



Fakultät für Medizin

**Klinik und Poliklinik für Psychiatrie & Psychotherapie der
Technischen Universität München Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. Förstl)**

Zusammenhang zwischen *SORL1*-Polymorphismen und Liquorproteinen bei der Alzheimerkrankheit

Martina Kratzer

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

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

Prüfer der Dissertation:

1. Prof. Dr. R. G. Perneczky
2. Univ.-Prof. Dr. J. Förstl

Die Dissertation wurde am 28.10.2013 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 26.02.2014 angenommen.

1. Abkürzungsverzeichnis	5
2. Einleitung	6
2.1 Demenz vom Alzheimer-Typ	6
2.1.1 Symptome und Pathogenese.....	6
2.1.2 Epidemiologie	8
2.2 Mild Cognitive Impairment	9
2.3 <i>APOE</i>	10
2.4 Liquormarker	11
2.4.1 Tau-Protein	12
2.4.2 Amyloid-Protein:.....	12
2.5 <i>SORL1</i>	17
2.5.1 Struktur und Funktion.....	17
2.5.2 Einzelnukleotidpolymorphismen.....	24
2.6 Fragestellung.....	27
3. Methoden	30
3.1 Alzheimer´s Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)	30
3.2 Studienteilnehmer.....	32
3.3 Untersuchungsmethoden	34
3.3.1 Liquoruntersuchung	34
3.3.2 Genetische Daten	34
3.4 Statistische Auswertung	36
4. Ergebnisse	37
4.1 Liquoruntersuchung.....	37
4.2 Genotypisierung	38
4.3 Ergebnisse der statistischen Auswertung.....	39
4.3.1 Lineare Regressionsanalyse.....	39
4.3.2 Separate multivariate Varianzanalyse.....	40
4.3.3 Interaktionen zwischen <i>APOE4</i> und <i>SORL1</i> -SNPs.....	45

5. Diskussion	47
6. Zusammenfassung.....	57
7. Literaturverzeichnis	59
8. Abbildungsverzeichnis	67

1. Abkürzungsverzeichnis

A β ₁₋₄₂ =	Amyloid- β ₁₋₄₂ -Peptid
APP=	Amyloidvorläuferprotein (Amyloid precursor protein)
ADNI =	Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative
ADRDA=	Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
AICD=	APP-intrazelluläre Domäne
AK =	Alzheimer-Krankheit
BACE=	β -site APP-cleaving enzyme
CDR =	Clinical dementia rating
FAD=	familial Alzheimer's disease
GWAS =	Genomweite Assoziationsstudie
IDE=	insulin-degrading enzyme
LD =	Linkage Disequilibrium
LOAD =	late-onset Alzheimer disease
MAF =	minor allele frequency
MCI =	Mild Cognitive Impairment
MMSE =	Mini Mental Status Examination
NINCDS=	National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke
pTau ₁₈₁ =	Tau, phosphoryliert an Threonin 181
QC =	Qualitätskontrolle (quality control)
sAPP=	lösliches APP (soluble APP)
SNP =	Single nucleotide polymorphism (Einzelnukleotidpolymorphismus)
TGN=	Trans-Golgi-Netzwerk
tTau =	total-Tau

2. Einleitung

2.1 Demenz vom Alzheimer-Typ

2.1.1 Symptome und Pathogenese

Die Alzheimer-Krankheit ist eine neurodegenerative Erkrankung mit zunehmender Abnahme kognitiver und körperlicher Fähigkeiten. Sie zeichnet sich durch einen schleichenden Beginn aus. Im Verlauf der Erkrankung kommt es zum Neuronenverlust und zur Einschränkung von Gedächtnis, Sprache und anderer kognitiver Funktionen wie z.B. räumlicher Orientierung und räumlich-konstruktiver Fähigkeiten. Am Anfang der Krankheit stehen Störungen des Kurzzeitgedächtnisses und der Merkfähigkeit. In ihrem weiteren Verlauf verschwinden auch bereits eingeprägte Inhalte des Langzeitgedächtnisses, so dass die Betroffenen zunehmend die während ihres Lebens erworbenen Fähigkeiten und Fertigkeiten verlieren. Weiterhin kommt es zu Veränderungen in Persönlichkeit und Verhalten. Diese manifestieren sich in einer Verminderung der Affektkontrolle und des Antriebs oder in einer Veränderung des Sozialverhaltens. Körperliche Symptome fehlen in den ersten Krankheitsjahren meist. Die kognitiven Einschränkungen sind bei den Betroffenen unterschiedlich stark ausgeprägt und nehmen im Verlauf der Erkrankung zu. Sie machen die Bewältigung des normalen Alltagslebens immer schwieriger. Schließlich verlieren die Patienten die Fähigkeit zur selbstständigen Versorgung. Darüber hinaus führen im Verlauf zunehmende körperliche Symptome wie Gangunsicherheit, Schluckstörungen und Inkontinenz häufig zu stationärer Pflegebedürftigkeit.

Im Jahre 1906 wurden durch Alois Alzheimer die pathologischen Veränderungen der Alzheimer-Krankheit erstmalig bei einem jungen Menschen gezeigt und damit berühmt gemacht. Er stellte einen Zusammenhang zwischen den geistigen Einschränkungen seiner Patientin Auguste D. und den Ergebnissen der neuropathologischen Untersuchung ihres Gehirns her. Die im Gehirn gefundenen besonderen Proteinaggregate, die Amyloidplaques und die neurofibrillären Tangles (NFT), kennzeichnen die Alzheimerpathologie (Goedert and Spillantini, 2006). Nachdem Allsop, Landon et al., im Jahre 1983 den Hauptbestandteil der Amyloidplaques, das Amyloid- β (A β), identifiziert hatten (Allsop et al., 1983), wurde kurz darauf herausgefunden, dass A β aus dem längeren Amyloidvorläuferprotein (APP) entsteht (Kang et al., 1987).

Im gleichen Zeitraum wurde die hyperphosphorylierte Form des Tau-Proteins als Hauptkomponente der neurofibrillären Tangles (NFT) entdeckt (Grundke-Iqbal et al., 1986). Sowohl APP als auch Tau wurden seit ihrer Entdeckung intensiv untersucht. Am weitesten ist die Amyloid-Hypothese verbreitet, was die Entstehung der Alzheimer-Krankheit betrifft. Nach dieser Hypothese ist die Akkumulation von A β im Gehirn ein wesentlicher Bestandteil der Alzheimerpathogenese. Man vermutet, dass eine gestörte A β -Homöostase, die die Akkumulation von A β im Gehirn begünstigt, das früheste Ereignis im Prozess der Alzheimer-Krankheit darstellt (Blennow et al., 2006). Aus dem Ungleichgewicht zwischen A β -Produktion und A β -Clearance resultieren andere krankheitsbezogene Prozesse, einschließlich der Bildung von NFT (Hardy and Allsop, 1991); (Hardy and Selkoe, 2002).

Im Rahmen der Amyloid-Clearance gibt es unterschiedliche Vorgänge. Zum einen kommt es zum Abbau des β -Amyloids z. B. durch unterschiedliche Enzyme wie Zinkmetalloendopeptidasen Neprilysin und IDE (Insulin-degrading enzyme) (Duan et al., 2012). Zum anderen zeigten einige Studien, dass eine cerebrovaskuläre Dysfunktion zu einer gestörten A β -Clearance über die Bluthirnschranke führen kann (Deane et al., 2008); (Sagare et al., 2012).

Duan et al. gehen davon aus, dass β -Amyloid direkt oder über oxidative Zellschädigung zur Aktivierung von Kinasen führt, die Tau zu phosphoryliertem Tau umwandeln (Duan et al., 2012). Das phosphorylierte Tau wiederum aggregiert in neurofibrillären Tangles (NFT).

Typischerweise sind die Amyloidplaques in den Gehirnarealen lokalisiert, die an der Gedächtnisbildung beteiligt sind, wie im limbischen System. Speziell finden sich die Plaques in der Amygdala, die im medialen Teil des Temporallappen lokalisiert ist und zusammen mit dem Gyrus cinguli und dem Hippocampus zum limbischen System gehört. Initial finden sich Ablagerungen des phosphorylierten Proteins Tau im Locus coeruleus. Darauf folgend werden sie im entorhinalen Kortex und in Bereichen des Hippocampus und Neokortex gefunden (Braak and Del Tredici, 2011).

2.1.2 Epidemiologie

Demenzerkrankungen zählen zu den häufigsten Erkrankungen in den Industrieländern. Dabei werden die Alzheimer-Demenz, die vaskuläre Demenz, die Lewy-Body-Demenz und die Frontotemporale-Demenz unterschieden. Am häufigsten sind wahrscheinlich Mischformen zwischen der Alzheimer-Demenz und der vaskulären Demenz. Geschätzt gab es im Jahre 2010 weltweit 36 Millionen Alzheimerkranke. Die Anzahl der Erkrankten weltweit soll bis 2030 auf 66 Millionen und bis 2050 auf 115 Millionen steigen. Das vorhergesagte Wachstum an Alzheimerpatienten liegt am ehesten an der steigenden Lebenserwartung in Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen (Wortmann, 2012).

Das Risiko eine Demenz zu entwickeln verdoppelt sich nach dem 65. Lebensjahr alle fünf Jahre. In Deutschland rechnet man mit 300.000 Neuerkrankungen pro Jahr. Die Prävalenz beträgt in der Altersgruppe der 65- bis 69-jährigen etwas mehr als 1% und steigt auf circa 40% bei den über 90-jährigen, was sich in einer Gesamtzahl von ungefähr 1,5 Millionen Erkrankten widerspiegelt. Man schätzt, dass jährlich 40.000 Erkrankte dazukommen und sich ihre Anzahl bis 2050 auf ca. 3 Millionen verdoppeln wird. Neuere Zahlen weisen darauf hin, dass in Industriestaaten eine weniger dramatische Entwicklung der Erkrankungszahlen eintreten wird, da z.B. Risikofaktoren für Gefäßerkrankungen besser kontrolliert werden. Weiterhin können Verbesserungen in den Bereichen Bildung, Prävention und Behandlungsstrategien in den letzten Dekaden zu einer verringerten Inzidenz und Prävalenz führen (Matthews et al., 2013).

Eine genauere Aufstellung findet man im *World Alzheimer Report 2009* (Prince, 2009). Die Kosten in Europa nur im Jahre 2008 beliefen sich auf mehr als 177 Milliarden € (Wimo et al., 2011). Die jährlichen Kosten werden auf ca. 20.000 € pro Patient geschätzt, höher als bei Krebs- oder Herz-Kreislaufkrankungen (Hampel et al., 2011). Durch die steigende Anzahl an Patienten und die damit verbundenen Kosten werden die Gesundheits- und Gesundheitssysteme vor große Herausforderungen gestellt. Manch Autor bezeichnet die Krankheit auch als moderne Epidemie (Hampel et al., 2011). Daher ist es so wichtig, Wege zu finden, um die frühe Diagnosestellung zu ermöglichen und geeignete Therapiemöglichkeiten zu finden bzw. zu verbessern.

2.2 **Mild Cognitive Impairment**

Eine andere Diagnose im Feld der kognitiven Beschwerden stellt das Mild Cognitive Impairment dar. Man geht davon aus, dass Mild Cognitive Impairment (=MCI) ein klinisches Syndrom ist, dessen Prognose sehr variabel erscheint. Abgrenzend zur Demenz ist die nicht alltagsrelevante Beeinträchtigung der Patienten durch kognitive Einschränkungen.

Das klinische Syndrom umfasst unterschiedliche Ursachen wie z. B. cerebrovaskuläre Erkrankungen, Depression, andere psychiatrische Erkrankungen. Die Ursache kann aber häufig auch nicht geklärt werden (DeCarli, 2003).

Es ist allerdings schwierig die Prävalenz, Prognose und möglichen Nutzen einer Behandlung einzuschätzen. Die Progressionsrate von MCI zu Demenz beträgt zwischen 5 und 15% pro Jahr (Petersen et al., 1999, Bozoki et al., 2001, Ritchie et al., 2001, Palmer et al., 2002). Manchmal bleiben die kognitiven Fähigkeiten auch konstant oder verbessern sich in einem Teil der Fälle sogar (Koepsell and Monsell, 2012, Lopez et al., 2012).

Daten unterschiedlicher Autoren zeigen, dass die Progression zur Demenz umso höher ist, je höher die Schwere der kognitiven Defizite zu Untersuchungsbeginn war. Zusätzlich nimmt die Inzidenz und Prävalenz der Demenz mit dem Alter zu (Alexopoulos et al., 2006, Winblad et al., 2004).

2.3 APOE

Eine wichtige Rolle bei der sporadischen Alzheimer-Krankheit spielt das Gen APOE, das für ein Apolipoprotein codiert. Nachfolgend werden dessen Charakteristika beschrieben. Laut Mahley et al. existiert APOE in menschlichen Zellen in drei unterschiedlichen Isoformen, die sich in den Aminosäuren an Position 112 und 158 unterscheiden. Die Isoform APOE4 besitzt zweimal Arginin, APOE2 zweimal Cystein an diesen Stellen, APOE3 einmal Cystein und einmal Arginin. In der Allgemeinbevölkerung tragen 15% ein E4-Allel, 8% das E2-Allel und 77% ein E3-Allel. Die Isoformen sind also deutlich unterschiedlich verteilt. Die zwei Apolipoproteine E3 und E4 unterscheiden sich durch die veränderte Aminosäure an Position 112 in ihrer Struktur und Funktionsweise (Mahley and Huang, 2009).

In Kontrast dazu tragen 65-80% der Alzheimerpatienten ein APOE4-Allel (Genin et al., 2011). Das Lebenszeitrisiko bis 85 Jahre an Alzheimer zu erkranken liegt bei 30% bei heterozygoten E4-Allelträgern und bei 60% bei homozygoten E4-Allelträgern. Bei homozygoten E3-Allelträgern beträgt es nur 10%. Weiterhin wird das Erkrankungsalter durch das APOE4-Allel beeinflusst. Die Krankheit tritt bei APOE4-Allelträgern 5-7 Jahre früher auf, das heißt homozygote APOE4-Allelträger erkranken 10-14 Jahre früher (Corder et al., 1993). Weiterhin gibt es Studien, dass APOE4 zu einer schnelleren Abnahme der kognitiven Fähigkeiten führt (Cosentino et al., 2008). Da man bei der Alzheimer-Krankheit von einem komplexen Erbgang ausgeht, ist es bemerkenswert, wie stark dieses einzelne Gen APOE4 das Erkrankungsrisiko und –alter beeinflusst. Vor allem werden zusätzlich auch zahlreiche weitere Umweltfaktoren wie verschiedene Gefäßrisikofaktoren, Bildungsniveau, Kopfverletzungen etc. als mitverantwortlich gesehen (Reitz and Mayeux, 2009).

2.4 Liquormarker

Zur Diagnosefindung bei Demenzerkrankungen ist es ein etabliertes Verfahren, die Proteinkonzentrationen von $A\beta_{1-42}$, tTau, pTau₁₈₁ im Liquor zu bestimmen. Ihre Sensitivität und Spezifität in der Abgrenzung der Alzheimer-Demenz von gesunden älteren Kontrollpersonen liegt für jeden dieser Biomarker zwischen 80% und 90% (Blennow et al., 2010), wobei die kombinierte Bestimmung von $A\beta_{1-42}$, tTau und pTau der Bestimmung nur eines einzelnen Liquormarkers überlegen ist. Bei Alzheimerpatienten ist typischerweise das $A\beta_{1-42}$ erniedrigt, sowie tTau und pTau₁₈₁ erhöht.

Liquormarker	Biomarker	Pathologischer Prozess
$A\beta_{1-42}$	Deutlich erniedrigt bei Alzheimer-Demenz und in prodromalen Stadien	Amyloidogener Teil des APP-Metabolismus
pTau	Deutlich erhöht bei Alzheimer-Demenz und in prodromalen Stadien	Verstärkte Phosphorylierung von Tau-Proteinen
tTau	Deutlich erhöht bei Alzheimer-Demenz und in prodromalen Stadien	Axonale Degeneration

Abbildung 1: Liquormarker für die Alzheimer-Krankheit, modifiziert nach (Blennow et al., 2010)

Im Folgenden werden die Eigenschaften der Liquorproteine beschrieben.

2.4.1 Tau-Protein

Tau ist eines der Mikrotubuli-assoziierten Proteine (MAP), das neuronale Mikrotubuli für ihre Funktion in der Entwicklung von Zellprozessen, Zellpolarität und intrazellulären Transport stabilisiert (Mandelkow et al., 1996). In Axonen wird Tau vor allem exprimiert (Litman et al., 1994). Es kann an vielen Stellen phosphoryliert werden, was seine Eigenschaften an Mikrotubuli zu binden beeinflusst.

Tau, phosphoryliert an Threonin 181, wie man es bei Alzheimerpatienten findet, zeigt einen Bindungsverlust und löst sich von den Mikrotubuli. Dies bedingt wohl deren Verlust bei Alzheimerpatienten und verursacht dadurch eine Schädigung des intrazellulären Transportes (Mandelkow and Mandelkow, 1998). Bei Alzheimerpatienten sind typischerweise das tTau und pTau₁₈₁ im Liquor erhöht.

2.4.2 Amyloid-Protein:

Ein wichtiger Biomarker der Alzheimer-Krankheit ist das β -Amyloid. Es wird davon ausgegangen, dass Amyloidplaques die Neuropathologie der Alzheimer-Krankheit kennzeichnen. Es ist wichtig die physiologische Rolle von Amyloid, seine Bildung und Entfernung zu verstehen. APP ist beteiligt an der Entwicklung des Gehirns, an neuronaler Differenzierung, an Synapsenbildung etc. (Mullane and Williams, 2013).

Die Basis der Amyloidkaskade ist das Amyloidvorläuferprotein (APP), ein 110-130 kDA Typ1-Transmembran-Glykoprotein, das in drei Isoformen APP 695, 751 und 770 vorkommt. Ein Teil ihrer Transmembrandomäne und extrazellulären Domäne ist bei allen dreien identisch. Diese Peptidsequenz wird durch proteolytische Spaltung aus den Vorläuferproteinen freigesetzt. Durch diesen Vorgang wird Amyloid- β mit unterschiedlicher Proteinelänge (37-43 Aminosäuren) gebildet.

APP wird auf zwei unterschiedlichen Pfaden prozessiert-auf dem amyloidogenem und dem nicht-amyloidogenem Pfad. Dabei werden viele lösliche und membran-assoziierte Fragmente gebildet.

Die nicht-amyloidogene Spaltung von APP

Das Amyloidvorläuferprotein (APP) wird zur Plasmamembran geschickt, wo es vorherrschend durch die α -Sekretase gespalten wird. Die Spaltung durch die α -Sekretase geschieht innerhalb der Amyloiddomäne, dadurch wird die Bildung und Freisetzung des Amyloidpeptides vermieden. Zwei Fragmente entstehen. Lösliches APP (sAPP α) wird in den extrazellulären Raum freigesetzt und hinterlässt ein 83 Aminosäuren langes Fragment (α -CTF), auch bekannt als C83, innerhalb der Membran. Die Spaltung von C83 durch die γ -Sekretase führt zu P3 und der APP-intrazellulären Domäne (AICD) (Seubert et al., 1992); (Shoji et al., 1992); (Haass et al., 1993).

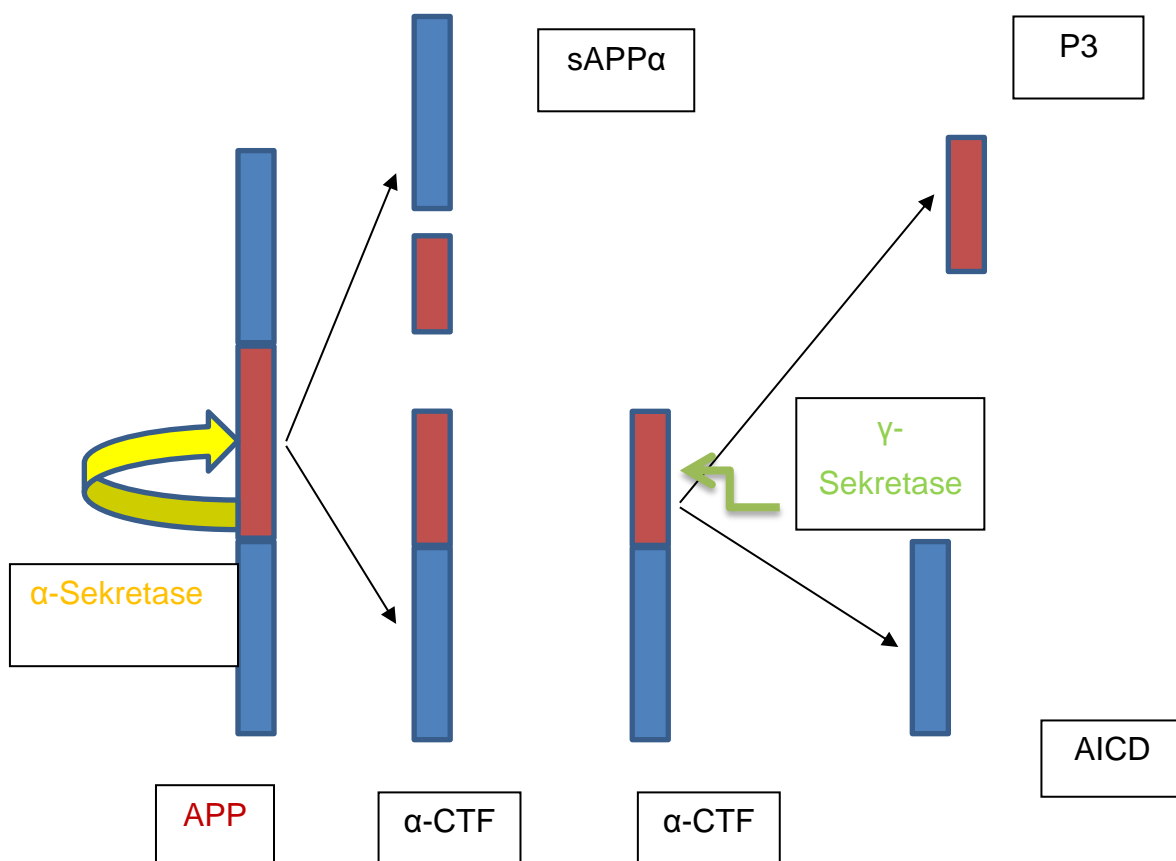


Abbildung 2: Nicht-amyloidogene APP-Spaltung, modifiziert nach (O'Brien and Wong, 2011)

Die amyloidogene Spaltung von APP

Unprozessiertes APP kann in die frühen Endosomen aufgenommen werden. Die frühen Endosomen beinhalten β -site APP-cleaving enzyme 1 (BACE1) und haben den optimalen pH-Wert für die Spaltung von APP durch BACE. BACE1-Spaltung von APP resultiert der Freisetzung der Ektodomäne (sAPP β) und einem 99 Aminosäuren langen Fragment (β -CTF), bekannt als C99, das innerhalb der Membran zurückgehalten wird. C99 kann zurück zum ER transportiert werden und dort durch die ER-Sekretase zu Amyloid prozessiert zu werden. Die erste Aminosäure von C99 ist die erste des Amyloids. Darauf folgend werden am Aminoende von C99 38–43 Aminosäuren abgespalten, um Amyloid freizusetzen. Diese Spaltung produziert A β 40 und A β 42 in einem Verhältnis von 10:1. Amyloid wird innerhalb des endoplasmatischen Retikulums (ER) und Golgi-System produziert und als Teil des sekretorischen Pfades nach extrazellulär abgegeben.

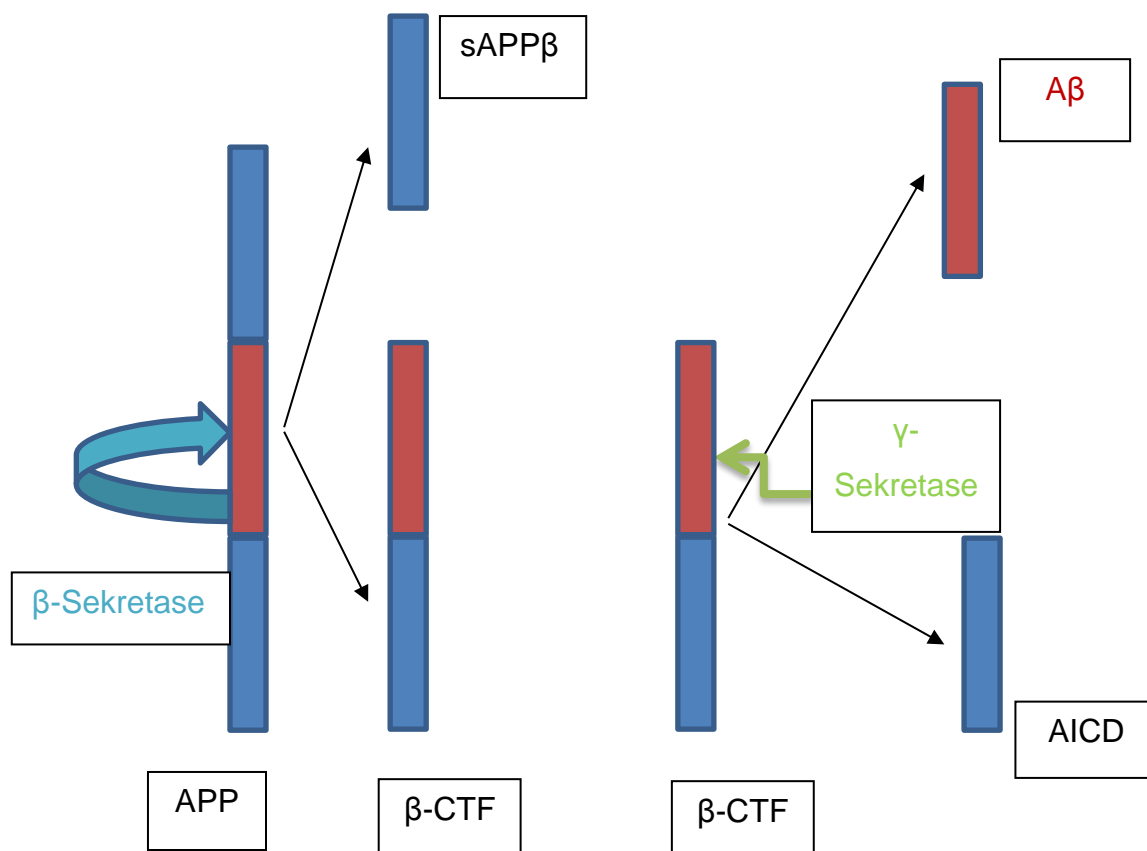


Abbildung 3: Amyloidogene APP-Spaltung, modifiziert nach (O'Brien and Wong, 2011)

Zu neurotoxischen Oligomeren und Amyloidplaques, welche die pathologischen Kennzeichen der Alzheimer-Krankheit darstellen, aggregiert vor allem A β 42 in ausgeprägter Form. Durch die Erforschung der familiären Form der Alzheimer-Krankheit (FAD= familialy Alzheimer's disease) stammt die Annahme, dass die Menge an aus APP gebildetem A β für die Alzheimerprogression verantwortlich ist. Mitverantwortlich für die Entstehung der FAD sind Mutationen in den Genen, die für APP oder Presenilin-1 und -2 kodieren. Als Teil des γ -Sekretase-Komplexes sind sie mitunter für die Spaltung des Amyloidvorläuferproteins verantwortlich. FAD-Mutationen sorgen üblicherweise für einen allgemeinen Anstieg der Amyloidproduktion oder für die Betonung des amyloidogenen Pfades mit vermehrter A β 42-Bildung. Aus diesen beiden Gründen kommt es zum früheren Beginn der Neurodegeneration (Karran et al., 2011). Schwieriger war es zu bestimmen, ob die abnorme Anhäufung von β -Amyloid und die oben genannten Mechanismen auch einen Grund für die Entstehung der sporadischen Alzheimer-Krankheit darstellen.

Bei der sporadischen Alzheimer-Krankheit ist der Mechanismus der A β -Akkumulation wahrscheinlich das Ergebnis einer komplexen molekularen Kaskade, die im Vergleich zur FAD noch zusätzliche Faktoren einschließt. Nach der Produktion wird A β aus der Zelle geschleust und bindet an die unterschiedlichen APOE-Isoformen. A β kann auf unterschiedlichen Wegen metabolisiert werden, z. B. Abbau durch Enzyme (IDE oder Neprilysin), Ablagerung oder Rücktransport in die Zelle. Die Affinität von APOE4 ist niedriger als die von APOE2 oder APOE3. Während APOE2 und APOE3 dabei helfen, dass A β durch Transport oder Abbau entfernt wird, führt APOE4 A β vor allem zur Aggregation. Daher ist es ein hoher Risikofaktor für die Alzheimer-Krankheit. Es gibt einen Regulationsmechanismus um bestimmte A β -Spiegel einzuhalten. Wenn A β gebildet wird, wird AICD freigesetzt, das in den Kern transportiert wird und die Transkription von Neprilysin initiiert. Vermehrtes Neprilysinprotein wird A β abbauen und dadurch auf einen bestimmten Spiegel senken (Duan et al., 2012).

Weiterhin spielt das Konzept der gestörten Clearance über die Blut-Hirnschranke eine wichtige Rolle. Die Blut-Hirnschranke ist wichtig für das Gleichgewicht von A β und regelt den Amyloid-Transport v.a. über zwei Rezeptoren (LRP1 und RAGE). Im Falle einer gestörten A β -Clearance durch z.B. Fehlregulation des Transport oder abnormer Gefäßneubildung kann nach der neurovaskulären Hypothese der

Alzheimer-Krankheit A β -Akkumulation, Hypoperfusion des Gehirns und neurovaskuläre Inflammation entstehen (Deane and Zlokovic, 2007).

Weit verbreitet ist die Ansicht, dass das β -Amyloid eine krankheitsauslösende Funktion besitzt. Dementsprechend haben sich Versuche der Medikamentenentwicklung auf das β -Amyloid konzentriert. Dabei wurden unterschiedliche Strategien verfolgt, z.B. Veränderung der APP-Prozessierung durch Blockierung der β - und γ -Sekretase oder durch Aktivierung der α -Sekretase. Weiterhin wurde versucht bereits entstandenes β -Amyloid durch Verwendung von Antikörpern oder Impfstoffen zu entfernen (Mullane and Williams, 2013).

Störungen auf dem komplexen Weg, den APP durch die intrazellulären Kompartimente der Neuronen nimmt, um durch Sekretasen gespalten zu werden, stellen auch einen wichtigen Grund der sporadischen Alzheimer-Krankheit dar.

In Abbildung 4 wird die Spaltung von APP vereinfacht dargestellt.

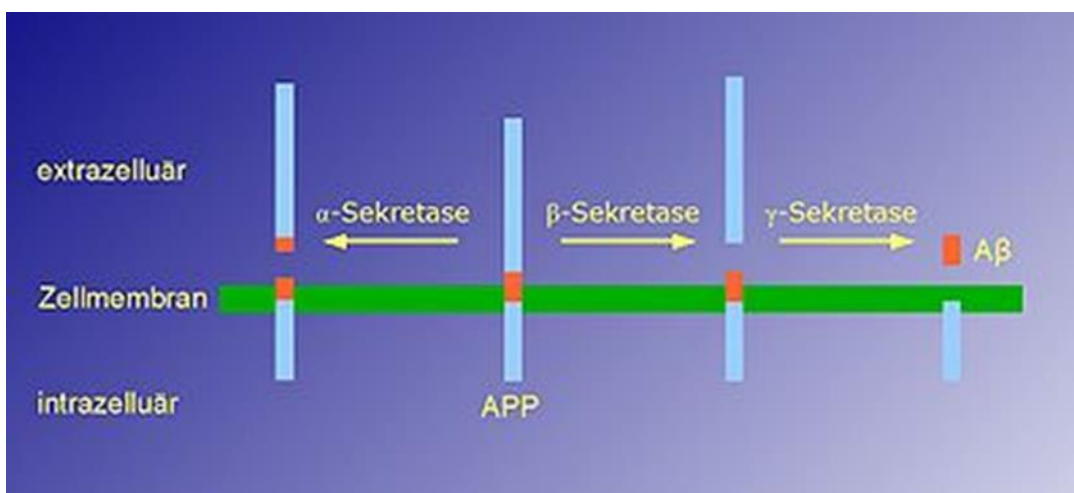


Abbildung 4: Spaltung von APP (Alzheimer-Krankheit, 2013)

2.5 SORL1

Einen Regelpunkt des APP-Metabolismus stellt der SORL1-Rezeptor dar, der im Folgenden ausführlicher beschrieben wird.

2.5.1 Struktur und Funktion

Das *SORL1*-Gen, auch als *LR11*; *SorLA*; *SorLA-1* bezeichnet, liegt auf Chromosom 11q23.2-q24.2 (Genecards, 2013).

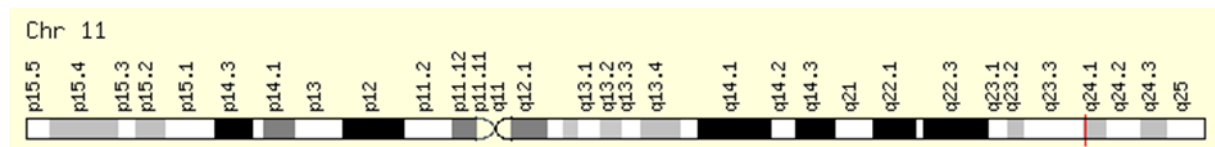


Abbildung 5: *SORL1* auf Chromosom 11 (Genecards, 2013).

Dieses Gen codiert ein Protein, den sogenannten Sortilin-related-Rezeptor mit einem Molekulargewicht von 250 kDA (Safran et al., 2010), der weit verbreitet in den Neuronen des Kortex, Hippocampus und Cerebellum ist (Motoi et al., 1999, Hermans-Borgmeyer et al., 1998). Aber es ist auch in geringerem Maße in Rückenmark, Lunge, Uterus etc. zu finden (Yamazaki et al., 1996); (Morwald et al., 1997); (Kanaki et al., 1998); (Jain et al., 2009).

Es wurde unabhängig voneinander sowohl durch ein genetisches Screening auf neue LDL-Rezeptoren (Morwald et al., 1997),(Yamazaki et al., 1996) als auch durch biochemische Reinigung von RAP- (receptor-associated protein) Bindeproteinen (Jacobsen et al., 1996) entdeckt.

Der Rezeptor kann anhand seiner Struktur sowohl in die LDL-Rezeptorfamilie als auch in die VPS10P (vacuolar protein sorting 10 protein)-Rezeptorfamilie eingeordnet werden. SORL1 war der zweite VPS10P-Domänen-Rezeptor, der geklont und dessen Funktion im Detail charakterisiert wurde. SORL1 wird als Preproprotein mit einen 53 Aminosäuren langen Propeptid, synthetisiert. Dieses Propeptid wird gespalten, was eine wichtige Funktion hat in der Ligandenbindung (Andersen et al., 2003).

Die extrazelluläre Domäne des SORL1 besteht aus den gleichen Motiven wie bei anderen LDL-Rezeptoren (Jeon et al., 2001). Die ins Lumen ragende Domäne des reifen SORL1 besteht aus der VPS10p-Domäne, dem β -Propeller und EGF(epidermal growth factor)-Domänen, einem Cluster von 11 CR(complement-type repeat) -Domänen, genauso wie einer Cassette von sechs FN(Fibronectin)-Typ3-Domänen (Jacobsen et al., 1996).

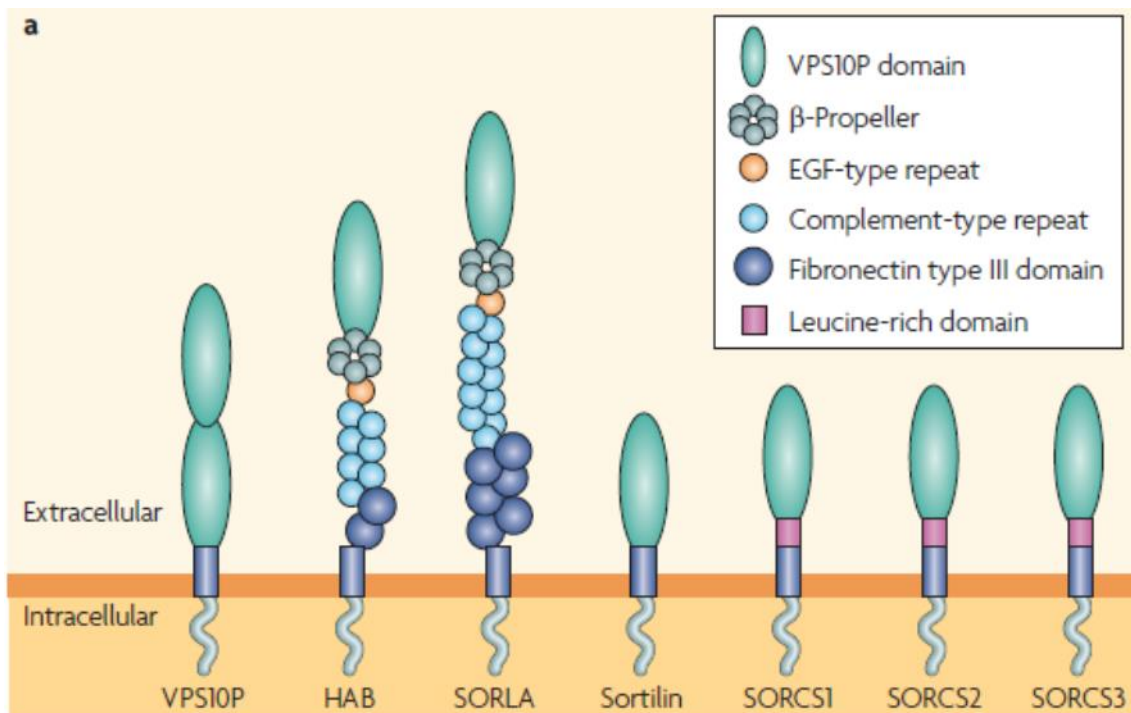


Abbildung 6: VPS10P-Rezeptorfamilie (Willnow et al., 2008)
 Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd:
 [Nature Reviews Neurosciene], copyright 2008

Die VPS10P-Domäne ist nur bei Mitgliedern der VPS10P-Genfamilie vorhanden. Zur VPS10p-Familie gehören genauso Sortilin und SorCS1-3 (Sortilin-related receptor CNS expressed). Diese Proteine werden sowohl im zentralen als auch peripheren Nervensystem gefunden. Die Gene werden als potenziell krankheitsverursachend für z. B. die Alzheimer-Krankheit, bipolare Störungen angesehen. Zusätzlich sind auch bei nicht-neurologischen Erkrankungen wie Diabetes mellitus Typ2 oder Myokardinfarkt VPS10-Rezeptoren beteiligt. SORL1 scheint ein Protein mit vielen Funktionen zu sein. Es beeinflusst sowohl den intrazellulären Proteintransport und Endozytosevorgänge, als auch die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen. Zusätzlich fungiert er als Rezeptor für Lipoproteine oder Wachstumsfaktoren. Am Aminoende des SORL1-Rezeptors findet man ein Motiv

homolog zu den Proteinen, die an der Proteinsortierung über Vakuolen beteiligt sind. Dies spricht dafür, dass SORL1 eine Rolle bei intrazellulären Sortiermechanismen spielt (Andersen et al., 2006).

Die Beteiligung von SORL1 am APP-Metabolismus wurde vermutet, da beide Proteine in Golgi-Kompartimenten und frühen Endosomen lokalisiert sind (Offe et al., 2006, Aad et al., 2013). Zusätzlich fand sich an SORL1 eine Bindungsstelle, die mit einer APP-Domäne einen Komplex bildete (Andersen et al., 2006).

Dodson et al. hatten gezeigt, dass SORL1 bei Patienten mit sporadischer Alzheimer-Krankheit runterreguliert ist (Dodson et al., 2006). Es stellt sich die Frage, ob das ein primärer Mechanismus der Erkrankung ist oder nur die Konsequenz von anderen mit Alzheimer assoziierten Veränderungen. Die SORL1-Expression wurde im Mausmodell und an FAD-Gehirnen untersucht. Die Ergebnisse sprachen dafür, dass die Expression im Mausmodell und bei autosomal-dominanten Formen von Alzheimer nicht beeinflusst ist. Das spricht dafür, dass SORL1 nicht durch Amyloidakkumulation oder andere Alzheimer-bedingte neuropathologische Veränderungen reguliert wird. Möglicherweise ist der SORL1-Verlust spezifisch für die sporadische Alzheimer-Krankheit. Die Amyloidpathologie könnte durch Mechanismen beeinflusst sein, die unabhängig von FAD-Mutationen in die Enzymkomplexe eingreifen.

Willnow et al. stellen die molekularen Wege der APP-Prozessierung und die Funktion von SORL1 ausführlich dar (Willnow and Andersen, 2013). Man geht davon aus, dass die reduzierte SORL1-Expression in Neuronen bei der sporadischen Alzheimer-Krankheit wahrscheinlich eher auslösend als reaktiv ist. Unterstützt wird diese Annahme, dass die SORL1-Expression bei anderen Typen der Alzheimer-Krankheit mit bekannter Ätiologie (z.B. FAD mit *PSEN1*-Mutation) nicht verändert ist (Scherzer et al., 2004).

Tatsächlich konnte nachgewiesen werden, dass der Rezeptor mit dem Amyloidvorläuferprotein interagiert und dessen intrazellulären Transport reguliert (Andersen et al., 2006); (Offe et al., 2006). Der Lipoproteinrezeptor SORL1 ist in den von Alzheimer bevorzugt betroffenen Gehirnregionen vermindert ausgeprägt. Eine Überexpression von SORL1 senkt den Spiegel von APP in der Zelle und reduziert deutlichst das extrazelluläre A β (Offe et al., 2006). Unter Ausschaltung des Rezeptorgens in Mausmodellen mit Alzheimer-Krankheit stieg die A β -Produktion und

Bildung seniler Plaques, ähnlich zu der Situation in Patienten mit sporadischer Alzheimer-Krankheit (Rohe et al., 2008).

Andersen et al. zeigte 2005, dass SORL1 das Amyloidvorläuferprotein APP, sowohl in vitro als auch in Tierexperimenten, sortiert (Andersen et al., 2005).

Die Aktivität von SORL1 in Neuronen verursacht die Abspaltung von APP in den Golgi-Apparat und vermindert die Verarbeitung von APP. In Knockout-Mäusen führt das Abschalten von SORL1-Expression zu erhöhten A β -Spiegeln im zerebralen Kortex. Betont wird die physiologische Rolle von SORL1 durch den Mangel an Rezeptoren in den Gehirnen von Alzheimerpatienten (Scherzer et al., 2004).

Durch diese inverse Korrelation zwischen SORL1-Expression und der Amyloidproduktion ist naheliegend, dass dieser Rezeptor eine wichtige Rolle in der Alzheimerpathogenese spielt.

Um zu verstehen wie SORL1 die APP-Prozessierung beeinflusst, muss der komplexe Weg von APP durch die Zellkompartimente erklärt werden. Das meiste an APP wird durch α -Sekretase in einem post-Golgi-Kompartiment oder an der Plasmamembran gespalten um sAPP α zu produzieren. Aber ein Teil an APP wird von der Plasmamembran wiederaufgenommen und zu den späten Endosomen geschickt. Dort erfolgt die Spaltung durch β -Sekretase und γ -Sekretase zu sAPP β und A β (De Strooper, 2000). SORL1 hingegen bindet APP und sorgt für die Sortierung. Das Fehlen des SORL1-Rezeptors lenkt das Amyloidvorläuferprotein weg vom Recyclingpfad und führt es stattdessen hin zum β -Sekretase-Pfad. Dadurch ist die sAPP β -Produktion erhöht und daraus folgend über den γ -Sekretase-Pfad auch die A β -Produktion. Bei Anwesenheit des SORL1-Rezeptors wird APP in Retromer-Endosomen zurück zum Golgi-Apparat recycelt.

Die Funktion des SORL1- Rezeptors ist in nachfolgender Abbildung dargestellt.

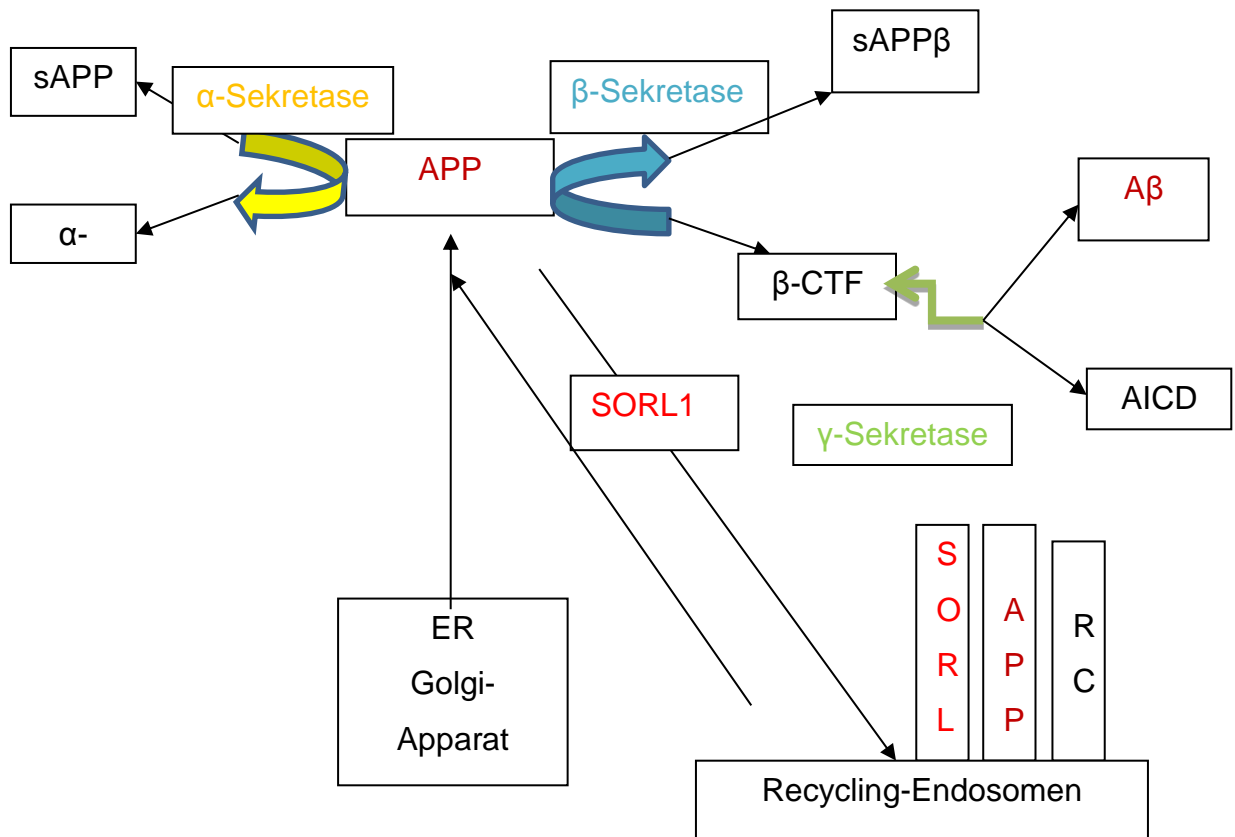
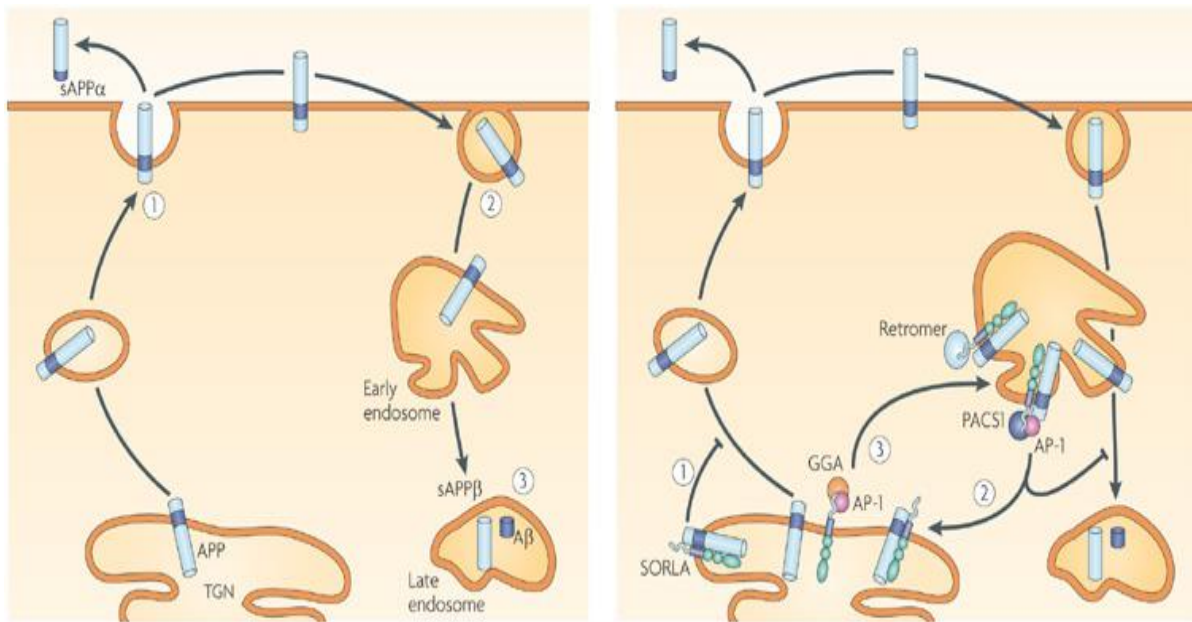


Abbildung 7: Funktion SORL1-Rezeptor;
modifiziert nach (Rogaeva et al., 2007)

In der nachfolgenden Abbildung 8 wird die Funktion des SORL1-Rezeptors im Verlauf der Zellkompartimente nochmals veranschaulicht.



Nature Reviews | Neuroscience

Abbildung 8: Rolle von SORL1 im APP-Metabolismus (Willnow et al., 2008)
 Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd:
 [Nature Reviews Neuroscience], copyright 2008

Im linken Teil der Abbildung 8 wird der Weg von APP durch die Zelle gezeigt.

- 1) Neu produziertes APP wird vom Trans-Golgi-Netzwerk zur Plasmamembran geschickt, wo ein Teil durch die α -Sekretase in sAPP α gespalten wird (nicht-amyloidogener Pfad).
- 2) Ungespaltenes APP wird von der Zelloberfläche internalisiert.
- 3) Es gelangt von den frühen zu den späten Endosomen um in sAPP β und β -Amyloid gespalten zu werden (amyloidogener Pfad).

Der rechte Teil der Abbildung 8 zeigt die Rolle von SORL1.

- 1) SORL1 wirkt als Sortierrezeptor, der APP im Trans-Golgi-Netzwerk festhält. dadurch reduziert sich die Menge an APP, die in den nachfolgenden Kompartimenten und an der Zelloberfläche gespalten werden kann.
- 2) Zusätzlich kann SORL1 APP von den frühen Endosomen zurück zum TGN transportieren. Dadurch wird in den späten Endosomen weniger A β produziert.

Neueste Ergebnisse zeigen, dass die Rezeptoren Sortilin und SORL1 die neuronale Isoform von sAPP internalisieren, daraus schließend, dass sie die ersten neuronalen sAPP-Endozytoserezeptoren sind. SORL1 lagert sich vor allem mit APP im Soma von Neuronen des Hippocampus zusammen, hingegen Sortilin mit APP in Neuriten. Vor der Proteolyse wird APP durch SORL1 in den Zellkompartimenten geschützt. Man kann davon ausgehen, dass die unterschiedlichen Rezeptoren und dessen Expressionslevel den APP-Metabolismus in seiner Dynamik verändern. Zudem können sie innerhalb von Zelltypen und Gehirnregionen variieren, was die Komplexität zusätzlich verstärkt (Gustafsen et al., 2013).

Zellexperimente zeigten, dass die Interaktion zwischen SORL1, VPS35 und APP einen Mechanismus darstellt, indem SORL1 die Sortierung von APP in den Retromer-Recyclingpfad oder in den späten endosomalen Pfad reguliert (Rogaeva et al., 2007). Im endosomalen Pfad wird APP durch die β - und γ -Sekretase in A β gespalten. Eine Überexpression von SORL1 vermehrt daher die Benutzung des Retromer-Recycling-Pfads und führt zu einer verminderten A β -Produktion. Umgekehrt führt siRNA-Suppression der SORL1-Expression zur Umlenkung des Amyloidvorläuferproteins in den späten Lysosomen-Endosomen-Pfad. Dabei entstand vermehrt sAPP β und A β . Studien von Offe und Andersen zeigen sich übereinstimmend mit dieser These (Offe et al., 2006); (Andersen et al., 2005).

Rogaeva et al. untersuchten 2007 erstmals genetische Assoziationen zwischen der Alzheimer-Krankheit und SNPS ausgewählter Mitglieder der VPS-Genfamilie wie *VPS35*, *VPRS26A*; Sortilin *SORT1*; sortilin-related VPS10-containing receptors *SORCS1*, *SORCS2* und *SORCS3*; und sortilin related receptor, low-density lipoprotein receptor class A repeat-containing protein *SORL1* (Rogaeva et al., 2007). Die Probanden stammten aus unterschiedlichen ethnischen Gruppen, dabei waren Kaukasier aus Nordamerika und Europa, Afro-Amerikaner, karibische Hispanos und arabische Israelis. Dabei fanden sich mehrere Genvarianten, die signifikant assoziiert waren.

Mehrere davon unabhängige Studien (Bettens et al., 2008, Tan et al., 2009, Lee et al., 2008) beobachteten im weiteren Verlauf, dass signifikante Assoziationen in zwei bestimmen Regionen des *SORL1*-Gens vorkamen, am 5'- und am 3'-Ende. Daraus ergab sich die Auswahl der später aufgeführten Einzelnukleotidpolymorphismen des *SORL1*-Gens.

2.5.2 Einzelnukleotidpolymorphismen

Im Folgenden werden die Charakteristika von Einzelnukleotidpolymorphismen gezeigt.

2.5.2.1 Allgemeine Definition:

Ein Einzelnukleotidpolymorphismus (Single nucleotide polymorphism = SNP) tritt auf, wenn ein einzelnes Nukleotid (Adenin, Thymine, Cytosin, oder Guanin) in der Genomsequenz verändert ist. Zum Beispiel, zwei sequenzierte DNA-Stücke von verschiedenen Individuen, AAGCCTA und AAGCTTA, enthalten einen Unterschied in einem Nukleotid. In diesem Fall sind es zwei Allele: C und T. Beinahe alle bekannten SNPs haben nur zwei Allele.

Einzelnukleotidpolymorphismen können sowohl innerhalb kodierender und nicht-kodierender Genabschnitte als auch in den Regionen zwischen Genen auftreten. SNPs innerhalb einer kodierenden Sequenz müssen nicht gezwungenermaßen die Aminosäuresequenz verändern, da ein und dasselbe Protein durch mehrere unterschiedliche Nukleotidtriplets kodiert werden kann. Falls beide Formen zur gleichen Aminosäureabfolge führen, wird der SNP als synonym benannt. Manchmal wird dieser Vorgang auch als stumme Mutation bezeichnet. Falls unterschiedliche Abfolgen entstehen, wird er als nicht-synonym benannt. SNPs außerhalb proteinkodierender Regionen können Einfluss auf das Splicen von Genen, die Bindung von Transkriptionsfaktoren oder die Sequenz von nicht-kodierender RNA haben.

Innerhalb einer Population kann den SNPs eine minore Allelfrequenz (minor allele frequency = MAF) zugeordnet werden, was dem Verhältnis von der Anzahl seltener Nukleotidvariante zur Gesamtanzahl entspricht. Ein SNP, der in einer geographischen oder ethnischen Gruppe häufig ist, kann in einer anderen sehr viel seltener auftreten.

Jedes Individuum besitzt viele SNPs, die miteinander ein einzigartiges DNA-Muster für diese Person schaffen. Variationen in den menschlichen DNA-Sequenzen können beeinflussen wie Menschen auf Krankheiten entwickeln und auf pathogene Stoffe, Chemikalien etc. reagieren. Ihre größte Bedeutung in der biomedizinischen Forschung liegt jedoch im Vergleich von Genregionen bei gesunden und erkrankten Kohorten (DNABaser, 2011).

2.5.2.2 Relevante SNPs des *SORL1*-Gens

Weitere Informationen zu den relevanten SNPs des *SORL1*-Gens sind in Abbildung 4 dargestellt. Die ausgewählten Marker beinhalten die neun Polymorphismen rs661057(SNP4), rs668387(SNP8), rs689021(SNP9), rs641120(SNP10), rs2070045(SNP19), rs1699102(SNP22), rs3824968(SNP23), rs2282649(SNP24), und rs1010159(SNP25).

	dbSNP rs-Nummer	Allele	Strangorientierung	Lokalisation auf Genkarte	SNP-Typ
4	rs661057	C/T	fwd/T	120834164	intron
8	rs668387	T/C	rev/B	120873131	intron
9	rs689021	A/G	rev/B	120876330	intron
10	rs641120	T/C	fwd/T	120886175	intron
19	rs2070045	G/T	fwd/T	120953300	S1187S
22	rs1699102	C/T	fwd/T	120962172	N1246N
23	rs3824968	T/A	fwd/T	120981132	A1584A
24	rs2282649	C/T	fwd/T	120984168	intron
25	rs1010159	C/T	rev/B	120988611	intron

Abbildung 9: ausgewählte *SORL1*-SNPs;
modifiziert nach (Rogaeva et al., 2007)

Die Nummerierung der Einzelnukleotidpolymorphismen erfolgt aufsteigend, entsprechend ihrer Positionen auf der Genkarte. Die Bezeichnung fwd/ T bezieht sich auf forward/ top strand (Richtung 5' → 3'); die Bezeichnung rev/ B auf reverse/ bottom strand (Richtung 3' → 5').

Die Anordnung der SNPs auf der Genkarte zeigt nachstehende Abbildung 10.

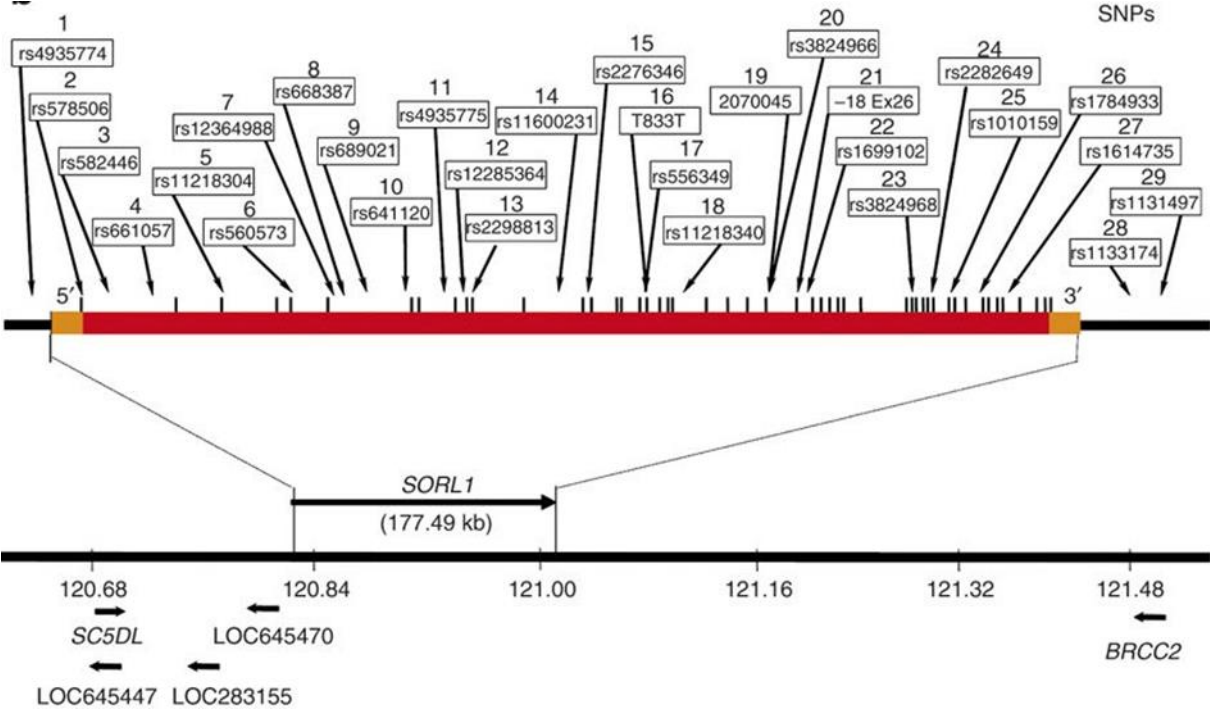


Abbildung 10: SNPs im *SORL1*-Gen (Rogaeva et al., 2007)
 Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd:
 [Nature Genetics], copyright 2007

2.6 Fragestellung

Seit 1987 wird nach Genen gesucht, die in der Pathophysiologie der Alzheimer-Krankheit, der eine multifaktorielle Genese zugrunde liegt, eine Rolle spielen. Im Laufe der Jahre wurden mehr als 120 Genorte gefunden, die z.B. als Risikofaktoren fungieren. Vermutlich ist die Genetik das am stärksten wachsende Gebiet der Alzheimerforschung. Für mehrere Autoren ist es wichtig, dass ein genetisches Profil erstellt wird. Ebenso wird die Identifizierung und Quantifizierung von Risikofaktoren in den Mittelpunkt gerückt, weil sie signifikante Hintergrundinformation zur Prädisposition und dem Erkrankungsalter liefern können. Damit könnten biologische Marker entdeckt oder entwickelt werden, die die Früherkennung der Alzheimer-Krankheit und die Einschätzung des Erkrankungsrisikos erleichtern würden (Bertram and Hampel, 2011).

Die Anzahl der genetischen Faktoren, die im Zusammenhang mit der Alzheimer-Krankheit stehen, wächst stetig und kann unter www.alzgene.org eingesehen werden. *SORL1* ist unter den TOP-10-Alzheimererisikogenen in der Alzgene-Datenbank (Alzgene, 2011) gelistet. *SORL1* ist eines der Gene mit den meisten untersuchten SNPS in den Alzgene-Metaanalysen. Die Resultate mit der höchsten Signifikanz wurden bisher in der Originalstudie (Rogaeva et al., 2007) durch Rogaeva et al. gefunden und darauffolgende Forschungen haben nach und nach die vorhergesagte Effektgröße reduziert.

In einer Analyse von 50SNPs im Bereich des *SORL1*-Gens (10 davon innerhalb von 245kb auf- und abwärts des Genes) fanden sich weitere noch nicht in Alzgene berichtete Assoziationen (Feulner et al., 2010). Obwohl diese Ergebnisse noch validiert werden müssen, kann man sagen, dass zusammen mit vorhergehenden Berichten diese Daten zumindest eine mäßige Assoziation der Alzheimer-Krankheit mit *SORL1* unterstützen.

Es stellt sich die Frage, ob der Einfluss von *SORL1* auf die Amyloidkaskade auch im Liquor nachzuweisen ist?

Der Nachweis im Liquor würde eine Möglichkeit zur funktionellen Validierung darstellen. Die genaue Funktion der identifizierten Kandidatengene könnte besser verstanden werden. Das heißt, man könnte einen Zusammenhang zwischen der genetischen und molekularbiologischen Ebene herstellen. Die Validierung und funktionelle, molekulare Analyse von Einzelnukleotidpolymorphismen von Kandidatengenen der Alzheimer-Krankheit, wie z.B. *SORL1*, im Zusammenhang mit

der Auswertung von Liquorproteinen könnte zu einem besseren Verständnis der Rolle der Gene beitragen.

Schließlich zeigen Daten, dass der SORL1-Rezeptor eine Schlüsselrolle in der Sortierung von APP spielt. Falls SORL1 abwesend ist, wird APP in den späten endosomalen Pfad geschleust, wo es durch die Sekretasen in A β gespalten wird.

Zu Beginn der Datensammlung gab es nur zwei Studien, die über Assoziationen zwischen *SORL1*-Polymorphismen und Liquormarkern berichteten. Zum einen von Kölsch et al., zum anderen untersuchten Reynolds et al. 2010 in der Studie mit 1.558 schwedischen Demenzfällen, davon 1.270 an Alzheimer-Demenz erkrankte Personen, sechs genetische Polymorphismen des *SORL1*-Gens und deren Assoziation bezüglich dem Erkrankungsalter und den Liquormarkern β -Amyloid und Tau (Kölsch et al., 2008); (Reynolds et al., 2010).

Frühere Forschungsergebnisse unterstützen diesen vermuteten Zusammenhang. Zum Beispiel sind SORL1- und VPS35-Rezeptoren im Gehirngewebe von Alzheimererkrankten reduziert und diese werden mit erhöhten A β -Spiegeln assoziiert (Offe et al., 2006, Andersen et al., 2005).

Eine Assoziation von *SORL1*-Polymorphismen mit Nachweismöglichkeit im Liquor wäre eine verhältnismäßig unkomplizierte Form der Bestimmung eines Endophänotypen der Alzheimer-Krankheit. Die Genotypisierung erfolgt anhand von einfach zu gewinnenden Blutproben aus einer peripheren Vene. Über die Liquorproben könnte auch der Einfluss auf die Amyloidkaskade im Langzeitverlauf untersucht werden. Die Kombination von Liquormarkern mit genetischen Daten kann zudem die statistische Power vergrößern und Erkenntnisse bieten, inwiefern genetische Mechanismen Einfluss auf die Krankheit haben.

Es wurde eine bereits vorhandene Stichprobe aus der Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative ausgewählt. Diese eignet sich für die Untersuchung eines Zusammenhangs zwischen *SORL1*-Polymorphismen und Liquorbiomarkern hervorragend, da bereits eine sehr große Anzahl an Liquorproben (insgesamt 353 Studienteilnehmer ausgewählt) vorlag. Vor allem ist die große Anzahl von 100 gesunden Studienteilnehmern mit Bestimmung der Liquorbiomarker eine ausgezeichnete Hilfe. Stichprobengrößen in dieser Höhe sind nicht einfach zu gewinnen. Ein weiterer Vorteil sind die standardisierten Untersuchungsmethoden, sowohl im Laborbereich als auch bei der Erhebung neuropsychologischer Daten.

In der vorliegenden Doktorarbeit wird untersucht, ob die ausgewählten *SORL1*-Einzelnukleotidpolymorphismen in einem Zusammenhang mit den etablierten Liquormarkern stehen. Wichtig ist es, die bestehenden Daten in Zusammenhang mit anderen Studien bezüglich *SORL1*-Polymorphismen zu setzen.

3. Methoden

3.1 Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)

Die Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) wurde 2003 von folgenden Institutionen gegründet:

- National Institute on Aging,
- National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering,
- Food and Drug Administration;
- privaten Pharmafirmen,
- gemeinnützigen Organisationen;

Die Initiative unter Leitung von Michael W. Weiner, MD, VA Medical Center and University of California San Francisco, USA; stellt eine öffentlich-private Trägerschaft mit einem Volumen von 60 Millionen US-\$ dar.

Das führende Ziel von ADNI war es, herauszufinden, ob MRT, PET, andere biologische Marker, klinische und neuropsychologische Daten kombiniert werden können, um das Fortschreiten von Mild Cognitive Impairment (MCI) und frühen Alzheimerstadien einzuschätzen. Die Bestimmung von sensitiven und spezifischen Markern bei sehr frühem Alzheimerprogress soll zur Unterstützung von Forschern und Klinikern dienen, um neue Behandlungen zu entwickeln und deren Effektivität zu untersuchen. Des Weiteren sollen diese Marker genauso die Dauer und die Kosten von klinischen Studien vermindern. ADNI ist das Ergebnis einer breiten Zusammenarbeit zwischen akademischen Institutionen und privaten Körperschaften. Das anfängliche Ziel von ADNI war es, 800 Erwachsene zwischen 55 und 90 Jahren zu rekrutieren, die an den Untersuchungen teilnehmen. Die Probanden wurden an über 50 Studienzentren in den USA und in Kanada rekrutiert.

Es gab drei verschiedene Gruppen mit unterschiedlichen Untersuchungszeiträumen.

	Anzahl	Untersuchungszeitraum
Kognitiv gesunde ältere Personen	~200	3 Jahre
MCI-Patienten	~400	3 Jahre
Patienten mit früher Alzheimererkrankung	~200	2 Jahre

Abbildung 11: Charakteristika der ADNI-Gruppen

Die Englisch oder Spanisch sprechenden Probanden mussten zwischen 55 und 90 Jahren (eingeschlossen) sein und einen Studienbegleiter haben, der eine unabhängige Einschätzung der Fähigkeiten des Probanden abgeben konnte. Alle Probanden mussten Willens und in der Lage sein, an allen Testungen, einschließlich der bildgebenden Untersuchungen, teilzunehmen und Folgeuntersuchungen zustimmen. Zwischen zwanzig und fünfzig Prozent der Probanden mussten sich bereit erklären, sich zwei Lumbalpunktionen, im Abstand von einem Jahr, zu unterziehen. Die Einnahme von bestimmten psychoaktiven Medikamenten war ein Ausschlusskriterium.

Detaillierte Informationen über ADNI können in früheren Publikationen und unter www.adni-info.org (ADNI, 2010a) gefunden werden.

Die ADNI-Studie wurde durch die Ethikkommission genehmigt und die schriftliche Einverständniserklärung wurde nach ausführlicher Erläuterung durch ADNI von den Teilnehmern oder ihren gesetzlichen Vertretern eingeholt.

Die in dieser Doktorarbeit verwendeten Daten wurden am 9. September 2010 von der Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) Datenbank (ADNI, 2010b) heruntergeladen. Es handelte sich dabei um Daten zu 353 Patienten, die folgendes beinhalteten: Demographische und klinische Informationen, Illumina SNP-Genotypisierung, *APOE*-Genotyp, Liquormarker.

3.2 Studienteilnehmer

Die Studienteilnehmer an der ADNI-Studie wurden nach folgenden Diagnosekriterien, laut ADNI-Protokoll vom 19.09.2008, in die verschiedenen Gruppen eingeteilt:

1. Gesunde Kontrollpersonen:

- MMSE-Wert zwischen 24 und 30 (eingeschlossen)
- CDR = 0,
- keine Diagnose von Depression, MCI, Demenz

Die Altersverteilung sollte ähnlich wie in der Gruppe der MCI- und Alzheimer-Patienten sein. Deshalb sollten möglichst wenig gesunde Kontrollpersonen unter 70 Jahren eingeschlossen werden.

2. MCI-Patienten:

- MMSE-Wert zwischen 24 und 30 (eingeschlossen)
- Gedächtnisbeschwerden
- objektivierbarer Gedächtnisverlust im Wechsler Memory Scale Logical Memory II
- CDR=0,5
- keine signifikante Beeinträchtigung in anderen kognitiven Bereichen, v. a. erhaltene Aktivitäten im Alltagsleben
- keine Demenz

3. Leichtgradige Alzheimer-Krankheit

- MMSE-Wert zwischen 20 und 26 (eingeschlossen)
- CDR= 0,5 oder 1,0
- NINCDS/ADRDA-Kriterien für wahrscheinliche Alzheimer-Erkrankung erfüllt

Die gegenwärtige Analyse beschränkte sich auf nicht-hispanische Kaukasier, die in der klinischen Datenbank identifiziert wurden und deren SORL1-Genotypen verfügbar waren. Die endgültige Stichprobe schloss 353 Individuen ein, darunter 100 Kontrollpersonen, 166 MCI-Patienten und 87 Alzheimer-Patienten.

Die Informationen bezüglich Alter, Geschlechtsverteilung, MMSE-Werte und *APOE4*-Trägerschaft der 353 Probanden finden sich in nachfolgender Abbildung 6.

	Gesunde Kontrollgruppe N = 100	Mild cognitive Impairment N = 166	Wahrscheinliche Alzheimer-Krankheit N = 87
Alter, Jahre*	75.75 (5.32)	74.98 (7.41)	74.84 (7.52)
Männer : Frauen	50:50	114:52	50:37
MMSE-Wert *	29.04 (1.06)	26.93 (1.81)	23.49 (1.93)
<i>APOE</i> ε4-Träger	25	92	58
*Mittelwert (SD)			

Abbildung 12: Informationen zur ausgewählten Stichprobe

Bezüglich Alter mit einem Durchschnittswert von 75 Jahre wiesen die Kollektive eine hohe Übereinstimmung auf. Die Geschlechterverteilung der Kontrollgruppe war ausgewogen, im Patientenkollektiv waren überwiegend Männer (MCI: 69%; AK: 57%). In der neuropsychologischen Testung erreichte die gesunde Kontrollgruppe durchschnittlich einen MMSE-Punktwert von 29 Punkten. Die Gruppe der Patienten mit Mild Cognitive Impairment (MCI) erzielten mit 27 Punkten im Mittel ein signifikant besseres Ergebnis als die Alzheimer-Patienten mit durchschnittlich 23,5 Punkten. Die *APOE4*-Träger fanden sich vermehrt in der Alzheimergruppe mit 67% der Patienten, was den Erwartungen entsprach. In der gesunden Kontrollgruppe fanden sich nur 25% und in der MCI-Gruppe 55% *APOE4*-Träger.

3.3 Untersuchungsmethoden

Detaillierte Beschreibungen und Qualitätskriterien zur Bestimmung von Liquormarkern (Shaw et al., 2009) und genetischen Daten (Shen et al., 2010) sind bereits veröffentlicht worden und werden daher im Folgenden kurz zusammengefasst.

3.3.1 Liquoruntersuchung

Die Liquorproben wurden von 416 der ADNI-Probanden an insgesamt 56 Studienzentren bei Aufnahme in die Studie gewonnen.

Die Lumbalpunktion wurde am Morgen beim nüchternen Patienten durchgeführt. Innerhalb einer Stunde wurde der Liquor in Polypropylentubes überführt und auf Trockeneis tiefgefroren. Diese Proben, auf Trockeneis gelagert, wurden über Nacht zum ADNI-Biomarker-Zentrallabor an die University of Pennsylvania geschickt. Nach einstündigem Auftauen bei Raumtemperatur und vorsichtigem Mischen wurden dort Aliquots zu 0.5 ml hergestellt. Diese Aliquots wurden in Barcode-markierten Polypropylengefäßen bei minus 80 °C gelagert. Amyloid- β_{1-42} -Peptid ($A\beta_{1-42}$), total tau (tTau), und tau- phosphoryliert an Threonin 181 (pTau_{181p}) wurden mit Hilfe der multiplex xMAP Luminex Plattform (Luminex Corp, Austin, TX) und Innogenetics (INNO-BIA AlzBio3; Gent, Belgium; for research use-only reagents) Immunoassay-Reagenzien gemessen. Aus den 416 Proben bestanden 410 die Qualitätskontrolle und ein Proband scheiterte später am ADNI-Screening, woraus 409 gültige Liquorproben resultieren.

3.3.2 Genetische Daten

Die Genotypisierung von über 620.000 Einzelnukleotidpolymorphismen(SNPs) bei allen ADNI-Teilnehmern wurde wie in (Shen et al., 2010) beschrieben durchgeführt.

Sieben Milliliter Blut wurden von allen Studienteilnehmern in EDTA-haltige Röhrchen hinein entnommen und daraus nach Herstelleranweisung genomische DNA unter Verwendung von QIAamp DNA Blood Maxi Kit (Quiagen, Inc., Valencia, CA) gewonnen.

Genomische DNA-Proben wurden auf dem Human610-Quad BeadChip (Illumina, Inc. San Diego, CA) gemäß Protokoll (Infinium HD Assay; Super Protocol Guide; Rev. A, May 2008) analysiert.

Zuvor wurden 50ng der genomischen DNA jeder Probe qualitativ auf einem 1% Tris-acetat-EDTA-Agarosegel untersucht, um die DNA auf Degradierung zu überprüfen. Degradierete DNA-Proben wurden von den weiteren Untersuchungen ausgeschlossen. Die DNA-Konzentration wurde in dreifacher Ausfertigung mit PicoGreen® Reagenz (Invitrogen, Carlsbad, CA) bestimmt. Nach Verdünnung der Proben auf 50 ng/µl in Tris-EDTA-Puffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0), wurden 200 ng DNA pro Probe denaturiert, neutralisiert und amplifiziert für 22 h bei 37 °C (Das wird als MSA1-Platte bezeichnet). Die MSA1 Platte wurde mit FMS-Reagenz (Illumina) bei 37 °C 1h fragmentiert, ausgefällt mit 2-Propanol und bei 4 °C für 30 min inkubiert. Das daraus resultierende blaue Präzipitat wurde in RA1 Reagenz (Illumina) bei 48 °C für 1 h in Lösung gebracht. Die Proben wurden denaturiert (95 °C für 20 min) und sofort auf den BeadChips bei 48 °C für 20 h hybridisiert.

Die BeadChips wurden gewaschen und zur single base extension und zur Färbung gebracht. Zum Schluss wurden die BeadChips mit XC4-Reagenz (Illumina) beschichtet, getrocknet und auf dem BeadArray Reader (Illumina) dargestellt. Die Illumina BeadStudio 3.2 Software wurde benutzt, um aus den Farbintensitätsdaten SNP-Genotypen zu generieren.

Die SNP-Genotypen rs661057, rs689021, rs2070045, rs1699102 sind öffentlich auf der ADNI-Website (ADNI, 2010b) zum Download verfügbar. Die SNP-Genotypen rs668387, rs641120, rs3824968, rs2282649, rs1010159 waren in der ADNI – Datenbank nicht verfügbar. Diese wurden an der Washington University St. Louis als Teil einer genomweiten Assoziationsstudie genotypisiert (Kauwe et al., 2009).

3.4 Statistische Auswertung

In der statistischen Auswertung wurde eine schrittweise Diskriminanzanalyse mit multiplen linearen Regressionsmodellen im Softwareprogramm PASW v17 (SPSS Inc., Chicago, Ill, USA) verwendet. Diese sollte mögliche signifikante Einflussfaktoren auf die Liquorspiegel von $A\beta_{1-42}$, $t\tau$, $p\tau_{181}$ identifizieren. Als mögliche Einflussgrößen (Confounder-Variable) wurden Alter, Geschlechtsverteilung, MMSE-Ergebnisse und das Vorhandensein des *APOE4*-Allels (dichotom in Allel-Träger und Nichtträger aufgeteilt) getestet. Darauffolgend wurden separate lineare Regressionsanalysen mit den Liquorparametern als abhängige Variablen durchgeführt. Mit diesen kann, nach Korrektur der geeigneten Confounder-Variablen, der Einfluss der *SORL1*-SNPs auf die Konzentration der Biomarker eingeschätzt werden. Um den Einfluss möglicher Gen-Gen-Interaktionen zwischen den oben genannten *SORL1*-SNPs und dem *APOE4*-Allel auf $A\beta_{1-42}$ - Konzentrationen aufzudecken, wurde eine lineare Regressionsanalyse verwendet. Dabei wurde der Interaktionsparameter *SORL1*-SNP-Genotyp * *APOE4*-Träger/ -Nichtträger zusammen mit den signifikanten Confounder-Variablen aus dem ersten Analyseschritt als unabhängiger Faktor benutzt. $A\beta_{1-42}$ war in dieser Berechnung die abhängige Variable.

Eine Bonferroni-Korrektur für multiple Testung wurde angewandt für das Signifikanzniveau $p < 0,05$. Daraus ergab sich Bonferroni-korrigiert ein Signifikanzniveau $p < 0,006$. Um die Verteilung der abhängigen Variablen mit der Normalverteilung zu vergleichen, wurden normale p-p-Plots der standardisierten Residuen erstellt. Diese stellen die kumulative Verteilung der standardisierten Residuen der abhängigen Variable im Vergleich zur kumulativen Verteilung der angenommenen Normalverteilung graphisch dar.

4. Ergebnisse

4.1 Liquoruntersuchung

Die Ergebnisse der Liquoruntersuchung der 353 ausgewählten Probanden sind in nachfolgender Abbildung dargestellt.

	Gesunde Kontrollgruppe	Mild cognitive Impairment	Wahrscheinliche Alzheimer-Krankheit
	N = 100	N = 166	N = 87
Liquormarker			
Aβ₁₋₄₂ (ng/L)*	205.46 (55.76)	162.45 (54.38)	144.34 (42.90)
pTau181 (ng/L)*	25.27 (15.21)	36.20 (18.19)	42.46 (20.54)
tTau (ng/L)*	69.82 (31.00)	104.39 (59.78)	123.01 (58.89)
*Mittelwert (SD)			

Abbildung 13: Konzentration der Liquorproteine

Die gemittelten Konzentrationen der Liquorparameter β -Amyloid₍₁₋₄₂₎ und tau-Protein unterscheiden sich zwischen den Kollektiven signifikant voneinander. Das AK-Kollektiv bildet mit den genannten Biomarkern die, für die Alzheimer-Erkrankung, zu erwartende Konstellation aus erhöhten Tau-Protein- und erniedrigten β -Amyloid₍₁₋₄₂₎-Liquorkonzentrationen ab.

4.2 Genotypisierung

Die Häufigkeiten der Allele und Genotypen, der in 1.4. dargestellten neun *SORL1*-SNPs werden in nachfolgender Abbildung für die drei Studiengruppen aufgeführt.

	Gesunde Kontrollgruppe	Mild cognitive Impairment	Wahrscheinliche Alzheimer-Krankheit
	N = 100	N = 166	N = 87
<i>SORL1</i> -SNPs			
SNP 4 rs661057			
TT/CT/CC	32/48/20	62/75/29	36/36/15
SNP 8 rs668389			
CC/CT/TT	27/46/27	60/78/28	40/35/12
SNP 9 rs689021			
GG/AG/AA	26/45/29	59/79/28	37/39/11
SNP 10 rs641120			
TT/CT/CC	27/42/31	28/72/66	12/34/41
SNP 19 rs2070045			
TT/GT/GG	61/34/5	110/48/8	59/26/2
SNP 22 rs1699102			
TT/CT/CC	47/38/15	78/69/19	44/38/5
SNP 23 rs3824968			
TT/AT/AA	49/42/9	83/70/13	48/34/5
SNP 24 rs22822649			
CC/CT/TT	50/41/9	17/80/69	49/22/5
SNP 25 rs1010159			
TT/CT/CC	43/43/14	69/80/17	43/39/5

Abbildung 14: Verteilung der Genotypen

4.3 Ergebnisse der statistischen Auswertung

4.3.1 Lineare Regressionsanalyse

4.3.1.1 Alzheimer

In der Alzheimergruppe waren *APOE4* ($p < 0,001$, $n=87$), Alter ($p=0,02$; $n=87$) und Geschlecht ($p=0,03$; $n=87$) mit $A\beta_{1-42}$ assoziiert, sowie Alter mit $p\text{Tau}_{181}$ ($p < 0,01$; $n=87$).

Alzheimer			
n=87	abhängige Variable		
	$A\beta$	tTau	pTau
Einflussvariablen			
Geschlecht	0,029	0,055	0,425
Alter	0,019	0,264	0,004
MMSE	0,557	0,826	0,271
<i>APOE4</i>	0,000	0,986	0,963

4.3.1.2 Mild Cognitive Impairment

In der Gruppe der MCI-Patienten gab es eine Assoziation zwischen *APOE4* und $A\beta_{1-42}$ ($p < 0,001$; $n=166$) und zwischen *APOE4* und $p\text{Tau}_{181}$ ($p < 0,01$; $n=166$). Genauso gab es dort sowohl einen Zusammenhang zwischen tTau und *APOE4* ($p < 0,01$; $n=166$) als auch mit dem Geschlecht ($p=0,02$; $n=166$).

MCI			
n=166	abhängige Variable		
	$A\beta$	tTau	pTau
Einflussvariablen			
Geschlecht	0,705	0,021	0,145
Alter	0,291	0,359	0,756
MMSE	0,141	0,728	0,851
<i>APOE4</i>	0,000	0,006	0,005

4.3.1.3 Gesunde Kontrollgruppe

Bei der gesunden Kontrollgruppe korrelierte *APOE4* mit $A\beta_{1-42}$ ($p < 0,001$; $n=100$) und $t\tau$ ($p=0,02$; $n=100$). Zugleich korrelierte *APOE4* ($p < 0,01$; $n=100$) und Alter ($p=0,02$; $n=100$) mit $p\tau_{181}$.

Kontrollgruppe	abhängige Variable		
n=100	A β	t τ	p τ
Einflussvariablen			
Geschlecht	0,936	0,581	0,862
Alter	0,482	0,071	0,020
MMSE	0,187	0,701	0,789
<i>APOE4</i>	0,000	0,017	0,002

4.3.2 Separate multivariate Varianzanalyse

4.3.2.1 Alzheimer

AD	abhängige Variable		
	A β_{1-42}	t τ	p τ
Einflussvariablen			
SNP4(TT=0;TC=1;CC=2)	0,830	0,817	0,658
SNP8(CC=0;CT=1;TT=2)	0,039	0,345	0,639
SNP9(GG=0;AG=1;AA=2)	0,069	0,195	0,598
SNP 10(GG=0;GA=1;AA=2)	0,200	0,729	0,684
SNP 19 (TT=0;TG=1;GG=2)	0,864	0,888	0,575
SNP 22(TT=0;TC=1;CC=2)	0,837	0,356	0,331
SNP 23(AA=0;TA=1;TT=2)	0,003	0,631	0,895
SNP 24(TT=0;TC=1;CC=2)	0,007	0,462	0,800
SNP 25(TT=0;TC=1;CC=2)	0,025	0,389	0,148

Innerhalb der Alzheimerstichprobe ergab die separate multivariate Varianzanalyse, nach Bonferroni-Korrektur für multiple Testung, eine signifikante Assoziation zwischen dem $A\beta_{1-42}$ -Wert im Liquor und dem A-Allel des *SORL1*-SNP 23 ($p=0,003$; $n=87$). Die Träger des SNP23-A-Allels hatten niedrigere $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen als die Nichtträger (Träger vs. Nichtträger: $\text{mean}\pm\text{SD}$, $131,77\pm35,65$ vs. $154,56\pm45,85$ ng/l). Der Anteil der Träger des A-Allels in der Alzheimergruppe betrug 45%.

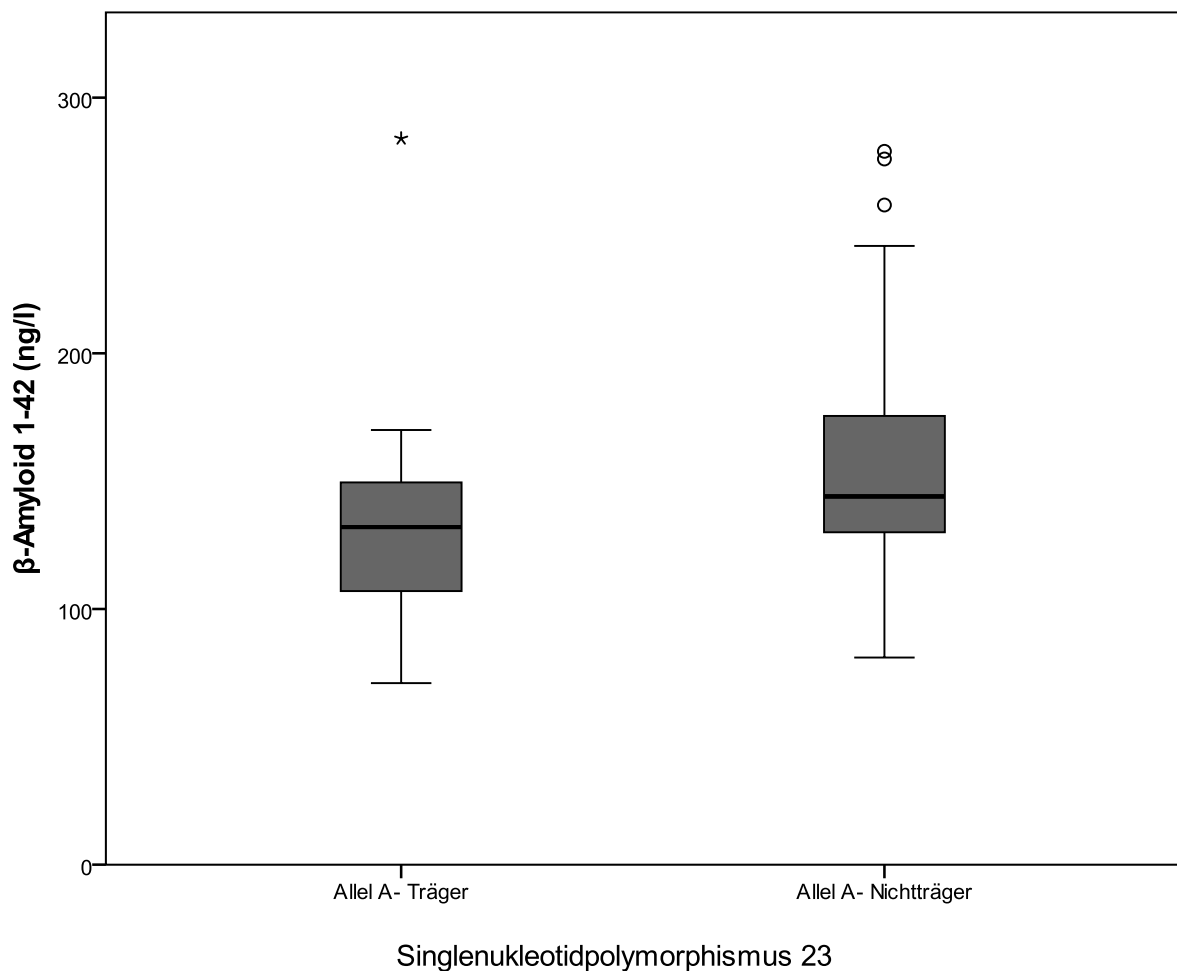


Abbildung 15: β -Amyloidkonzentration in Bezug auf SNP23
(Durchschnittskonzentration als horizontale Linie dargestellt)

Auch das *SORL1*-SNP24-T-Allel war bei den Alzheimerpatienten signifikant ($p=0,007$; $n=87$) mit den $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen im Liquor assoziiert. Die Träger des SNP24-T-Allels zeigten ebenfalls niedrigere $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen als die Nichtträger (Träger vs. Nichtträger: $\text{mean}\pm\text{SD}$, $127,76\pm 25,74$ vs. $157,20\pm 49,00$ ng/l). Der Anteil der Träger des T-Allels in der Alzheimergruppe betrug 31%. Dieser Zusammenhang bestand aber die Bonferroni-Korrektur nicht.

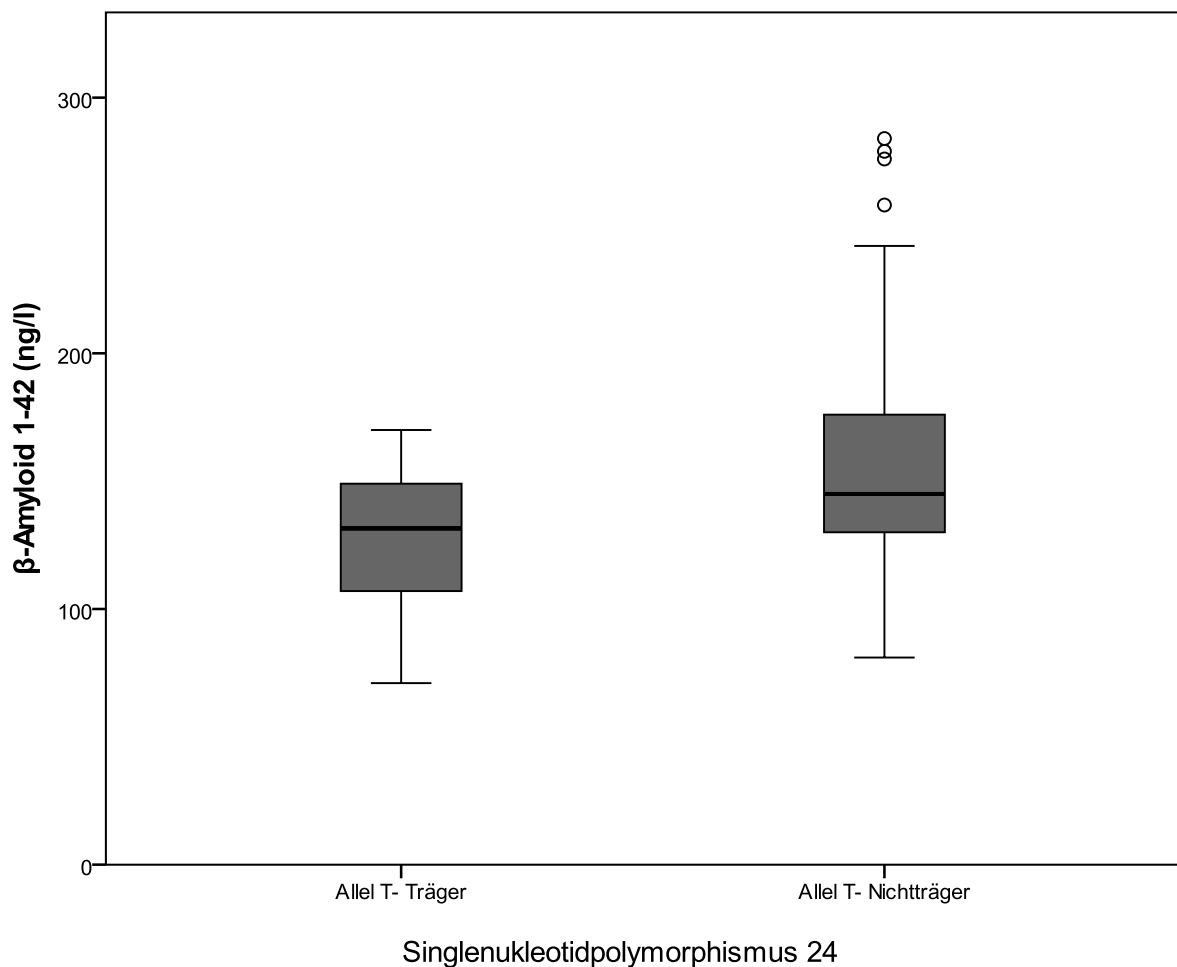


Abbildung 16: β -Amyloidkonzentration in Bezug auf SNP24
(Durchschnittskonzentration als horizontale Linie dargestellt)

Des Weiteren waren die Genotypen der SNPs 8 ($p=0,04$; $n=87$) und 25 ($p=0,03$; $n=87$) mit den $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen im Liquor assoziiert. Jedoch blieben diese Assoziationen nach der Bonferroni-Korrektur nicht statistisch signifikant. Der Anteil der C-Allel-Träger bei SNP8 betrug 86%, der Anteil der T-Allel-Träger bei SNP25 94%.

4.3.2.2 Mild cognitive Impairment

MCI	abhängige Variable		
	Aß1-42	tTau	pTau
Einflussvariablen			
SNP4(TT=0;TC=1;CC=2)	0,289	0,490	0,421
SNP8(CC=0;CT=1;TT=2)	0,692	0,692	0,585
SNP9(GG=0;AG=1;AA=2)	0,854	0,868	0,926
SNP 10(GG=0;GA=1;AA=2)	0,721	0,089	0,049
SNP 19 (TT=0;TG=1;GG=2)	0,825	0,635	0,161
SNP 22(TT=0;TC=1;CC=2)	0,357	0,631	0,872
SNP 23(AA=0;TA=1;TT=2)	0,600	0,525	0,249
SNP 24(TT=0;TC=1;CC=2)	0,932	0,266	0,025
SNP 25(TT=0;TC=1;CC=2)	0,563	0,672	0,786

Man konnte in der MCI-Gruppe zwischen pTau₁₈₁ und SNP24-Genotypen einen Zusammenhang beobachten ($p=0,03$; $n=166$). Der Anteil der T-Allel-Träger betrug 90%. Der Zusammenhang aber war nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr signifikant.

4.3.2.3 Gesunde Kontrollgruppe

Kontrolle	abhängige Variable		
	Aβ1-42	tTau	pTau
Einflussvariablen			
SNP4(TT=0;TC=1;CC=2)	0,391	0,129	0,590
SNP8(CC=0;CT=1;TT=2)	0,471	0,606	0,689
SNP9(GG=0;AG=1;AA=2)	0,561	0,936	0,847
SNP 10(GG=0;GA=1;AA=2)	0,921	0,749	0,832
SNP 19 (TT=0;TG=1;GG=2)	0,300	0,655	0,388
SNP 22(TT=0;TC=1;CC=2)	0,139	0,920	0,449
SNP 23(AA=0;TA=1;TT=2)	0,520	0,766	0,231
SNP 24(TT=0;TC=1;CC=2)	0,599	0,982	0,494
SNP 25(TT=0;TC=1;CC=2)	0,244	0,539	0,835

In der Gruppe der kognitiv gesunden Probanden konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen *SORL1*- Polymorphismen und den Proteinkonzentrationen im Liquor gezeigt werden.

4.3.3 Interaktionen zwischen APOE4 und SORL1-SNPs

Das APOE4-Allel war bei allen drei Gruppen mit erniedrigten $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen im Liquor assoziiert ($p < 0,001$ in allen Gruppen).

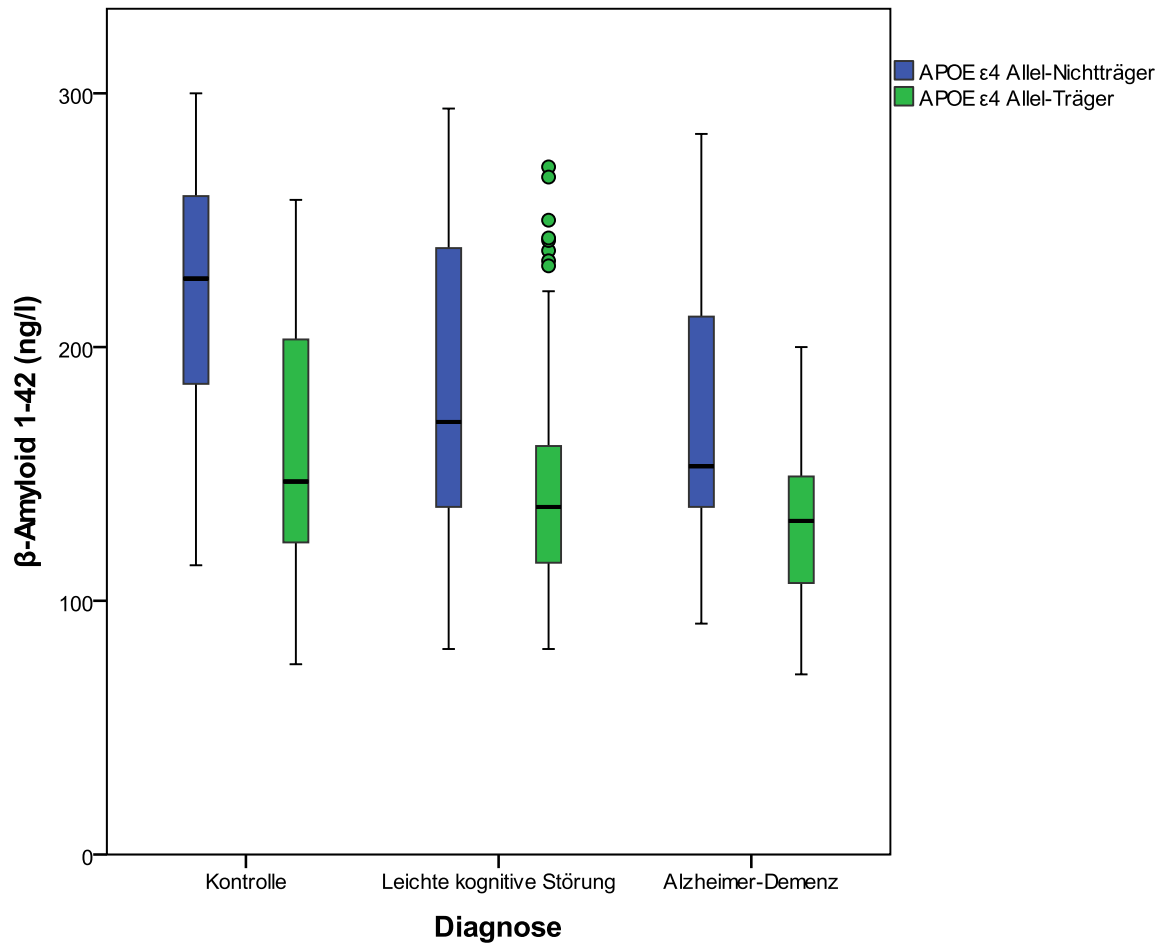


Abbildung 17: β -Amyloid-Konzentration in Abhängigkeit von APOE4 in den unterschiedlichen Diagnosegruppen

Es wurde herausgefunden, dass die Interaktion zwischen dem *APOE4*-Allel und den Genotypen von SNP23(p=0,001; n=87), SNP24(p=0,004; n=87), SNP25(p=0,009; n=87), SNP8(p=0,03; n=87) und SNP9(p=0,04; n=87) einen signifikanten Einfluss auf die $A\beta_{1-42}$ -Konzentration bei Alzheimerpatienten ausübt.

Dieser Einfluss blieb auch nach Bonferroni-Korrektur statistisch signifikant.

Alzheimer	
n=87	abhängige Variable
	A β
Einflussvariablen	
Geschlecht	0,013
<i>APOE4</i>	0,142
Alter	0,032
IntSNP4*APOE	0,347
IntSNP8*APOE	0,034
IntSNP9*APOE	0,036
IntSNP10*APOE	0,155
IntSNP19*APOE	0,912
IntSNP22*APOE	0,555
IntSNP23*APOE	0,001
IntSNP24*APOE	0,004
IntSNP25*APOE	0,009
Int=Interaktion	

5. Diskussion

SORL1 ist unter den TOP10 Alzheimererisikogenen in der Alzgene-Datenbank (Alzgene, 2011) gelistet. Viele Studien befassten sich mit der Assoziation zwischen *SORL1*-Polymorphismen und dem Erkrankungsrisiko für die Alzheimer-Krankheit.

In der vorliegenden Doktorarbeit wurden Assoziationen zwischen *SORL1*-Genvarianten und etablierten Liquorbiomarkern der Alzheimerpathologie in drei verschiedenen Stichproben untersucht. Das Hauptergebnis der Untersuchung ist, dass innerhalb der Alzheimergruppe die Träger des *SORL1*-SNP23-A-Allels verglichen mit Nichtträgern niedrigere Spiegel an $A\beta_{1-42}$ hatten. Darüber hinaus wurde in dieser Gruppe eine grenzwertige Assoziation zwischen der Anwesenheit des SNP24-T-Allels und der erniedrigten Konzentration von $A\beta_{1-42}$ entdeckt. Weitere untersuchte *SORL1*-SNPs besaßen die Tendenz, mit veränderten Spiegeln von $A\beta_{1-42}$ (SNP 8,25) oder pTau₁₈₁ (SNP 24) in Verbindung zu stehen. Nach Bonferroni-Korrektur war dies nicht mehr signifikant.

Zu Beginn der Untersuchungen gab es nur zwei Studien (Kolsch et al., 2008, Reynolds et al., 2010), die sich mit der Assoziation von *SORL1*-Polymorphismen und Liquorbiomarkern befassten. Kolsch et al. zeigten eine Assoziation von Amyloid- β 42 mit SNP21 ($p=0,011$) und mit Haplotyp 19T-21G-23A ($p=0,003$). Signifikante Assoziationen mit den Spiegeln von $A\beta_{40}$ fanden sie nicht (Kolsch et al., 2008).

Im weiteren Verlauf wurden Studien von Kauwe, Elias-Sonnenschein und Guo zu dieser Thematik veröffentlicht (Kauwe et al., 2009); (Elias-Sonnenschein et al., 2012); (Guo et al., 2012). Im Gegensatz zu den hier gefundenen Ergebnissen konnte weder eine Studie vom schwedischen Zwillingsregister (Reynolds et al., 2010), eine finnische Studie (Elias-Sonnenschein et al., 2012), noch eine Untersuchung, die teilweise ADNI-Daten benutzte (Kauwe et al., 2009, Kauwe et al., 2010), eine Assoziation zwischen *SORL1*-SNPs und Liquormarkern bei Alzheimer herstellen.

Es können mehrere, verschiedene Gründe für das Vorhandensein dieser unterschiedlichen Ergebnisse verantwortlich sein.

Zum einen unterscheidet sich die vorher genannte Studie (Reynolds et al., 2010) signifikant von den Daten in dieser Doktorarbeit bezüglich der Geschlechtsverteilung innerhalb der Alzheimergruppe (X^2 -Test, $p<0,001$). Hier wurde gezeigt, dass das Geschlecht die $A\beta_{1-42}$ -Spiegel in der Alzheimergruppe beeinflusst. Assoziationen zwischen *SORL1*-Genvarianten und Geschlecht (Cellini et al., 2009) und Berichte

über transgene Tiermodelle, die den Einfluss von Geschlecht auf die Amyloidpathologie zeigen (Placanica et al., 2009), sprechen auch für dies.

Zum anderen wurden für die vorliegende Arbeit nur Probanden ohne hispanischen Ursprung ausgewählt. Im Allgemeinen können sich Einzelnukleotidpolymorphismen in Häufigkeit und Einfluss in den verschiedenen geographischen oder ethnischen Gruppen deutlich unterscheiden (DNABaser, 2011). Neuere Metaanalysen bezüglich der Assoziationen zwischen *SORL1*-Varianten und Alzheimer mit über 30.000 untersuchten Personen zeigte deutliche Abweichungen bezüglich der Relevanz der einzelnen *SORL1*-SNPs in den unterschiedlichen ethnischen Gruppen (Reitz et al., 2011, Reitz and Mayeux, 2009).

In dieser Untersuchung (Reitz and Mayeux, 2009) an mehr als 6.000 Fällen, wurden zwei unterschiedliche Haplotypsätze identifiziert: zum einen SNPs am 5'-Ende des Gens (8-10; 120873131bp-120886175bp) bei karibischen Hispanos (Familienstudie), Kaukasiern (Fall-Kontrollstudie), und arabischen Israelis (Fallkontrollstudie) und zum anderen SNPs am 3'-Ende des Gens (22-25, 120962172bp-120988611bp) in vielen Kaukasierstichproben (Familien- und Fall-Kontrollstudien) und Afroamerikanern (Familienstudie). Die SNP-Haplotypen entsprechen dem relevanten Bereich der ADNI-Stichprobe mit kaukasischer Bevölkerung.

Die schwedische Zwillingsstudie beinhaltete eine große Stichprobe mit 1.558 Demenzfällen, davon 1.270 Alzheimerpatienten, und 2.179 Kontrollen, die unabhängig von ihrer Abstammung, aus der multiethnischen, schwedischen Gesellschaft in die Studie eingeschlossen wurden. Einfache Powerschätzungen dieser Autoren ergaben bei einem vorhergesagten Risikoeffekt mit einer OR~1,1 und einer minoren Allelfrequenz von 0,3 eine Stichprobengröße von 40.000 Fällen und Kontrollen um eine überzeugende Evidenz zu bieten. Das macht weitere Studien mit großen Stichproben notwendig, da häufig Risikoallele erst durch Metaanalysen gefunden werden. Genauso wird es sich mit Assoziationen zwischen Genvarianten und Assoziationen zwischen Liquorbiomarkern verhalten. Möglicherweise sorgen auch bis jetzt nicht getestete Sequenzvarianten mit größerem Einflusseffekt für die fehlende Assoziation. Das wäre ein möglicher Grund für den nicht signifikanten Einfluss von *SORL1*-SNPs.

Weiterhin wurden in der vorher erwähnten ADNI-Studie (Kauwe et al., 2010) die gesamten Patienten, sowohl mit Alzheimer als auch mit MCI, als eine einzige Patientengruppe betrachtet. Diese Patientengruppe wurde dann mit der kognitiv

gesunden Kontrollgruppe verglichen. Es ist daher möglich, dass der Effekt von *SORL1*-Varianten auf $A\beta_{1-42}$ -Spiegel bei den Alzheimerpatienten verdeckt wurde durch den fehlenden Einfluss auf die Patienten mit Mild Cognitive Impairment.

Auch fanden Elias-Sonnenschein et al. keine Assoziation der *SORL1* SNPs rs2070045, rs3824968 und rs73595277 mit $A\beta$, tTau und pTau (Elias-Sonnenschein et al., 2012). Da nur drei SNPs des *SORL1*-Gens untersucht wurden, kann man nicht von eindeutigen Aussagen sprechen. Es sollten mehrere als Risikoallele entdeckte Varianten untersucht werden.

Übereinstimmend mit den Daten dieser Doktorarbeit wurden in einer Studie von Guo et al. in einer deutschen Stichprobe mit 105 MCI- und Alzheimer-Patienten Assoziationen zwischen *SORL1*-Genvarianten am 5'-Ende und Liquormarkern gefunden (Guo et al., 2012). Die homozygoten CC-Allele von SNP4 waren mit erhöhten Tau-Konzentrationen in der Alzheimergruppe assoziiert. SNP22C, SNP23T und der Haplotyp TCT der SNPs 19, 21, 23 und der Haplotyp TTC der SNPs 22,23,24 korrelierten mit verminderten $A\beta_{42}$ Spiegeln in der Alzheimergruppe. Jedoch waren in der Originalstudie die anderen Allele als signifikant assoziiert. Wahrscheinlich ist das durch allelische Heterogenität zu erklären, dabei führen unterschiedliche Variationen am gleichen Genort, zum gleichen Phänotyp. Varianten bei unterschiedlichen ethnischen Gruppen können sich auch unterscheiden (Lee et al., 2007). Diese Ergebnisse bekräftigen dennoch die Rolle von Polymorphismen am 5'- und 3'-Ende des *SORL1*-Gens im Rahmen der Alzheimer-Krankheit.

Es ist allerdings schwierig, Unterschiede in den Genvarianten mit geringen Veränderungen in Biomarkern in Verbindung zu bringen. Zum einen ist es gut möglich, dass die untersuchten genetischen Varianten einen direkten Einfluss auf die Konzentrationen der Biomarker ausüben. Möglicherweise sind auch andere Umweltfaktoren oder andere genetische Ursachen, die nicht untersucht wurden, an der Konzentrationsveränderung beteiligt. Denkbar ist es aber genauso, dass die genetische Variation einen Effekt über einen weiteren funktionellen Zwischenschritt oder die Regulation anderer Gene erzielt (Richter-Schmidinger et al., 2010). Man muss diese Schwierigkeiten im Hinterkopf behalten, wenn der beobachtete Einfluss von *SORL1*-Genvarianten auf $A\beta_{1-42}$ diskutiert wird. Ebenso müssen unterschiedliche Ergebnisse in Replikationsstudien im Rahmen dessen interpretiert werden.

Der beobachtete signifikante Einfluss vom *SORL1*-SNP23-A-Allel und SNP24-T-Allel auf $A\beta_{1-42}$ war auf Patienten, die an Alzheimer litten, beschränkt. Man konnte keine Assoziation zwischen *SORL1*-Polymorphismen und der Liquorkonzentration von $A\beta_{1-42}$ bei MCI-Patienten feststellen. Bekannterweise stellt die klinische Gruppe der Patienten mit Mild Cognitive Impairment in vielen Fällen eine Prodromalphase von Alzheimer dar. Allerdings können dieser Gruppe auch andere Erkrankungen mit diesen Symptomen zugrunde liegen, sie besitzt daher eine variable Prognose (Alexopoulos et al., 2006, DeCarli, 2003). Die Basis der MCI-Diagnose in den untersuchten ADNI-Stichproben beruhte auf klinischen Kriterien, daher waren wahrscheinlich nicht nur Patienten mit beginnender Alzheimer-Krankheit eingeschlossen. Bei denen hätte man eine Assoziation zwischen *SORL1*-SNPs und $A\beta_{1-42}$ erwarten können. Die Anwesenheit der zuvor genannten Allele kann vermutlich Veränderungen im „*SORL1*-Shedding“ oder an der intrazellulären *SORL1*-Konzentration hervorrufen, die ausschließlich bei Patienten mit der Alzheimerpathologie auftreten (Rohe et al., 2008, Ikeuchi et al., 2010, Sager et al., 2007).

Generell werden bei der Alzheimer-Krankheit erniedrigte $A\beta_{1-42}$ -Spiegel im Liquor gefunden und es wurde berichtet (Kolsch et al., 2008, Ganzer et al., 2003), dass die Liquorkonzentration von $A\beta_{1-42}$ mit dem Fortschreiten der Krankheit sinken. Andreasen et al. widersprachen dieser Annahme (Andreasen et al., 1999). Dennoch könnte man argumentieren, dass ein erniedrigtes $A\beta_{1-42}$ bei SNP23-A-Allel-Trägern oder SNP24-T-Allel-Trägern unter den Alzheimerpatienten der unterschiedlich ausgeprägten Schwere der Amyloidpathologie zuzuschreiben ist. Die MMSE-Werte, die die klinische Ausprägung der Krankheitsschwere widerspiegeln, hatten auf die Liquorkonzentration in der zugrunde liegenden Stichprobe keinen Einfluss. Dies stimmt mit früher veröffentlichten Erkenntnissen überein (Kolsch et al., 2008).

Möglicherweise ergeben Messungen von anderen $A\beta$ -Spezies wie $A\beta_{40}$ noch weiteren Aufschluss über die Genvarianten und die Amyloidkaskade. In der ADNI-Stichprobe waren dafür keine Werte verfügbar.

Der nachgewiesene Effekt von Gen-Gen-Interaktionen zwischen *SORL1*-Genvarianten und *APOE4*-Allelen auf den $A\beta_{1-42}$ -Spiegel bietet weitere Evidenz für mögliche Wechselwirkungen zwischen *APOE* und *SORL1*, die die Pathogenese von Alzheimer beeinflussen können. In seiner Rezeptorfunktion bindet *SORL1*

unterschiedliche Moleküle, z. B. auch APOE und sorgt für die Endozytose von Lipoproteinen (Taira et al., 2001). Diese Lipoproteine enthalten APOE. Ein Komplex, gebildet aus APOE und β -Amyloid wurde im Liquor gefunden. Das Zusammenspiel zwischen SORL1 und APOE könnte sich darauf auswirken. Eine zunehmende Amyloidplaquebildung im Gehirn könnte durch den vermehrten Anfall von freiem A β die Folge sein (Ikeuchi et al., 2010).

Kürzlich berichteten Caglayan et al. 2012, dass ein *SORL1*- Haplotyp am 3'-Ende, gebildet von rs1699102 und rs2070045 die Transkription von *SORL1* verändert und in den Gehirnen von Alzheimerpatienten die Rezeptorexpression beeinflusst (Caglayan et al., 2012). Bemerkenswerterweise waren 2/3 der Gehirne von Frauen und die Korrelation zwischen Genotyp und Expression stieg, wenn die Statistik bezüglich Alter, Geschlecht und *APOE*-Genotyp angepasst wurde. Genauso sind bei den hier vorliegenden Ergebnissen, die Assoziationen von Geschlecht und *APOE*-Status abhängig. Die relevanten Allele befanden sich ebenso am 3'-Ende des *SORL1*-Gens. Inwiefern *APOE3*- und *E4*-Allele die *SORL1*-Expression beeinflussen, ist in weiteren Studien genauer zu klären. Aufgrund der nachgewiesenen Interaktion zwischen *SORL1* und *APOE4* sollen auch künftige Studien und darauffolgende Metaanalysen diese Interaktion untersuchen. Es muss darauf geachtet werden, dass die Frequenz des *APOE4*-Allel ausreichend hoch ist, um eine genügende statistische Power zu erreichen.

Die Tendenz von SNP24 die pTau₁₈₁ –Spiegel in der MCI-Gruppe zu beeinflussen war unerwartet. Grund dafür ist die frühere Beobachtung, dass *SORL1* an der Sortierung des Amyloidvorläuferproteins und dessen Prozessierung durch Sekretasen beteiligt ist (Rohe et al., 2008). Für eine Beteiligung an den Prozessen zur Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins fanden sich keine Belege in Studien. Möglicherweise ist diese Assoziation durch einen Typ-I-Fehler bedingt. Diese Entdeckung ist trotzdem erstaunlich, vor allem weil eine solche Assoziation bei Alzheimerpatienten nicht gefunden wurde. Der SNP 24 könnte durch Gen-Gen-Interaktion molekulare Mechanismen verändern, die die Tau-Hyperphosphorylierung bei MCI-Patienten beeinflussen. Diese Patienten leiden möglicherweise an anderen Demenzerkrankungen wie z.B. FTD, Lewy-Body-Erkrankung. Diese gehören genauso zur klinischen Gruppe der MCI-Erkrankten.

Ebenso könnte der Einzelnukleotidpolymorphismus SNP24 eine Verbindung zwischen der Amyloidkaskade und der Hyperphosphorylierung des Tau-Protein aufzeigen (McLean et al., 1999). Deshalb sind weitere Untersuchungen dazu gerechtfertigt.

In früheren Studien konnten unterschiedliche *SORL1*-Polymorphismen als Risikoallele identifiziert werden. Tan et al. zeigten in der chinesischen Population eine signifikante Assoziation für den SNP 23(A) und eine Tendenz dazu bei den Polymorphismen 22(T) und 24(T) mit einem erhöhten Risiko für die Alzheimer-Krankheit (Tan et al., 2009). Die untersuchten Polymorphismen 8,9,10,19, zeigten keine Interaktion. Auch Studien in der japanischen Bevölkerung (Kimura et al., 2009) unterstützten die Bedeutung des SNP24 T-Allels mit einem p -Wert $< 0,009$ (Lee et al., 2008). Das ähnelt den Ergebnissen dieser Doktorarbeit. Weiterhin fanden Meng et al. bei sechs von insgesamt 31 untersuchten SNPs mit TGEN-Daten signifikante Assoziationen mit der Alzheimer-Krankheit (Meng et al., 2007). Diese SNPs befanden sich ebenso im Bereich des 3'-Endes des *SORL1*-Gens. Genauer gesagt umspannen sie einen Bereich von ungefähr 35kb zwischen SNP21 und 25. Eine Haplotypenanalyse verstärkte das Assoziationssignal in der Region zwischen den SNPs 22-23.

Im Gegensatz dazu gibt es mehrere Studien, die die von Rogaeva et al. beobachteten Assoziationen zwischen Polymorphismen und Alzheimer-Krankheit nicht bestätigen können (Rogaeva et al., 2007). Darunter befanden sich Untersuchungen von Webster et al., Cousin et al., Shibata et al. (Webster et al., 2008); (Cousin et al., 2011); (Shibata et al., 2008). Auch Li et al. fanden in einer genomweiten Assoziationsstudie bei 48 untersuchten *SORL1*-SNPs keine Assoziation (Li et al., 2008).

Dafür können unterschiedliche Gründe eine Rolle spielen. Zum einen könnte die Originalstudie ein falsch positives Ergebnis erbracht haben, zum anderen können die Replikationsstudien auch ein falsch negatives Ergebnis zeigen. Möglicherweise sind die Stichproben zu klein und haben daher eine zu geringe statistische Power, um einen Effekt aufzudecken. Manchmal wurden auch das andere Allel eines SNPs als risikoassoziiert gesehen, was nicht direkt als Replikation des Ergebnisses gesehen werden kann, z.B. SNP 24 in (Cousin et al., 2011).

Eine andere Erklärung für diskrepante Ergebnisse könnten Unterschiede innerhalb der Stichprobe wie ein jüngeres Alter, Geschlechterverteilung der untersuchten Personen sein. Obwohl die Originalergebnisse nicht immer repliziert werden konnten, sind die Ergebnisse immer nur vorläufig. Andere SNPs rund um diesen genetischen Locus sollten in anderen Populationen untersucht werden. Eine Assoziation mit unterschiedlichen SNPs in unterschiedlichen Populationen heißt aber auch nicht, dass das Originalergebnis falsch ist. Weder für komplexe noch für monogene Erkrankungen wird beobachtet, dass ausschließlich ein einzelnes Allel in allen Datensätzen gefunden wird. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre die Locusheterogenität, dabei verursachen Mutationen an einer anderen Stelle den gleichen Phänotyp. Das heißt im Rahmen des gleichen Phänotyps sind Non-SORL1-SNPs möglicherweise im Übermaß vertreten und SORL1-SNPs sind dabei unterrepräsentiert. Manchmal werden auch nur grenzwertige Assoziationen einzelner SNPs gefunden. In der vorliegenden Doktorarbeit waren SNPs 8(C-Allel) ($p=0,04$; $n=87$) und 25 (T-Allel) ($p=0,03$; $n=87$) mit den $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen im Liquor assoziiert. Jedoch blieben diese Assoziationen nach der Bonferroni-Korrektur nicht statistisch signifikant. Natürlich kann dies als Andeutung für eine Assoziation angesehen werden, was nach weiteren Untersuchungen verlangt. Aber die aktuellen Erfolge in GWAS gezeigt, dass Anpassung für multiples Testen und beständige Replikation von Ergebnissen die Schlüssel zum Erfolg sind. „Deep-Sequencing“ des SORL1-Gens könnte seltene Varianten aufdecken, was eine Erklärung für die in einigen Populationen mit Alzheimer assoziierten SNP-Cluster am 3´- und 5´-Ende ermöglichen würde. Damit könnte die Signifikanz des SORL1-Gens weiter demonstriert werden.

Eine größere Anzahl von Studien versuchte den Einfluss von SORL1-Genvarianten auf Endophänotypen im Rahmen der Alzheimer-Krankheit aufzudecken (Reitz and Mayeux, 2009). Seshadri et al. benutzte z.B. 705 Personen aus der Framingham-Stichprobe und erweiterte die bestehenden Studien, indem er genetische Assoziationen mit strukturellen Gehirnveränderungen in MRT-Untersuchungen und mit kognitiver Leistung untersuchte (Seshadri et al., 2007). Die Autoren berichteten, dass SORL1 signifikant mit abstraktem Denken, gemessen im Similarity-Test, assoziiert war. Jedoch beobachteten sie keine Assoziation mit Gedächtnisleistungen.

Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz könnte sein, dass diese Stichprobe aus 705 verwandten Personen bestand, was zu eingeschränkter statistischer Power in der Aufdeckung von Assoziationen führen kann. Im Vergleich dazu wären größere Stichproben, die unverwandte Personen einschließen, sinnvoller.

Liu et al. untersuchten die ebenfalls in dieser Doktorarbeit verwendeten SNPs 8,9,10,22,23,24,25 bezüglich Assoziation mit Alzheimer und kognitiver Funktion bei 6.741 Personen (Rotterdam Study) und 2.883 Personen (Erasmus Rucphen Family study) (Liu et al., 2009). Weiterhin wurden 76 SNPs in einer 400kb-Region rund um das *SORL1*-Gen untersucht, um auszuschließen, dass andere genetische Varianten in diesem Genbereich eine Assoziation bergen. Eine Metaanalyse mit anderen Studienergebnissen wurde ebenso durchgeführt. Die Ergebnisse waren uneinheitlich, die minoren Allele der SNPs 8,9,10 verhielten sich in den beiden Studiengruppen bei den Gedächtnistests entgegengesetzt. Drei andere SNPs 23,24,25 waren mit besserer exekutiver Funktion assoziiert, wurden aber als Risikoallele für Alzheimer in der Metaanalyse gefunden. Jedoch ergab sich nach Korrektur für multiples Testen weder für die Alzheimer-Krankheit, noch für die kognitive Funktion eine signifikante Assoziation. Im Verlauf von 16 Jahren wurden 1.609 Patienten bezüglich 15 *SORL1*-Varianten und deren Zusammenhang mit Ergebnissen in verbalen und räumlichen Aufgaben, Gedächtnis- und Aufnahmegeschwindigkeitstests untersucht. Es gibt Hinweise darauf, dass *SORL1* im Zusammenhang mit kognitiven Veränderungen steht. Verschiedene SNPs waren assoziiert, vor allem mit räumlichem Denken, aber auch episodisches Gedächtnis und verbalen Fähigkeiten. Dabei gab es Unterschiede zwischen den Geschlechtern. (Reynolds et al., 2013). Über einen frauenspezifischen Effekt von *SORL1* und Alzheimerisiko berichteten auch schon Cellini et al. 2009 (Cellini et al., 2009). Weitere Untersuchungen von Endophänotypen der Alzheimer-Krankheit, wie z.B. Erkrankungsalter, strukturelle Gehirnmessungen, und neuropsychologische Tests (Gedächtnisleistung etc.) neben β -Amyloid-Spiegeln, und ihre Einordnung in den Kontext der *SORL1*-Polymorphismen wären sinnvoll.

Unterschiedliche Schwierigkeiten können bei den Untersuchungen von genetischen Polymorphismen auftreten. Es mag zudem schwierig sein, die bereits gefundenen genetischen Varianten zu replizieren. Zum einen weil die Stichproben zu klein sind, zum anderen weil bei komplexen Phänotypen genetische oder umweltbedingte Faktoren mitunter einen großen Einfluss haben können. Den genauen Effekt der

Genvarianten auf die Erkrankung zu bestimmen ist eine Herausforderung, da auch benachbarte Regionen im betreffenden Genabschnitt eine Rolle spielen können. Obwohl die vorliegende Stichprobe für eine Liquoruntersuchung relativ groß ist, ist ihre Größe dennoch eine Limitation für die statistischen Auswertungen. In der ADNI-Gruppe sind zu wenige Daten an Liquormarkern im Verlauf bekannt, um eine Aussage über den Krankheitsverlauf treffen zu können. Weiterhin fehlt die Sicherung der Diagnose post-mortem. Jedoch stimmen die vorliegenden Ergebnisse mit denen früherer Veröffentlichungen überein, die berichteten, dass *SORL1* einen relevanten Einfluss auf den Amyloidstoffwechsel und dadurch auf das Alzheimerisiko und die Alzheimerpathologie ausübt (Rohe et al., 2008, Reitz et al., 2011, Willnow et al., 2008, Alexopoulos et al., 2010). Trotzdem müssen die Ergebnisse in weiteren Studien mit unabhängigen, größeren Stichproben repliziert werden und erfordern Folgestudien, die die pathologische und klinische Relevanz von *SORL1* klären. Das komplexe Zusammenspiel aus genetischen Faktoren, Umweltbedingungen und deren Einfluss auf Endophänotypen muss noch besser untersucht und verstanden werden. Dann werden sich neue Möglichkeiten zur frühen Diagnose, zur Entwicklung von Biomarkern, und zur pharmakologischen Therapie finden und weiterentwickelt werden.

Durch diese Untersuchungen wird die bestehende Literatur erweitert um den positiven Zusammenhang zwischen *SORL1*-Varianten und Alzheimerbiomarkern. Die Ergebnisse sprechen dafür, dass *SORL1* die Pathogenese der Alzheimer-Krankheit beeinflusst. Zukünftig könnten die innerhalb genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) typisierten Polymorphismen im Zusammenspiel mit Endophänotypen, wie z. B. β -Amyloid, oder für sich alleine genommen als Früherkennungsmarker der Alzheimer-Krankheit dienen. Pharmakologische Behandlungsmöglichkeiten, die die *SORL1*-Expression oder Funktion verstärken, könnten eine effektive, neue Therapiestrategie sein.

Ausblick:

Die Pathogenese der Alzheimer-Krankheit wird durch eine Vielzahl von genetischen und umweltbedingten Faktoren beeinflusst. Eine interessante Rolle spielt dabei das *SORL1*-Gen. In dieser Doktorarbeit konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Einzelnukleotidpolymorphismen des *SORL1*-Gens und etablierten Liquorbiomarkern der Alzheimer-Krankheit gefunden werden. In der Alzheimer-Gruppe hatten die Träger des *SORL1*-SNP23-A-Allels verglichen mit Nichtträgern niedrigere Spiegel an $A\beta_{1-42}$. Zusätzlich fand man in dieser Gruppe eine grenzwertige Assoziation zwischen der Anwesenheit des SNP24-T-Allels und der erniedrigten Konzentration von $A\beta_{1-42}$. Weitere untersuchte *SORL1*-SNPs besaßen die Tendenz, mit veränderten Spiegeln von $A\beta_{1-42}$ (SNP 8,25) oder pTau₁₈₁ (SNP 24) in Verbindung zu stehen. Weitere Studien in diesem Kontext wären sinnvoll, auch im Hinblick auf andere ethnische Populationen. Darüber hinaus wäre die Etablierung eines Systems wünschenswert, das genetische Daten mit molekularbiologischen und klinischen Daten verknüpfen kann. Das Ziel wären Untersuchung und Aufklärung der Pathomechanismen, welche der Alzheimer-Krankheit zu Grunde liegen, um ein umfassendes Verständnis der genetischen Faktoren und biologischen Prozesse zu erlangen. Über diesen Ansatz wäre es zukünftig möglich neue therapeutische Möglichkeiten, aber auch verbesserte diagnostische Verfahren zu entwickeln.

6. Zusammenfassung

Die Alzheimer-Krankheit ist die häufigste unter den Demenzerkrankungen.

Eine wichtige Rolle spielt dabei die Hypothese der Amyloidkaskade, welche seit Jahren eingehend untersucht wird. Mehrere Assoziationsstudien gehen davon aus, dass der SORL1-Rezeptor (auch SORLA oder LR11 genannt) Einfluss auf die Prozessierung des Amyloids nimmt. *SORL1* ist unter den TOP-10-Alzheimererisikogenen in der Alzgene-Datenbank (Alzgene, 2011); (Bertram et al., 2007) gelistet.

Dieses Gen kodiert das Protein SORL1 (=SORLA = „sorting protein-related receptor with A type repeats“; auch als LR11 bezeichnet), einen Typ-I-Transmembranrezeptor. Dieser Rezeptor teilt Strukturmerkmale mit der Familie der LDL-(„low-density lipoprotein“) und VPS10-Rezeptoren und wird vor allem in Neuronen des Zentralnervensystems exprimiert. Bisher ist davon bekannt, dass SORL1 direkt mit dem Amyloidvorläuferprotein (APP), dem Schlüsselprotein der Alzheimer-Krankheit, interagiert und dessen Spaltung in $A\beta_{1-42}$, welche zur Plaquebildung führt, hemmt. Alzheimerpatienten weisen nur eine geringe Expression von SORL1 auf, was auf eine kausale Rolle des Rezeptors bei der Entstehung neurodegenerativer Prozesse hindeutet.

In der vorliegenden Doktorarbeit wurden Assoziationen zwischen neun *SORL1*-Genvarianten und den etablierten Liquorbiomarkern der Alzheimerpathologie, β -Amyloid, tTau, pTau, untersucht. Die drei untersuchten Gruppen bestanden aus 87 Alzheimerpatienten, 166 MCI-Patienten und 100 kognitiv gesunden, älteren Kontrollpersonen.

Das Hauptergebnis der Untersuchungen ergab, dass innerhalb der Alzheimergruppe die Träger des *SORL1*-SNP23-A Allels verglichen mit Nichtträgern signifikant niedrigere Liquorkonzentrationen an $A\beta_{1-42}$ hatten. Darüber hinaus wurde eine grenzwertige Assoziation bei Trägern des SNP24-T-Allels und $A\beta_{1-42}$ im Liquor bei Alzheimererkrankten entdeckt.

Diese Ergebnisse bekräftigen die Vermutung, dass *SORL1*-Varianten eine signifikante Rolle in der Amyloidpathologie der Alzheimer-Krankheit spielen. Demnach sind Folgestudien notwendig um die Relevanz von *SORL1* als Risikogen für Alzheimer weiter zu klären. Möglicherweise bietet die weitere Erforschung des *SORL1*-Rezeptors einen Weg zur Früherkennung und Therapie der Alzheimer-Krankheit.

7. Literaturverzeichnis

- ADNI. 2010a. Available: www.adni-info.org [Accessed 9.11.2010].
- ADNI. 2010b. Available: www.loni.ucla.edu/ADNI [Accessed 9. 09. 2010]
- ALEXOPOULOS, P., GRIMMER, T., PERNECZKY, R., DOMES, G. & KURZ, A. 2006. Do all patients with mild cognitive impairment progress to dementia? *J Am Geriatr Soc*, 54, 1008-10.
- ALEXOPOULOS, P., KURZ, A., LEWCZUK, P., KORNHUBER, J., WILTFANG, J., MAIER, W., FORSTL, H. & PERNECZKY, R. 2010. The sortilin-related receptor SORL1 and the amyloid cascade: a possible explanation for the concurrent elevation of CSF soluble APPalpha and APPbeta in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*, 25, 542-3.
- ALLSOP, D., LANDON, M. & KIDD, M. 1983. The isolation and amino acid composition of senile plaque core protein. *Brain Res*, 259, 348-52.
- ALZGENE. 2011. Available: www.alzgene.org [Accessed 6.Februar 2011].
- ALZHEIMER-KRANKHEIT. 2013. Available: <http://de.wikipedia.org/wiki/Alzheimer-Krankheit> [Accessed 31.07.2013].
- ANDERSEN, O. M., BENHAYON, D., CURRAN, T. & WILLNOW, T. E. 2003. Differential binding of ligands to the apolipoprotein E receptor 2. *Biochemistry*, 42, 9355-64.
- ANDERSEN, O. M., REICHE, J., SCHMIDT, V., GOTTHARDT, M., SPOELGEN, R., BEHLKE, J., VON ARNIM, C. A., BREIDERHOFF, T., JANSEN, P., WU, X., BALES, K. R., CAPPAL, R., MASTERS, C. L., GLIEMANN, J., MUFSON, E. J., HYMAN, B. T., PAUL, S. M., NYKJAER, A. & WILLNOW, T. E. 2005. Neuronal sorting protein-related receptor sorLA/LR11 regulates processing of the amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 13461-6.
- ANDERSEN, O. M., SCHMIDT, V., SPOELGEN, R., GLIEMANN, J., BEHLKE, J., GALATIS, D., MCKINSTRY, W. J., PARKER, M. W., MASTERS, C. L., HYMAN, B. T., CAPPAL, R. & WILLNOW, T. E. 2006. Molecular dissection of the interaction between amyloid precursor protein and its neuronal trafficking receptor SorLA/LR11. *Biochemistry*, 45, 2618-28.
- ANDREASEN, N., HESSE, C., DAVIDSSON, P., MINTHON, L., WALLIN, A., WINBLAD, B., VANDERSTICHELE, H., VANMECHELEN, E. & BLENNOW, K. 1999. Cerebrospinal fluid beta-amyloid(1-42) in Alzheimer disease: differences between early- and late-onset Alzheimer disease and stability during the course of disease. *Arch Neurol*, 56, 673-80.
- BERTRAM, L. & HAMPEL, H. 2011. The role of genetics for biomarker development in neurodegeneration. *Prog Neurobiol*, 95, 501-4.
- BERTRAM, L., MCQUEEN, M. B., MULLIN, K., BLACKER, D. & TANZI, R. E. 2007. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet*, 39, 17-23.
- BETTENS, K., BROUWERS, N., ENGELBORGH, S., DE DEYN, P. P., VAN BROECKHOVEN, C. & SLEEGERS, K. 2008. SORL1 is genetically associated with increased risk for late-onset Alzheimer disease in the Belgian population. *Hum Mutat*, 29, 769-70.
- BLENNOW, K., DE LEON, M. J. & ZETTERBERG, H. 2006. Alzheimer's disease. *Lancet*, 368, 387-403.
- BLENNOW, K., HAMPEL, H., WEINER, M. & ZETTERBERG, H. 2010. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 6, 131-44.

- BOZOKI, A., GIORDANI, B., HEIDEBRINK, J. L., BERENT, S. & FOSTER, N. L. 2001. Mild cognitive impairments predict dementia in nondemented elderly patients with memory loss. *Arch Neurol*, 58, 411-6.
- BRAAK, H. & DEL TREDICI, K. 2011. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol*, 121, 171-81.
- CAGLAYAN, S., BAUERFEIND, A., SCHMIDT, V., CARLO, A. S., PRABAKARAN, T., HUBNER, N. & WILLNOW, T. E. 2012. Identification of Alzheimer disease risk genotype that predicts efficiency of SORL1 expression in the brain. *Arch Neurol*, 69, 373-9.
- CELLINI, E., TEDDE, A., BAGNOLI, S., PRADELLA, S., PIACENTINI, S., SORBI, S. & NACMIAS, B. 2009. Implication of sex and SORL1 variants in italian patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 66, 1260-6.
- CORDER, E. H., SAUNDERS, A. M., STRITTMATTER, W. J., SCHMECHEL, D. E., GASKELL, P. C., SMALL, G. W., ROSES, A. D., HAINES, J. L. & PERICAK-VANCE, M. A. 1993. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261, 921-3.
- COSENTINO, S., SCARMEAS, N., HELZNER, E., GLYMOUR, M. M., BRANDT, J., ALBERT, M., BLACKER, D. & STERN, Y. 2008. APOE epsilon 4 allele predicts faster cognitive decline in mild Alzheimer disease. *Neurology*, 70, 1842-9.
- COUSIN, E., MACE, S., ROCHER, C., DIB, C., MUZARD, G., HANNEQUIN, D., PRADIER, L., DELEUZE, J. F., GENIN, E., BRICE, A. & CAMPION, D. 2011. No replication of genetic association between candidate polymorphisms and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 32, 1443-51.
- DE STROOPER, B. 2000. Alzheimer's disease. Closing in on gamma-secretase. *Nature*, 405, 627, 629.
- DEANE, R., SAGARE, A., HAMM, K., PARISI, M., LANE, S., FINN, M. B., HOLTZMAN, D. M. & ZLOKOVIC, B. V. 2008. apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest*, 118, 4002-13.
- DEANE, R. & ZLOKOVIC, B. V. 2007. Role of the blood-brain barrier in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*, 4, 191-7.
- DECARLI, C. 2003. Mild cognitive impairment: prevalence, prognosis, aetiology, and treatment. *Lancet Neurol*, 2, 15-21.
- DNABASER 2011.
- DODSON, S. E., GEARING, M., LIPPA, C. F., MONTINE, T. J., LEVEY, A. I. & LAH, J. J. 2006. LR11/SorLA expression is reduced in sporadic Alzheimer disease but not in familial Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 65, 866-72.
- DUAN, Y., DONG, S., GU, F., HU, Y. & ZHAO, Z. 2012. Advances in the pathogenesis of Alzheimer's disease: focusing on tau-mediated neurodegeneration. *Transl Neurodegener*, 1, 24.
- ELIAS-SONNENSCHNEN, L. S., BERTRAM, L. & VISSER, P. J. 2012. Relationship between genetic risk factors and markers for Alzheimer's disease pathology. *Biomark Med*, 6, 477-95.
- FEULNER, T. M., LAWS, S. M., FRIEDRICH, P., WAGENPFEIL, S., WURST, S. H., RIEHLE, C., KUHN, K. A., KRAWCZAK, M., SCHREIBER, S., NIKOLAUS, S., FORSTL, H., KURZ, A. & RIEMENSCHNEIDER, M. 2010. Examination of the current top candidate genes for AD in a genome-wide association study. *Mol Psychiatry*, 15, 756-66.
- GANZER, S., ARLT, S., SCHODER, V., BUHMANN, C., MANDELKOW, E. M., FINCKH, U., BEISIEGEL, U., NABER, D. & MULLER-THOMSEN, T. 2003. CSF-tau, CSF-Abeta1-42, ApoE-genotype and clinical parameters in the diagnosis of

- Alzheimer's disease: combination of CSF-tau and MMSE yields highest sensitivity and specificity. *J Neural Transm*, 110, 1149-60.
- GENECARDS. 2013. *The GeneCards Human Gene Database* [Online]. Available: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SORL1> [Accessed 18.07.2013].
- GENIN, E., HANNEQUIN, D., WALLON, D., SLEEGERS, K., HILTUNEN, M., COMBARROS, O., BULLIDO, M. J., ENGELBORGHES, S., DE DEYN, P., BERR, C., PASQUIER, F., DUBOIS, B., TOGNONI, G., FIEVET, N., BROUWERS, N., BETTENS, K., AROSIO, B., COTO, E., DEL ZOMPO, M., MATEO, I., EPELBAUM, J., FRANK-GARCIA, A., HELISALMI, S., PORCELLINI, E., PILOTTO, A., FORTI, P., FERRI, R., SCARPINI, E., SICILIANO, G., SOLFRIZZI, V., SORBI, S., SPALLETTA, G., VALDIVIESO, F., VEPSALAINEN, S., ALVAREZ, V., BOSCO, P., MANCUSO, M., PANZA, F., NACMIAS, B., BOSSU, P., HANON, O., PICCARDI, P., ANNONI, G., SERIPA, D., GALIMBERTI, D., LICASTRO, F., SOININEN, H., DARTIGUES, J. F., KAMBOH, M. I., VAN BROECKHOVEN, C., LAMBERT, J. C., AMOUYEL, P. & CAMPION, D. 2011. APOE and Alzheimer disease: a major gene with semi-dominant inheritance. *Mol Psychiatry*, 16, 903-7.
- GOEDERT, M. & SPILLANTINI, M. G. 2006. A century of Alzheimer's disease. *Science*, 314, 777-81.
- GRUNDKE-IQBAL, I., IQBAL, K., QUINLAN, M., TUNG, Y. C., ZAIDI, M. S. & WISNIEWSKI, H. M. 1986. Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem*, 261, 6084-9.
- GUO, L. H., WESTERTEICHER, C., WANG, X. H., KRATZER, M., TSOLAKIDOU, A., JIANG, M., GRIMMER, T., LAWS, S. M., ALEXOPOULOS, P., BUJO, H., KURZ, A. & PERNECZKY, R. 2012. SORL1 genetic variants and cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 262, 529-34.
- GUSTAFSEN, C., GLERUP, S., PALLESEN, L. T., OLSEN, D., ANDERSEN, O. M., NYKJAER, A., MADSEN, P. & PETERSEN, C. M. 2013. Sortilin and SorLA display distinct roles in processing and trafficking of amyloid precursor protein. *J Neurosci*, 33, 64-71.
- HAASS, C., HUNG, A. Y., SCHLOSSMACHER, M. G., TELOW, D. B. & SELKOE, D. J. 1993. beta-Amyloid peptide and a 3-kDa fragment are derived by distinct cellular mechanisms. *J Biol Chem*, 268, 3021-4.
- HAMPEL, H., PRVULOVIC, D., TEIPEL, S., JESSEN, F., LUCKHAUS, C., FROLICH, L., RIEPE, M. W., DODEL, R., LEYHE, T., BERTRAM, L., HOFFMANN, W. & FALTRACO, F. 2011. The future of Alzheimer's disease: the next 10 years. *Prog Neurobiol*, 95, 718-28.
- HARDY, J. & ALLSOP, D. 1991. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci*, 12, 383-8.
- HARDY, J. & SELKOE, D. J. 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297, 353-6.
- HERMANS-BORGMEYER, I., HAMPE, W., SCHINKE, B., METHNER, A., NYKJAER, A., SUSENS, U., FENGER, U., HERBARTH, B. & SCHALLER, H. C. 1998. Unique expression pattern of a novel mosaic receptor in the developing cerebral cortex. *Mech Dev*, 70, 65-76.
- IKEUCHI, T., HIRAYAMA, S., MIIDA, T., FUKAMACHI, I., TOKUTAKE, T., EBINUMA, H., TAKUBO, K., KANEKO, H., KASUGA, K., KAKITA, A., TAKAHASHI, H., BUJO, H., SAITO, Y. & NISHIZAWA, M. 2010. Increased levels of soluble LR11 in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 30, 28-32.

- JACOBSEN, L., MADSEN, P., MOESTRUP, S. K., LUND, A. H., TOMMERUP, N., NYKJAER, A., SOTTRUP-JENSEN, L., GLIEMANN, J. & PETERSEN, C. M. 1996. Molecular characterization of a novel human hybrid-type receptor that binds the alpha2-macroglobulin receptor-associated protein. *J Biol Chem*, 271, 31379-83.
- JAIN, E., BAIROCH, A., DUVAUD, S., PHAN, I., REDASCHI, N., SUZEK, B. E., MARTIN, M. J., MCGARVEY, P. & GASTEIGER, E. 2009. Infrastructure for the life sciences: design and implementation of the UniProt website. *BMC Bioinformatics*, 10, 136.
- JEON, H., MENG, W., TAKAGI, J., ECK, M. J., SPRINGER, T. A. & BLACKLOW, S. C. 2001. Implications for familial hypercholesterolemia from the structure of the LDL receptor YWTD-EGF domain pair. *Nat Struct Biol*, 8, 499-504.
- KANAKI, T., BUJO, H., HIRAYAMA, S., TANAKA, K., YAMAZAKI, H., SEIMIYA, K., MORISAKI, N., SCHNEIDER, W. J. & SAITO, Y. 1998. Developmental regulation of LR11 expression in murine brain. *DNA Cell Biol*, 17, 647-57.
- KANG, J., LEMAIRE, H. G., UNTERBECK, A., SALBAUM, J. M., MASTERS, C. L., GRZESCHIK, K. H., MÜLTHAUP, G., BEYREUTHER, K. & MULLER-HILL, B. 1987. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, 325, 733-6.
- KARRAN, E., MERCKEN, M. & DE STROOPER, B. 2011. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*, 10, 698-712.
- KAUWE, J. S., CRUCHAGA, C., BERTELSEN, S., MAYO, K., LATU, W., NOWOTNY, P., HINRICHS, A. L., FAGAN, A. M., HOLTZMAN, D. M. & GOATE, A. M. 2010. Validating predicted biological effects of Alzheimer's disease associated SNPs using CSF biomarker levels. *J Alzheimers Dis*, 21, 833-42.
- KAUWE, J. S., WANG, J., MAYO, K., MORRIS, J. C., FAGAN, A. M., HOLTZMAN, D. M. & GOATE, A. M. 2009. Alzheimer's disease risk variants show association with cerebrospinal fluid amyloid beta. *Neurogenetics*, 10, 13-7.
- KIMURA, R., YAMAMOTO, M., MORIHARA, T., AKATSU, H., KUDO, T., KAMINO, K. & TAKEDA, M. 2009. SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease in a Japanese population. *Neurosci Lett*, 461, 177-80.
- KOEPSSELL, T. D. & MONSELL, S. E. 2012. Reversion from mild cognitive impairment to normal or near-normal cognition: risk factors and prognosis. *Neurology*, 79, 1591-8.
- KOLSCH, H., JESSEN, F., WILTFANG, J., LEWCZUK, P., DICHGANS, M., KORNHUBER, J., FROLICH, L., HEUSER, I., PETERS, O., SCHULZ, J. B., SCHWAB, S. G. & MAIER, W. 2008. Influence of SORL1 gene variants: association with CSF amyloid-beta products in probable Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 440, 68-71.
- LEE, J. H., CHENG, R., SCHUPF, N., MANLY, J., LANTIGUA, R., STERN, Y., ROGAEVA, E., WAKUTANI, Y., FARRER, L., ST GEORGE-HYSLOP, P. & MAYEUX, R. 2007. The association between genetic variants in SORL1 and Alzheimer disease in an urban, multiethnic, community-based cohort. *Arch Neurol*, 64, 501-6.
- LEE, J. H., SHIBATA, N., CHENG, R. & MAYEUX, R. 2008. Possible association between SORL1 and Alzheimer disease? Reanalysing the data of Shibata et al. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 26, 482.
- LI, H., WETTEN, S., LI, L., ST JEAN, P. L., UPMANYU, R., SURH, L., HOSFORD, D., BARNES, M. R., BRILEY, J. D., BORRIE, M., COLETTA, N., DELISLE, R., DHALLA, D., EHM, M. G., FELDMAN, H. H., FORNAZZARI, L., GAUTHIER, S., GOODGAME, N., GUZMAN, D., HAMMOND, S., HOLLINGWORTH, P., HSIUNG, G. Y., JOHNSON, J., KELLY, D. D., KEREN, R., KERTESZ, A., KING,

- K. S., LOVESTONE, S., LOY-ENGLISH, I., MATTHEWS, P. M., OWEN, M. J., PLUMPTON, M., PRYSE-PHILLIPS, W., PRINJHA, R. K., RICHARDSON, J. C., SAUNDERS, A., SLATER, A. J., ST GEORGE-HYSLOP, P. H., STINNETT, S. W., SWARTZ, J. E., TAYLOR, R. L., WHERRETT, J., WILLIAMS, J., YARNALL, D. P., GIBSON, R. A., IRIZARRY, M. C., MIDDLETON, L. T. & ROSES, A. D. 2008. Candidate single-nucleotide polymorphisms from a genomewide association study of Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 65, 45-53.
- LITMAN, P., BARG, J. & GINZBURG, I. 1994. Microtubules are involved in the localization of tau mRNA in primary neuronal cell cultures. *Neuron*, 13, 1463-74.
- LIU, F., IKRAM, M. A., JANSSENS, A. C., SCHUUR, M., DE KONING, I., ISAACS, A., STRUCHALIN, M., UITTERLINDEN, A. G., DEN DUNNEN, J. T., SLEEGERS, K., BETTENS, K., VAN BROECKHOVEN, C., VAN SWIETEN, J., HOFMAN, A., OOSTRA, B. A., AULCHENKO, Y. S., BRETELER, M. M. & VAN DUIJN, C. M. 2009. A study of the SORL1 gene in Alzheimer's disease and cognitive function. *J Alzheimers Dis*, 18, 51-64.
- LOPEZ, O. L., BECKER, J. T., CHANG, Y. F., SWEET, R. A., DEKOSKY, S. T., GACH, M. H., CARMICHAEL, O. T., MCDADE, E. & KULLER, L. H. 2012. Incidence of mild cognitive impairment in the Pittsburgh Cardiovascular Health Study-Cognition Study. *Neurology*, 79, 1599-606.
- MAHLEY, R. W. & HUANG, Y. 2009. Alzheimer disease: multiple causes, multiple effects of apolipoprotein E4, and multiple therapeutic approaches. *Ann Neurol*, 65, 623-5.
- MANDELKOW, E. M. & MANDELKOW, E. 1998. Tau in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol*, 8, 425-7.
- MANDELKOW, E. M., SCHWEERS, O., DREWES, G., BIERNAT, J., GUSTKE, N., TRINCZEK, B. & MANDELKOW, E. 1996. Structure, microtubule interactions, and phosphorylation of tau protein. *Ann NY Acad Sci*, 777, 96-106.
- MATTHEWS, F. E., ARTHUR, A., BARNES, L. E., BOND, J., JAGGER, C., ROBINSON, L. & BRAYNE, C. 2013. A two-decade comparison of prevalence of dementia in individuals aged 65 years and older from three geographical areas of England: results of the Cognitive Function and Ageing Study I and II. *The Lancet*.
- MCLEAN, C. A., CHERNY, R. A., FRASER, F. W., FULLER, S. J., SMITH, M. J., BEYREUTHER, K., BUSH, A. I. & MASTERS, C. L. 1999. Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 46, 860-6.
- MENG, Y., LEE, J. H., CHENG, R., ST GEORGE-HYSLOP, P., MAYEUX, R. & FARRER, L. A. 2007. Association between SORL1 and Alzheimer's disease in a genome-wide study. *Neuroreport*, 18, 1761-4.
- MORWALD, S., YAMAZAKI, H., BUJO, H., KUSUNOKI, J., KANAKI, T., SEIMIYA, K., MORISAKI, N., NIMPF, J., SCHNEIDER, W. J. & SAITO, Y. 1997. A novel mosaic protein containing LDL receptor elements is highly conserved in humans and chickens. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17, 996-1002.
- MOTOI, Y., AIZAWA, T., HAGA, S., NAKAMURA, S., NAMBA, Y. & IKEDA, K. 1999. Neuronal localization of a novel mosaic apolipoprotein E receptor, LR11, in rat and human brain. *Brain Res*, 833, 209-15.
- MULLANE, K. & WILLIAMS, M. 2013. Alzheimer's therapeutics: continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis-but what lies beyond? *Biochem Pharmacol*, 85, 289-305.
- O'BRIEN, R. J. & WONG, P. C. 2011. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci*, 34, 185-204.
- OFFE, K., DODSON, S. E., SHOEMAKER, J. T., FRITZ, J. J., GEARING, M., LEVEY, A. I. & LAH, J. J. 2006. The lipoprotein receptor LR11 regulates amyloid beta

- production and amyloid precursor protein traffic in endosomal compartments. *J Neurosci*, 26, 1596-603.
- PALMER, K., WANG, H. X., BACKMAN, L., WINBLAD, B. & FRATIGLIONI, L. 2002. Differential evolution of cognitive impairment in nondemented older persons: results from the Kungsholmen Project. *Am J Psychiatry*, 159, 436-42.
- PETERSEN, R. C., SMITH, G. E., WARING, S. C., IVNIK, R. J., TANGALOS, E. G. & KOKMEN, E. 1999. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*, 56, 303-8.
- PLACANICA, L., ZHU, L. & LI, Y. M. 2009. Gender- and age-dependent gamma-secretase activity in mouse brain and its implication in sporadic Alzheimer disease. *PLoS One*, 4, e5088.
- PRINCE, M. J., JIM. 2009. *World Alzheimer Report 2009* [Online]. Available: <http://www.alz.co.uk/research/files/WorldAlzheimerReport.pdf> [Accessed 27.07.2013].
- REITZ, C., CHENG, R., ROGAEVA, E., LEE, J. H., TOKUHIRO, S., ZOU, F., BETTENS, K., SLEEGERS, K., TAN, E. K., KIMURA, R., SHIBATA, N., ARAI, H., KAMBOH, M. I., PRINCE, J. A., MAIER, W., RIEMENSCHNEIDER, M., OWEN, M., HAROLD, D., HOLLINGWORTH, P., CELLINI, E., SORBI, S., NACMIAS, B., TAKEDA, M., PERICAK-VANCE, M. A., HAINES, J. L., YOUNKIN, S., WILLIAMS, J., VAN BROECKHOVEN, C., FARRER, L. A., ST GEORGE-HYSLOP, P. H. & MAYEUX, R. 2011. Meta-analysis of the Association Between Variants in SORL1 and Alzheimer Disease. *Arch Neurol*, 68, 99-106.
- REITZ, C. & MAYEUX, R. 2009. Endophenotypes in normal brain morphology and Alzheimer's disease: a review. *Neuroscience*, 164, 174-90.
- REYNOLDS, C. A., HONG, M. G., ERIKSSON, U. K., BLENNOW, K., JOHANSSON, B., MALMBERG, B., BERG, S., GATZ, M., PEDERSEN, N. L., BENNET, A. M. & PRINCE, J. A. 2010. Sequence variation in SORL1 and dementia risk in Swedes. *Neurogenetics*, 11, 139-42.
- REYNOLDS, C. A., ZAVALA, C., GATZ, M., VIE, L., JOHANSSON, B., MALMBERG, B., INGELSSON, E., PRINCE, J. A. & PEDERSEN, N. L. 2013. Sortilin receptor 1 predicts longitudinal cognitive change. *Neurobiol Aging*, 34, 1710 e11-8.
- RICHTER-SCHMIDINGER, T., ALEXOPOULOS, P., HORN, M., MAUS, S., REICHEL, M., RHEIN, C., LEWCZUK, P., SIDIROPOULOS, C., KNEIB, T., PERNECZKY, R., DOERFLER, A. & KORNHUBER, J. 2010. Influence of brain-derived neurotrophic-factor and apolipoprotein E genetic variants on hippocampal volume and memory performance in healthy young adults. *J Neural Transm*.
- RITCHIE, K., ARTERO, S. & TOUCHON, J. 2001. Classification criteria for mild cognitive impairment: a population-based validation study. *Neurology*, 56, 37-42.
- ROGAEVA, E., MENG, Y., LEE, J. H., GU, Y., KAWARAI, T., ZOU, F., KATAYAMA, T., BALDWIN, C. T., CHENG, R., HASEGAWA, H., CHEN, F., SHIBATA, N., LUNETTA, K. L., PARDOSSI-PIQUARD, R., BOHM, C., WAKUTANI, Y., CUPPLES, L. A., CUENCO, K. T., GREEN, R. C., PINESSI, L., RAINERO, I., SORBI, S., BRUNI, A., DUARA, R., FRIEDLAND, R. P., INZELBERG, R., HAMPE, W., BUJO, H., SONG, Y. Q., ANDERSEN, O. M., WILLNOW, T. E., GRAFF-RADFORD, N., PETERSEN, R. C., DICKSON, D., DER, S. D., FRASER, P. E., SCHMITT-ULMS, G., YOUNKIN, S., MAYEUX, R., FARRER, L. A. & ST GEORGE-HYSLOP, P. 2007. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet*, 39, 168-77.
- ROHE, M., CARLO, A. S., BREYHAN, H., SPORBERT, A., MILITZ, D., SCHMIDT, V., WOZNY, C., HARMEIER, A., ERDMANN, B., BALES, K. R., WOLF, S., KEMPERMANN, G., PAUL, S. M., SCHMITZ, D., BAYER, T. A., WILLNOW, T. E. & ANDERSEN, O. M. 2008. Sortilin-related receptor with A-type repeats

- (SORLA) affects the amyloid precursor protein-dependent stimulation of ERK signaling and adult neurogenesis. *J Biol Chem*, 283, 14826-34.
- SAFRAN, M., DALAH, I., ALEXANDER, J., ROSEN, N., INY STEIN, T., SHMOISH, M., NATIV, N., BAHIR, I., DONIGER, T., KRUG, H., SIROTA-MADI, A., OLENDER, T., GOLAN, Y., STELZER, G., HAREL, A. & LANCET, D. 2010. GeneCards Version 3: the human gene integrator. *Database (Oxford)*, 2010, baq020.
- SAGARE, A. P., BELL, R. D. & ZLOKOVIC, B. V. 2012. Neurovascular dysfunction and faulty amyloid beta-peptide clearance in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2.
- SAGER, K. L., WUU, J., LEURGANS, S. E., REES, H. D., GEARING, M., MUFSON, E. J., LEVEY, A. I. & LAH, J. J. 2007. Neuronal LR11/sorLA expression is reduced in mild cognitive impairment. *Ann Neurol*, 62, 640-7.
- SCHERZER, C. R., OFFE, K., GEARING, M., REES, H. D., FANG, G., HEILMAN, C. J., SCHALLER, C., BUJO, H., LEVEY, A. I. & LAH, J. J. 2004. Loss of apolipoprotein E receptor LR11 in Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 61, 1200-5.
- SESHADRI, S., DESTEFANO, A. L., AU, R., MASSARO, J. M., BEISER, A. S., KELLY-HAYES, M., KASE, C. S., D'AGOSTINO, R. B., SR., DECARLI, C., ATWOOD, L. D. & WOLF, P. A. 2007. Genetic correlates of brain aging on MRI and cognitive test measures: a genome-wide association and linkage analysis in the Framingham Study. *BMC Med Genet*, 8 Suppl 1, S15.
- SEUBERT, P., VIGO-PELFREY, C., ESCH, F., LEE, M., DOVEY, H., DAVIS, D., SINHA, S., SCHLOSSMACHER, M., WHALEY, J., SWINDLEHURST, C. & ET AL. 1992. Isolation and quantification of soluble Alzheimer's beta-peptide from biological fluids. *Nature*, 359, 325-7.
- SHAW, L. M., VANDERSTICHELE, H., KNAPIK-CZAJKA, M., CLARK, C. M., AISEN, P. S., PETERSEN, R. C., BLENNOW, K., SOARES, H., SIMON, A., LEWCZUK, P., DEAN, R., SIEMERS, E., POTTER, W., LEE, V. M. & TROJANOWSKI, J. Q. 2009. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol*, 65, 403-13.
- SHEN, L., KIM, S., RISACHER, S. L., NHO, K., SWAMINATHAN, S., WEST, J. D., FOROUD, T., PANKRATZ, N., MOORE, J. H., SLOAN, C. D., HUENTELMAN, M. J., CRAIG, D. W., DECHAIRO, B. M., POTKIN, S. G., JACK, C. R., JR., WEINER, M. W. & SAYKIN, A. J. 2010. Whole genome association study of brain-wide imaging phenotypes for identifying quantitative trait loci in MCI and AD: A study of the ADNI cohort. *Neuroimage*, 53, 1051-63.
- SHIBATA, N., OHNUMA, T., BABA, H., HIGASHI, S., NISHIOKA, K. & ARAI, H. 2008. Genetic association between SORL1 polymorphisms and Alzheimer's disease in a Japanese population. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 26, 161-4.
- SHOJI, M., GOLDE, T. E., GHISO, J., CHEUNG, T. T., ESTUS, S., SHAFFER, L. M., CAI, X. D., MCKAY, D. M., TINTNER, R., FRANGIONE, B. & ET AL. 1992. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. *Science*, 258, 126-9.
- TAIRA, K., BUJO, H., HIRAYAMA, S., YAMAZAKI, H., KANAKI, T., TAKAHASHI, K., ISHII, I., MIIDA, T., SCHNEIDER, W. J. & SAITO, Y. 2001. LR11, a mosaic LDL receptor family member, mediates the uptake of ApoE-rich lipoproteins in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21, 1501-6.
- TAN, E. K., LEE, J., CHEN, C. P., TEO, Y. Y., ZHAO, Y. & LEE, W. L. 2009. SORL1 haplotypes modulate risk of Alzheimer's disease in Chinese. *Neurobiol Aging*, 30, 1048-51.
- WEBSTER, J. A., MYERS, A. J., PEARSON, J. V., CRAIG, D. W., HU-LINCE, D., COON, K. D., ZISMANN, V. L., BEACH, T., LEUNG, D., BRYDEN, L., HALPERIN, R. F.,

- MARLOWE, L., KALEEM, M., HUENTELMAN, M. J., JOSHIPURA, K., WALKER, D., HEWARD, C. B., RAVID, R., ROGERS, J., PAPASSOTIROPOULOS, A., HARDY, J., REIMAN, E. M. & STEPHAN, D. A. 2008. Sor11 as an Alzheimer's disease predisposition gene? *Neurodegener Dis*, 5, 60-4.
- WILLNOW, T. E. & ANDERSEN, O. M. 2013. Sorting receptor SORLA - a trafficking path to avoid Alzheimer disease. *J Cell Sci*, 126, 2751-60.
- WILLNOW, T. E., PETERSEN, C. M. & NYKJAER, A. 2008. VPS10P-domain receptors - regulators of neuronal viability and function. *Nat Rev Neurosci*, 9, 899-909.
- WIMO, A., JONSSON, L., GUSTAVSSON, A., MCDAID, D., ERSEK, K., GEORGES, J., GULACSI, L., KARPATI, K., KENIGSBERG, P. & VALTONEN, H. 2011. The economic impact of dementia in Europe in 2008-cost estimates from the Eurocode project. *Int J Geriatr Psychiatry*, 26, 825-32.
- WINBLAD, B., PALMER, K., KIVIPELTO, M., JELIC, V., FRATIGLIONI, L., WAHLUND, L. O., NORDBERG, A., BACKMAN, L., ALBERT, M., ALMKVIST, O., ARAI, H., BASUN, H., BLENNOW, K., DE LEON, M., DECARLI, C., ERKINJUNTTI, T., GIACOBINI, E., GRAFF, C., HARDY, J., JACK, C., JORM, A., RITCHIE, K., VAN DUJN, C., VISSER, P. & PETERSEN, R. C. 2004. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med*, 256, 240-6.
- WORTMANN, M. 2012. Dementia: a global health priority - highlights from an ADI and World Health Organization report. *Alzheimers Res Ther*, 4, 40.
- YAMAZAKI, H., BUJO, H., KUSUNOKI, J., SEIMIYA, K., KANAKI, T., MORISAKI, N., SCHNEIDER, W. J. & SAITO, Y. 1996. Elements of neural adhesion molecules and a yeast vacuolar protein sorting receptor are present in a novel mammalian low density lipoprotein receptor family member. *J Biol Chem*, 271, 24761-8.

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Liquormarker für die Alzheimer-Krankheit,	11
Abbildung 2:	Nicht-amyloidogene APP-Spaltung, modifiziert nach (O'Brien and Wong, 2011)	13
Abbildung 3:	Amyloidogene APP-Spaltung, modifiziert nach (O'Brien and Wong, 2011)	14
Abbildung 4:	Spaltung von APP (Alzheimer-Krankheit, 2013).....	16
Abbildung 5:	<i>SORL1</i> auf Chromosom 11 (Genecards, 2013).	17
Abbildung 6:	VPS10P-Rezeptorfamilie (Willnow et al., 2008)	18
Abbildung 7:	Funktion <i>SORL1</i> -Rezeptor;	21
Abbildung 8:	Rolle von <i>SORL1</i> im APP-Metabolismus(Willnow et al., 2008)	22
Abbildung 9:	ausgewählte <i>SORL1</i> -SNPs;	25
Abbildung 10:	SNPs im <i>SORL1</i> -Gen (Rogaeva et al., 2007)	26
Abbildung 11:	Charakteristika der ADNI-Gruppen.....	30
Abbildung 12:	Informationen zur ausgewählten Stichprobe	33
Abbildung 13:	Konzentration der Liquorproteine	37
Abbildung 14:	Verteilung der Genotypen.....	38
Abbildung 15:	β -Amyloidkonzentration in Bezug auf SNP23.....	41
Abbildung 16:	β -Amyloidkonzentration in Bezug auf SNP24.....	42
Abbildung 17:	β -Amyloid-Konzentration in Abhängigkeit von <i>APOE4</i>	45