J.& Montplaisir,J.Y. 1994. Restless legs syndrome and sleep bruxism: prevalence and association among Canadians. *Sleep*, **17**, 739-743.
- Lazzarini,A., Walters,A.S., Hickey,K., Coccagna,G., Lugaresi,E., Ehrenberg,B.L., Picchietti,D.L., Brin,M.F., Stenroos,E.S., Verrico,T. & Johnson,W.G. 1999. Studies of penetrance and anticipation in five autosomal-dominant restless legs syndrome pedigrees. *Mov Disord.*, **14**, 111-116.
- Levchenko,A., Montplaisir,J.Y., Asselin,G., Provost,S., Girard,S.L., Xiong,L., Lemyre,E., St Onge,J., Thibodeau,P., Desautels,A., Turecki,G., Gaspar,C., Dube,M.P. & Rouleau,G.A. 2008. Autosomal-dominant locus for restless legs syndrome in French-Canadians on chromosome 16p12.1. *Mov Disord.*
- Levchenko,A., Provost,S., Montplaisir,J.Y., Xiong,L., St Onge,J., Thibodeau,P., Riviere,J.B., Desautels,A., Turecki,G., Dube,M.P. & Rouleau,G.A. 2006. A novel autosomal dominant restless legs syndrome locus maps to chromosome 20p13. *Neurology*, **67**, 900-901.
- Liebetanz,K.M., Winkelmann,J., Trenkwalder,C., Putz,B., Dichgans,M., Gasser,T. & Muller-Myhsok,B. 2006. RLS3: fine-mapping of an autosomal dominant locus in a family with intrafamilial heterogeneity. *Neurology*, **67**, 320-321.
- Lorenz,D., Frederiksen,H., Moises,H., Kopper,F., Deuschl,G. & Christensen,K. 2004. High concordance for essential tremor in monozygotic twins of old age. *Neurology*, **62**, 208-211.
- Manconi,M.& Ferini-Strambi,L. 2004. Restless legs syndrome among pregnant women. *Sleep*, **27**, 350.
- Manconi,M., Ferini-Strambi,L., Filippi,M., Bonanni,E., Iudice,A., Murri,L., Gigli,G.L., Fratticci,L., Merlino,G., Terzano,G., Granella,F., Parrino,L., Silvestri,R., Arico,I., Dattola,V., Russo,G., Luongo,C., Cicolin,A., Tribolo,A., Cavalla,P., Savarese,M., Trojano,M., Ottaviano,S., Cirignotta,F., Simioni,V., Salvi,F., Mondino,F., Perla,F., Chinaglia,G., Zuliani,C., Cesnik,E., Granieri,E., Placidi,F., Palmieri,M.G., Manni,R., Terzaghi,M., Bergamaschi,R., Rocchi,R., Ulivelli,M., Bartalini,S., Ferri,R., Lo,F.S., Ubiali,E., Viscardi,M., Rottoli,M., Nobili,L., Protti,A., Ferrillo,F., Allena,M., Mancardi,G., Guarnieri,B. & Londrillo,F. 2008. Multicenter case-control study on restless legs syndrome in multiple sclerosis: the REMS study. *Sleep*, **31**, 944-952.
- Manconi,M., Govoni,V., De Vito,A., Economou,N.T., Cesnik,E., Casetta,I., Mollica,G., Ferini-Strambi,L. & Granieri,E. 2004. Restless legs syndrome and pregnancy. *Neurology*, **63**, 1065-1069.
- Marsden,C.D. 1987. Parkinson's disease in twins. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*, **50**, 105-106.
- Martin,N.G.& Martin,P.G. 1975. The inheritance of scholastic abilities in a sample of twins. I. Ascertainments of the sample and diagnosis of zygosity. *Ann.Hum.Genet.*, **39**, 213-218.
- Marttila,R.J., Kaprio,J., Koskenvuo,M. & Rinne,U.K. 1988. Parkinson's disease in a nationwide twin cohort. *Neurology*, **38**, 1217-1219.

- Matalon Lagnado,L.& Cohn Deke,S. 1994. *Die Zwillinge des Dr. Mengele. Der Arzt von Auschwitz und seine Opfer.*
- Mercader,N., Leonardo,E., Azpiazu,N., Serrano,A., Morata,G., Martinez,C. & Torres,M. 1999. Conserved regulation of proximodistal limb axis development by Meis1/Hth. *Nature*, **402**, 425-429.
- Merlino,G., Fratticci,L., Valente,M., Del Giudice,A., Noacco,C., Dolso,P., Cancelli,I., Scalise,A. & Gigli,G.L. 2007. Association of restless legs syndrome in type 2 diabetes: a case-control study. *Sleep*, **30**, 866-871.
- Michaud,M., Soucy,J.P., Chabli,A., Lavigne,G. & Montplaisir,J. 2002. SPECT imaging of striatal pre- and postsynaptic dopaminergic status in restless legs syndrome with periodic leg movements in sleep. *J.Neurol.*, **249**, 164-170.
- Mignot,E. 2007. A step forward for restless legs syndrome. *Nat.Genet.*, **39**, 938-939.
- Miller,C.A., III& Costa,M. 1988. Characterization of DNA-protein complexes induced in intact cells by the carcinogen chromate. *Mol.Carcinog.*, **1**, 125-133.
- Mizuhara,E., Nakatani,T., Minaki,Y., Sakamoto,Y., Ono,Y. & Takai,Y. 2005. MAGI1 recruits Dll1 to cadherin-based adherens junctions and stabilizes it on the cell surface. *J.Biol.Chem.*, **280**, 26499-26507.
- Mizuno,S., Mihara,T., Miyaoka,T., Inagaki,T. & Horiguchi,J. 2005a. CSF iron, ferritin and transferrin levels in restless legs syndrome. *J.Sleep Res.*, **14**, 43-47.
- Mizuno,S., Miyaoka,T., Inagaki,T. & Horiguchi,J. 2005b. Prevalence of restless legs syndrome in non-institutionalized Japanese elderly. *Psychiatry Clin.Neurosci.*, **59**, 461-465.
- Montplaisir,J., Boucher,S., Nicolas,A., Lesperance,P., Gosselin,A., Rompre,P. & Lavigne,G. 1998. Immobilization tests and periodic leg movements in sleep for the diagnosis of restless leg syndrome. *Mov Disord.*, **13**, 324-329.
- Montplaisir,J., Boucher,S., Poirier,G., Lavigne,G., Lapierre,O. & Lesperance,P. 1997. Clinical, polysomnographic, and genetic characteristics of restless legs syndrome: a study of 133 patients diagnosed with new standard criteria. *Mov Disord.*, **12**, 61-65.
- Montplaisir,J., Godbout,R., Poirier,G. & Bedard,M.A. 1986. Restless legs syndrome and periodic movements in sleep: physiopathology and treatment with L-dopa. *Clin.Neuropharmacol.*, **9**, 456-463.
- Montplaisir,J.& Poirier,G. 1987. Narcolepsy in monozygotic twins. *Neurology*, **37**, 1089.
- Murken,J., Grimm,T. & Holinski-Feder,E. 2006. *Taschenlehrbuch Humangenetik.*
- Nichols,D.A., Allen,R.P., Grauke,J.H., Brown,J.B., Rice,M.L., Hyde,P.R., Dement,W.C. & Kushida,C.A. 2003. Restless legs syndrome symptoms in primary care: a prevalence study. *Arch.Intern.Med.*, **163**, 2323-2329.
- Neale, M. C., Boker, S. M., Xie, G. & Maes, H. H. *Mx: Statistical Modeling* 6th edn, Department of Psychiatry, VCU Box 900126, Richmond, Virginia 23298, USA. (2002).

- Nichols,R.C.& Bilbro,W.C., Jr. 1966. The diagnosis of twin zygosity. *Acta Genet.Stat.Med.*, **16**, 265-275.
- O'Keeffe,S.T., Gavin,K. & Lavan,J.N. 1994. Iron status and restless legs syndrome in the elderly. *Age Ageing*, **23**, 200-203.
- Ohayon,M.M.& Roth,T. 2002. Prevalence of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder in the general population. *J.Psychosom.Res.*, **53**, 547-554.
- Ondo,W.& Jankovic,J. 1996. Restless legs syndrome: clinicoetiologic correlates. *Neurology*, **47**, 1435-1441.
- Ondo,W., Romanyshyn,J., Vuong,K.D. & Lai,D. 2004. Long-term treatment of restless legs syndrome with dopamine agonists. *Arch.Neurol.*, **61**, 1393-1397.
- Ondo,W.G., Vuong,K.D. & Wang,Q. 2000. Restless legs syndrome in monozygotic twins: clinical correlates. *Neurology*, **55**, 1404-1406.
- Page,R.L., Ruscin,J.M., Bainbridge,J.L. & Brieke,A.A. 2008. Restless legs syndrome induced by escitalopram: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy*, **28**, 271-280.
- Phillips,B., Young,T., Finn,L., Asher,K., Hening,W.A. & Purvis,C. 2000. Epidemiology of restless legs symptoms in adults. *Arch.Intern.Med.*, **160**, 2137-2141.
- Pichler,I., Hicks,A.A. & Pramstaller,P.P. 2008. Restless legs syndrome: an update on genetics and future perspectives. *Clin.Genet.*, **73**, 297-305.
- Pichler,I., Marroni,F., Volpato,C.B., Gusella,J.F., Klein,C., Casari,G., De Grandi,A. & Pramstaller,P.P. 2006. Linkage analysis identifies a novel locus for restless legs syndrome on chromosome 2q in a South Tyrolean population isolate. *Am.J.Hum.Genet.*, **79**, 716-723.
- Price,R.A., Kidd,K.K., Cohen,D.J., Pauls,D.L. & Leckman,J.F. 1985. A twin study of Tourette syndrome. *Arch.Gen.Psychiatry*, **42**, 815-820.
- Rakyan,V.K., Down,T.A., Thorne,N.P., Flicek,P., Kulesha,E., Graf,S., Tomazou,E.M., Backdahl,L., Johnson,N., Herberth,M., Howe,K.L., Jackson,D.K., Miretti,M.M., Fiegler,H., Marioni,J.C., Birney,E., Hubbard,T.J., Carter,N.P., Tavare,S. & Beck,S. 2008. An integrated resource for genome-wide identification and analysis of human tissue-specific differentially methylated regions (tDMRs). *Genome Res.*, **18**, 1518-1529.
- Randolph,C., Hyde,T.M., Gold,J.M., Goldberg,T.E. & Weinberger,D.R. 1993. Tourette's syndrome in monozygotic twins. Relationship of tic severity to neuropsychological function. *Arch.Neurol.*, **50**, 725-728.
- Rangarajan,S., Rangarajan,S. & D'Souza,G.A. 2007. Restless legs syndrome in an Indian urban population. *Sleep Med.*, **9**, 88-93.
- Rende,R.D., Plomin,R. & Vandenberg,S.G. 1990. Who discovered the twin method? *Behav.Genet.*, **20**, 277-285.
- Rothdach,A.J., Trenkwalder,C., Haberstock,J., Keil,U. & Berger,K. 2000. Prevalence and risk factors of RLS in an elderly population: the MEMO study. Memory and Morbidity in Augsburg Elderly. *Neurology*, **54**, 1064-1068.

- Rottach,K.G., Schaner,B.M., Kirch,M.H., Zivotofsky,A.Z., Teufel,L.M., Gallwitz,T. & Messer,T. 2008. Restless legs syndrome as side effect of second generation antidepressants. *J.Psychiatr.Res.*, **43**, 70-75.
- Ruottinen,H.M., Partinen,M., Hublin,C., Bergman,J., Haaparanta,M., Solin,O. & Rinne,J.O. 2000. An FDOPA PET study in patients with periodic limb movement disorder and restless legs syndrome. *Neurology*, **54**, 502-504.
- Rutkove,S.B., Matheson,J.K. & Logigian,E.L. 1996. Restless legs syndrome in patients with polyneuropathy. *Muscle Nerve*, **19**, 670-672.
- Schiottz-Christensen,E. 1969. Chorea Huntington and epilepsy in monozygotic twins. *Eur.Neurol.*, **2**, 250-255.
- Schormair,B., Kemlink,D., Roeske,D., Eckstein,G., Xiong,L., Lichtner,P., Ripke,S., Trenkwalder,C., Zimprich,A., Stiasny-Kolster,K., Oertel,W., Bachmann,C.G., Paulus,W., Hogg,B., Frauscher,B., Gschliesser,V., Poewe,W., Peglau,I., Vodicka,P., Vavrova,J., Sonka,K., Nevsimalova,S., Montplaisir,J., Turecki,G., Rouleau,G., Gieger,C., Illig,T., Wichmann,H.E., Holsboer,F., Muller-Myhsok,B., Meitinger,T. & Winkelmann,J. 2008. PTPRD (protein tyrosine phosphatase receptor type delta) is associated with restless legs syndrome. *Nat.Genet.*, **40**, 946-948.
- Sevim,S., Dogu,O., Camdeviren,H., Bugdayci,R., Sasmaz,T., Kalegasi,H., Aral,M. & Helvacı,I. 2003. Unexpectedly low prevalence and unusual characteristics of RLS in Mersin, Turkey. *Neurology*, **61**, 1562-1569.
- Siddiqui,S., Kavanagh,D., Traynor,J., Mak,M., Deighan,C. & Geddes,C. 2005. Risk factors for restless legs syndrome in dialysis patients. *Nephron Clin.Pract.*, **101**, c155-c160.
- Silber,M.H., Ehrenberg,B.L., Allen,R.P., Buchfuhrer,M.J., Earley,C.J., Hening,W.A. & Rye,D.B. 2004. An algorithm for the management of restless legs syndrome. *Mayo Clin.Proc.*, **79**, 916-922.
- Siribaddana,S.H., Ball,H.A., Hewage,S.N., Glozier,N., Kovas,Y., Dayaratne,D., Sumathipala,A., McGuffin,P. & Hotopf,M. 2008. Colombo Twin and Singleton Study (CoTASS): a description of a population based twin study of mental disorders in Sri Lanka. *BMC.Psychiatry*, **8**, 49.
- Spector,T.D.& MacGregor,A.J. 2002. The St. Thomas' UK Adult Twin Registry. *Twin.Res.*, **5**, 440-443.
- Spector,T.D.& Williams,F.M. 2006. The UK Adult Twin Registry (TwinsUK). *Twin.Res.Hum.Genet.*, **9**, 899-906.
- Stefansson,H., Rye,D.B., Hicks,A., Petursson,H., Ingason,A., Thorgeirsson,T.E., Palsson,S., Sigmundsson,T., Sigurdsson,A.P., Eiriksdottir,I., Soebach,E., Bliwise,D., Beck,J.M., Rosen,A., Waddy,S., Trotti,L.M., Iranzo,A., Thambisetty,M., Hardarson,G.A., Kristjansson,K., Gudmundsson,L.J., Thorsteinsdottir,U., Kong,A., Gulcher,J.R., Gudbjartsson,D. & Stefansson,K. 2007. A genetic risk factor for periodic limb movements in sleep. *N.Engl.J.Med.*, **357**, 639-647.
- Stiasny,K., Robbecke,J., Schuler,P. & Oertel,W.H. 2000. Treatment of idiopathic restless legs syndrome (RLS) with the D2-agonist cabergoline--an open clinical trial. *Sleep*, **23**, 349-354.

- Stiasny-Kolster,K., Kohnen,R., Moller,J.C., Trenkwalder,C. & Oertel,W.H. 2006. Validation of the "L-DOPA test" for diagnosis of restless legs syndrome. *Mov Disord.*, **21**, 1333-1339.
- Sudarsky,L., Myers,R.H. & Walshe,T.M. 1983. Huntington's disease in monozygotic twins reared apart. *J.Med.Genet.*, **20**, 408-411.
- Sun,E.R., Chen,C.A., Ho,G., Earley,C.J. & Allen,R.P. 1998. Iron and the restless legs syndrome. *Sleep*, **21**, 371-377.
- Tan,E.K., Seah,A., See,S.J., Lim,E., Wong,M.C. & Koh,K.K. 2001. Restless legs syndrome in an Asian population: A study in Singapore. *Mov Disord.*, **16**, 577-579.
- Tanner,C.M., Goldman,S.M., Lyons,K.E., Aston,D.A., Tetrud,J.W., Welsh,M.D., Langston,J.W. & Koller,W.C. 2001. Essential tremor in twins: an assessment of genetic vs environmental determinants of etiology. *Neurology*, **57**, 1389-1391.
- Tanner,C.M., Ottman,R., Goldman,S.M., Ellenberg,J., Chan,P., Mayeux,R. & Langston,J.W. 1999. Parkinson disease in twins: an etiologic study. *JAMA*, **281**, 341-346.
- Tison,F., Crochard,A., Leger,D., Bouee,S., Lainey,E. & El Hasnaoui,A. 2005. Epidemiology of restless legs syndrome in French adults: a nationwide survey: the INSTANT Study. *Neurology*, **65**, 239-246.
- Torgersen,S. 1979. The determination of twin zygosity by means of a mailed questionnaire. *Acta Genet.Med.Gemellol.(Roma.)*, **28**, 225-236.
- Trenkwalder,C., Hening,W.A., Walters,A.S., Campbell,S.S., Rahman,K. & Chokroverty,S. 1999a. Circadian rhythm of periodic limb movements and sensory symptoms of restless legs syndrome. *Mov Disord.*, **14**, 102-110.
- Trenkwalder,C., Seidel,V.C., Gasser,T. & Oertel,W.H. 1996. Clinical symptoms and possible anticipation in a large kindred of familial restless legs syndrome. *Mov Disord.*, **11**, 389-394.
- Trenkwalder,C., Stiasny,K., Pollmacher,T., Wetter,T., Schwarz,J., Kohnen,R., Kazenwadel,J., Kruger,H.P., Ramm,S., Kunzel,M. & . 1995. L-dopa therapy of uremic and idiopathic restless legs syndrome: a double-blind, crossover trial. *Sleep*, **18**, 681-688.
- Trenkwalder,C., Walters,A.S., Hening,W.A., Chokroverty,S., Antonini,A., Dhawan,V. & Eidelberg,D. 1999b. Positron emission tomographic studies in restless legs syndrome. *Mov Disord.*, **14**, 141-145.
- Tribl,G.G., Asenbaum,S., Happe,S., Bonelli,R.M., Zeitlhofer,J. & Auff,E. 2004. Normal striatal D2 receptor binding in idiopathic restless legs syndrome with periodic leg movements in sleep. *Nucl.Med.Commun.*, **25**, 55-60.
- Trzepacz,P.T., Violette,E.J. & Sateia,M.J. 1984. Response to opioids in three patients with restless legs syndrome. *Am.J.Psychiatry*, **141**, 993-995.
- Turjanski,N., Lees,A.J. & Brooks,D.J. 1999. Striatal dopaminergic function in restless legs syndrome: 18F-dopa and 11C-raclopride PET studies. *Neurology*, **52**, 932-937.

- Ulfberg,J., Nystrom,B., Carter,N. & Edling,C. 2001a. Prevalence of restless legs syndrome among men aged 18 to 64 years: an association with somatic disease and neuropsychiatric symptoms. *Mov Disord.*, **16**, 1159-1163.
- Ulfberg,J., Nystrom,B., Carter,N. & Edling,C. 2001b. Restless Legs Syndrome among working-aged women. *Eur.Neurol.*, **46**, 17-19.
- Viergge,P. 1987. Gilles de la Tourette's syndrome in monozygotic twins. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*, **50**, 1554-1556.
- Viergge,P., Hagenah,J., Heberlein,I., Klein,C. & Ludin,H.P. 1999. Parkinson's disease in twins: a follow-up study. *Neurology*, **53**, 566-572.
- Viergge,P., Schiffke,K.A., Friedrich,H.J., Muller,B. & Ludin,H.P. 1992. Parkinson's disease in twins. *Neurology*, **42**, 1453-1461.
- Vogl,F.D., Pichler,I., Adel,S., Pinggera,G.K., Bracco,S., De Grandi,A., Volpato,C.B., Aridon,P., Mayer,T., Meitinger,T., Klein,C., Casari,G. & Pramstaller,P.P. 2006. Restless legs syndrome: epidemiological and clinicogenetic study in a South Tyrolean population isolate. *Mov Disord.*, **21**, 1189-1195.
- von Spiczak,S., Whone,A.L., Hammers,A., Asselin,M.C., Turkheimer,F., Tings,T., Happe,S., Paulus,W., Trenkwalder,C. & Brooks,D.J. 2005. The role of opioids in restless legs syndrome: an [11C]diprenorphine PET study. *Brain*, **128**, 906-917.
- Walters,A.S. 1995. Toward a better definition of the restless legs syndrome. The International Restless Legs Syndrome Study Group. *Mov Disord.*, **10**, 634-642.
- Walters,A.S., Hickey,K., Maltzman,J., Verrico,T., Joseph,D., Hening,W., Wilson,V. & Chokroverty,S. 1996. A questionnaire study of 138 patients with restless legs syndrome: the 'Night-Walkers' survey. *Neurology*, **46**, 92-95.
- Walters,A.S., LeBrocq,C., Dhar,A., Hening,W., Rosen,R., Allen,R.P. & Trenkwalder,C. 2003. Validation of the International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Med.*, **4**, 121-132.
- Walters,A.S., Wagner,M.L., Hening,W.A., Grasing,K., Mills,R., Chokroverty,S. & Kavey,N. 1993. Successful treatment of the idiopathic restless legs syndrome in a randomized double-blind trial of oxycodone versus placebo. *Sleep*, **16**, 327-332.
- Walters,A.S., Winkelmann,J., Trenkwalder,C., Fry,J.M., Kataria,V., Wagner,M., Sharma,R., Hening,W. & Li,L. 2001. Long-term follow-up on restless legs syndrome patients treated with opioids. *Mov Disord.*, **16**, 1105-1109.
- Ward,C.D., Duvoisin,R.C., Ince,S.E., Nutt,J.D., Eldridge,R. & Calne,D.B. 1983. Parkinson's disease in 65 pairs of twins and in a set of quadruplets. *Neurology*, **33**, 815-824.
- Waserman,J., Lal,S. & Gauthier,S. 1983. Gilles de la Tourette's syndrome in monozygotic twins. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*, **46**, 75-77.
- Wetter,T.C., Brunner,J. & Bronisch,T. 2002. Restless legs syndrome probably induced by risperidone treatment. *Pharmacopsychiatry*, **35**, 109-111.

- Winkelman,J.W. 2006. Considering the causes of RLS. *Eur.J.Neurol.*, **13 Suppl 3**, 8-14.
- Winkelman,J.W., Chertow,G.M. & Lazarus,J.M. 1996. Restless legs syndrome in end-stage renal disease. *Am.J.Kidney Dis.*, **28**, 372-378.
- Winkelmann,J., Lichtner,P., Putz,B., Trenkwalder,C., Hauk,S., Meitinger,T., Strom,T. & Muller-Myhsok,B. 2006. Evidence for further genetic locus heterogeneity and confirmation of RLS-1 in restless legs syndrome. *Mov Disord.*, **21**, 28-33.
- Winkelmann,J., Schormair,B., Lichtner,P., Ripke,S., Xiong,L., Jalilzadeh,S., Fulda,S., Putz,B., Eckstein,G., Hauk,S., Trenkwalder,C., Zimprich,A., Stiasny-Kolster,K., Oertel,W., Bachmann,C.G., Paulus,W., Peglau,I., Eisensehr,I., Montplaisir,J., Turecki,G., Rouleau,G., Gieger,C., Illig,T., Wichmann,H.E., Holsboer,F., Muller-Myhsok,B. & Meitinger,T. 2007. Genome-wide association study of restless legs syndrome identifies common variants in three genomic regions. *Nat.Genet.*, **39**, 1000-1006.
- Winkelmann,J., Stautner,A., Samtleben,W. & Trenkwalder,C. 2002. Long-term course of restless legs syndrome in dialysis patients after kidney transplantation. *Mov Disord.*, **17**, 1072-1076.
- Winkelmann,J., Wetter,T.C., Collado-Seidel,V., Gasser,T., Dichgans,M., Yassouridis,A. & Trenkwalder,C. 2000. Clinical characteristics and frequency of the hereditary restless legs syndrome in a population of 300 patients. *Sleep*, **23**, 597-602.
- Wirdefeldt,K., Gatz,M., Schalling,M. & Pedersen,N.L. 2004. No evidence for heritability of Parkinson disease in Swedish twins. *Neurology*, **63**, 305-311.
- Xiong,L., Jang,K., Montplaisir,J., Levchenko,A., Thibodeau,P., Gaspar,C., Turecki,G. & Rouleau,G.A. 2007. Canadian restless legs syndrome twin study. *Neurology*, **68**, 1631-1633.

9. DANKSAGUNG

An dieser Stelle danke ich allen Personen, die zum Entstehen der vorliegenden Arbeit mit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Juliane Winkelmann für die exzellente Betreuung bei dieser Arbeit. Zuerst möchte ich mich bei Ihr für die Überlassung dieses außerordentlich spannenden Themas bedanken, was mir zudem die Möglichkeit erbracht hat, mit einem so faszinierenden Probandenkollektiv wie Zwillingen zu arbeiten. Sie hat mir stets den von mir erwünschten Freiraum überlassen, stand mir jedoch zu jeder Zeit mit offenem Ohr konstruktiv zur Seite und unterstützte mich selbstlos durch Ihren kostbaren fachlichen Rat. In guter Atmosphäre konnte so mein wissenschaftliches Interesse wachsen.

Herrn Dr. Andreas Busjahn danke ich für die Bereitstellung des Zwillingskollektives aus dem Zwillingsregister von HealthTwist Berlin, für die fachlichen Ratschläge, mit denen er mir stets zur Seite stand und für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Frau Jelena Golic, Mitarbeiterin im Helmholtz Zentrum, möchte ich besonders für Ihre bereitwillige und professionelle Hilfestellung im Labor sowie bei den zahlreichen organisatorischen Aufgaben danken. Es hat mir immer sehr viel Freude bereitet mit ihr produktiv zusammen zu arbeiten.

Ein ganz besonderer Dank gilt natürlich allen Zwillingen, die mit Interesse, Aufmerksamkeit und persönlichem Aufwand diese Arbeit unterstützt haben und ohne die dieses Projekt nicht hätte durchgeführt werden können.

Zuletzt möchte ich mich noch bei meiner Familie und bei meinen Freunden bedanken, die mich während der ganzen Arbeit, soweit möglich, fachlich und moralisch unterstützt haben, besonders Thilo Weinzierl, der durch seine unendliche Geduld und sein Verständnis auch die schwierigsten Phasen souverän entschärfen und mich immer wieder neu motivieren konnte.

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern, um ihnen an dieser Stelle nochmals all meinen Dank auszusprechen, für das, was sie mir bisher alles ermöglicht haben. Ohne ihren Rückhalt in sämtlichen Lebenslagen und Situationen und ihre aufopfernde Unterstützung wäre dies alles nicht möglich gewesen.

10. LEBENSLAUF

Name: Groß
Vorname: Nadine
Geburtsdatum: 07. Juni 1979
Geburtsort: Illingen
Familienstand: ledig

Schulbildung:

1985-1989 Grundschule Dirmingen
1989-1998 Illtalgymnasium Illingen/Saar

Berufsausbildung:

10/1998-06/2000 Ausbildung zur Kauffrau im Groß- und Außenhandel,
Raab Karcher Baustoffe GmbH, Illingen und Homburg/Saar
Abschluss im Juni 2000
06/2000-10/2000 Kaufmännische Angestellte,
Raab Karcher Baustoffe GmbH, Homburg/Saar
12/2000-03/2002 Ausbildung zur Veterinärmedizinisch-technischen
Assistentin, Staatliches Veterinäruntersuchungsamt, Krefeld

Studium:

2002-2004 Studium der Humanmedizin, vorklinischer Abschnitt, Ludwig-
Maximilians-Universität, München
2004-2008 Studium der Humanmedizin, klinischer Abschnitt,
Technische Universität München
Seit 02/2009 Assistenzärztin im Klinikum rechts der Isar, Klinik für
Neurologie

Anamnesebogen

Datum: _____

1. Angaben zur Person:

1.1. Name:

1.2. Vorname:

1.3. Geburtsname: _____

1.4. Adresse: _____

Telefon _____ Email: _____

2. Familienstand

2.1. Verheiratet, mit Ehepartner(in) zusammen lebend ₁ 2.4. Geschieden..... ₄

2.2. Verheiratet, von Ehepartner(in) getrennt lebend ₂ 2.5. Verwitwet ₅

2.3. Lebe mit einem Partner zusammen ₃ 2.6. Ledig..... ₆

3. Ausbildung und Tätigkeit

3.1. Welchen höchsten Schul- bzw. Hochschulabschluss haben Sie?

Abschluss 9.Klasse oder weniger ... ₁ Fachschule ₄

Abschluss 10. Klasse ₂ Uni-/(Fach-)Hochschulstudium ₅

Abitur ₃

3.2. Trifft eine der folgenden Angaben auf Ihre derzeitige Situation zu?

In Schulausbildung ₁ Arbeitslos gemeldet ₆

In Hochschulausbildung ₂ Freiwilliges soziales/ökologisches Jahr ₇

Hausfrau/Hausmann ₃ Umschulung/ABM ₈

Altershalber in Rente/pensioniert ... ₄ Erwerbstätig (voll und teil) ₉

Vorzeitig in Rente/pensioniert..... ₅ Nichts davon trifft zu ₀

3.4. Beruf _____

4. Körpermaße

4.1. Wie groß sind Sie? (in cm) _____

4.2. Wie viel wiegen Sie? (auf ganze kg runden)* _____

4.3. Taillen-/Bundweite (ohne zu schnüren um die Taille, in cm) _____

4.4. Hüft-/Gesäßumfang (an der stärksten Stelle des Gesäßes, in cm) _____

(*Für Frauen: falls Sie z. Zt. schwanger sind, schätzen Sie bitte die Maße vor der Schwangerschaft)

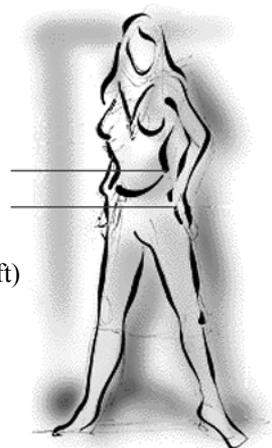
4.5. Hat sich Ihr Körpergewicht, insgesamt gesehen, in den letzten 3 Jahren verändert?

(Falls Sie ab- und zugenommen haben, wählen Sie bitte das aus, was am ehesten auf Sie zutrifft.)

Nein, in etwa gleich geblieben ₀ Ich weiß nicht

Ja, eher zugenommen Um wie viel kg? _____

Ja, eher abgenommen Um wie viel kg? _____



5. Wie häufig verrichten Sie anstrengende körperliche Tätigkeiten (z.B. Schwimmen, Laufen, Aerobic, Fahrrad fahren usw.)?

selten/nie..... ₀ 2-3mal pro Woche ... ₃

weniger als einmal pro Woche ₁ 4-6mal pro Woche ... ₄

einmal pro Woche ₂ täglich ₅

Wie viel Stunden im Durchschnitt pro Woche? _____

6. **Haben Sie jemals regelmäßig Zigaretten (mind. 1 Zigarette pro Tag) geraucht?**Ja ₁ Nein ₀
- 6.1. Wenn Ja, wie alt waren Sie, als Sie begannen regelmäßig zu rauchen? Alter _____ Jahre
- 6.2. Wie viel Jahre rauchen Sie bzw. haben Sie insgesamt geraucht? Jahre: ____ Rauch(t)e weniger als 1 Jahr ₀
- 6.3. Wie viel Zigaretten rauch(t)en Sie im Durchschnitt pro Tag? Anzahl _____
- 6.4. Rauchen Sie jetzt noch?Ja ₁ Nein ₀
Wie alt waren Sie, als Sie aufgehört haben zu rauchen? Alter _____
- 6.5. Zigarren-/PfeifenraucherJa ₁ Nein ₀

7. **Wie oft trinken Sie im Durchschnitt alkoholische Getränke?**

- nie ₀ weniger als einmal ₁ mehrmals ₂ täglich ₃
pro Woche pro Woche

Wie viele Gläser trinken Sie im Durchschnitt pro Woche? Anzahl Gläser _____
Ist das meistens Wein ₁ Bier ₂ hochprozentige Spirituosen ₃

8. **Allergien / Hauterkrankungen**

- 8.1. Waren Sie schon einmal beim Hautarzt? ja ₁ nein ₀
- 8.2. Haben Sie manchmal eine laufende oder verstopfte, juckende Nase, ohne erkältet zu sein? Ja ₁ Nein ₀
wenn ja, haben Sie dabei auch tränende, juckende Augen?Ja ₁ Nein ₀
- 8.3. Hatten Sie mehrfach wiederkehrende juckende, schuppige Hautveränderungen, die stärker oder schwächer über mindestens 6 Monate auftraten?Ja ₁ Nein ₀
Wenn ja, trat der Ausschlag in Ellenbeuge oder Kniekehle auf (Beugeneckzem)?Ja ₁ Nein ₀
- 8.4. Wurde bei Ihnen jemals die Diagnose atopisches Ekzem, Neurodermitis oder endogenes Ekzem gestellt?
Ja ₁ Nein ₀
Wenn ja, wie häufig waren Sie deshalb beim Arzt?..... nie ₀ gelegentlich ₁ ständig ₂

9. **Wurde bei Ihnen jemals ein hoher Blutdruck festgestellt?** ja ₁ Nein ₀ ich weiß nicht ₉
wenn ja, wann _____ (Lebensjahr)
höchste Blutdruckwerte: ____/____ mmHg oder Blutdruck nicht bekannt ₉
wurde/wird der Bluthochdruck behandeltJa ₁ Nein ₀
wenn ja, von _____ bis _____ (Lebensjahr)
mit MedikamentenJa ₁ Nein ₀
wenn ja, welche _____
mit nichtmedikamentösen MaßnahmenJa ₁ Nein ₀
wenn ja, welche _____

10. **Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit):**

- Wurde bereits eine Zuckerkrankheit festgestellt?Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉
wenn ja, wann _____ (Lebensjahr)
wurde/wird der Diabetes behandelt.....Ja ₁ Nein ₀
wenn ja, mit DiätJa ₁ Nein ₀
mit InsulinJa ₁ Nein ₀
mit anderen Medikamenten.....Ja ₁ Nein ₀
Angabe der Medikamente _____
Behandlung von _____ bis _____ (Lebensjahr)

11. Wurde bei Ihnen jemals ein erhöhter Cholesterinspiegel festgestellt?

Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉ wenn ja, wann _____ (Lebensjahr)
wurde/wird der hohe Cholesterinspiegel behandelt?.....Ja ₁ Nein ₀
wenn ja, mit Diät.....Ja ₁ Nein ₀
mit MedikamentenJa ₁ Nein ₀
Angabe der Medikamente _____
Behandlung von _____ bis _____ (Lebensjahr)

12. Weitere Erkrankungen

12.1. Haben Sie einen Schlaganfall erlitten? Ja ₁ Nein ₀ wenn ja, wann _____ (Lebensjahr)
12.2. Haben Sie einen Herzinfarkt erlitten? Ja ₁ Nein ₀ wenn ja, wann _____ (Lebensjahr)
12.3. Haben Sie Missempfindungen wie Kribbeln, „Ameisenlaufen“ oder Schmerzen an den Beinen, verbunden mit einem Bewegungsdrang?.....Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉
12.4. Treten diese Symptome nur in Ruhe bzw. beim Einschlafen auf und lassen sie sich durch Bewegung bessern?
Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉
12.5. Sind diese Symptome abends oder nachts schlimmer als morgens?Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉
12.6. Wie würden Sie insgesamt die Qualität Ihres Schlafes während des letzten Jahres beurteilen?
sehr schlecht ₁ ziemlich schlecht ₂ ziemlich gut ₃ sehr gut ₄
12.7. Haben Sie Schwierigkeiten beim Einschlafen?Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉
12.8. Haben Sie Schwierigkeiten beim Durchschlafen?Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉
12.9. Weitere bisher nicht erwähnte chronische Erkrankungen:Ja ₁ nein ₀ ich weiß nicht ₉

13. Welche weiteren Medikamente (außer der „Pille“ – siehe unten – und den bereits unter 9. – 11. angegebenen) nehmen Sie zur Zeit ein?

14. Die folgenden Fragen betreffen nur Frauen:

14.1. Hormonelle Schwangerschaftsverhütung (einschließlich anderer medizinischer Gründe).
Nehmen Sie zurzeit die „Pille“.....Ja ₁ Nein ₀
Wenn ja, welches Präparat ? _____
14.2. Hormonersatz-Therapie in Zusammenhang mit den Wechseljahren.
Nehmen Sie zurzeit Hormonpräparate, d.h. Östrogene und/oder Gestagene im Zusammenhang mit den (bevorstehenden) Wechseljahren bzw. nach Entfernung beider Eierstöcke im Rahmen einer sogenannten Hormonersatz-Therapie?Ja ₁ Nein ₀
Wenn ja, welches Präparat ? _____

Weitere Bemerkungen:

Bitte zurücksenden an:

Dr. Busjahn
Franz-Volhard-Klinik
Wiltbergstr. 50

13125 Berlin

—



Zwillingsstudie

München, August 2005

Sehr geehrte/r Herr/Frau

Sie und Ihr Zwillingsgeschwister haben sich vor einiger Zeit beim Berliner Zwillingsregister HealthTwiSt angemeldet und dabei einen Fragebogen zu Ihrem Gesundheitszustand ausgefüllt.

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Humangenetik des Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit (GSF) und dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München führen wir jetzt eine Untersuchung zum Thema Schlaf und „unruhige Beine“ durch. Hierbei geht es um den Einfluss von genetischen Faktoren auf den Schlaf sowie Einflussfaktoren, die zu Veränderungen des Schlafprofils führen können.

Sie selbst oder Ihr Zwilling haben in Ihrem Fragebogen Beschwerden angegeben, die auf eine Beeinträchtigung der Schlafqualität hinweisen. Deshalb würden wir gerne ein Telefoninterview von max. 20 Minuten Dauer durchführen und Ihnen anschließend nochmals einen Fragebogen zusenden. Natürlich entstehen für Sie dabei keine Kosten.

Bitte füllen Sie das beiliegende Formular bezüglich Ihrer Erreichbarkeit aus und senden Sie dies möglichst bald im beiliegenden vorfrankierten Rückumschlag direkt an die Kollegen aus München zurück. Frau Nadine Groß oder Frau Dr. Stephanie Hauk werden sich telefonisch mit Ihnen zum gewünschten Zeitpunkt in Verbindung setzen. Selbstverständlich werden alle erhobenen Daten nur in anonymisierter Form ausgewertet und persönliche Daten nicht weitergegeben.

Für Rückfragen können Sie sich jederzeit mit den Studienleitern Frau Dr. Juliane Winkelmann vom Institut für Humangenetik und dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie (089-3187-3525) oder Herrn Dr. Andreas Busjahn von HealthTwiSt (0800-1289467) in Verbindung setzen.

Herzlichen Dank für Ihre Mithilfe und Unterstützung unseres Forschungsprojektes.

Mit freundlichen Grüßen

Dr. habil. Andreas Busjahn
HealthTwiSt GmbH, Berlin

Dr. med. Juliane Winkelmann
Institut für Humangenetik, München

GSF-Forschungszentrum
Institut für Humangenetik
Geb. 34
Dr. Winkelmann/ Groß
Ingolstädter Landstraße 1
D-85764 Neuherberg/München

<h2>Rückantwort</h2>

Name: _____

Vorname: _____

Straße: _____

Nr.: _____

PLZ: _____

Wohnort: _____

Geburtsdatum: ____ . ____ . ____

Telefonnummer: _____ / _____

alternativ: _____ / _____

Am besten bin ich um _____ Uhr zu erreichen.

Sonstiges: _____

Ort/Datum

Unterschrift

Zentrum/Ort	Pat.-ID	Untersucher	Datum
-------------	---------	-------------	-------

Name: _____ Vorname: _____

Geschlecht: männlich weiblich

Geburtsdatum: ____/____/____ Geburtsort: _____

➤ Zygote nach Auskunft des Patienten:
 eineiig zweieiig unbekannt

Sozialanamnese:

➤ Familienstand:
 ledig verheiratet geschieden verwitwet zusammenlebend

➤ Haben Sie Kinder? _____

➤ Zwillingsgeschwister: Name: _____ Vorname: _____

➤ Haben Sie noch weitere Geschwister? _____

➤ Wie sind Sie und Ihr Zwillingsgeschwister aufgewachsen?
 getrennt zusammen
wenn getrennt, ab wann? _____
 wie lange? _____

➤ Beruf:

Schulabschluss	Berufsausbildung	Aktuell ausgeübte Tätigkeit
<input type="checkbox"/> ohne	<input type="checkbox"/> keine	<input type="checkbox"/> arbeitslos
<input type="checkbox"/> Hauptschule	<input type="checkbox"/> Ausbildung/Lehre	<input type="checkbox"/> Ausbildung
<input type="checkbox"/> Realschule	<input type="checkbox"/> Fachschule	<input type="checkbox"/> Angestellte/r
<input type="checkbox"/> Fachhochschulreife	<input type="checkbox"/> Meister	<input type="checkbox"/> selbständig
<input type="checkbox"/> Abitur	<input type="checkbox"/> Fachhochschule	<input type="checkbox"/> Rentner/in
	<input type="checkbox"/> Universität	<input type="checkbox"/> Hausfrau-/mann
	<input type="checkbox"/> andere/weitere	<input type="checkbox"/> sonstiges

Schlafstörungen:

➤ Haben Sie Schwierigkeiten beim **Einschlafen**?
 ja nein unbekannt

• Wie lange benötigen Sie zum Einschlafen? _____ min

• Subjektiv geäußerte Gründe für Einschlafverzögerung:

➤ Haben Sie Schwierigkeiten beim **Durchschlafen**?
 ja nein unbekannt

• Wie häufig wachen Sie nachts auf? _____

- Sind Sie aufgrund des Bewegungsdrangs **oder** der Missempfindung gezwungen aufzustehen und umherzulaufen?
 ja nein unbekannt

- Wodurch spüren Sie eine Besserung der Beschwerden?

- Wie oft treten die Beschwerden auf?

- 6-7x wöchentlich
 4-5x wöchentlich
 2-3x wöchentlich
 2-4x monatlich
 1x monatlich
 mindestens 1x jährlich aber
 weniger als 1x monatlich
 weniger als 1x jährlich

- Zu welcher Tageszeit treten die Beschwerden hauptsächlich auf?

- vormittags ca. _____ Uhr
 nachmittags ca. _____ Uhr
 abends ca. _____ Uhr
 nachts ca. _____ Uhr
 keine bestimmte Tageszeit
 Sonstige Angaben: _____

- Wann sind die Beschwerden zum **allerersten** Mal aufgetreten?

Im Alter von Jahren jetziges Alter e

- Verlauf der Beschwerden über die Zeit

- immer gleich
 wechselnd vorhanden
 immer zunehmend
 mal schlagartig verschwunden

- Wie würden Sie die Missempfindungen spontan beschreiben?

- Würden Sie die Beschwerden charakterisieren als:

- | | | |
|--------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| ▪ Missempfindungen | ja <input type="checkbox"/> | nein <input type="checkbox"/> |
| ▪ Kribbeln | ja <input type="checkbox"/> | nein <input type="checkbox"/> |
| ▪ Ziehen | ja <input type="checkbox"/> | nein <input type="checkbox"/> |
| ▪ Reißen | ja <input type="checkbox"/> | nein <input type="checkbox"/> |
| ▪ Stechen | ja <input type="checkbox"/> | nein <input type="checkbox"/> |
| ▪ Schmerzen | ja <input type="checkbox"/> | nein <input type="checkbox"/> |
| ▪ Jucken | ja <input type="checkbox"/> | nein <input type="checkbox"/> |

- Betreffen die Beschwerden eher die Haut/Oberfläche der Beine oder kommen sie „von innen“?

- Oberfläche/Haut
 „von innen“

- **Wo** treten die Beschwerden auf?

- Fuß
 Unterschenkel

Oberschenkel
 Hände
 Arme
 Sonstige Angaben: _____

➤ **Wie** treten die Beschwerden bevorzugt auf?
 einseitig: nur rechts nur links
 beidseitig: gleichzeitig abwechselnd
 Sonstiges: _____

➤ Haben Sie manchmal unwillkürliche Bewegungen oder Zuckungen der Beine in der Nacht?
 ja nein unbekannt

Bestätigt durch Bettpartner?
 ja nein unbekannt

wenn ja, wachen Sie davon auf?
 ja nein unbekannt

➤ Haben Sie manchmal unwillkürliche krampfartige Bewegungen oder Zuckungen („Ausschlagen“) der Beine während Ruhephasen am Tag festgestellt?
 ja nein unbekannt

➤ Gibt es noch weitere Familienmitglieder, die unter RLS-Beschwerden leiden?

➤ Haben Ihre Eltern, Großeltern oder Geschwister sich jemals über irgendwelche Beschwerden in den Beinen geäußert?
 ja nein unbekannt

➤ Wie waren die Beschwerden in der Schwangerschaft? (Anzahl und Jahreszahl aller Schwangerschaften erfragen!)

	1. SWS	2. SWS	3. SWS	4. SWS
besser	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
schlechter	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
unverändert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
nicht vorhanden	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ Hat/hatte Ihr Zyklus Einfluss auf die Beschwerden?
 ja nein unbekannt

wenn ja:

	1. – 7 Tag	8. – 14 Tag	15. - 21. Tag	22. - 28.Tag
Beginn der Beschwerden				
Ende der Beschwerden				
Sonstige Verteilung der Beschwerden				

➤ Nehmen/nahmen Sie jemals Hormonpräparate ein?
 ja nein unbekannt

wenn ja, welche Hormonpräparate? _____, seit _____

haben diese Hormonpräparate einen Einfluss auf Ihre Beschwerden?
 ja nein unbekannt

- Hat der Genuss von Alkohol einen Einfluss auf diese Beschwerden?
ja nein unbekannt

➤ Haben Sie jemals wegen **dieser** Beschwerden Medikamente eingenommen wie:

➤

• **Schmerzmittel** (Aspirin, Paracetamol, Benuron,)
ja _____

nein unbekannt

• **L-Dopa** (Madopar, Nacom, Isicom, Restex)
ja _____

nein unbekannt

• **Opiate** (Valoron, Tramadol)
ja _____

nein unbekannt

• **Dopaminagonisten** (Cabaseril, Sifrol, Requip, Parkotil)
ja _____

nein unbekannt

• **Schlaf- oder Beruhigungsmittel**
ja _____

nein unbekannt

• **Andere Medikamente**
ja _____

nein unbekannt

wenn ja, haben sich die Beschwerden durch diese Medikamente gebessert?

ja

nein

unbekannt

➤ Welche Medikamente nehmen Sie aktuell wegen dieser Beschwerden (RLS-Beschwerden) ein?

➤ Wurde bei Ihnen schon einmal ein Eisenmangel festgestellt?

ja

nein

unbekannt

wenn ja,

wann?: _____

Ursache?: _____

Therapie?: _____

➤ Litten Sie in Ihrer Kindheit unter **Wachstumsschmerzen**?

ja

nein

unbekannt

➤ Wurde bei Ihnen in der Kindheit eine **Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung (ADHS)** diagnostiziert? (oder wurden sie als Zappelphilipp bezeichnet)

ja

nein

unbekannt

Psychiatrische Erkrankungen:

➤ Waren Sie jemals in psychiatrischer Behandlung?

ja

wenn ja, weshalb? _____

nein

➤ Haben Sie sich jemals über einen längeren Zeitraum traurig oder niedergeschlagen gefühlt? (**ohne besonderen Grund/Ursache**)

ja

nein

unbekannt

➤ Fühlten Sie sich jemals über längere Zeit antriebslos und hatten wegen dieser Beschwerden Schwierigkeiten Ihren Alltag (Beruf, Familie, Freizeitaktivitäten, etc.) zu bewältigen?

ja

nein

unbekannt

➤ Litten Sie jemals unter einem Gefühl der Angst, welches Sie bestimmte Situationen vermeiden ließ oder zu einer Einschränkung des alltäglichen Lebens in vielen Bereichen (Beruf, Familie, Freizeitaktivitäten, etc.) führte?

ja

nein

unbekannt

Weitere Erkrankungen:

➤ Welche sonstigen Medikamente nehmen Sie regelmäßig ein?

Erkrankung	ja	nein	unbe- kannt	Bemerkung/Therapie
Nierenerkrankung				
Dialysepflicht				
Diabetes mellitus				
Eisenmangel				
Polyneuropathie				
Orthopädische Erkrankungen				
Hypertonus				
Herzerkrankungen				
Schilddrüsen-erkrankung				
Rheumatoide Arthritis				
Maligne Erkrankungen				
Migräne				
Tinnitus				
paVK				
Operationen				
Sonstiges				

Diagnose:

Essentielle Kriterien:

1. Bewegungsdrang der Beine gewöhnlich mit Missempfindungen verbunden
2. Bewegungsdrang **oder** Missempfindungen verschlechtern sich durch Inaktivität
3. Bewegungsdrang **oder** Missempfindungen bessern sich durch Bewegung wie Gehen, Strecken, Massieren zumindest solange die Bewegung anhält.
4. Bewegungsdrang **oder** Missempfindungen sind am Abend oder in der Nacht schlechter

Diagnose-Sicherheit:

- 1= RLS und alle 4 Diagnostischen Kriterien erfüllt
 + unterstützt durch Ansprechen auf eine dopaminerge Therapie oder Polysomnographie
- 2= RLS und alle 4 diagnostischen Kriterien erfüllt
- 3= RLS wahrscheinlich (nur 3 von 4 Kriterien erfüllt)
- 4= RLS möglich: (weniger als 3 Kriterien erfüllt)
- 5= Sicher kein RLS (bestätigt durch telef. Kontakt, bisher niemals RLS Beschwerden)
- 6= Diagnose unbekannt
- 7= sonstiges (Anamnese unklar ect.) Kommentar: _____

Kommentar:

Beurteilungs-Skala der Internationalen RLS-Studiengruppe (IRLS)

Bitte lassen Sie den Patienten/die Patientin in den folgenden zehn Fragen den Schweregrad seiner/ihrer Beschwerden einschätzen. Die Beurteilung sollte der Patient/die Patientin vornehmen und nicht der Untersucher, aber der Untersucher sollte für Erklärungen zur Verfügung stehen, falls dem Patienten/der Patientin etwas unklar ist. Der Untersucher kreuzt die Antworten des Patienten/der Patientin auf dem Fragebogen an.

In der letzten Woche...

1. Wie stark würden Sie die RLS-Beschwerden in Ihren Beinen oder Armen einschätzen?

₄ sehr ₃ ziemlich ₂ mäßig ₁ leicht ₀ nicht vorhanden

2. Wie stark würden Sie Ihren Drang einschätzen, sich wegen Ihrer RLS-Beschwerden bewegen zu müssen?

₄ sehr ₃ ziemlich ₂ mäßig ₁ leicht ₀ nicht vorhanden

3. Wie sehr wurden die RLS-Beschwerden in Ihren Beinen oder Armen durch Bewegung gelindert?

₄ überhaupt nicht gelindert ₃ ein wenig gelindert ₂ mäßig gelindert ₁ vollständig oder fast vollständig gelindert ₀ Es mussten keine RLS-Beschwerden gelindert werden.

4. Wie sehr wurde Ihr Schlaf durch Ihre RLS-Beschwerden gestört?

₄ sehr ₃ ziemlich ₂ mäßig ₁ leicht ₀ überhaupt nicht

5. Wie müde oder schläfrig waren Sie tagsüber wegen Ihrer RLS-Beschwerden?

₄ sehr ₃ ziemlich ₂ mäßig ₁ ein wenig ₀ überhaupt nicht

Beurteilungs-Skala der Internationalen RLS-Studiengruppe (IRLS)

6. Wie stark waren Ihre RLS-Beschwerden insgesamt?

- ₄ sehr ₃ ziemlich ₂ mäßig ₁ leicht ₀ nicht vorhanden

7. Wie oft sind Ihre RLS-Beschwerden aufgetreten?

- ₄ sehr oft
(das heißt an 6 bis 7 Tagen in der Woche) ₃ oft
(das heißt an 4 bis 5 Tagen in der Woche) ₂ manchmal
(das heißt an 2 bis 3 Tagen in der Woche) ₁ selten
(das heißt an einem Tag in der Woche) ₀ überhaupt nicht

8. Wenn Sie RLS-Beschwerden hatten, wie stark waren diese durchschnittlich?

- ₄ sehr
(das heißt: an 8 Stunden oder mehr an einem 24-Stundentag) ₃ ziemlich
(das heißt: an 3 bis 8 Stunden an einem 24-Stundentag) ₂ mäßig
(das heißt: an 1 bis 3 Stunden an einem 24-Stundentag) ₁ leicht
(das heißt: an weniger als 1 Stunde an einem 24-Stundentag) ₀ nicht vorhanden

9. Wie sehr haben sich Ihre RLS – Beschwerden auf Ihre Fähigkeit ausgewirkt, Ihren Alltags-tätigkeiten nachzugehen, z. B. ein zufriedenstellendes Familien-, Privat-, Schul- oder Arbeitsleben zu führen?

- ₄ sehr ₃ ziemlich ₂ mäßig ₁ leicht ₀ überhaupt nicht

10. Wie stark haben Ihre RLS-Beschwerden Ihre Stimmung beeinträchtigt, waren Sie z.B. wütend, niedergeschlagen, traurig, ängstlich oder gereizt?

- ₄ sehr ₃ ziemlich ₂ mäßig ₁ leicht ₀ überhaupt nicht