FAKULTÄT FÜR MEDIZIN DER TECHNISCHEN UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Prof. Dr. Johann Förstl)

Zusammenhang zwischen der Konzentration von Beta-Amyloid im Plasma und dem Schlafverhalten bei Ärzten im nächtlichen Bereitschaftsdienst

Theresa Maria Laub

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

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Jürgen Schlegel

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. Timo Grimmer

2. apl. Prof. Dr. Bernhard Haslinger

Die Dissertation wurde am 09.10.2019 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 12.02.2020 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis 3

1 Einleitung 5

1.1 Definition und Charakteristik der Alzheimer-Krankheit 5
1.2 Pathogenese der Alzheimer-Krankheit 6
1.2.1 Produktion des Beta-Amyloids 7
1.2.2 Clearance des Beta-Amyloids 8
1.3 Risikofaktoren 9
1.3.1 Genetik 9
1.3.2 Sonstige Einflüsse 10
1.4 Schlaf und Amyloid 11
1.5 Relevanz der Forschung über die Alzheimer-Krankheit 12
1.5.1 Erkennung bisher unerkannter Risikofaktoren 12
1.5.2 Etablierung neuer Biomarker – eine Übersicht diagnostischer Möglichkeiten 12
1.5.3 Weiterentwicklung aktueller Therapiemöglichkeiten 17
1.5.4 Anstieg der Prävalenz 18
1.6 Ziel dieser Studie 18

2 Methodik 19

2.1 Probanden 19
2.2 Material 19
2.2.1 Klinische Datenerhebung 19
2.2.2 Probengewinnung 20
2.2.3 Experimentelle Messverfahren – Biomarkeranalysen und ApoE-Genotypisierung 20
2.3 Statistische Auswertungen 23

3 Ergebnisse 26

3.1 Stichprobenbeschreibung 26
3.2 Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel über Nacht 30
3.3 Zusammenhang zwischen der Relativen Reduktion von Aβ42 über Nacht und der Schlafdauer und den Schlafunterbrechungen 33
3.4 Auswirkung des Dienst-Settings auf die Relative Reduktion von Aβ42 34
3.5 Mit den Ausgangs-Plasmaspiegeln von Aβ42 in Zusammenhang stehende Faktoren 34
3.6 Analysen der Spezifität der oben genannten Erkenntnisse 35
3.6.1 Reduktion der Aβ40-Plasmaspiegel über Nacht 35
3.6.2 Zusammenhang zwischen der Relativen Reduktion von Aβ40 über Nacht und der Schlafdauer und den Schlafunterbrechungen 38
3.6.3 Reduktion der sAPPβ-Plasmaspiegel über Nacht 38

4 Diskussion 39

5 Zusammenfassung 43

6 Literaturverzeichnis 44

7 Abbildungsverzeichnis 52

8 Tabellenverzeichnis 52

Abkürzungsverzeichnis

A	Beta-Amyloid-Pathologie
AD	Alzheimer-Krankheit (engl.: Alzheimer's disease)
AICD	Intrazellläre Domäne von APP (engl.: APP intracellular domain)
ApoE	Apolipoprotein E
ApoEε4	ε4-Allel des ApoE codierenden Gens
APP	Amyloid-Vorläuferprotein (engl.: Amyloid precursor protein)
Art. #	Artikelnummer
Aβ	Beta-Amyloid-Protein
Aβ40	Beta-Amyloid-Protein 1-40
Aβ42	Beta-Amyloid-Protein 1-42
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's disease
CSF	Liquor cerebrospinalis (engl.: Cerebrospinal fluid)
CTF	Carboxy-terminales Fragment
EEG	Elektroenzephalogramm
ELISA	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest (engl.: Enzyme-linked Immunosorbent assay)
GEE	Generalisierte Schätzgleichung (engl.: Generalized Estimating Equations)
IBL	Immuno-Biological Laboratories
ICD	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme (engl.: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems)
ISF	Interstitielle Flüssigkeit (engl.: Interstitial fluid)
LDL	Lipoprotein niederer Dichte (engl.: Low density lipoprotein)

LRP1	Protein 1 der LDL-Rezeptorfamilie (engl.: Low density lipoprotein receptor-related protein 1)
MCI	Leichte kognitive Störung (engl.: Mild cognitive impairment)
N	Neurodegeneration
PSEN1	Presenilin-1
PSEN2	Presenilin-2
RAGE	Receptor for advanced glycation endproducts
sAPPβ	Lösliches Beta-Amyloidvorläuferprotein (engl.: Soluble amyloid precursor protein beta)
T	Tau-Pathologie
TREM2	Auf myeloiden Zellen 2 exprimierter Rezeptor (engl.: Triggering receptor expressed on myeloid cells 2)

1 Einleitung

1.1 Definition und Charakteristik der Alzheimer-Krankheit

Laut ICD-10 (10. Revision der Internationalen Statistischen Klassifikation von Krankheiten und verwandten Gesundheitsproblemen) ist die Alzheimer-Krankheit (AD) definiert als „[...] eine primär degenerative zerebrale Krankheit mit unbekannter Ätiologie und charakteristischen neuropathologischen und neurochemischen Merkmalen. Sie beginnt meist schleichend und entwickelt sich langsam aber stetig über einen Zeitraum von mehreren Jahren.“ (Deuschl G, 2016)

Der Anstieg des Amyloids im Gehirn ist ein früher und wichtiger Schritt der Entwicklung der AD (J. Hardy & Selkoe, 2002). Eine Hypothese besagt, dass eine gestörte Clearance des Beta-Amyloids (Aβ) zu zerebralen Amyloid-Ablagerungen führt (Thal, 2009). Thal, Rub, Orantes, and Braak (2002) beschreiben 5 Phasen der AD im Sinne einer systematischen Ausbreitung der Amyloid-Ablagerungen: In Phase 1 ist zunächst nur der Neocortex betroffen, in Phase 2 der Allocortex, in Phase 3 das Zwischenhirn und das Striatum, in Phase 4 einige Hirnstamm-Bereiche und in Phase 5 auch das Kleinhirn.

Man ist sich heute sicher, dass pathophysiologische Prozesse der AD lange vor Symptomen beginnen (Iacono et al., 2008; Sperling et al., 2011; Vlassenko et al., 2016). Deshalb wird dieser Zeitraum auch als präklinisches Stadium der AD bezeichnet. Darauf folgt ein prädementielles Stadium der AD, als leichte kognitive Störung (MCI, engl.: Mild cognitive impairment) durch die AD bezeichnet, wenn die Betroffenen erste leichte kognitive Leistungseinbußen aufweisen, jedoch noch nicht im Alltag eingeschränkt sind. Schließlich geht die MCI durch die AD dann in ein Stadium der Alzheimer-Demenz über (M. S. Albert et al., 2011; Bertens, Knol, Scheltens, Visser, & Alzheimer's Disease Neuroimaging, 2015).

Die AD ist die häufigste Ursache einer Demenz. Im Vordergrund der Demenz bei der AD stehen zunächst meist Merkfähigkeitsstörungen. Daneben fallen eine Beeinträchtigung sprachlicher Fähigkeiten mit Wortfindungsstörungen und eine räumlich-visuelle Desorientierung auf. Der Erkrankte verliert zunehmend die Möglichkeit, komplexe Gedankengänge zu vollziehen. Daneben fallen auch zeitliche und örtliche

Orientierungsstörungen, Veränderungen der Persönlichkeit und des Affektverhaltens auf. (Blennow, de Leon, & Zetterberg, 2006; Deuschl G, 2016; McKhann et al., 2011).

Makroskopisch zeichnet sich die AD durch Atrophien aus, die besonders den Locus coeruleus, den Hippokampus, den entorhinalen und temporoparietalen Kortex mit häufiger Aussparung des okzipitalen Kortex betreffen. Dementsprechend findet man vor allem temporal lokalisierte Dilatationen der Ventrikel in Nachbarschaft des Hippokampus und der Amygdala (Singh, Srivastav, Yadav, Srikrishna, & Perry, 2016; Theofilas et al., 2017; Whitwell et al., 2011).

1.2 Pathogenese der Alzheimer-Krankheit

Die Pathogenese der AD ist bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vollständig verstanden. Die Pathologie der AD umfasst bekanntermaßen senile Plaques und neurofibrilläre Tangles, die schließlich zu einer Reduktion von Synapsen, neuronaler Dysfunktion und zellulärem Tod führen. Neben Hypothesen, die auf einem Mangel an Acetylcholin oder einer mitochondrialen Dysfunktion und oxidativem Stress basieren, findet die Amyloid-Hypothese die wissenschaftlich größte Unterstützung (J. Hardy & Selkoe, 2002; Singh et al., 2016).

Sie besagt, dass das Beta-Amyloid-Peptid als Hauptverursacher der AD anzusehen ist. Aufgrund einer Überproduktion oder einer gestörten Clearance häufen sich Aβ-Monomere extrazellulär an, die sich zunächst zu löslichen, die Synapsen beeinträchtigenden Oligomeren zusammenlagern. Schließlich formieren sich daraus unlösliche Fibrillen, die die pathognomonischen senilen Plaques bilden. Die Aβ-Ablagerungen regen Entzündungsreaktionen an, die wiederum durch ein verändertes Verhältnis von Kinasen und Phosphatasen zur Tau-Pathologie führen, welche im nächsten Abschnitt näher beschrieben wird. Die Folgen der Kaskade sind letztlich eine synaptische Dysfunktion und ein neuronaler Zelluntergang, wodurch sich auch das Defizit an Neurotransmittern erklärt (J. A. Hardy & Higgins, 1992; Selkoe, 1991; Selkoe & Hardy, 2016; Singh et al., 2016).

Neben der Amyloid-Pathologie weisen an AD Erkrankte intrazellulär sogenannte neurofibrilläre Tangles auf. Dies sind Filamente, die sich aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein zusammensetzen. Das Tau-Protein ist in seiner physiologischen Form Bestandteil des Zytoskeletts und besitzt stabilisierende Wirkung auf die Mikrotubuli in den Axonen. Durch

Hyperphosphorylierung wird die neuronale Zellfunktion beeinträchtigt, was letztlich zum Zelltod führt (Singh et al., 2016).

1.2.1 Produktion des Beta-Amyloids

Aβ besteht aus 36 bis 43 Aminosäuren. APP, das Amyloid-Vorläuferprotein (engl.: Amyloid precursor protein), ist ein Transmembranprotein, das mit einer gesunden Zellaktivität in Verbindung gebracht wird, seine physiologische Funktion ist aber noch nicht ausreichend geklärt. Es kann mithilfe der Serinproteasen α, β und γ über zwei verschiedene Wege, den nicht-amyloidogenen und den amyloidogenen Weg, prozessiert werden. Während des nicht-amyloidogenen Wegs wird APP zuerst durch die α-Sekretase in sAPPα, das anscheinend eine neuroprotektive Funktion besitzt, und das carboxy-terminale Fragment CTFα gespalten. Anschließend spaltet die γ-Sekretase das CTFα in ein p3-Peptid und eine intrazelluläre Domäne von APP (AICD, (engl.: APP intracellular domain)). Beim amyloidogenen Weg entstehen mithilfe der β-Sekretase zunächst das lösliche sAPPβ und das membranständige CTFβ, in einem zweiten Schritt mithilfe der γ-Sekretase aus CTFβ das mit der AD assoziierte Aβ und eine AICD. Von Bedeutung ist hierbei, dass vor allem die aus 42 Aminosäuren bestehende Alloform Aβ42 im Vergleich zu Aβ40 am stärksten zur Aggregation neigt, lösliche Oligomere bildet und somit die höchsten neurotoxischen Effekte erzielt. Anzumerken ist jedoch, dass Aβ nicht zwangsweise pathogen ist, im Gegenteil wirkt sich Aβ nach neuesten Erkenntnissen in niedrigen Konzentrationen positiv auf Gedächtnisvorgänge aus (Blennow et al., 2006; Chow, Mattson, Wong, & Gleichmann, 2010; Singh et al., 2016; Zhang, Thompson, Zhang, & Xu, 2011).

Die Funktion von Aβ ist bis heute noch nicht vollständig geklärt, es gibt jedoch unter anderem Hinweise auf antimikrobielle Eigenschaften (Soscia et al., 2010).

Abgesehen von der direkten Produktion innerhalb des Gehirns entsteht Aβ aber auch peripher in verschiedenen Geweben. Mittels des Rezeptors RAGE (engl.: Receptor for advanced glycation endproducts) kann Aβ über die Blut-Hirn-Schranke in das Gehirn transportiert werden (Deane, Bell, Sagare, & Zlokovic, 2009; Roher et al., 2009).

1.2.2 Clearance des Beta-Amyloids

Auf physiologischem Weg, wenn Aβ nicht aggregiert, kann es durch verschiedene Mechanismen wieder aus dem Gehirn eliminiert werden.

Dies kann einerseits nicht-enzymatisch z.B. über das sogenannte glymphatische System geschehen. Hierbei erfolgt eine Drainierung des Aβ innerhalb der interstitiellen Flüssigkeit (ISF) zunächst in den perivaskulären Raum, welcher einerseits durch die Glia limitans des Gehirns und andererseits durch die Adventitia zerebraler Arterien und Venen begrenzt wird. Weiter wird die Flüssigkeit des perivaskulären Raums entlang der Basalmembran in den Liquor (CSF) oder in extrakranielle Lymphknoten drainiert. Aquaporin-4-Kanäle von Astrozyten spielen innerhalb dieses Systems eine wichtige Rolle (Iliff et al., 2012; Kumar et al., 2018; Plog & Nedergaard, 2018; Thal, 2009; Xie et al., 2013; Yoon & Jo, 2012).

Daneben ist bekannt, dass bestimmte Rezeptoren in Gefäßwänden von Kapillaren, in der Zellmembran von Mikroglia als Phagozyten des Gehirns und in der Zellmembran von Astrozyten als Teil der Blut-Hirn-Schranke an der Regulation der Aβ-Clearance beteiligt sind. Die Bekanntesten sind der LRP1 (Protein 1 der LDL-Rezeptorfamilie, engl.: Low density lipoprotein receptor-related protein 1)- und der LDL (Lipoprotein niederer Dichte, engl.: Low density lipoprotein)-Rezeptor, mit deren Hilfe Aβ beispielsweise endozytiert oder über die Blut-Hirn-Schranke ins Blut transportiert werden kann. Ein weiterer wichtiger Ligand dieser Rezeptoren ist das als Transportprotein fungierende Apolipoprotein E (ApoE), an das Aβ gekoppelt werden kann. Daneben spielt der Rezeptor TREM2 der Mikroglia (engl.: Triggering receptor expressed on myeloid cells 2) durch die Bindung von ApoE eine Rolle bei der Beseitigung von Aβ (Liao, Yoon, & Kim, 2017; Yoon & Jo, 2012).

Es wurde festgestellt, dass in zerebralen Gefäßwänden bei AD-Patienten LRP1-Rezeptoren vermindert und RAGE-Rezeptoren erhöht exprimiert werden, wodurch die Homöostase von In- und Efflux des Aβ gestört ist und sich mehr Aβ im Gehirn ansammeln kann (Donahue et al., 2006). Daneben konnten Studien an Mäusen zeigen, dass eine vermehrte Expression von LDL-Rezeptoren zu einer Steigerung der Aβ-Clearance und einer Verminderung der Aβ-Aggregation führen konnte. Dies sind interessante Erkenntnisse für die Entwicklung neuer Therapieansätze (Choi et al., 2015; Kim et al., 2009).

Darüber hinaus konnte eine Vielzahl an Proteasen identifiziert werden, die in der Lage sind, Aβ enzymatisch abzubauen und es dadurch unschädlicher und leichter abtransportierbar zu machen (Yoon & Jo, 2012).

1.3 Risikofaktoren

Das Alter stellt den größten Risikofaktor für die Entwicklung einer AD dar, aber auch Gene und viele weitere Faktoren spielen eine Rolle (Ridge, Ebbert, & Kauwe, 2013). Es wird unterschieden zwischen der Demenz bei Alzheimer-Krankheit mit frühem Beginn (familiäre AD) eingeteilt, die vor dem 65. Lebensjahr auftritt, schneller fortschreitet und mit meist dominant vererbten Mutationen in den Genen APP, Presenilin-1 (PSEN1) und Presenilin-2 (PSEN2) in Zusammenhang steht, und einer Demenz bei Alzheimer-Krankheit mit spätem Beginn (sporadische AD), die ab dem 65. Lebensjahr auftritt, unter anderem häufig auf polygenetische Ursachen zurückzuführen ist und die überwiegende Form darstellt. Ob diese Einteilung sinnvoll ist, da es pathophysiologisch und auch klinisch ansonsten keine klaren Unterscheidungskriterien gibt, wird jedoch in Frage gestellt (Deuschl G, 2016; Giri, Zhang, & Lu, 2016).

1.3.1 Genetik

Bekannte Mutationen, die zur familiären AD führen, sind in den Genen APP auf Chromosom 21, Presenilin-1 auf Chromosom 14 und Presenilin-2 auf Chromosom 1 lokalisiert. Durch eine Mutation des APP-Gens je nach Lage in der Nähe zur Schnittstelle der β- oder y-Sekretase kann deren Enzymaktivität verstärkt werden, woraus höhere Aβ42-Konzentrationen resultieren. Eine solche bekannte Mutation ist die London-Mutation (V717I). Andere Mutationen in kodierenden Abschnitten des APP verändern die Struktur des Amyloids, sodass es verstärkt zur Aggregation neigt. Die Tatsache, dass bei Patienten mit Down-Syndrom (Trisomie 21) die AD früher symptomatisch wird, führt man auf eine Überexpression von APP zurück. Daneben gibt es Mutationen in den Genen PSEN1 und PSEN2, die beide durch Veränderungen der γ-Sekretase zu einer erhöhten Produktion von Aβ42 führen. Eine Presenilin-1-Mutation kann bei etwa 50% der familiären AD gefunden

werden, Mutationen des PSEN2 sind dagegen eher selten (Giri et al., 2016; Ridge et al., 2013).

Einen Zusammenhang mit der sporadischen AD konnte man für ein Gen finden, das mit den drei codierenden Exons ε2, ε3 und ε4 für das Apoliporotein E (ApoE) codiert. ApoE wird im ZNS größtenteils von Astrozyten hergestellt und ist als Transportprotein für die Regulation von Lipiden im Blut verantwortlich. Mit einem dreifach erhöhten Risiko stellt das ε4-Allel des ApoE codierenden Gens (ApoEε4) den größten genetischen Risikofaktor für die sporadische AD dar. Das Allel ε2 dagegen hat eine schützende Funktion. ApoE hat vielfältige Angriffspunkte innerhalb der Pathogenese der AD, die man aktuell womöglich noch nicht in ihrer Vollständigkeit kennt. Es ist am Clearance-Mechanismus des Aβ beteiligt (s. 1.2.2) und hat einen Stellenwert in der Kinetik der Aβ-Aggregation. Dadurch wird die Entstehung seniler Plaques und einer zerebralen Amyloidangiopathie beeinflusst. Durch die Trägerschaft des ApoEε4 wird die Aβ-Aggregation und -Ablagerung gefördert und die Aβ-Clearance durch Initiierung von Entzündungsvorgängen, welche neurovaskuläre Schädigungen hervorrufen, beeinträchtigt. Außerdem ist ApoEε4 mit einem jüngeren Erkrankungsalter assoziiert und stellt einen Risikofaktor für zerebrovaskuläre Erkrankungen und Typ2-Diabetes dar, die wiederum Risikofaktoren für die AD sind (s.1.3.2) (Giri et al., 2016; Liao et al., 2017; Liu, Liu, Kanekiyo, Xu, & Bu, 2013; Ridge et al., 2013; Selkoe & Hardy, 2016).

Neben dem ApoE-Gen sind mittlerweile über 20 weitere Genloki bekannt, die zur Pathogenese der AD beitragen, indem sie hauptsächlich den Lipidmetabolismus, Entzündungreaktionen und Endozytosevorgänge modifizieren (Giri et al., 2016; Ridge et al., 2013; Selkoe & Hardy, 2016).

1.3.2 Sonstige Einflüsse

Ungünstige Einflüsse des Lebensstils, wie chronischer Stress, ungesunde Ernährung und Rauchen, und damit in Zusammenhang stehende weitere Erkrankungen wie der Schlaganfall, sind als mögliche Risikofaktoren für die Krankheitsentwicklung der AD Bestandteil der aktuellen Forschung (S. M. Albert, 2015; Machado et al., 2014; Ridge et al., 2013; Seifan, Schelke, Obeng-Aduasare, & Isaacson, 2015). Individuen mit Typ-2-Diabetes haben ein

höheres Risiko, an einer AD zu erkranken (Sims-Robinson, Kim, Rosko, & Feldman, 2010). Auch mit dem Typ-2-Diabetes vergesellschaftete Faktoren wie Adipositas, Hypertonie und Dyslipidämie stehen möglicherweise ebenfalls im Zusammenhang mit der Entwicklung einer AD (Li, Wang, & Xiao, 2016; Sims-Robinson et al., 2010).

1.4 Schlaf und Amyloid

Durch Detektion von Fluktuationen des Membranpotentials der Nervenzellen des Neokortex mittels eines Elektroenzephalogramms (EEG) können vier Schlafphasen unterschieden werden (Lucey & Bateman, 2014; Vyazovskiy et al., 2011). Der Rapid-Eye-Movement-Schlaf ist durch hochfrequente, niedrige Amplituden gekennzeichnet, ähnlich dem Wachzustand. Die drei folgenden Schlafphasen, zusammengefasst als Non-Rapid-Eye-Movement-Schlaf, sind durch eine progrediente Abnahme der Frequenz und Zunahme der Amplituden im EEG gekennzeichnet. Die Tiefschlaf-Phase mit der langsamsten Frequenz und den höchsten Amplituden der vier Schlafphasen bezeichnet man als Slow-Wave-Schlaf (Lucey & Bateman, 2014; Vyazovskiy et al., 2011).

Schlaf ist wesentlich für die Bildung des Gedächtnisses (Born & Wilhelm, 2012), die vor allem während des Slow-Wave-Schlafs stattfindet. Während des Schlafs können kurzzeitig gespeicherte Gedächtnisinhalte im Hippocampus durch wiederholte Reaktivierung in das Langzeitgedächtnis, welches hauptsächlich im Neocortex repräsentiert wird, überführt werden (Born & Wilhelm, 2012).

Neuen Erkenntnissen zufolge spielt Schlaf auch eine bedeutende Rolle bei der Beseitigung schädlicher Substanzen aus dem Gehirn (Xie et al., 2013). Ein Experiment an Mäusen zeigte, dass die Clearance von Molekülen, wie z.B. von Aβ, aus dem Gehirn bei schlafenden Mäusen höher als bei wachen Mäusen ist (Xie et al., 2013). Dies ist auf die Erweiterung des interstitiellen Raums während des Schlafs zurückzuführen, wodurch die Effektivität des glymphatischen Systems erhöht wird (Plog & Nedergaard, 2018; Xie et al., 2013).

Es wurde außerdem gezeigt, dass ein Schlafdefizit bei Mäusen die Amyloidspiegel in der interstitiellen Flüssigkeit (Kang et al., 2009) und im Gehirn erhöht (Rothman, Herdener, Frankola, Mughal, & Mattson, 2013; Zhao et al., 2017). Zusätzlich erhöht Schlafmangel die β-Sekretase-Spiegel (BACE1) (Zhao et al., 2017). Auch bei Ratten erhöht Schlafmangel die

Amyloid-, BACE1- und sAPPβ-Spiegel im Gehirn (Chen et al., 2017). Eine Studie an Menschen zeigte, dass die Konzentration von Amyloid im Plasma dem zirkadianen Rhythmus unterworfen ist (Huang et al., 2012).

Ein Ergebnis weiterer Studien war, dass eine Schlaf-Fragmentierung (Blackwell et al., 2006; Bonnet, 1985, 1986) und eine verminderte Schlafqualität mit einer Verschlechterung der kognitiven Funktion einhergeht (Potvin et al., 2012). Bei älteren Probanden besteht ein Zusammenhang zwischen einer nach eigenen Angaben kürzeren Schlafdauer und einer erhöhten Belastung von Amyloid im Gehirn (Spira et al., 2013).

1.5 Relevanz der Forschung über die Alzheimer-Krankheit

1.5.1 Erkennung bisher unerkannter Risikofaktoren

Es werden eine Vielzahl an Risikofaktoren, aber auf der anderen Seite auch schützende Einflussfaktoren vermutet, die eine mögliche Rolle in der Entstehung der AD spielen. Durch Aufdeckung bisher noch unerkannter Faktoren im Rahmen der Pathogenese der AD, womit sich auch die vorliegende Arbeit beschäftigt, können neue Chancen entstehen, durch eine mögliche Eliminierung von Risikofaktoren einen Beitrag zur primären Prävention der AD zu leisten.

1.5.2 Etablierung neuer Biomarker – eine Übersicht diagnostischer Möglichkeiten

Eine absolute Sicherheit der Diagnose der AD erlangt man bisher nur durch eine Autopsie (Beach, Monsell, Phillips, & Kukull, 2012; Dubois, Padovani, Scheltens, Rossi, & Dell'Agnello, 2016; Mirra et al., 1991).

Um klinische Symptome einer Demenz bei AD zu verifizieren und den Schweregrad der kognitiven Symptomausprägung einzuschätzen, hat sich die CERAD-Neuropsychologische-Testbatterie etabliert (Fillenbaum et al., 2008; Morris et al., 1989; Wolfsgruber et al., 2014).

McKhann et al. (2011) präsentieren die 1984 erstmals veröffentlichten und 2010 durch eine Arbeitsgruppe des National Institute on Aging und der Alzheimer's Association überarbeiteten Kriterien für die Demenz bei AD, in Abgrenzung zu Demenzen anderen

Ursprungs, die auch Eingang in die aktuelle S3-Leitlinie fanden. Dabei wird anhand klinischer Kriterien terminologisch zwischen einer wahrscheinlichen und einer möglichen Demenz bei AD unterschieden. Die Kombination einer wahrscheinlichen oder möglichen Demenz bei AD mit pathophysiologischen Nachweisen gibt Auskunft über die tatsächliche Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer AD. Zur Untermauerung der Diagnose einer Demenz bei AD werden also neben klinischer Symptomatik und neuropsychologischen Tests bildgebende Verfahren und eine Quantifizierung von Biomarkern im Liquor miteinbezogen. Dabei kann man Biomarker hinsichtlich der Pathogenese der AD in zwei Kategorien unterteilen, eine die Amyloid-Pathologie und eine die Neurodegeneration umfassende Kategorie. Es ist allerdings zu beachten, dass es noch weiterer Forschung hinsichtlich der Festsetzung von Standards und der Bewertung von Biomarkern bedarf (Deuschl G, 2016; McKhann et al., 2011).

Auch Dubois et al. (2014) präsentierten diagnostische Kriterien für die AD. Es werden klinische Symptome, Biomarker im Liquor, bildgebende Untersuchungen und Genmutationen berücksichtigt, wobei eine typische von einer atypischen AD unterschieden wird. Es wird dabei nicht mehr von einer Demenz gesprochen, wodurch auch frühere Stadien der Demenz bei AD miteingeschlossen sind (Deuschl G, 2016; Dubois et al., 2014).

Jack et al. (2018) schlugen neue Kriterien für eine präzisere, rein biologische Definition der AD vor:

Die Diagnostik basiert allein auf der Bestimmung von Biomarkern in vivo und neuropathologischen Untersuchungen nach dem Tod. Symptome, die im späteren Krankheitsverlauf der AD auftreten, sollen nicht mehr ausschlaggebend für die Diagnosestellung der AD sein. Damit besteht die Möglichkeit einer Frühdiagnostik der AD schon vor der Ausprägung von Symptomen. Es werden die Biomarker der β-Amyloid-Pathologie (A), der Tau-Pathologie (T) und der Neurodegeneration (N) kombiniert. Für A lassen sich, verglichen mit den weiteren zwei Biomarker-Kategorien T und N, zum frühesten Zeitpunkt im Krankheitsverlauf AD-typische Befunde nachweisen. Das Biomarker-Profil, in der nur für A Auffälligkeiten nachgewiesen werden können, wird als „pathologische Alzheimerveränderungen“ beschrieben. Die AD ist definiert durch das gemeinsame Vorliegen pathologischer Veränderungen von A und T. N und kognitive Symptome werden nur zur Bestimmung des Schweregrads der AD verwendet.

Biomarker der β-Amyloid-Pathologie

Bei an AD Erkrankten findet man im Vergleich zu Gesunden erniedrigte Aβ42-Konzentrationen im CSF, was im Zusammenhang mit einer vermehrten Aβ-Ablagerung steht (Fagan et al., 2009; Jack et al., 2018; Jack et al., 2010; McKhann et al., 2011). Man geht davon aus, dass der pathophysiologische Prozess des Absinkens der Aβ42-Spiegel schon in etwa 25 Jahre vor dem Auftreten erster Symptome der AD beginnt (Bateman et al., 2012; Bertens et al., 2015; Jack et al., 2010). Aus diesem Grund ist Aβ42 als Biomarker zur Frühdiagnostik der AD interessant und muss weiter erforscht werden (Hampel et al., 2004; Mattsson et al., 2009; Stomrud, Minthon, Zetterberg, Blennow, & Hansson, 2015). Die Gesamt-Aβ- und die Aβ40-Konzentration, die den größten Teil mit etwa 90% des Gesamt-Aβ ausmacht, sind zwar als alleinige Biomarker unbedeutend, jedoch scheint nach neuen Erkenntnissen ein erniedrigtes Verhältnis von Aβ42/40 im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko einer Entwicklung der AD zu stehen und aussagekräftig bezüglich dem Vorliegen einer AD zu sein (Dumurgier et al., 2015; Graff-Radford et al., 2007; Hansson et al., 2007; Jack et al., 2018; Murphy & LeVine, 2010). Gleichzeitig schreibt man Aβ40 einen protektiven Effekt zu (Kim et al., 2007; Wang, Wang, He, & Zheng, 2006).

Mithilfe einer Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und dem beispielsweise dafür verwendeten Tracer Pittsburgh Compound-B (PiB) ist es möglich, Amyloid im Gehirn darzustellen (Cohen & Klunk, 2014; Foster et al., 2007; Grimmer et al., 2009; Herholz, Carter, & Jones, 2007; Jack et al., 2013; Klunk et al., 2004).

Biomarker der Tau-Pathologie

Im Krankheitsverlauf der AD kommt nach der β-Amyloid-Pathologie die Tau-Pathologie hinzu (Bateman et al., 2012; Bertens et al., 2015; Jack et al., 2010).

P-Tau zeigt erhöhte Konzentrationen im CSF bei AD-Patienten (Hampel et al., 2010; Jack et al., 2013; McKhann et al., 2011). Der für die AD charakteristische Biomarker p-Tau gilt einzeln betrachtet als der sensitivste CSF-Biomarker der AD. P-Tau, phosphoryliert an Threonin 231 (P-tau231P), korreliert mit dem Vorhandensein von Neurofibrillären Tangles, ist wichtig für die Differentialdiagnose und spielt derzeit auch als potentieller frühdiagnostischer Biomarker der AD eine Rolle in der Forschung (Blennow, Hampel, Weiner,

& Zetterberg, 2010; Buerger et al., 2006; Ewers et al., 2007; Hampel et al., 2005; Hampel et al., 2004; Jack et al., 2018; Kaerst et al., 2014; Mulder et al., 2010).

Ein neues bildgebendes Verfahren zur Darstellung der Tau-Pathologie stellt die Tau-PET dar (Jack et al., 2018).

Biomarker der Neurodegeneration

Die Höhe von t-Tau im Liquor korreliert mit der neuronalen Zellschädigung und gehört deshalb zu den unspezifischen Biomarkern der AD. T-Tau steigt im Gegensatz zu p-Tau auch bei einer Schädigung der neuronalen Zellen durch andere Ursachen an. Außerdem wird vermutet, dass Zellen fähig sind, Tau aktiv zu sezernieren (Meredith et al., 2013).

Für den Nachweis einer Gehirnatrophie in AD-typischen Arealen wird eine Magnetresonanz-Tomographie (MRT) eingesetzt. Um noch vor dem Auftreten einer Atrophie einen bereits vorherrschenden parietotemporalen Hypometabolismus als Zeichen einer Neurodegeneration sichtbar zu machen, kann man sich eine Fluorodesoxyglukose-Positronen-Emissions-Tomographie (FDG-PET) zunutze machen. Die FDG-PET kann darüber hinaus auch einen differentialdiagnostischen Hinweis zur Abgrenzung der AD von anderen Ursachen der Demenz geben (Cohen & Klunk, 2014; Foster et al., 2007; Grimmer et al., 2009; Herholz et al., 2007; Jack et al., 2013; Klunk et al., 2004).

<u>Trend: Frühdiagnostische Biomarker und Biomarker im Plasma</u>

Geeignete Untersuchungen zur Früherkennung der AD sind noch nicht ausgereift, aber dringend notwendig. Denn umso früher man die Erkrankung erkennen kann, umso früher hat man die Möglichkeit, in den Krankheitsprozess einzugreifen (Dubois et al., 2016).

Biomarker wie Aβ42 und weitere Proteine, die in Verbindung mit dem Tau-Stoffwechsel oder mit Entzündungsreaktionen stehen, sind Gegenstand der aktuellen Forschung Um einen einfachen, kostengünstigen und minimalinvasiven diagnostischen Test zur Verfügung zu haben, ist die Etablierung von Biomarkern im Plasma erstrebenswert (Graff-Radford et al., 2007; Humpel, 2011; Roher et al., 2009; Shanthi, Krishnan, & Rani, 2015; Zetterberg & Burnham, 2019). Neuere Studien zeigten, dass die Aβ42-Plasma- und Liquorspiegel in positivem Zusammenhang stehen und dass die Aβ42-Plasmaspiegel und das Verhältnis

Aβ42/Aβ40 im Plasma bei an AD Erkrankten vor allem im Stadium der Demenz, aber auch schon in Prodromalstadien, erniedrigt sind (Janelidze et al., 2016; Verberk et al., 2018; Zetterberg & Burnham, 2019). Daneben gibt es weitere Hinweise darauf, dass Amyloid-Biomarker im Plasma auch potentielle frühdiagnostische Marker darstellen, da erniedrigte Werte für Aβ42/40 im Plasma bei kognitiv gesunden Individuen ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer AD darstellen (Graff-Radford et al., 2007; Verberk et al., 2018)

Ein Problem ist, dass viele Faktoren im Plasma Einfluss auf die Messung der Aβ-Plasmaspiegel haben, wie z.B. die Bindung an Transportproteine, zeitliche Fluktuationen oder der Aβ-Gehalt von Blutzellen (Graff-Radford et al., 2007; Humpel, 2011; Roher et al., 2009; Shanthi et al., 2015; Zetterberg & Burnham, 2019).

ApoE-Genotyp

(s. auch 1.3.1)

Da ApoEε4-Träger ein höheres Risiko für die Entwicklung der AD mit einem Beginn in jüngerem Alter aufweisen, stellt die Bestimmung des Genotyps neben anderen Biomarkern einen potentiellen frühdiagnostischen Marker dar (Liu et al., 2013).

sAPPβ

sAPPβ ist als ein Zwischenprodukt der APP-Prozessierung noch nicht als Biomarker etabliert. Allerdings gibt es bereits einige Studien, in denen sAPPβ als potentieller Biomarker analysiert wurde (Lewczuk et al., 2010; Perneczky et al., 2013). Wu, Sankaranarayanan, Hsieh, Simon, and Savage (2011) konnten beispielsweise signifikant reduzierte Level von sAPPβ im Gehirn bei an AD erkrankten Patienten messen. Auch in einer ersten Studie, die sich mit sAPPβ im Plasma im Zusammenhang mit der AD beschäftigte (Perneczky et al., 2013), wiesen Patienten mit wahrscheinlicher Demenz bei AD signifikant reduzierte Plasmakonzentrationen von sAPPβ auf. Perneczky et al. (2013) wiesen dabei auf die Bedeutung der sAPPβ-Konzentration im Plasma als potentieller, minimalinvasiver Biomarker hin. Bei Individuen, die an einer MCI bei AD erkrankt waren, wurden in einer Studie signifikant höhere sAPPβ-Spiegel im CSF im Vergleich zu Individuen mit einer MCI anderer

Genese gefunden, wodurch sAPPβ eine Bedeutung als möglicher Biomarker vor allem auch hinsichtlich der Früh- und Differentialdiagnostik der AD bekommt Perneczky et al. (2011)

1.5.3 Weiterentwicklung aktueller Therapiemöglichkeiten

Es gibt aktuell noch keine Therapie, die die AD heilen oder effektiv den Krankheitsprogress aufhalten kann. Man hat lediglich die Möglichkeit zur Symptomlinderung. Dazu eingesetzte Medikamente sind verschiedene Acetylcholinesterase-Hemmer und ein nichtkompetitiver NMDA-Antagonist (Graham, Bonito-Oliva, & Sakmar, 2017). Neue Therapieansätze sind deshalb dringend nötig. Derzeit befinden sich eine Reihe potentieller Medikamente im Sinne einer „disease-modifying therapy“ in Entwicklung und in Testphasen, für deren Angriffspunkte Kenntnisse über die Pathophysiologie der AD obligat sind (Cummings et al., 2016; Graham et al., 2017).

Die wichtigsten Wirkstoffe unter ihnen können in Anlehnung an Graham et al. (2017) hinsichtlich ihres Wirkmechanismus wie folgt zusammengefasst werden:

Verminderung der Aβ-Produktion:

- γ- Sekretase-Inhibitoren
- β-Sekretase-Inhibitoren/ BACE-Inhibitoren (engl.: β-site APP cleaving enzyme), anti-BACE-Antikörper, anti-APP-Antikörper (interagiert mit der Schnittstelle von BACE)

Erhöhung der Aβ-Clearance:

- Expressionserhöhung oder Inhibition von endogenen Inhibitoren der Aβ-Abbauenzyme
- Monoklonale anti-Aβ-Antikörper zur passiven Immunisierung

Verhinderung der Protein-Aggregation:

- Chaperone zur Modulation der Aβ-Aggregation
- Tau-Aggregations-Inhibitoren

Verhinderung der Neuroinflammation:

- Mikroglia-Aktivierungs-Inhibitoren

1.5.4 Anstieg der Prävalenz

Es besteht ein sehr hoher Forschungsbedarf bezüglich der AD, da die Prävalenz in Deutschland und auf der gesamten Welt aufgrund der immer älter werdenden Bevölkerung in Zukunft zunehmen wird (Bickel, 2016).

Schätzungen zufolge lag die Zahl der Demenz-Erkrankten im Jahr 2016 bei 47 Millionen weltweit, in Deutschland sind aktuell ca. 1,6 Millionen Menschen betroffen. An der Spitze steht dabei die Demenz bei AD, die etwa zwei Drittel aller Demenzen ausmacht. Man geht davon aus, dass sich ohne eine Verbesserung der Früherkennungs- und Therapiemöglichkeiten die Zahl der Demenzerkrankten bis zum Jahr 2050 in etwa verdoppelt haben wird (Bickel, 2016; Blennow, Biscetti, Eusebi, & Parnetti, 2016; Sütterlin, 2011).

1.6 Ziel dieser Studie

Ärzte im Nachtdienst stellen Repräsentanten der Schichtarbeit dar. Eine Auswirkung von Nachtdiensten auf die maßgeblich an der Pathogenese der AD beteiligten Amyloidkaskade wäre von größter sozioökonomischer Bedeutung.

Somit untersuchten wir, ob (a) Aβ42-Plasmaspiegel über Nacht bei Psychiatern durch die Tätigkeit im nächtlichen Bereitschaftsdienst reduziert werden und (b) eine Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel während des nächtlichen Bereitschaftsdienstes mit der Schlafdauer oder der Anzahl an Schlafunterbrechungen als Maß einer Schlaf-Fragmentierung in Zusammenhang steht. Zusätzlich wurde die Spezifität der Zusammenhänge (a) durch einen Vergleich mit Aβ42-Plasmaspiegeln normaler Nächte, die zuhause verbracht wurden, und (b) durch einen Vergleich mit Aβ40-Plasmaspiegeln untersucht. Daneben wurden Faktoren untersucht, die mit den Aβ42-Ausgangs-Plasmaspiegeln in Zusammenhang stehen.

2 Methodik

Diese Studie wurde von der zuständigen Ethikkommission der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zustimmend bewertet. Alle klinischen Untersuchungen wurden gemäß den Prinzipien der Deklaration von Helsinki (6. Revision) durchgeführt. Finanziert wurde die Studie durch die Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Technischen Universität München.

2.1 Probanden

Jeder Arzt der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München, der im Zeitraum der Datenerhebung im nächtlichen Bereitschaftsdienst tätig war, konnte nach ausführlicher Aufklärung und schriftlichem Einverständnis als Proband an der Studie teilnehmen. Die Probanden wurden mit Nummerncodes pseudonymisiert.

2.2 Material

2.2.1 Klinische Datenerhebung

Die Datensammlung wurde 9 Monate lang im Zeitraum von Juli 2013 bis März 2014 für die jeweils auf Montag bis Donnerstag folgenden Dienst-Nächte durchgeführt. Das Alter und das Geschlecht der Ärzte wurden in die Datenbank aufgenommen. Pro Proband wurden bis zu 8 Dienst-Nächte und bis zu 2 Nächte, bei denen die Probanden zu Hause schliefen, sogenannte Zuhause-Nächte, analysiert. Die Dienst- und Zuhause-Nächte wurden jeweils fortlaufend nummeriert.

Während der Nacht führten die Ärzte ein Schlafprotokoll. Hierbei sollten sie die Uhrzeiten notieren, wann sie sich schlafen legten und wann sie wieder wach wurden. Genauso machten sie Angaben über ihre Schlafzeiten der vorangegangenen Nacht. Optional wurde ein Aktometer-Armband als indirektes Maß zur Bestimmung der Wachheit getragen, um die Angaben der Teilnehmer verifizieren zu können. Die gesamte Schlafdauer pro Nacht wurde berechnet. Zusätzlich wurde die jeweilige Anzahl der Schlafunterbrechungen für weniger

(z.B. Telefonate) und mehr als 15 Minuten (z.B. Konsile) sowie die Gesamtanzahl der Unterbrechungen ermittelt. Die Inanspruchnahmedauer während eines Bereitschaftsdienstes sowie die Diensterfahrung der Ärzte, gemessen in Jahren, wurden dokumentiert, um das individuelle Stresslevel zu beschreiben. Zur Ermittlung der ärztlichen Inanspruchnahmedauer wurde das Dienstarztbuch mit den von den Ärzten notierten Zeiten entsprechend ausgewertet.

2.2.2 Probengewinnung

Zu Beginn eines Nachtdienstes um 17:00 Uhr und zum Ende des Dienstes am nächsten Morgen um 08:00 Uhr wurde dem Probanden unter Verwendung von Safety-Multifly-Kanülen (21G oder 23G, Fa. Sarstedt) und zweier Blutabnahme-Röhrchen à 9ml (S-Monovette, K3 EDTA, Fa. Sarstedt) venöses Blut abgenommen und der genaue Abnahmezeitpunkt notiert. Jede Blutabnahme wurde mit einem dreistelligen Nummerncode versehen. Im Anschluss wurden die Blutentnahme-Röhrchen im Labor des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München bei 4°C mit 2300 x g für 10 Minuten zentrifugiert und das so gewonnene Plasma zu je 500µl in bis zu 20 Cryotubes pipettiert, um später wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden, da dies zu einer Veränderung von Proteinstrukturen im Plasma führen kann. Die Aliquots wurden zunächst bei -30°C, zur langfristigen Aufbewahrung bei -80°C für spätere Analysen eingefroren.

2.2.3 Experimentelle Messverfahren – Biomarkeranalysen und ApoE-Genotypisierung

Nach Abschluss der Probengewinnung wurden im Neurobiologischen Labor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München zunächst die Konzentrationen von Aβ42 und Aβ40 im Plasma mittels Sandwich-ELISA (sandwich - enzyme-linked immunosorbent assay) bestimmt.

Ergänzend erfolgten aufgrund eines ersten Erkenntnisgewinnes aus den Messungen zusätzliche Analysen von sAPPβ und ApoE. Auch hier galt die Voraussetzung, dass sich der

einzelne Proband zuvor nach ausführlicher Aufklärung schriftlich damit einverstanden erklärt hatte.

2.2.3.1 Aβ42

Um Messabweichungen innerhalb der Werte eines Individuums möglichst gering zu halten, wurden alle Aliquots eines Probanden weitestgehend auf derselben Platte verteilt.

Zur Messung der Aβ42-Konzentrationen im Plasma verwendete man den Festphasen-Enzymimmunoassay Innotest β-Amyloid $_{(1\text{-}42)}$ (Art.# 80177) der Firma Innogenetics N.V. (Gent, Belgien).

Hierbei kam nachfolgendes Testprinzip zur Anwendung:

- Zuerst bindet nach Zugabe der Plasmaproben in die entsprechenden Kavitäten der Mikrotiterplatte das in den Plasmaproben enthaltene, zu detektierende Aβ42 an den an der Mikrotiterplatte fixierten monoklonalen Fangantikörper 21F12.
- Nach Inkubation und einem Waschschritt zur Entfernung von nicht auf der Festphase gebundenen Antigenen wird der mit Biotin markierte Detektionsantikörper 3D6 hinzugegeben, welcher an einem zweiten Epitop des Amyloids bindet.
- Nach erneuter Inkubation und einem zweiten Waschschritt bindet das nun hinzugefügte Streptavidin an das Biotin des Detektionsantikörpers. Streptavidin wiederum ist mit dem Enzym Peroxidase gekoppelt.
- Als nächstes erfolgt nach Inkubationszeit und einem dritten Waschschritt die Zugabe der Substratlösung Tetramethylbenzidin, wodurch sich die Kavitäten der Mikrotiterplatte blau färben, in denen alle vorher genannten Bindungen stattgefunden haben. Durch weitere Zugabe einer Stopplösung, in diesem Fall Schwefelsäure, wird die Enzym-Substrat-Reaktion wieder unterbrochen, was zu einer Gelbfärbung führt.
- Im Anschluss werden die Extinktionen bei einer Wellenlänge von 450nm mithilfe

eines Photometers gemessen und die Aβ42-Konzentrationen bestimmt.

Jede Plasmaprobe wurde vierfach gemessen. Das Ausgangsmaterial konnte unverdünnt verwendet werden. Die einzelnen Arbeitsschritte zur Durchführung des Nachweisverfahrens wurden nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Die minimale Messgrenze lag bei 4pg/ml.

2.2.3.2 Aβ40

Zur Messung der Aβ40-Konzentrationen im Plasma wurde der Amyloid-beta (1-40) High Sensitive ELISA (Art.# RE59781) der Firma IBL (Gunma, Japan) verwendet.

Dieses Assay-Kit unterschied sich zu dem für Aβ42 verwendeten, dass hier der monoklonale Fangantikörper „Anti-Human Aβ (35-40) (1A10) Mouse IgG“, der spezifisch das C-terminale Ende von Aβ40 erkennt, auf der Mikrotiterplatte fixiert war. Als Detektionsantikörper diente der Antikörper „Anti-Human Aβ (N) (82E1) Mouse IgG“, welcher bereits mit Meerrettichperoxidase konjugiert war. Deshalb fehlte hier der Schritt der Zugabe von enzymgekoppelten Streptavidin. Ansonsten blieb das Testprinzip analog zu Aβ42 gleich (s. 2.2.3.1).

Jede Plasmaprobe wurde wieder vierfach gemessen. Es wurde bei diesem Assay eine vierfache Verdünnung des Plasmas verwendet, um im messbaren Bereich im Vergleich zur Standardreihe zu sein. Die einzelnen Arbeitsschritte zur Durchführung des Nachweisverfahrens wurden nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Die minimale Messgrenze lag bei 4pg/ml.

2.2.3.3 sAPPβ

Zur sAPPβ-Bestimmung im Plasma nutzte man den human sAPP-β-w high sensitive ELISA (Art.# JP27732) der Firma IBL (Gunma, Japan; Detektionsbereich 0,78 - 50ng/ml).

Es galt dasselbe Testprinzip analog zu Aβ40 bzw. Aβ42 (s.2.2.3.1/2). Dabei kamen der „Anti-Human sAPPβ-wild Type Rabbit IgG“ als Fangantikörper und der an Meerrettichperoxidase gekoppelte „Anti-Human APP (R101A4) Mouse IgG“ als Detektionsantikörper zum Einsatz. Diesmal wurden die Plasmaproben in Triplikaten gemessen. Es wurde eine zehnfache

Verdünnung der Proben verwendet. Die einzelnen Arbeitsschritte zur Durchführung des Nachweisverfahrens wurden nach Anleitung des Herstellers durchgeführt.

2.2.3.4 ApoE

Die ApoE-Genotypisierung erfolgte nach einem Standardverfahren im Sinne einer Polymerase-Kettenreaktion mithilfe Restriktionsendonukleasen (Zivelin et al., 1997) aus EDTA-Vollblut-Proben, die zusätzlich nach Vorliegen einer separaten Einverständniserklärung für genetische Testungen gesammelt wurden.

2.3 Statistische Auswertungen

Zur Erstellung von Tabellen und Diagrammen wurde mit dem Software-Programm Microsoft Excel (Version 12.3.6), für weitere Berechnungen und statistische Modelle mit der IBM SPSS-Software (Version 22) gearbeitet. Statistische Signifikanz wurde für alle Hypothesen bei einem p-Wert kleiner als 0,05 angenommen.

Poweranalyse:

Die Berechnung der Stichprobengröße wurde vor Beginn der Datenerhebung basierend auf der Dynamik von Amyloid-Plasmaspiegel während normaler Schlaf-Wach-Zyklen bei Mäusen (Kang et al., 2009) durchgeführt. Ein moderater Zusammenhang (zwischen den Probanden) mit $r>0,58$ für kontinuierlich verteilte Daten erreicht statistische Signifikanz, wenn man 12 Probanden einschließt. Gleichermaßen erreichen Zusammenhänge innerhalb der Probanden mit $r>0,40$ statistische Signifikanz, wenn mindestens je 3 Dienst-Nächte für diese 12 Probanden ausgewertet werden.

Um zu testen, ob Aβ42-Plasmaspiegel über Nacht signifikant sinken, wurden generalisierte Schätzgleichungen (GEEs, engl.: Generalized Estimating Equations) mit einer austauschbaren Korrelationsstruktur zur Erfassung wiederholter Messungen erstellt. Die Zielvariable war die Relative Reduktion von Aβ42. Hierzu wurden Mediane der Aliquot-Messwerte für jede

Nacht, daraus wiederum die absoluten Differenzen (Aβ abends - Aβ morgens) und die relativen Differenzen ((Aβ abends - Aβ morgens)/Aβ abends) berechnet. Das Modell war ein Leermodell (Modell zur Bestimmung ebenenspezifischer Varianzanteile, intercept-only model). Diese Analyse wurde separat für die Nächte im Bereitschaftsdienst und für die Nächte zuhause durchgeführt.

Um die Auswirkungen der Schlafdauer und der Anzahl an Schlafunterbrechungen auf Aβ42 auszuwerten, wurde eine andere GEE mit der Zielvariable Relative Reduktion von Aβ42 (mediane Plasmaspiegel von (Aβ42 abends - Aβ42 morgens)/Aβ42 abends)), dem Faktor Geschlecht, und den Kovariaten Schlafunterbrechungen länger und kürzer als 15 Minuten, Alter, Diensterfahrung in Jahren, Inanspruchnahmedauer, mediane Plasmaspiegel von Aβ42 abends, mediane Plasmaspiegel von sAPPβ abends, Schlafdauer und Schlafdauer der vorherigen Nacht genutzt. Diese Analyse wurde nur für die Dienst-Nächte angewendet. Sie wurde mit der zusätzlichen Kovariate Häufigkeit von ApoEε4 für alle Probanden wiederholt, bei denen die Genotypisierung durchgeführt wurde.

Zur Evaluation einer möglichen Auswirkung der Rahmenbedingungen des Nachtdienstes (z.B. Stress, ungewohnte Schlafumgebung) wurde eine GEE mit der Zielvariable Relative Reduktion von Aβ42, den Faktoren Geschlecht und Dienst-/Zuhause-Nacht und den Kovariaten Schlafdauer, Schlafunterbrechungen länger und kürzer als 15 Minuten, Alter, Diensterfahrung in Jahren, mediane Plasmaspiegel von Aβ42 abends und die Schlafdauer der vorherigen Nacht angewendet. Diese Analyse beinhaltete sowohl Dienst- als auch Zuhause-Nächte.

Um Variablen identifizieren zu können, welche mit den Ausgangs-Plasmaspiegeln des Aβ42 (Aβ42-Plasmaspiegel abends) in Zusammenhang stehen, wurde ein GEE-Modell mit der Zielvariable Aβ42-Plasmaspiegel abends sowie mit dem Faktor Geschlecht und den Kovariaten Diensterfahrung in Jahren, Alter, Schlafdauer der vorherigen Nacht und mediane Plasmaspiegel von sAPPβ abends erstellt. Diese Analyse beinhaltete sowohl Dienst- als auch

Zuhause-Nächte. Sie wurde mit der zusätzlichen Kovariate Häufigkeit von ApoEε4 für alle Probanden wiederholt, bei denen die Genotypisierung durchgeführt wurde.

Analyse der Spezifität der oben genannten Ergebnisse

Um zu testen, ob Aβ40-Plasmaspiegel über Nacht signifikant sinken, wurden GEEs mit einer austauschbaren Korrelationsstruktur zur Erfassung wiederholter Messungen erstellt. Die Zielvariable war die Relative Reduktion des Aβ40 (mediane Plasmaspiegel von (Aβ40 abends - Aβ40 morgens)/Aβ40 abends). Das Modell war ein Leermodell. Diese Analyse wurde separat für die Nächte im Bereitschaftsdienst und für die Zuhause-Nächte durchgeführt.

Um festzustellen, ob die Schlafdauer oder die Anzahl an Schlafunterbrechungen die Reduktionen der Aβ40-Plasmaspiegel beeinflussen, wurde eine weitere GEE mit der Zielvariable Relative Reduktion des Aβ40 (mediane Plasmaspiegel von (Aβ40 abends - Aβ40 morgens)/Aβ40 abends)), dem Faktor Geschlecht, und den Kovariaten Schlafdauer, Schlafunterbrechungen länger und kürzer als 15 Minuten, Diensterfahrung in Jahren, Inanspruchnahmedauer, mediane Plasmaspiegel von Aβ40 abends, mediane Plasmaspiegel von sAPPβ abends und Schlafdauer der vorherigen Nacht genutzt. Diese Analyse wurde nur für die Dienst-Nächte angewendet.

Um zu testen, ob die Plasmaspiegel des sAPPβ über Nacht signifikant sinken, wurden GEEs mit einer austauschbaren Korrelationsstruktur zur Erfassung wiederholter Messungen erstellt. Die Zielvariable war die Relative Reduktion von sAPPβ (mediane Plasmaspiegel von (sAPPβ abends - sAPPβ morgens)/sAPPβ abends)). Das Modell war ein Leermodell. Diese Analyse wurde separat für die Nächte im Bereitschaftsdienst und für die Zuhause-Nächte durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Stichprobenbeschreibung

Die ausführliche Stichprobenbeschreibung ist in Tabelle 1 dargestellt.

Dienst- und Zuhause-Nächte werden separat betrachtet. Insgesamt wirkten 17 Ärzte mit, darunter 7 Frauen und 10 Männer im durchschnittlichen Alter von 34 Jahren. Bezüglich der Diensterfahrung wurde ein Mittelwert von 5 Jahren mit einer Streubreite von 0 bis 18 Jahren angegeben. Es wurden insgesamt 117 Nächte, davon 90 Dienst- und 27 Zuhause-Nächte untersucht.

Mit der ApoE-Genotypisierung erklärten sich 12 der 17 Probanden einverstanden, wobei ein Proband die ApoE-Allele 3/4, zwei Probanden die ApoE-Allele 2/3 und die restlichen 9 Probanden die ApoE-Allele 3/3 trugen. Die ausführliche Stichprobenbeschreibung, welche nur die Probanden mit ApoE-Genotypisierung beinhaltet, ist in Tabelle 1.1 dargestellt.

Tab. 1: Stichprobenbeschreibung

Demographische Angaben	
Anzahl der Probanden	17
Männer : Frauen	10 : 7
	Mittelwert / SD / Streubreite
Alter in Jahren	34 / 4,3 / 26 - 49
Diensterfahrung in Jahren	5 /4,4 / 0 - 18
Klinische Charakteristik der Dienst-Nächte	
Anzahl untersuchter Nächte gesamt	90
	Mittelwert / SD / Streubreite
Nächte pro Proband	3,7 / 2,2 / 1 – 8
Schlafdauer der vorherigen Nacht in Stunden	7,4 / 0,5 / 3,5 – 10,0
Schlafdauer in Stunden	5,4 / 1,7 / 1,4 – 9,5
Anzahl der Schlafunterbrechungen < 15 Minuten	0,4 / 1,0 / 0 – 6

Anzahl der Schlafunterbrechungen > 15 Minuten	0,3 / 0,6 / 0 – 2
Anzahl der Schlafunterbrechungen gesamt	0,7 / 1,1 / 0 – 6
Inanspruchnahmedauer in Minuten	220 / 123 / 20 – 680
Uhrzeit der Blutabnahme abends	5:12 pm / 00:22 / 4:30 pm – 6:45 pm
Uhrzeit der Blutabnahme morgens	8:19 am / 00:27 / 7:45 am – 10:45 am
Aβ42-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	30,2 / 31,4 / 0,0 – 112,4
Aβ42-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	27,3 / 29,7 / 0,0 – 106,7
Aβ42-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	2,9 / 2,8 / -0,7 – +9,3
Aβ42-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	10,2 / 12,2 / -7,0 - +37,0
Aβ40-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	155,3 / 98,7 / 29,1 – 398,4
Aβ40-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	134,2 / 90,8 / 25,4 – 375,0
Aβ40-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	21,7 / 18,6 / -18,7 – +48,9
Aβ40-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	10,3 / 13.,7 / -21,0 – +34,0
sAPPβ-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	4,7 / 5,5 / 0,5 – 24,5
sAPPβ-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	4,7 / 5,8 / 0,7 – 25,2
Klinische Charakteristik der Zuhause-Nächte	
Anzahl untersuchter Nächte gesamt	27
	Mittelwert / SD / Streubreite
Nächte pro Proband	1,5 / 0,5 / 1 - 2
Schlafdauer der vorherigen Nacht in Stunden	7,2 / 1,5 / 4,0 – 10,0
Schlafdauer in Stunden	7,0 / 0,9 / 5,0 – 8,8
Anzahl der Schlafunterbrechungen < 15 Minuten	0,3 / 0,6 / 0 – 2
Anzahl der Schlafunterbrechungen > 15 Minuten	0,0 / 0,0 / 0 – 0
Anzahl der Schlafunterbrechungen gesamt	0,3 / 0,6 / 0 – 2
Uhrzeit der Blutabnahme abends	5:03 pm / 00:21 / 4:15 pm – 5:45 pm
Uhrzeit der Blutabnahme morgens	8:32 am / 00:24 / 8:05 am – 9:25 am
Aβ42-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	32,3 / 31,3 / 11,5 – 105,6
Aβ42-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	28,9 / 29,8 / 10,1 – 101,3
Aβ42-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	3,4 / 3,1 / -0,4 – +9,4
Aβ42-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	11,8 / 12,6 / -5,0 – +38,0

Aβ40-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	138,3 / 109,3 / 22,9 – 467,3
Aβ40-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	110,6 / 92,4 / 19,0 – 399,6
Aβ40-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	27,6 / 33,3 / -51,3 – +67,6
Aβ40-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	16,1 / 23,2 / -45,0 - +39,0
sAPPβ-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	5,0 / 5,4 / 0,9 – 22,5
sAPPβ-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	4,6 / 5,5 / 0,4 – 22,3
Verteilung des ApoE-Genotyps	
Anzahl der Probanden	12
ApoE-Genotyp 2/3 : 3/3 : 3/4	2 : 9 : 1
	Mittelwert / SD / Streubreite
Häufigkeit von ApoEε4	0,08 / 0,29 / 0 – 1

Legende zu Tab. 1:

SD: Standardabweichung; Aβ: Amyloid beta;

*: Es werden die pro Proband errechneten Mittelwerte verwendet.

**: Absolute Differenz: (Aβ abends - Aβ morgens)

***: Relative Differenz: ((Aβ abends - Aβ morgens)/Aβ abends)

Tab. 1.1: Stichprobenbeschreibung aller Probanden mit ApoE-Genotypisierung

Demographische Angaben aller Probanden mit ApoE-Genotypisierung	
Anzahl der Probanden	12
Männer : Frauen	8 : 4
ApoE-Genotyp 2/3 : 3/3 : 3/4	2 : 9 : 1
	Mittelwert / SD / Streubreite
Häufigkeit von ApoEε4	0,08 / 0,29 / 0 – 1
Alter in Jahren	34 / 6,2 / 26 – 49
Diensterfahrung in Jahren	5,4 / 5,4 / 0 – 18
Klinische Charakteristik der Dienst-Nächte aller Probanden mit ApoE-Genotypisierung	
Anzahl untersuchter Nächte gesamt	74

	Mittelwert / SD / Streubreite
Nächte pro Proband	6,7 / 2,4 / 2 – 8
Schlafdauer der vorherigen Nacht in Stunden	7,4 / 1,0 / 3,5 – 10,0
Schlafdauer in Stunden	5,3 / 1,8 / 1,4 – 9,5
Anzahl der Schlafunterbrechungen < 15 Minuten	0,2 / 0,7 / 0 – 5
Anzahl der Schlafunterbrechungen > 15 Minuten	0,3 / 0,6 / 0 – 2
Anzahl der Schlafunterbrechungen gesamt	0,5 / 0,8 / 0 – 2
Inanspruchnahmedauer in Minuten	227 / 126 / 20 – 680
Uhrzeit der Blutabnahme abends	5:15 pm / 0:02 / 4:30 pm – 6:45 pm
Uhrzeit der Blutabnahme morgens	8:20 am / 0:02 / 7:45 am – 10:45 am
Aβ42-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	36,3 / 35,5 / 11,2 – 112,4
Aβ42-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	32,6 / 25,6 / 8,7 – 106,7
Aβ42-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	3,6 / 2,8 / -0,6 – +9,3
Aβ42-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	10,2 / 12,4 / -7,0 – +37,0
Aβ40-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	169,8 / 109,5 / 29,1 – 398,4
Aβ40-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	144,4 / 102,5 / 25,4 – 375,1
Aβ40-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	25,4 / 16,2 / 3,7 – 48,9
Aβ40-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	10,4 / 13,7 / -21,0 – +34,0
sAPPβ-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	5,7 / 6,3 / 0,5 – 24,5
sAPPβ-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	5,5 / 6,7 / 0,7 – 25,2
Klinische Charakteristik der Zuhause-Nächte aller Probanden mit ApoE-Genotypisierung	
Anzahl untersuchter Nächte gesamt	21
	Mittelwert / SD / Streubreite
Nächte pro Proband	1,8 / 0,6 / 0 – 2
Schlafdauer der vorherigen Nacht in Stunden	7,1 / 1,5 / 4,0 – 10,0
Schlafdauer in Stunden	6,8 / 0,9 / 5,0 – 8,0
Anzahl der Schlafunterbrechungen < 15 Minuten	0,2 / 0,4 / 0 – 1
Anzahl der Schlafunterbrechungen > 15 Minuten	0 / 0 / 0 – 0
Anzahl der Schlafunterbrechungen gesamt	0,2 / 0,4 / 0 – 1

Uhrzeit der Blutabnahme abends	5:03 pm / 0:02 / 4:15 pm – 5:45 pm
Uhrzeit der Blutabnahme morgens	8:27 am / 0:01 / 8:05 am – 9:25 am
Aβ42-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	35,6 / 34,8 / 11,5 – 105,6
Aβ42-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	31,9 / 33,1 / 11,9 – 101,3
Aβ42-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	3,7 / 3,3 / -0,4 – +9,4
Aβ42-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	11,0 / 11,3 / -5,0 – +29,0
Aβ40-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	149,8 / 119,5 / 22,9 – 467,3
Aβ40-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	119,9 / 102,3 / 19,0 – 399,6
Aβ40-Plasmaspiegel, absolute Differenz ** in pg/ml *	29,9 / 36,3 / -51,3 – +67,6
Aβ40-Plasmaspiegel, relative Reduktion *** in % *	17,3 / 25,4 / -45,0 – +39,0
sAPPβ-Plasmaspiegel abends in pg/ml *	5,6 / 6,0 / 0,9 – 22,5
sAPPβ-Plasmaspiegel morgens in pg/ml *	5,2 / 6,1 / 0,4 – 22,3

Legende zu Tab. 1.1:

SD: Standardabweichung; Aβ: Amyloid beta;

*: Es werden die vorher pro Proband errechneten Mittelwerte verwendet.

**: Absolute Differenz: (Aβ abends - Aβ morgens)

***: Relative Reduktion: ((Aβ abends - Aβ morgens)/Aβ abends)

3.2 Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel über Nacht

Die Differenzen der Medianwerte der Aβ42-Plasmaspiegel vor und nach einer Dienst-Nacht für den einzelnen Probanden werden in Abbildung 1 dargestellt. Die Differenzen der individuellen Aβ42-Plasmaspiegel aller Probanden vor und nach einer Dienst-Nacht werden in Abbildung 2 gezeigt.

Die GEE, die nur die Relative Reduktion von Aβ42 als Zielvariable verwendete, zeigte eine signifikante Reduktion von Aβ42 über Nacht (Schätzwert 0,107, $p<0,001$) während der Dienst-Nächte. Auch während der Zuhause-Nächte wurde Aβ42 signifikant reduziert (Schätzwert 0,114, $p=0,001$).

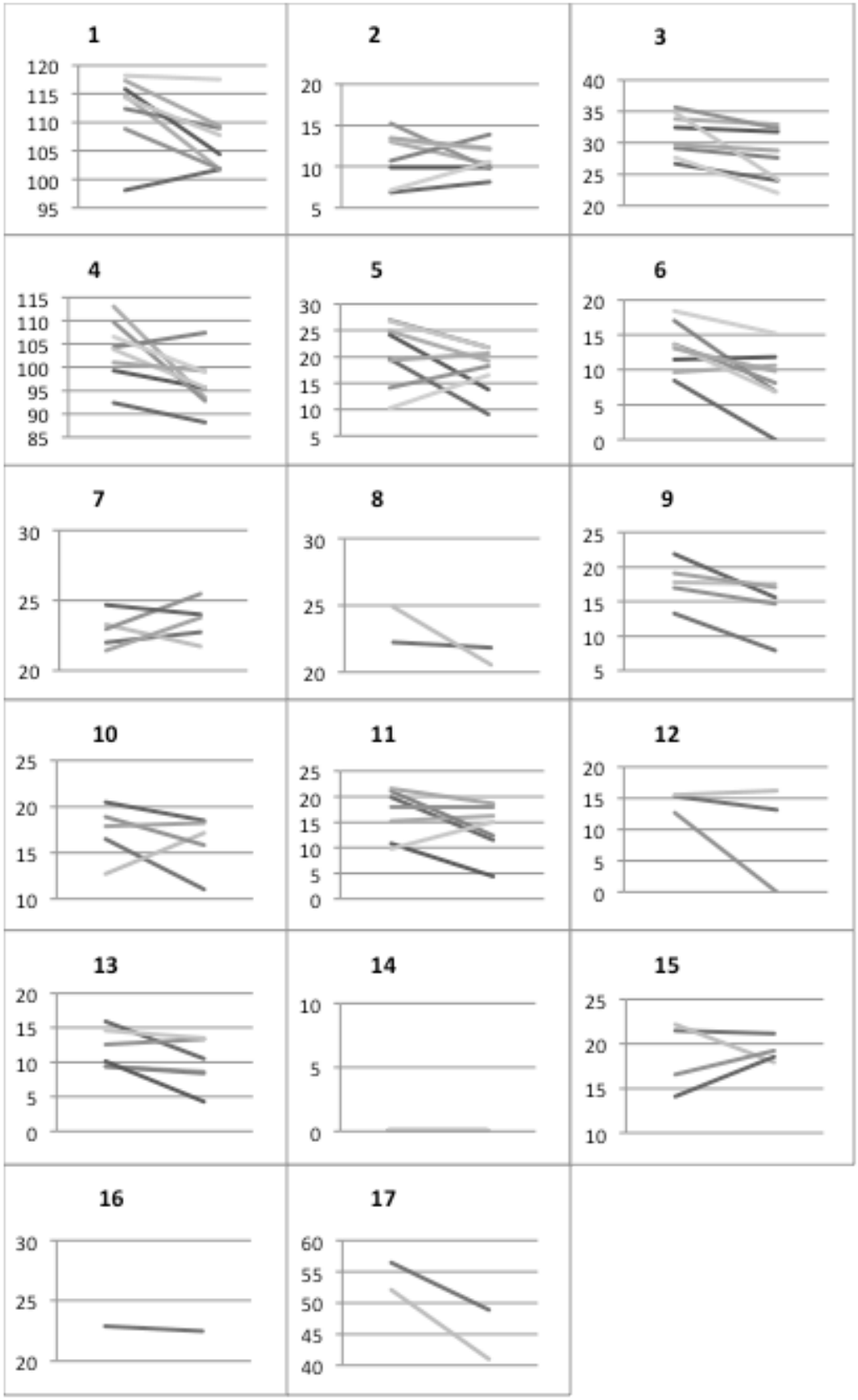

Abb. 1: Aβ42-Plasmaspiegel vor und nach einer Dienst-Nacht der Probanden 1 – 17

x-Achse: Zeitpunkte vor und nach einer Dienst-Nacht; y-Achse: Plasma-Amyloid in pg/ml

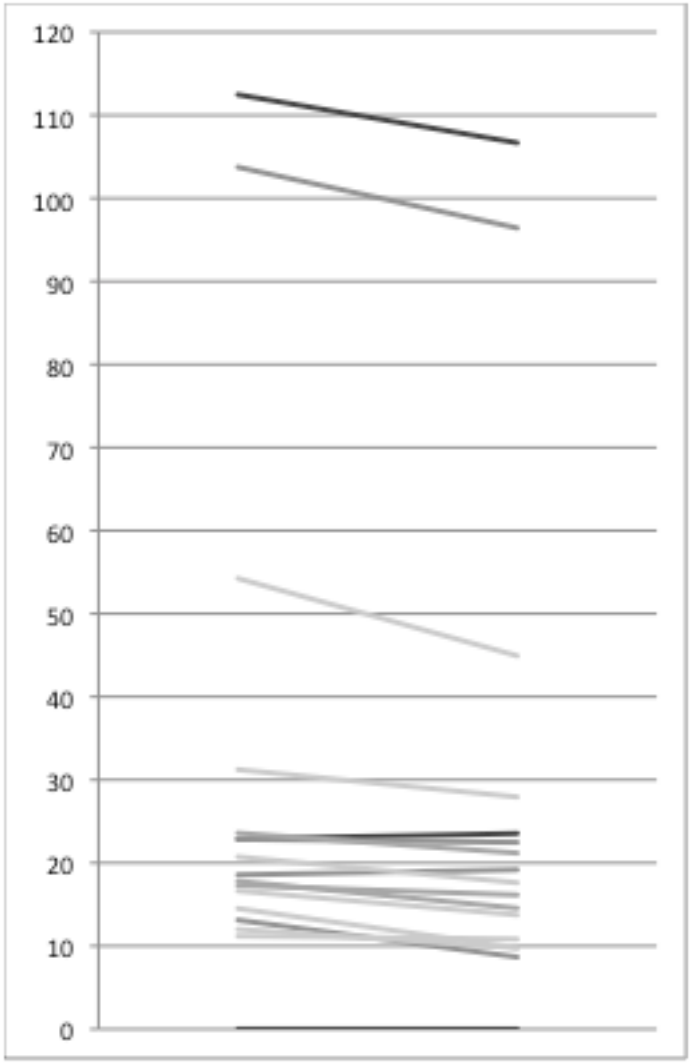

Abb. 2:

Mittelwerte der Aβ42-Plasmaspiegel vor und nach den Dienst-Nächten der jeweiligen Probanden

x-Achse: Zeitpunkte vor und nach einer Dienst-Nacht

y-Achse: Plasma-Amyloid in pg/ml

3.3 Zusammenhang zwischen der Relativen Reduktion von Aβ42 über Nacht und der Schlafdauer und den Schlafunterbrechungen

Während der Dienst-Nächte erbrachte das GEE-Modell mit der Zielvariable Relative Reduktion von Aβ42 einen signifikanten Schätzwert von 0,152 (p<0,001) für das Geschlecht, einen signifikanten Schätzwert von -0,054 (p<0,001) für die Anzahl an Schlafunterbrechungen kleiner 15 Minuten, einen Schätzwert von -0,006 (p=0,902) für die Anzahl an Schlafunterbrechungen größer 15 Minuten, einen Schätzwert von -0,000 (p=0,971) für die Inanspruchnahmedauer, einen signifikanten Schätzwert von 0,039 (p<0,001) für die Variable Alter, einen signifikanten Schätzwert von -0,030 (p=0,023) für die Variable Diensterfahrung in Jahren, einen Schätzwert von -0,001 (p=0,347) für die Variable Aβ42-Plasmaspiegel abends, einen signifikanten Schätzwert von -0,012 (p=0,008) für die Variable sAPPβ-Plasmaspiegel abends, einen Schätzwert von -0,003 (p=0,856) für die Variable Schlafdauer und einen Schätzwert von -0,013 (p=0,622) für die Variable Schlafdauer der vorherigen Nacht.

Dasselbe GEE-Modell während der Dienst-Nächte mit der Zielvariable Relative Reduktion von Aβ42 wurde einschließlich der Häufigkeit von ApoEε4 wiederholt. Es zeigte einen signifikanten Schätzwert von 0,199 (p<0,001) für das Geschlecht, einen signifikanten Schätzwert von -0,052 (p=0,007) für die Anzahl an Schlafunterbrechungen kleiner 15 Minuten, einen Schätzwert von -0,009 (p=0,868) für die Anzahl an Schlafunterbrechungen größer 15 Minuten, einen Schätzwert von 0,000 (p=0,671) für die Inanspruchnahmedauer, einen signifikanten Schätzwert von 0,036 (p<0,001) für die Variable Alter, einen signifikanten Schätzwert von -0,017 (p=0,072) für die Variable Diensterfahrung in Jahren, einen Schätzwert von 0,000 (p=0,875) für die Variable Aβ42-Plasmaspiegel abends, einen signifikanten Schätzwert von -0,014 (p<0,001) für die Variable sAPPβ-Plasmaspiegel abends, einen Schätzwert von 0,006 (p=0,771) für die Variable Schlafdauer und einen Schätzwert von 0,000 (p=0,986) für die Variable Schlafdauer der vorherigen Nacht sowie einen signifikanten Schätzwert von -0,106 (p=0,043) für die Variable Häufigkeit von ApoEε4.

Somit wurde die Relative Reduktion von Aβ42 über Nacht durch jede Schlafunterbrechung, die weniger als 15 Minuten dauerte, um 5,4% signifikant erniedrigt. Daneben wurde die

Relative Reduktion von Aβ42 durch jedes zusätzliche Jahr an Berufserfahrung um 3,0%, durch jedes zusätzliche pg/ml der sAPPβ-Spiegel um 1,2% und mit jeder zusätzlichen Kopie des ApoEε4 um 10,6% signifikant reduziert. Dagegen erhöhte jedes zusätzliche Jahr des Alters eines Probanden die Relative Reduktion von Aβ42 über Nacht signifikant um 3,9%, genauso wie das weibliche Geschlecht um 15,2%.

3.4 Auswirkung des Dienst-Settings auf die Relative Reduktion von Aβ42

In dem GEE-Modell mit der Zielvariable Relative Reduktion von Aβ42 lag der Schätzwert für Unterschiede zwischen Dienst- und Zuhause-Nächten bei 0,009 (p=0,842). Dies zeigt auf, dass in den vorliegenden Daten Aβ42 über Nacht während der Zuhause-Nächte um zusätzliche 0,9% im Vergleich zu den Dienst-Nächten reduziert wurde. Jedoch gab es keinen Beweis, der eine Verallgemeinerung dieses Effekts rechtfertigen könnte.

Die Schätzwerte aller anderen Variablen in diesem Modell waren (Variable/Schätzwert/p-Wert): Geschlecht/-0,064/0,166, Anzahl an Schlafunterbrechungen kleiner 15 Minuten/-0,017/0,313, Anzahl an Schlafunterbrechungen größer 15 Minuten/-0,004/0,939, Alter/0,019/0,074, Diensterfahrung in Jahren/-0,012/0,272, Aβ42-Plasmaspiegel abends/-0,001/0,064, Schlafdauer/-0,009/0,528, Schlafdauer der vorherigen Nacht/-0,023/0,214.

3.5 Mit den Ausgangs-Plasmaspiegeln von Aβ42 in Zusammenhang stehende Faktoren

Im GEE-Modell mit der Zielvariable Aβ42-Plasmaspiegel abends einschließlich der Dienst- und Zuhause-Nächte waren die Schätzwerte aller Variablen (Variable/Schätzwert/p-Wert):

Geschlecht/-29,407/0,672, Diensterfahrung in Jahren/22,427/0,719, Alter/-19,364/0,709, Schlafdauer der vorherigen Nacht/2,593/0,608, sAPPβ/-0,594/0,695.

Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Ausgangs-Plasmaspiegel von Aβ42 über Nacht bei Frauen um 29,407pg/ml niedriger als bei Männern, um 22,427pg/ml mit jedem zusätzlichem Jahr an Berufserfahrung und um 2,593pg/ml mit jeder zusätzlichen Stunde an Schlaf in der vorherigen Nacht erhöht sowie um 19,364pg/ml mit jedem zusätzlichen Jahr des Alters und

um 0,594pg/ml mit jedem pg/ml des sAPPβ-Plasmaspiegels verringert waren. Jedoch gab es keinen Beweis, welcher eine Verallgemeinerung dieser Effekte rechtfertigen konnte.

Dasselbe GEE-Modell mit der Zielvariable Aβ42-Plasmaspiegel abends einschließlich der Dienst- und Zuhause-Nächte wurde unter Einschluss der Häufigkeit von ApoEε4 wiederholt. Die Schätzwerte aller Variablen (Variable/Schätzwert/p-Wert) waren:

Geschlecht/15,664/0,638, Diensterfahrung in Jahren/1,376/0,368, Alter/-1,178/0,540, Schlafdauer der vorherigen Nacht/1,094/0,152, sAPPβ/-0,087/0,677, Häufigkeit von ApoEε4/-15,439/0,302.

Es zeigt, dass die Ausgangs-Plasmaspiegel von Aβ42 über Nacht bei Frauen um 15,664pg/ml höher als bei Männern, um 1,376pg/ml mit jedem zusätzlichem Jahr an Berufserfahrung und um 1,094pg/ml mit jeder zusätzlichen Stunde an Schlaf in der vorherigen Nacht erhöht sowie um 1,178pg/ml mit jedem zusätzlichen Jahr des Alters, um 0,087pg/ml mit jedem pg/ml des sAPPβ-Plasmaspiegels und um 15,439pg/ml mit jeder zusätzlichen Kopie des ApoEε4 verringert waren. Jedoch gab es keinen Beweis, welcher eine Verallgemeinerung dieser Effekte rechtfertigen konnte.

3.6 Analysen der Spezifität der oben genannten Erkenntnisse

3.6.1 Reduktion der Aβ40-Plasmaspiegel über Nacht

Die Differenzen der Medianwerte der Aβ40-Plasmaspiegel vor und nach einer Dienst-Nacht für den einzelnen Probanden werden in Abbildung 3 dargestellt. Die Differenzen der individuellen Aβ40-Plasmaspiegel aller Probanden vor und nach einer Dienst-Nacht werden in Abbildung 4 gezeigt.

Das GEE-Modell, das nur die Relative Reduktion von Aβ40 als Zielvariable verwendete, zeigte eine signifikante Reduktion von Aβ40 über Nacht (Schätzwert 0,102, p=0,006) während der Dienst-Nächte. Auch während der Zuhause-Nächte wurde Aβ40 signifikant reduziert (Schätzwert 0,186, p<0,001).

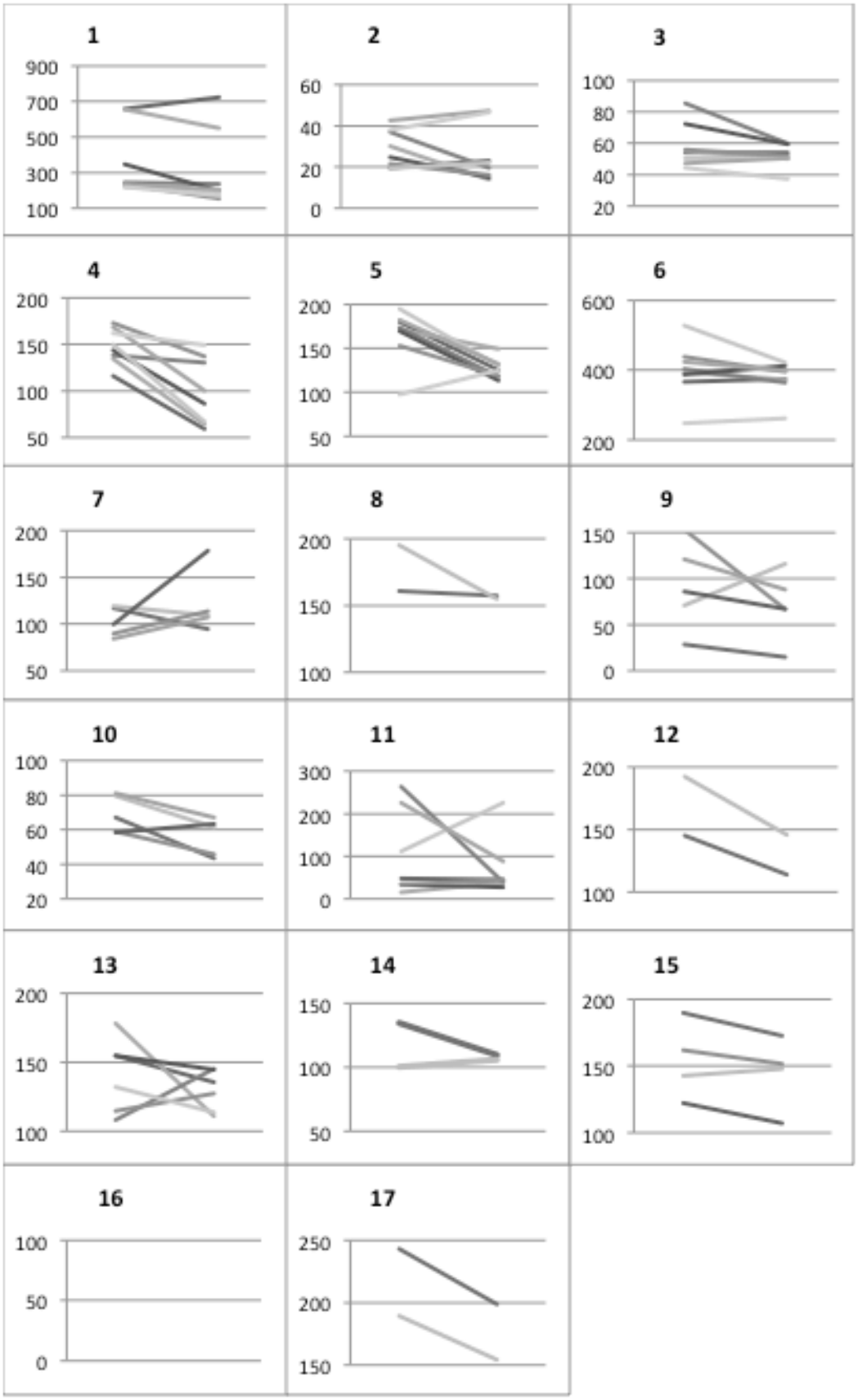

Abb. 3: Aβ40-Plasmaspiegel vor und nach einer Dienst-Nacht der Probanden 1 – 17;

x-Achse: Zeitpunkte vor und nach einer Dienst-Nacht; y-Achse: Plasma-Amyloid in pg/ml

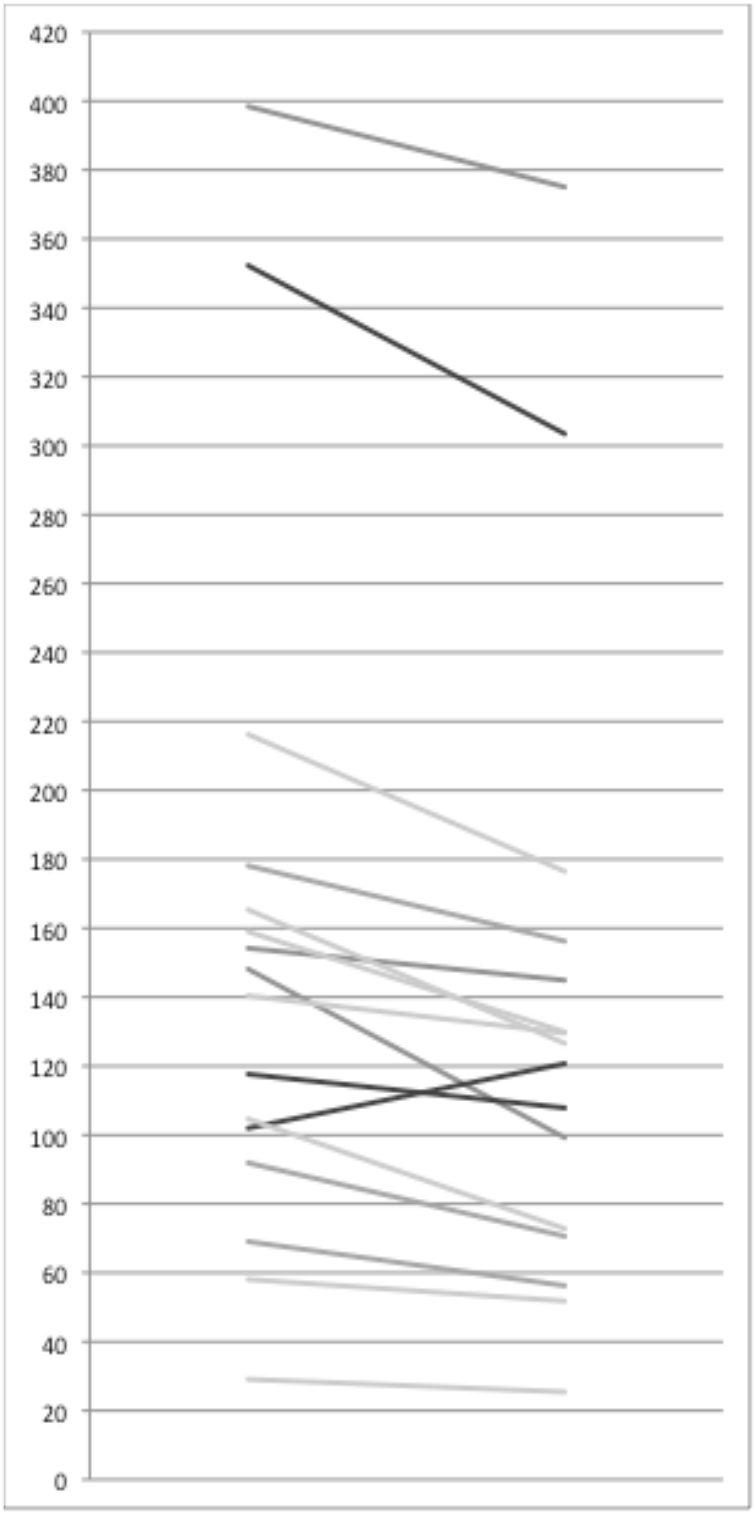

Abb. 4:

Mittelwerte der Aβ40-Plasmaspiegel vor und nach den Dienst-Nächten des jeweiligen Probanden

x-Achse: Zeitpunkte vor und nach einer Dienst-Nacht

y-Achse: Plasma-Amyloid in pg/ml

3.6.2 Zusammenhang zwischen der Relativen Reduktion von Aβ40 über Nacht und der Schlafdauer und den Schlafunterbrechungen

Die Schätzwerte aller Variablen im GEE-Modell für Dienst-Nächte mit der Zielvariable Relative Reduktion von Aβ40 waren nicht statistisch signifikant (Variable/Schätzwert/p-Wert): Geschlecht/0,149/0,120, Anzahl an Schlafunterbrechungen kleiner 15 Minuten/-0,058/0,418, Anzahl an Schlafunterbrechungen größer 15 Minuten/0,066/0,260, Inanspruchnahmedauer/0,000/0,810, Alter/-0,002/0,905, Berufserfahrung in Jahren/0,008/0,712, Aβ40-Plasmaspiegel abends/0,000/0,315, Schlafdauer/-0,027/0,145, Schlafdauer der vorherigen Nacht/-0,010/0,710.

3.6.3 Reduktion der sAPPβ-Plasmaspiegel über Nacht

Das GEE-Modell, das nur die Relative Reduktion von sAPPβ als Zielvariable verwendete, zeigte einen Anstieg von sAPPβ über Nacht (Schätzwert -0,105, p=0,333) während der Dienst-Nächte und eine Abnahme (Schätzwert 0,136, p=0,114) während der Zuhause-Nächte. Jedoch gab es keinen Beweis, welcher eine Verallgemeinerung dieses Effekts rechtfertigen konnte.

4 Diskussion

Dies ist die erste Studie, die sich mit den Zusammenhängen zwischen Aβ42-Plasmaspiegeln und einer Fragmentierung des Schlafs bei Ärzten im Nachtdienst beschäftigt. Aβ42-Plasmaspiegel sanken signifikant über Nacht. Dieser Abfall wurde signifikant durch die Anzahl an Schlafunterbrechungen sowie Jahre an Berufserfahrung, sAPPβ-Plasmaspiegel und Kopien des ApoEε4 verringert. Dieser Zusammenhang war spezifisch für Aβ42, da er nicht für Aβ40 beobachtet werden konnte, obwohl auch die Aβ40-Plasmaspiegel über Nacht sanken.

Unser Ergebnis einer signifikanten Reduktion von Aβ42-Plasmaspiegeln um 10,7% während der Dienst-Nächte und um 11,4% während der Zuhause-Nächte steht im Einklang mit einer vorangegangenen Arbeit mit gesunden Probanden, welche eine mittlere Reduktion von 7,6% zeigte (Huang et al., 2012), und ist mit Ergebnissen einer neueren Studie vergleichbar, die eine Reduktion von Aβ42-Spiegeln im CSF bei jungen, gesunden Freiwilligen zeigte (Ooms et al., 2014). Somit kann die Reduktion von Aβ42 über Nacht als ein physiologischer Vorgang angenommen werden. Unserem Wissen nach gibt es bisher keine Berichte über eine Reduktion von Aβ40 über Nacht

Das Ergebnis dieser Studie, dass der Abfall von Aβ42-Plasmaspiegeln während der Nacht durch die Anzahl an Schlafunterbrechungen reduziert wurde, deckt sich mit Ergebnissen weiterer kürzlich veröffentlichter Arbeiten: Es wurde ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß an Schlafentzug und Aβ-Spiegeln in der interstitiellen Flüssigkeit bei Wild-Typ- und transgenen APP-Mäusen nachgewiesen (Kang et al., 2009). Daneben ließ sich bei gesunden Menschen nach einem vollständigen Schlafentzug im Vergleich zu einem ungestörten Schlaf eine geringere Reduktion von Aβ42-Spiegeln im CSF (Ooms et al., 2014) und eine zahlenmäßige, jedoch nicht statistisch signifikante Reduktion des Aβ42/Aβ40-Verhältnisses (Benedict et al., 2014) nachweisen.

Interessanterweise wurde die verringerte Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel statistisch signifikant durch das Ausmaß der Fragmentierung des Schlafs erklärt, gemessen anhand der Anzahl an Schlafunterbrechungen, nicht aber anhand der Dauer des Schlafs, der

Inanspruchnahmedauer oder anhand von Umweltfaktoren, welche sich zwischen dem Schlaf zuhause und im Krankenhaus unterschieden.

Dieser Effekt konnte einzig für das für die AD pathognomonische Aβ42, nicht für Aβ40, beobachtet werden, was auf einen möglichen Zusammenhang zwischen der Fragmentierung des Schlafs und der AD-Kaskade hindeutet. Diese Hypothese wird des Weiteren durch die Tatsache unterstützt, dass sowohl die Spiegel von sAPPβ ($p=0,008$), einem Zwischenprodukt der Produktion von Aβ42, als auch eine größere Anzahl an Kopien des ApoEε4 ($p=0,043$) die Reduktion von Aβ42-Plasmaspiegeln über Nacht in dieselbe Richtung wie das Ausmaß an Schlaf-Fragmentierungen signifikant verringerten. Interessanterweise verminderten auch die Jahre an Berufserfahrung die Reduktion signifikant. Es verleitet zur Annahme, dass schädliche Auswirkungen der Arbeit im Nachtdienst nicht ausgeschlossen werden können.

Daneben wurde ein signifikanter ($p<0,001$) Effekt des Alters herausgefunden: Jedes zusätzliche Jahr des Alters reduzierte Aβ42 über Nacht um zusätzliche 3,9%. Dagegen wurde Aβ42 in einer anderen Studie bei älteren, normalen Probanden im Vergleich zu jüngeren Probanden erheblich weniger reduziert (Huang et al., 2012). Deshalb sollte dieses Ergebnis mit Vorsicht interpretiert werden.

Eine weitere Stärke der vorliegenden Studie ist neben der hohen Anzahl an gemessenen Nächten und der Kontrolle vieler Kofaktoren die Messung des weniger amyloidergen Aβ40. Während Aβ40 ebenso signifikant über Nacht reduziert wurde, wurde es nicht durch die Kofaktoren wie Aβ42 beeinflusst, was auf die Spezifität der beschriebenen Zusammenhänge für Aβ42 und somit auf die für die AD spezifische Pathophysiologie hinweist.

Zusätzlich zur Fragmentierung des Schlafs bezogen wir noch andere Faktoren mit ein, die einen Einfluss auf die Aβ42-Plasmaspiegel haben könnten, und zwar hinsichtlich der Nachtdienste die Inanpruchnahmedauer und die Jahre an Berufserfahrung. Interessanterweise waren die Jahre an Berufserfahrung ein signifikanter Prädiktor, der die Reduktion von Aβ42 in dieselbe Richtung wie die Fragmentierung des Schlafs verringerte.

Es gibt noch keine Erklärung für den verringerten Abfall der Aβ42-Plasmaspiegel durch die Schlaf-Fragmentierung. Deshalb sind weitere Studien notwendig, die den Mechanismus beschreiben können. Möglicherweise basiert dieser auf einer veränderten Clearance-Geschwindigkeit. Eine veränderte Produktionsgeschwindigkeit scheint weniger wahrscheinlich die Ursache dafür zu sein, da Plasmaspiegel des sAPPβ, des Produkts der Enzymspaltung durch BACE (engl.: β-site APP cleaving enzyme), nicht signifikant durch das Ausmaß an Schlaf-Fragmentierungen verändert wurden (Daten sind nicht aufgeführt). Die sAPPβ-Plasmaspiegel wurden zahlenmäßig, aber nicht signifikant während der Dienst-Nächte erhöht. Dieses Ergebnis verträgt sich mit dem signifikanten Anstieg der BACE-Aktivität nach einer Schlafrestriktion bei Mäusen (Zhao et al., 2017) oder nach einem Schlafentzug bei Ratten (Chen et al., 2017) sowie mit einem signifikanten Anstieg von sAPPβ-Spiegeln bei Ratten (Chen et al., 2017). Anscheinend erzeugt ein vollständiger Schlafentzug im Vergleich zu einer Fragmentierung des Schlafs, wie es in vorliegender Studie der Fall ist, stärkere Auswirkungen auf das sAPPβ.

Die Reduktion des Abfalls der Aβ42-Plasmaspiegel scheint auch nicht abhängig vom ApoE-Genotyp zu sein, welcher einige Aspekte der Pathophysiologie des Amyloids beeinflusst. Allerdings trug fast kein Proband unserer Studie ein ApoEε4.

Interessanterweise zeigte sich in einer vorhergehenden Studie ein zahlenmäßiger, nicht signifikanter Zusammenhang zwischen der Reduktion von Aβ42-Spiegeln im CSF und der Höhe der experimentell unterbrochenen Slow-Wave-Aktivität während des Schlafs (Ju et al., 2017). Hier liegt die Spekulation nahe, dass eine Schlaf-Fragmentierung den Slow-Wave-Schlaf vermindert und die synaptische Aktivität mit einer gesteigerten Aβ-Produktionsrate erhöht, was zu einem geringeren Abfall des löslichen Aβ über Nacht führt, wie es sich in dieser Studie zeigte.

Offensichtlich wiesen die Teilnehmer wesentliche Unterschiede in den Ausgangs-Plasmaspiegeln des Aβ42 auf. Trotz gründlicher Analysen können diese Unterschiede nicht anhand der Daten der aktuellen Studie erklärt werden: Geschlecht, Jahre an Berufserfahrung, Alter, Schlafdauer der vorherigen Nacht, Plasmaspiegel des sAPPβ sowie die Häufigkeit von ApoEε4 konnten die Variabilität der Aβ42-Ausgangs-Plasmaspiegel nicht

signifikant erklären. Deshalb sind weitere Studien nötig, um Faktoren zu identifizieren, die für solche Unterschiede verantwortlich sind.

Die Fragmentierung des Schlafs während des Nachtdienstes induzierte pathophysiologische Veränderungen im Amyloid-Stoffwechsel in unserer Studie. Nachtdienste betreffen nicht nur Psychiater, sondern auch viele andere Arbeitnehmer. Berücksichtigt man auch den neuerlichen Hinweis, dass ein vollständiger Schlafentzug in einem Anstieg der Amyloid-Last resultiert, gemessen mittels einer Positronen-Emissions-Tomographie des Hippocampus junger Erwachsener (Shokri-Kojori et al., 2018), wirft es die Frage auf, ob Nachtdienste das Risiko für die Entwicklung einer AD verändern und ob die Häufigkeit und das Ausmaß an Nachtdiensten einer Reevaluation bedarf.

5 Zusammenfassung

Unterbrechungen und eine verminderte Qualität des Schlafs stehen mit einer Beeinträchtigung der kognitiven Leistungsfähigkeit gesunder Individuen in Zusammenhang. Studien zufolge könnte ein Zusammenhang zwischen einem Schlafentzug und Amyloid-Spiegeln im Plasma bestehen. Ärzte im nächtlichen Bereitschaftsdienst repräsentieren ein menschliches Modell für den Schlafentzug. Deshalb untersuchten wir, ob Amyloid-Spiegel im Plasma mit einer Schlaf-Fragmentierung oder der Schlafdauer bei Ärzten im nächtlichen Bereitschaftsdienst in Zusammenhang stehen.

Bei 17 Ärzten der Psychiatrie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München erfolgte die Messung der Aβ42-Plasmaspiegel von bis zu 8 Dienst-Nächten, jeweils vor und nach dem Nachtdienst, und zum Vergleich von bis zu 2 Nächten, die zuhause verbracht wurden. Die Daten wurden mithilfe von generalisierten Schätzgleichungen analysiert.

Für die Dienst-Nächte ergab sich eine statistisch signifikante Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel über Nacht von 10,7% ($p<0,001$). Die Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel über Nacht wurde durch jede kurze Schlafunterbrechung um 5,4% ($p<0,001$), durch jedes zusätzliche pg/ml der sAPPβ-Ausgangs-Plasmaspiegel um 1,2% ($p=0,008$), durch jede Kopie von ApoEε4 um 10,6% ($p=0.043$) und durch jedes zusätzliche Jahr an Berufserfahrung um 3,0% ($p=0,023$) signifikant verringert. Für die Zuhause-Nächte zeigte sich auch eine statistisch signifikante Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel von 11,4% ($p<0,001$). Einflüsse des Settings der Dienste auf die Ergebnisse waren ausgeschlossen.

Das Ausmaß der Schlaf-Fragmentierung vermindert die physiologische Reduktion der Aβ42-Plasmaspiegel während der Nacht, genauso auch das Zwischenprodukt der Aβ42-Produktion und der genetische Risikofaktor der Alzheimer-Krankheit. Unter Berücksichtigung, dass die Berufserfahrung in Jahren in dieselbe Richtung zeigt, wird die äußerst wichtige sozioökonomische Frage aufgeworfen, ob die Tätigkeit im Nachtdienst mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung der Alzheimer-Krankheit in Zusammenhang stehen könnte. Aufgrund der hohen sozioökonomischen Bedeutung eines solchen Zusammenhangs sind weitere Studien dringend nötig, die diesen Zusammenhang weiter aufklären können.

6 Literaturverzeichnis

Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., . . . Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement, 7(3), 270-279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008

Albert, S. M. (2015). Insights on the Early-Life Origins of Alzheimer's Disease: Relevance for Primary Prevention? Neuroepidemiology, 45(4), 255-256. doi:10.1159/000441315

Bateman, R. J., Xiong, C., Benzinger, T. L., Fagan, A. M., Goate, A., Fox, N. C., . . . Dominantly Inherited Alzheimer, N. (2012). Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. N Engl J Med, 367(9), 795-804. doi:10.1056/NEJMoa1202753

Beach, T. G., Monsell, S. E., Phillips, L. E., & Kukull, W. (2012). Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005-2010. J Neuropathol Exp Neurol, 71(4), 266-273. doi:10.1097/NEN.0b013e31824b211b

Benedict, C., Cedernaes, J., Giedraitis, V., Nilsson, E. K., Hogenkamp, P. S., Vagesjo, E., . . . Schioth, H. B. (2014). Acute sleep deprivation increases serum levels of neuron-specific enolase (NSE) and S100 calcium binding protein B (S-100B) in healthy young men. Sleep, 37(1), 195-198. doi:10.5665/sleep.3336

Bertens, D., Knol, D. L., Scheltens, P., Visser, P. J., & Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2015). Temporal evolution of biomarkers and cognitive markers in the asymptomatic, MCI, and dementia stage of Alzheimer's disease. Alzheimers Dement, 11(5), 511-522. doi:10.1016/j.jalz.2014.05.1754

Bickel, H. (2016). Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen. Retrieved from http://www.deutsche-alzheimer.de/fileadmin/alz/pdf/factsheets/FactSheet01.pdf abgerufen am 29.04.2017

Blackwell, T., Yaffe, K., Ancoli-Israel, S., Schneider, J. L., Cauley, J. A., Hillier, T. A., . . . Study of Osteoporotic Fractures, G. (2006). Poor sleep is associated with impaired cognitive function in older women: the study of osteoporotic fractures. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 61(4), 405-410.

Blennow, K., Biscetti, L., Eusebi, P., & Parnetti, L. (2016). Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's and Parkinson's diseases-From pathophysiology to clinical practice. Mov Disord, 31(6), 836-847. doi:10.1002/mds.26656

Blennow, K., de Leon, M. J., & Zetterberg, H. (2006). Alzheimer's disease. Lancet, 368(9533), 387-403. doi:10.1016/S0140-6736(06)69113-7

Blennow, K., Hampel, H., Weiner, M., & Zetterberg, H. (2010). Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. Nat Rev Neurol, 6(3), 131-144. doi:10.1038/nrneurol.2010.4

Bonnet, M. H. (1985). Effect of sleep disruption on sleep, performance, and mood. Sleep, 8(1), 11-19.

Bonnet, M. H. (1986). Performance and sleepiness following moderate sleep disruption and slow wave sleep deprivation. Physiol Behav, 37(6), 915-918.

Born, J., & Wilhelm, I. (2012). System consolidation of memory during sleep. Psychol Res, 76(2), 192-203. doi:10.1007/s00426-011-0335-6

Buerger, K., Ewers, M., Pirttila, T., Zinkowski, R., Alafuzoff, I., Teipel, S. J., . . . Hampel, H. (2006). CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. Brain, 129(Pt 11), 3035-3041. doi:10.1093/brain/awl269

Chen, L., Huang, J., Yang, L., Zeng, X. A., Zhang, Y., Wang, X., . . . Zhang, M. (2017). Sleep deprivation accelerates the progression of alzheimer's disease by influencing Abeta-related metabolism. Neurosci Lett, 650, 146-152. doi:10.1016/j.neulet.2017.04.047

Choi, J., Gao, J., Kim, J., Hong, C., Kim, J., & Tontonoz, P. (2015). The E3 ubiquitin ligase Idol controls brain LDL receptor expression, ApoE clearance, and Abeta amyloidosis. Sci Transl Med, 7(314), 314ra184. doi:10.1126/scitranslmed.aad1904

Chow, V. W., Mattson, M. P., Wong, P. C., & Gleichmann, M. (2010). An overview of APP processing enzymes and products. Neuromolecular Med, 12(1), 1-12. doi:10.1007/s12017-009-8104-z

Cohen, A. D., & Klunk, W. E. (2014). Early detection of Alzheimer's disease using PiB and FDG PET. Neurobiol Dis, 72 Pt A, 117-122. doi:10.1016/j.nbd.2014.05.001

Cummings, J., Aisen, P. S., DuBois, B., Frolich, L., Jack, C. R., Jr., Jones, R. W., . . . Scheltens, P. (2016). Drug development in Alzheimer's disease: the path to 2025. Alzheimers Res Ther, 8, 39. doi:10.1186/s13195-016-0207-9

Deane, R., Bell, R. D., Sagare, A., & Zlokovic, B. V. (2009). Clearance of amyloid-beta peptide across the blood-brain barrier: implication for therapies in Alzheimer's disease. CNS Neurol Disord Drug Targets, 8(1), 16-30.

Deuschl G, M. W. e. a. (2016). S3-Leitlinie Demenzen. 2016. In: Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Hrsg. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie.

Donahue, J. E., Flaherty, S. L., Johanson, C. E., Duncan, J. A., 3rd, Silverberg, G. D., Miller, M. C., . . . Stopa, E. G. (2006). RAGE, LRP-1, and amyloid-beta protein in Alzheimer's disease. Acta Neuropathol, 112(4), 405-415. doi:10.1007/s00401-006-0115-3

Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., Hampel, H., Molinuevo, J. L., Blennow, K., . . . Cummings, J. L. (2014). Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. Lancet Neurol, 13(6), 614-629. doi:10.1016/S1474-4422(14)70090-0

Dubois, B., Padovani, A., Scheltens, P., Rossi, A., & Dell'Agnello, G. (2016). Timely Diagnosis for Alzheimer's Disease: A Literature Review on Benefits and Challenges. J Alzheimers Dis, 49(3), 617-631. doi:10.3233/JAD-150692

Dumurgier, J., Schraen, S., Gabelle, A., Vercruysse, O., Bombois, S., Laplanche, J. L., . . . Lehmann, S. (2015). Cerebrospinal fluid amyloid-beta 42/40 ratio in clinical setting of memory centers: a multicentric study. Alzheimers Res Ther, 7(1), 30. doi:10.1186/s13195-015-0114-5

Ewers, M., Buerger, K., Teipel, S. J., Scheltens, P., Schroder, J., Zinkowski, R. P., . . . Hampel, H. (2007). Multicenter assessment of CSF-phosphorylated tau for the prediction of

conversion of MCI. Neurology, 69(24), 2205-2212. doi:10.1212/01.wnl.0000286944.22262.ff

Fagan, A. M., Head, D., Shah, A. R., Marcus, D., Mintun, M., Morris, J. C., & Holtzman, D. M. (2009). Decreased cerebrospinal fluid Abeta(42) correlates with brain atrophy in cognitively normal elderly. Ann Neurol, 65(2), 176-183. doi:10.1002/ana.21559

Fillenbaum, G. G., van Belle, G., Morris, J. C., Mohs, R. C., Mirra, S. S., Davis, P. C., . . . Heyman, A. (2008). Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD): the first twenty years. Alzheimers Dement, 4(2), 96-109. doi:10.1016/j.jalz.2007.08.005

Foster, N. L., Heidebrink, J. L., Clark, C. M., Jagust, W. J., Arnold, S. E., Barbas, N. R., . . . Minoshima, S. (2007). FDG-PET improves accuracy in distinguishing frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. Brain, 130(Pt 10), 2616-2635. doi:10.1093/brain/awm177

Giri, M., Zhang, M., & Lu, Y. (2016). Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status. Clin Interv Aging, 11, 665-681. doi:10.2147/CIA.S105769

Graff-Radford, N. R., Crook, J. E., Lucas, J., Boeve, B. F., Knopman, D. S., Ivnik, R. J., . . . Younkin, S. G. (2007). Association of low plasma Abeta42/Abeta40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. Arch Neurol, 64(3), 354-362. doi:10.1001/archneur.64.3.354

Graham, W. V., Bonito-Oliva, A., & Sakmar, T. P. (2017). Update on Alzheimer's Disease Therapy and Prevention Strategies. Annu Rev Med, 68, 413-430. doi:10.1146/annurev-med-042915-103753

Grimmer, T., Henriksen, G., Wester, H. J., Forstl, H., Klunk, W. E., Mathis, C. A., . . . Drzezga, A. (2009). Clinical severity of Alzheimer's disease is associated with PIB uptake in PET. Neurobiol Aging, 30(12), 1902-1909. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2008.01.016

Hampel, H., Blennow, K., Shaw, L. M., Hoessler, Y. C., Zetterberg, H., & Trojanowski, J. Q. (2010). Total and phosphorylated tau protein as biological markers of Alzheimer's disease. Exp Gerontol, 45(1), 30-40. doi:10.1016/j.exger.2009.10.010

Hampel, H., Burger, K., Pruessner, J. C., Zinkowski, R., DeBernardis, J., Kerkman, D., . . . Teipel, S. J. (2005). Correlation of cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231 with rates of hippocampal atrophy in Alzheimer disease. Arch Neurol, 62(5), 770-773. doi:10.1001/archneur.62.5.770

Hampel, H., Teipel, S. J., Fuchsberger, T., Andreasen, N., Wiltfang, J., Otto, M., . . . Buerger, K. (2004). Value of CSF beta-amyloid1-42 and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. Mol Psychiatry, 9(7), 705-710. doi:10.1038/sj.mp.4001473

Hansson, O., Zetterberg, H., Buchhave, P., Andreasson, U., Londos, E., Minthon, L., & Blennow, K. (2007). Prediction of Alzheimer's disease using the CSF Abeta42/Abeta40 ratio in patients with mild cognitive impairment. Dement Geriatr Cogn Disord, 23(5), 316-320. doi:10.1159/000100926

Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Science, 297(5580), 353-356. doi:10.1126/science.1072994

Hardy, J. A., & Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. Science, 256(5054), 184-185.

Herholz, K., Carter, S. F., & Jones, M. (2007). Positron emission tomography imaging in dementia. Br J Radiol, 80 Spec No 2, S160-167. doi:10.1259/bjr/97295129

Huang, Y., Potter, R., Sigurdson, W., Kasten, T., Connors, R., Morris, J. C., . . . Bateman, R. J. (2012). beta-amyloid dynamics in human plasma. Arch Neurol, 69(12), 1591-1597. doi:10.1001/archneurol.2012.18107

Humpel, C. (2011). Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. Trends Biotechnol, 29(1), 26-32. doi:10.1016/j.tibtech.2010.09.007

Iacono, D., O'Brien, R., Resnick, S. M., Zonderman, A. B., Pletnikova, O., Rudow, G., . . . Troncoso, J. C. (2008). Neuronal hypertrophy in asymptomatic Alzheimer disease. J Neuropathol Exp Neurol, 67(6), 578-589. doi:10.1097/NEN.0b013e3181772794

Iliff, J. J., Wang, M., Liao, Y., Plogg, B. A., Peng, W., Gundersen, G. A., . . . Nedergaard, M. (2012). A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta. Sci Transl Med, 4(147), 147ra111. doi:10.1126/scitranslmed.3003748

Jack, C. R., Jr., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., . . . Contributors. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. Alzheimers Dement, 14(4), 535-562. doi:10.1016/j.jalz.2018.02.018

Jack, C. R., Jr., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Petersen, R. C., Weiner, M. W., Aisen, P. S., . . . Trojanowski, J. Q. (2013). Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. Lancet Neurol, 12(2), 207-216. doi:10.1016/S1474-4422(12)70291-0

Jack, C. R., Jr., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Shaw, L. M., Aisen, P. S., Weiner, M. W., . . . Trojanowski, J. Q. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. Lancet Neurol, 9(1), 119-128. doi:10.1016/S1474-4422(09)70299-6

Janelidze, S., Stomrud, E., Palmqvist, S., Zetterberg, H., van Westen, D., Jeromin, A., . . . Hansson, O. (2016). Plasma beta-amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. Sci Rep, 6, 26801. doi:10.1038/srep26801

Ju, Y. S., Ooms, S. J., Sutphen, C., Macauley, S. L., Zangrilli, M. A., Jerome, G., . . . Holtzman, D. M. (2017). Slow wave sleep disruption increases cerebrospinal fluid amyloid-beta levels. Brain, 140(8), 2104-2111. doi:10.1093/brain/awx148

Kaerst, L., Kuhlmann, A., Wedekind, D., Stoeck, K., Lange, P., & Zerr, I. (2014). Using cerebrospinal fluid marker profiles in clinical diagnosis of dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease, and Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis, 38(1), 63-73. doi:10.3233/JAD-130995

Kang, J. E., Lim, M. M., Bateman, R. J., Lee, J. J., Smyth, L. P., Cirrito, J. R., . . . Holtzman, D. M. (2009). Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. Science, 326(5955), 1005-1007. doi:10.1126/science.1180962

Kim, J., Castellano, J. M., Jiang, H., Basak, J. M., Parsadanian, M., Pham, V., . . . Holtzman, D. M. (2009). Overexpression of low-density lipoprotein receptor in the brain markedly

inhibits amyloid deposition and increases extracellular A beta clearance. Neuron, 64(5), 632-644. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.013

Kim, J., Onstead, L., Randle, S., Price, R., Smithson, L., Zwizinski, C., . . . McGowan, E. (2007). Abeta40 inhibits amyloid deposition in vivo. J Neurosci, 27(3), 627-633. doi:10.1523/JNEUROSCI.4849-06.2007

Klunk, W. E., Engler, H., Nordberg, A., Wang, Y., Blomqvist, G., Holt, D. P., . . . Langstrom, B. (2004). Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. Ann Neurol, 55(3), 306-319. doi:10.1002/ana.20009

Kumar, A., Ghosh, S. K., Faiq, M. A., Deshmukh, V. R., Kumari, C., & Pareek, V. (2018). A Brief Review of Recent Discoveries in Human Anatomy. QJM. doi:10.1093/qjmed/hcy241

Lewczuk, P., Kamrowski-Kruck, H., Peters, O., Heuser, I., Jessen, F., Popp, J., . . . Wiltfang, J. (2010). Soluble amyloid precursor proteins in the cerebrospinal fluid as novel potential biomarkers of Alzheimer's disease: a multicenter study. Mol Psychiatry, 15(2), 138-145. doi:10.1038/mp.2008.84

Li, W., Wang, T., & Xiao, S. (2016). Type 2 diabetes mellitus might be a risk factor for mild cognitive impairment progressing to Alzheimer's disease. Neuropsychiatr Dis Treat, 12, 2489-2495. doi:10.2147/NDT.S111298

Liao, F., Yoon, H., & Kim, J. (2017). Apolipoprotein E metabolism and functions in brain and its role in Alzheimer's disease. Curr Opin Lipidol, 28(1), 60-67. doi:10.1097/MOL.0000000000000383

Liu, C. C., Liu, C. C., Kanekiyo, T., Xu, H., & Bu, G. (2013). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. Nat Rev Neurol, 9(2), 106-118. doi:10.1038/nrneurol.2012.263

Lucey, B. P., & Bateman, R. J. (2014). Amyloid-beta diurnal pattern: possible role of sleep in Alzheimer's disease pathogenesis. Neurobiol Aging, 35 Suppl 2, S29-34. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.035

Machado, A., Herrera, A. J., de Pablos, R. M., Espinosa-Oliva, A. M., Sarmiento, M., Ayala, A., . . . Cano, J. (2014). Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease. Rev Neurosci, 25(6), 785-804. doi:10.1515/revneuro-2014-0035

Mattsson, N., Zetterberg, H., Hansson, O., Andreasen, N., Parnetti, L., Jonsson, M., . . . Blennow, K. (2009). CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. JAMA, 302(4), 385-393. doi:10.1001/jama.2009.1064

McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack, C. R., Jr., Kawas, C. H., . . . Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement, 7(3), 263-269. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.005

Meredith, J. E., Jr., Sankaranarayanan, S., Guss, V., Lanzetti, A. J., Berisha, F., Neely, R. J., . . . Albright, C. F. (2013). Characterization of novel CSF Tau and ptau biomarkers for Alzheimer's disease. PLoS One, 8(10), e76523. doi:10.1371/journal.pone.0076523

Mirra, S. S., Heyman, A., McKeel, D., Sumi, S. M., Crain, B. J., Brownlee, L. M., . . . Berg, L. (1991). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. Neurology, 41(4), 479-486.

Morris, J. C., Heyman, A., Mohs, R. C., Hughes, J. P., van Belle, G., Fillenbaum, G., . . . Clark, C. (1989). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. Neurology, 39(9), 1159-1165.

Mulder, C., Verwey, N. A., van der Flier, W. M., Bouwman, F. H., Kok, A., van Elk, E. J., . . . Blankenstein, M. A. (2010). Amyloid-beta(1-42), total tau, and phosphorylated tau as cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis of Alzheimer disease. Clin Chem, 56(2), 248-253. doi:10.1373/clinchem.2009.130518

Murphy, M. P., & LeVine, H., 3rd. (2010). Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide. J Alzheimers Dis, 19(1), 311-323. doi:10.3233/JAD-2010-1221

Ooms, S., Overeem, S., Besse, K., Rikkert, M. O., Verbeek, M., & Claassen, J. A. (2014). Effect of 1 night of total sleep deprivation on cerebrospinal fluid beta-amyloid 42 in healthy middle-aged men: a randomized clinical trial. JAMA Neurol, 71(8), 971-977. doi:10.1001/jamaneurol.2014.1173

Perneczky, R., Guo, L. H., Kagerbauer, S. M., Werle, L., Kurz, A., Martin, J., & Alexopoulos, P. (2013). Soluble amyloid precursor protein beta as blood-based biomarker of Alzheimer's disease. Transl Psychiatry, 3, e227. doi:10.1038/tp.2013.11

Perneczky, R., Tsolakidou, A., Arnold, A., Diehl-Schmid, J., Grimmer, T., Forstl, H., . . . Alexopoulos, P. (2011). CSF soluble amyloid precursor proteins in the diagnosis of incipient Alzheimer disease. Neurology, 77(1), 35-38. doi:10.1212/WNL.0b013e318221ad47

Plog, B. A., & Nedergaard, M. (2018). The Glymphatic System in Central Nervous System Health and Disease: Past, Present, and Future. Annu Rev Pathol, 13, 379-394. doi:10.1146/annurev-pathol-051217-111018

Potvin, O., Lorrain, D., Forget, H., Dube, M., Grenier, S., Preville, M., & Hudon, C. (2012). Sleep quality and 1-year incident cognitive impairment in community-dwelling older adults. Sleep, 35(4), 491-499. doi:10.5665/sleep.1732

Ridge, P. G., Ebbert, M. T., & Kauwe, J. S. (2013). Genetics of Alzheimer's disease. Biomed Res Int, 2013, 254954. doi:10.1155/2013/254954

Roher, A. E., Esh, C. L., Kokjohn, T. A., Castano, E. M., Van Vickle, G. D., Kalback, W. M., . . . Sabbagh, M. N. (2009). Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement, 5(1), 18-29. doi:10.1016/j.jalz.2008.10.004

Rothman, S. M., Herdener, N., Frankola, K. A., Mughal, M. R., & Mattson, M. P. (2013). Chronic mild sleep restriction accentuates contextual memory impairments, and accumulations of cortical Abeta and pTau in a mouse model of Alzheimer's disease. Brain Res, 1529, 200-208. doi:10.1016/j.brainres.2013.07.010

Seifan, A., Schelke, M., Obeng-Aduasare, Y., & Isaacson, R. (2015). Early Life Epidemiology of Alzheimer's Disease--A Critical Review. Neuroepidemiology, 45(4), 237-254. doi:10.1159/000439568

Selkoe, D. J. (1991). Alzheimer's disease. In the beginning. Nature, 354(6353), 432-433. doi:10.1038/354432a0

Selkoe, D. J., & Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. EMBO Mol Med, 8(6), 595-608. doi:10.15252/emmm.201606210

Shanthi, K. B., Krishnan, S., & Rani, P. (2015). A systematic review and meta-analysis of plasma amyloid 1-42 and tau as biomarkers for Alzheimer's disease. SAGE Open Med, 3, 2050312115598250. doi:10.1177/2050312115598250

Shokri-Kojori, E., Wang, G. J., Wiers, C. E., Demiral, S. B., Guo, M., Kim, S. W., . . . Volkow, N. D. (2018). beta-Amyloid accumulation in the human brain after one night of sleep deprivation. Proc Natl Acad Sci U S A, 115(17), 4483-4488. doi:10.1073/pnas.1721694115

Sims-Robinson, C., Kim, B., Rosko, A., & Feldman, E. L. (2010). How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology? Nat Rev Neurol, 6(10), 551-559. doi:10.1038/nrneurol.2010.130

Singh, S. K., Srivastav, S., Yadav, A. K., Srikrishna, S., & Perry, G. (2016). Overview of Alzheimer's Disease and Some Therapeutic Approaches Targeting Abeta by Using Several Synthetic and Herbal Compounds. Oxid Med Cell Longev, 2016, 7361613. doi:10.1155/2016/7361613

Soscia, S. J., Kirby, J. E., Washicosky, K. J., Tucker, S. M., Ingelsson, M., Hyman, B., . . . Moir, R. D. (2010). The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. PLoS One, 5(3), e9505. doi:10.1371/journal.pone.0009505

Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., . . . Phelps, C. H. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement, 7(3), 280-292. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.003

Spira, A. P., Gamaldo, A. A., An, Y., Wu, M. N., Simonsick, E. M., Bilgel, M., . . . Resnick, S. M. (2013). Self-reported sleep and beta-amyloid deposition in community-dwelling older adults. JAMA Neurol, 70(12), 1537-1543. doi:10.1001/jamaneurol.2013.4258

Stomrud, E., Minthon, L., Zetterberg, H., Blennow, K., & Hansson, O. (2015). Longitudinal cerebrospinal fluid biomarker measurements in preclinical sporadic Alzheimer's disease: A prospective 9-year study. Alzheimers Dement (Amst), 1(4), 403-411. doi:10.1016/j.dadm.2015.09.002

Sütterlin, S. (2011). Demenz in Deutschland, Österreich und der Schweiz. Retrieved from http://www.berlin-institut.org/online-handbuchdemografie/bevoelkerungsdynamik/auswirkungen/demenz-in-deutschland-oesterreich-und-der-schweiz.html abgerufen am 29.04.2017

Thal, D. R. (2009). The pre-capillary segment of the blood-brain barrier and its relation to perivascular drainage in Alzheimer's disease and small vessel disease. ScientificWorldJournal, 9, 557-563. doi:10.1100/tsw.2009.72

Thal, D. R., Rub, U., Orantes, M., & Braak, H. (2002). Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. Neurology, 58(12), 1791-1800.

Theofilas, P., Ehrenberg, A. J., Dunlop, S., Di Lorenzo Alho, A. T., Nguy, A., Leite, R. E. P., . . . Grinberg, L. T. (2017). Locus coeruleus volume and cell population changes during Alzheimer's disease progression: A stereological study in human postmortem brains with potential implication for early-stage biomarker discovery. Alzheimers Dement, 13(3), 236-246. doi:10.1016/j.jalz.2016.06.2362

Verberk, I. M. W., Slot, R. E., Verfaillie, S. C. J., Heijst, H., Prins, N. D., van Berckel, B. N. M., . . . van der Flier, W. M. (2018). Plasma Amyloid as Prescreener for the Earliest Alzheimer Pathological Changes. Ann Neurol, 84(5), 648-658. doi:10.1002/ana.25334

Vlassenko, A. G., McCue, L., Jasielec, M. S., Su, Y., Gordon, B. A., Xiong, C., . . . Fagan, A. M. (2016). Imaging and cerebrospinal fluid biomarkers in early preclinical alzheimer disease. Ann Neurol, 80(3), 379-387. doi:10.1002/ana.24719

Vyazovskiy, V. V., Olcese, U., Hanlon, E. C., Nir, Y., Cirelli, C., & Tononi, G. (2011). Local sleep in awake rats. Nature, 472(7344), 443-447. doi:10.1038/nature10009

Wang, R., Wang, B., He, W., & Zheng, H. (2006). Wild-type presenilin 1 protects against Alzheimer disease mutation-induced amyloid pathology. J Biol Chem, 281(22), 15330-15336. doi:10.1074/jbc.M512574200

Whitwell, J. L., Jack, C. R., Jr., Przybelski, S. A., Parisi, J. E., Senjem, M. L., Boeve, B. F., . . . Josephs, K. A. (2011). Temporoparietal atrophy: a marker of AD pathology independent of clinical diagnosis. Neurobiol Aging, 32(9), 1531-1541. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.10.012

Wolfsgruber, S., Jessen, F., Wiese, B., Stein, J., Bickel, H., Mosch, E., . . . AgeCoDe Study, G. (2014). The CERAD neuropsychological assessment battery total score detects and predicts Alzheimer disease dementia with high diagnostic accuracy. Am J Geriatr Psychiatry, 22(10), 1017-1028. doi:10.1016/j.jagp.2012.08.021

Wu, G., Sankaranarayanan, S., Hsieh, S. H., Simon, A. J., & Savage, M. J. (2011). Decrease in brain soluble amyloid precursor protein beta (sAPPbeta) in Alzheimer's disease cortex. J Neurosci Res, 89(6), 822-832. doi:10.1002/jnr.22618

Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M. J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., . . . Nedergaard, M. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. Science, 342(6156), 373-377. doi:10.1126/science.1241224

Yoon, S. S., & Jo, S. A. (2012). Mechanisms of Amyloid-beta Peptide Clearance: Potential Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease. Biomol Ther (Seoul), 20(3), 245-255. doi:10.4062/biomolther.2012.20.3.245

Zetterberg, H., & Burnham, S. C. (2019). Blood-based molecular biomarkers for Alzheimer's disease. Mol Brain, 12(1), 26. doi:10.1186/s13041-019-0448-1

Zhang, Y. W., Thompson, R., Zhang, H., & Xu, H. (2011). APP processing in Alzheimer's disease. Mol Brain, 4, 3. doi:10.1186/1756-6606-4-3

Zhao, H. Y., Wu, H. J., He, J. L., Zhuang, J. H., Liu, Z. Y., Huang, L. Q., & Zhao, Z. X. (2017). Chronic Sleep Restriction Induces Cognitive Deficits and Cortical Beta-Amyloid Deposition in Mice via BACE1-Antisense Activation. CNS Neurosci Ther, 23(3), 233-240. doi:10.1111/cns.12667

Zivelin, A., Rosenberg, N., Peretz, H., Amit, Y., Kornbrot, N., & Seligsohn, U. (1997). Improved method for genotyping apolipoprotein E polymorphisms by a PCR-based assay simultaneously utilizing two distinct restriction enzymes. Clin Chem, 43(9), 1657-1659.

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:

Aβ42-Plasmaspiegel vor und nach einer Dienst-Nacht der Probanden 1 – 17 (s. Seite 31)

Abbildung 2:

Mittelwerte der Aβ42-Plasmaspiegel vor und nach den Dienst-Nächten der jeweiligen Probanden (s. Seite 32)

Abbildung 3:

Aβ40-Plasmaspiegel vor und nach einer Dienst-Nacht der Probanden 1 – 17 (s. Seite 36)

Abbildung 4:

Mittelwerte der Aβ40-Plasmaspiegel vor und nach den Dienst-Nächten der jeweiligen Probanden (s. Seite 37)

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:

Stichprobenbeschreibung (s. Seite 26 – 28)

Tabelle 1.1:

Stichprobenbeschreibung aller Probanden mit ApoE-Genotypisierung (s. Seite 28 – 30)