

Fakultät für Medizin

Name der promotionsführenden Einrichtung

Lösliches Amyloidvorläuferprotein Beta im Blut als diagnostischer und prognostischer Biomarker der Alzheimer-Krankheit

Titel der wissenschaftlichen Abhandlung

Lena-Sophie Gleixner

Vorname und Name

Vollständiger Abdruck der von der promotionsführenden Einrichtung

Fakultät für Medizin

der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzende/-r: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfende/-r der Dissertation:

1. Prof. Dr. Robert Perneczky

2. Prof. Dr. Johann Förstl

Die Dissertation wurde am 17.10.2016 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die promotionsführende Einrichtung Fakultät für Medizin am 14.06.2017 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	II
Verzeichnis der Abkürzungen	IV
Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	VII
1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	3
2.1 Grundlagen	3
2.1.1 Demenz: epidemiologische Daten und ökonomische Aspekte	3
2.1.2 Pathologie	4
2.1.3 Symptome	8
2.1.4 Diagnostik	9
2.1.5 Therapie	15
2.2 sAPP β im Blutplasma als Biomarker der Alzheimer-Krankheit	17
2.2.1 Biomarker	17
2.2.2 sAPP β – Struktur und Eigenschaften	20
2.2.3 Aktuelle Studienlage zu sAPP β als Biomarker	21
2.3 Zielsetzung.....	23
3 Material und Methoden	24
3.1 Patientenkollektive	24
3.1.1 Kollektiv der PET-Studie	24
3.1.2 Kollektiv der FOLLOWUP-Studie	25
3.2 Methoden	28
3.2.1 Diagnosestellung.....	28
3.2.2 FDG-PET	29
3.2.3 Labordiagnostik.....	29
3.2.4 Statistische Datenanalyse.....	34
4 Ergebnisse	35
4.1 Die PET-Studie: sAPP β als diagnostischer Biomarker der Alzheimer-Krankheit im Stadium der leichten kognitiven Störung	35
4.1.1 Unterschiede zwischen den Gruppen	36
4.1.2 Einfluss der zusätzlich erhobenen Merkmale auf die sAPP β -Konzentration	38
4.2 Die FOLLOWUP-Studie: sAPP β als prognostischer Biomarker der Alzheimer-Krankheit.....	39

Inhaltsverzeichnis

4.2.1	Unterschiede zwischen den beiden Gruppen	40
4.2.2	Einfluss der zusätzlich erhobenen Merkmale auf die sAPP β -Konzentration	43
5	Diskussion	45
5.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse	45
5.2	Diskussion der Methoden	45
5.3	Die PET-Studie	47
5.4	Die FOLLOWUP-Studie	48
5.5	Schlussfolgerung mit Ausblick	49
6	Literaturverzeichnis	51
7	Danksagung.....	64

Verzeichnis der Abkürzungen

A β	Amyloid Beta
AD	Alzheimer-Demenz
AD8	Demenz-Screening-Interview
Afl III	Restriktionsendonuklease für ApoE-Genotypisierung
AICD	Amyloid intracellular domain (dt. intrazelluläre Domäne des APPs)
AK	Alzheimer-Krankheit
ANOVA	Varianzanalyse
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid Precursor Protein (dt. Amyloidvorläuferprotein)
Asp	Aspartat
BACE	β -site APP cleaving enzyme (Synonym der β -Sekretase)
B-ADL	Demenz-Testung: Bayer Activities of Daily Living
cCT	Kraniales CT
CDR	Demenz-Testung: Clinical Dementia Rating
CERAD	Demenz-Testung: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
cMRT	Kraniales MRT
CT	Computertomographie
CTF	C-terminales Fragment
DIMDI	Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (zur Antikoagulation in Monovetten)
EIA	Enzymimmunoassay
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
FDG-PET	Positronen-Emissions-Tomographie mit Radiopharmakon ^{18}F -Fluordesoxyglukose
Glu	Glutamat

Verzeichnis der Abkürzungen

Hae II	Restriktionsendonuklease für ApoE-Genotypisierung
HMPAO	Hexamethylpropylenaminooxim (radioaktiv markierter Tracer)
IBL	Immuno-Biological Laboratories
ICD-10	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Version
IWG	International Working Group
KKS	PET-Studie: Kontrollgruppe ohne kognitive Störungen
KPI	Proteasen-Inhibitor vom Kunitz-Typ
LKS	Leichte kognitive Störung
LKS-FDGpos	PET-Studie: Gruppe mit leichter kognitiver Störung und Alzheimer-typischem FDG-PET-Befund
MCI	Mild cognitive impairment (dt. leichte kognitive Störung)
MCI-nonProg	FOLLOWUP-Studie: Gruppe mit leichter kognitiver Störung und ohne Progredienz in der Verlaufsuntersuchung
MCI-Prog	FOLLOWUP-Studie: Gruppe mit leichter kognitiver Störung mit Entwicklung einer Demenz in der Verlaufsuntersuchung
MMST/MMSE	Demenz-Testung: Mini Mental Status Test/Examination
MoCa	Demenz-Testung: Montreal Cognitive Assessment
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
NEB	New England Biolabs
NIA-AA	National Institute on Aging – Alzheimer’s Association (Arbeitsgruppe zur Erstellung von Leitlinien)
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat (Agonist eines Glutamatrezeptors)
PCR	Polymerase chain reaction (dt. Polymerase-Kettenreaktion)
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
Phospho-TAU	An Position Threonin-181 phosphoryliertes TAU-Protein
RBC	Red blood cell (dt. rote Blutzellen)
sAPP α/β	Soluble amyloid precursor protein alpha/beta (dt. lösliches Amyloidvorläuferprotein alpha/beta)

Verzeichnis der Abkürzungen

SD	Standard deviation (dt. Standardabweichung)
SORL1	Sortilin-related Receptor 1
SPECT	Single photon emission computed tomography (dt. Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie)
TBE-Puffer	Puffer aus Tris, Borsäure und EDTA
TU	Technische Universität
T3MS	Demenz-Testung: Telefonischer Test zur Erkennung kognitiver Störungen
ZNS	Zentrales Nervensystem

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildung 2-1	Prozessierung des Amyloidvorläuferproteins auf dem amyloidogenen und dem nicht-amyloidogenen Weg
Abbildung 2-2	Veränderungen der Biomarker im Krankheitsverlauf
Abbildung 3-1	Fluss-Diagramm zur Übersicht über das Patientenkollektiv der PET-Studie
Abbildung 3-2	Fluss-Diagramm zur Übersicht über die Rekrutierung des FOLLOWUP-Kollektivs
Abbildung 4-1	Balken-Diagramm der MMSE-Ergebnisse im Gruppenvergleich
Abbildung 4-2	Boxplot-Diagramm der sAPP β -Konzentration im Plasma
Abbildung 4-3	Balken-Diagramm über die Verteilung der ApoE ϵ 4-Träger
Abbildung 4-4	Balken-Diagramm über die Entwicklung der MMSE-Ergebnisse von der 1. zur 2. Untersuchung
Abbildung 4-5	Boxplot-Diagramm der sAPP β -Konzentration im Plasma
Tabelle 3-1	Zuordnung der Bandenmuster zum Genotyp nach Restriktionsanalyse
Tabelle 4-1	Erhobene Daten der PET-Studie mit Mittelwert und Standardabweichung
Tabelle 4-2	Erhobene Daten der FOLLOWUP-Studie mit Mittelwert und Standardabweichung
Tabelle 4-3	p-Werte der einzelnen Modelle in der linearen Regressionsanalyse mittels Rückwärtsselektion

1 Zusammenfassung

Bis heute kann trotz der weltweiten Bedeutung der Alzheimer-Krankheit die Diagnose Morbus Alzheimer prae mortem lediglich als Verdachtsdiagnose gestellt werden. Grund hierfür ist das Fehlen von ausreichend valider, treffsicherer Diagnostik. Um diese zu verbessern empfiehlt die NIA-AA, die Arbeitsgruppe des U.S. National Institute on Aging und der Alzheimer's Association, in ihren aktuellen Leitlinien aus dem Jahr 2011 ein stärkeres Miteinbeziehen von Biomarkern.

Hinsichtlich eines neuen Biomarkers sind zwei Aspekte wünschenswert. Zum Einen ist das die nicht-invasive und kostengünstige Durchführung, wie eine Blutuntersuchung sie bieten kann, unter anderem auch aufgrund der ansteigenden Fallzahlen in medizinisch weniger gut versorgten Regionen der Erde. Und zum Anderen ist das die Messung eines Markers, der bereits in sehr frühen Stadien der Erkrankung eine hohe Treffsicherheit bietet, auch eventuell mit Blick auf eine zukünftige Therapie im präsymptomatischen Stadium.

Ziel der Arbeit war es daher, diese beiden Aspekte in einem neuen Biomarker der Alzheimer-Krankheit zu vereinen und sAPP β im Blutplasma als diagnostischen und prognostischen Biomarker näher zu beleuchten.

In der PET-Studie wurde sAPP β als diagnostischer Biomarker untersucht. Dabei wurden dessen Konzentrationen im Plasma in drei Gruppen verglichen: eine Gruppe mit leichter kognitiver Störung und eine Gruppe mit Alzheimer-Demenz, beide mit Alzheimer-typischen FDG-PET-Befunden, sowie eine gesunde Kontrollgruppe mit negativem Liquorbefund. In den beiden pathologischen Gruppen konnte eine Verringerung der sAPP β -Konzentration im Plasma um etwa die Hälfte nachgewiesen werden (LKS-FDGpos/KKS: $p = 0,016$; AD/KKS: $p < 0,001$).

In der FOLLOWUP-Studie wurde sAPP β als prognostischer Biomarker evaluiert. Dazu wurde durch Verlaufsuntersuchungen bei Patienten mit leichter kognitiver Störung ein Kollektiv mit Patienten erstellt, bei denen eine Alzheimer-Pathologie vermutet wurde. Dieses wurde in eine progrediente Gruppe mit wahrscheinlicher Alzheimer-Demenz und eine nicht progrediente Gruppe mit weiterhin bestehender leichter kognitiver Störung dichotomisiert, wobei ein langsamerer Krankheitsverlauf angenommen wurde. Die sAPP β -Konzentration - entnommen wurde das Blut bei der 1. Vor-

Zusammenfassung

stellung im Stadium der leichten kognitiven Störung - zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen, weshalb dem Biomarker keine prognostische Eigenschaft hinsichtlich der Krankheitsprogression nachgewiesen werden konnte ($p = 0,579$).

Die Studien unterstützen damit die Erkenntnisse von Perneczky et al. (2013), dass sAPP β im Plasma einen vielversprechenden diagnostischen Biomarker darzustellen scheint. Dahingegen scheint sAPP β keine Aussagekraft als prognostischer Biomarker zu besitzen.

Weitere Studien zur Bestimmung der Treffsicherheit des diagnostischen Biomarkers, auch im Vergleich mit histopathologisch bestätigten Alzheimer-Fällen, scheinen daher vielversprechend.

2 Einleitung

2.1 Grundlagen

2.1.1 Demenz: epidemiologische Daten und ökonomische Aspekte

Im Jahr 2013 gaben die Gesundheitsminister der G8-Staaten eine Erklärung ab, in der sie die Demenz als eine bedeutende Krankheitsbelastung mit großer sozio-ökonomischer Auswirkung auf unsere Gesellschaft anerkennen und sich verpflichteten, zukünftig die Forschung auf diesem Gebiet voranzutreiben (G8 Dementia Summit, 2013). Grund hierfür ist die beunruhigend hohe Anzahl Betroffener. So lebten im Jahr 2015 46,8 Millionen Menschen weltweit mit der Diagnose Demenz. Jedes Jahr kommt es zu über 9,9 Millionen neuen Fällen. Prince et al. (2015) rechnen damit, dass sich die Prävalenz etwa alle 20 Jahre verdoppelt, sodass im Jahr 2050 etwa 131,5 Millionen Demenz-Kranke erwartet werden.

In Deutschland geht man derzeit von etwa 1,07 Millionen Demenzerkrankten im mittleren und schweren Stadium aus. Im Alter von 60-64 Jahren sind 0,8% der Männer bzw. 0,6% der Frauen betroffen. Mit zunehmendem Alter wächst diese Zahl auf 30% bzw. 43% für über 100-Jährige (Ziegler et al., 2009).

Die Alzheimer-Demenz ist dabei mit 50-70% aller Demenzen die häufigste Entität (Qiu et al., 2007), wobei Frauen eine höhere Wahrscheinlichkeit haben zu erkranken und die Erkrankungswahrscheinlichkeit mit dem Alter ansteigt (Fratiglioni et al., 1997). Die vaskuläre Demenz stellt mit 15-25% die zweithäufigste Ursache dar (Qiu et al., 2007).

Bezüglich der aktuellen und zukünftigen Entwicklung der epidemiologischen Zahlen gibt es widersprüchliche Erkenntnisse. Während einige Studien von einer stabilen Prävalenz berichten (Lobo et al., 2007; Hall et al., 2009), verweisen andere Studien auf eine stagnierende beziehungsweise sinkende Tendenz (Rocca et al., 2011; Matthews et al., 2013, Qiu et al., 2013).

Gründe für die sinkende Prävalenz der vor allem in westlichen, einkommensstarken Ländern durchgeführten Studien könnten zum Beispiel ein zunehmend reduziertes Rauchverhalten und vermehrte körperliche Aktivität sein (Prince et al., 2015). Auch die medizinische Entwicklung und Versorgung in einkommensstarken Ländern, unter

anderem mit Antihypertensiva und Statinen, führt zu einem Rückgang von kardiovaskulären Erkrankungen (Rocca et al., 2011). Unterstützt werden diese Argumente durch eine Studie von Schrijvers et al. (2012), in der zwei Kohorten aus den Jahren 1990 und 2000 in Relation gesetzt wurden. Neben der Inzidenz wurden Risikoprofile verglichen und trotz des vermehrten Vorkommens von Bluthochdruck und Übergewicht in dem Kollektiv des Jahres 2000 konnte durch den ebenfalls gestiegenen Gebrauch von antithrombotischer und lipidsenkender Medikation ein Rückgang von Mikroangiopathien und Hirnatrophien verzeichnet werden.

Die verbesserte medizinische Versorgung kann jedoch auch zu einer erhöhten Überlebenswahrscheinlichkeit nach Schlaganfällen führen, sowie zu vermehrten subklinischen Gefäßerkrankungen, welche eine Demenz begünstigen (Rocca et al., 2011). Ein weiteres Argument gegen eine zukünftig sinkende Prävalenz ist die im letzten Jahrhundert weltweit angestiegene Lebenserwartung (Kinsella et al., 2009). Vor allem in einkommensschwächeren Ländern erwartet man in den nächsten Jahrzehnten einen deutlich zunehmenden Anteil der älteren Bevölkerung. Auch der Anteil der Demenzen in Entwicklungs- und Schwellenländern wird von heute 58% auf 68% im Jahr 2050 steigen. Gründe hierfür scheinen dort in dem sich häufenden Übergewicht zu liegen, welches unter anderem zu vaskulären Erkrankungen führen kann (Prince et al., 2015).

Die Häufigkeit dieser Erkrankung stellt auch wirtschaftlich eine Herausforderung dar. Durch direkte medizinische Aufwendungen, Sozialfürsorge und informelle, unbezahlte Pflege entstehen weltweit circa 818 Milliarden US\$ Kosten pro Jahr (Prince et al., 2015). In der EU schätzten Wimo et al. (2011) die Kosten auf 160 Milliarden € im Jahr 2008, entsprechend etwa 22.000 € pro Demenz-Erkranktem. In Deutschland gaben die gesetzlichen Krankenkassen im Jahr 2004 über 6 Milliarden € aus (Statistisches Bundesamt, 2006).

2.1.2 Pathologie

Unter dem Mikroskop werden die typischen Merkmale der Alzheimer-Erkrankung schnell sichtbar: extrazelluläre senile Plaques und intrazelluläre Neurofibrillen-Bündel neben atrophen Neuronen und Synapsen (Blennow et al., 2006). Von den Ablagerungen sind vor allem die Assoziationsrinden des temporoparietalen Kortex mit dem

Hippocampus und der Amygdala betroffen, sowie Teile des Frontalhirns und des cingulären Kortex (Pearson et al., 1985).

Der Hauptbestandteil der senilen Plaques ist das Amyloid β , dessen Entstehung im Folgenden durch die Amyloid-Kaskade erklärt wird. Ein Zuviel an Amyloid β bedingt unter anderem einen Anstieg an Entzündungsfaktoren durch aktivierte Mikroglia und Astrozyten, Störungen der Neuronen-Homöostase, oxidativen Stress, neuronale Dysfunktionen mit Transmitter-Störungen und Neurofibrillen-Bildung durch eine gestörte Kinasen- und Phosphatasen-Aktivität (Blennow et al., 2006).

Die Neurofibrillen-Bündel entstehen durch die Aggregation von krankhaft hyperphosphoryliertem TAU-Protein. Neben der Schädigung der Neuronen durch die Akkumulation kommt es außerdem zu einer Schädigung der Mikrotubuli mit folgendem axonalem Schaden, da das Protein TAU zu dessen Stabilität beiträgt (Iqbal et al., 2005).

2.1.2.1 Die Amyloid-Kaskade

Ausgangspunkt ist das Amyloidvorläuferprotein APP, ein Transmembran-Protein mit einem großen extrazellulären Anteil, das vor allem im Bereich der neuronalen Synapsen vorhanden ist. Dessen Spaltung kann auf zwei Wegen erfolgen: dem nicht-amyloidogenen und dem amyloidogenen Weg (Mohamed et al., 2016).

Der nicht-amyloidogene Weg wird durch die α -Sekretase initiiert, welche das APP inmitten der A β -Sequenz schneidet. Dadurch wird die Entstehung eines vollständigen Amyloid- β -Proteins verhindert. Es entsteht ein großes extrazelluläres lösliches sAPP α und ein membranständiges 83 Aminosäuren langes C-terminales Fragment CTF-83. Letzteres wird durch die γ -Sekretase ein weiteres Mal gespalten, in die AICD (amyloid intracellular domain) und das membranständige A $\beta_{17-40/42}$ (Mohamed et al., 2016).

Der amyloidogene Weg wird durch das Enzym β -Sekretase, auch als BACE1 bezeichnet, eingeleitet, welche von APP das im Vergleich zum sAPP α kleinere Protein sAPP β abspaltet. In der Membran bleibt das CTF-99 zurück, welches das vollständige A β -Protein enthält. Dieses wird von der γ -Sekretase als 40 bzw. 42 Aminosäuren langes A $\beta_{1-40/42}$ herausgeschnitten, welches durch sein langes hydrophobes Ende zu Fehlfaltungen neigt. Die Monomere lagern sich zunächst zu löslichen Oligomeren

Einleitung

zusammen, welchen bereits eine starke neurotoxische Wirkung zugeschrieben wird. Eine weitere Zusammenlagerung zu Fibrillen in anti-paralleler β -Faltblattstruktur führt letztendlich zu einer Ablagerung als Plaques (Mohamed et al., 2016).

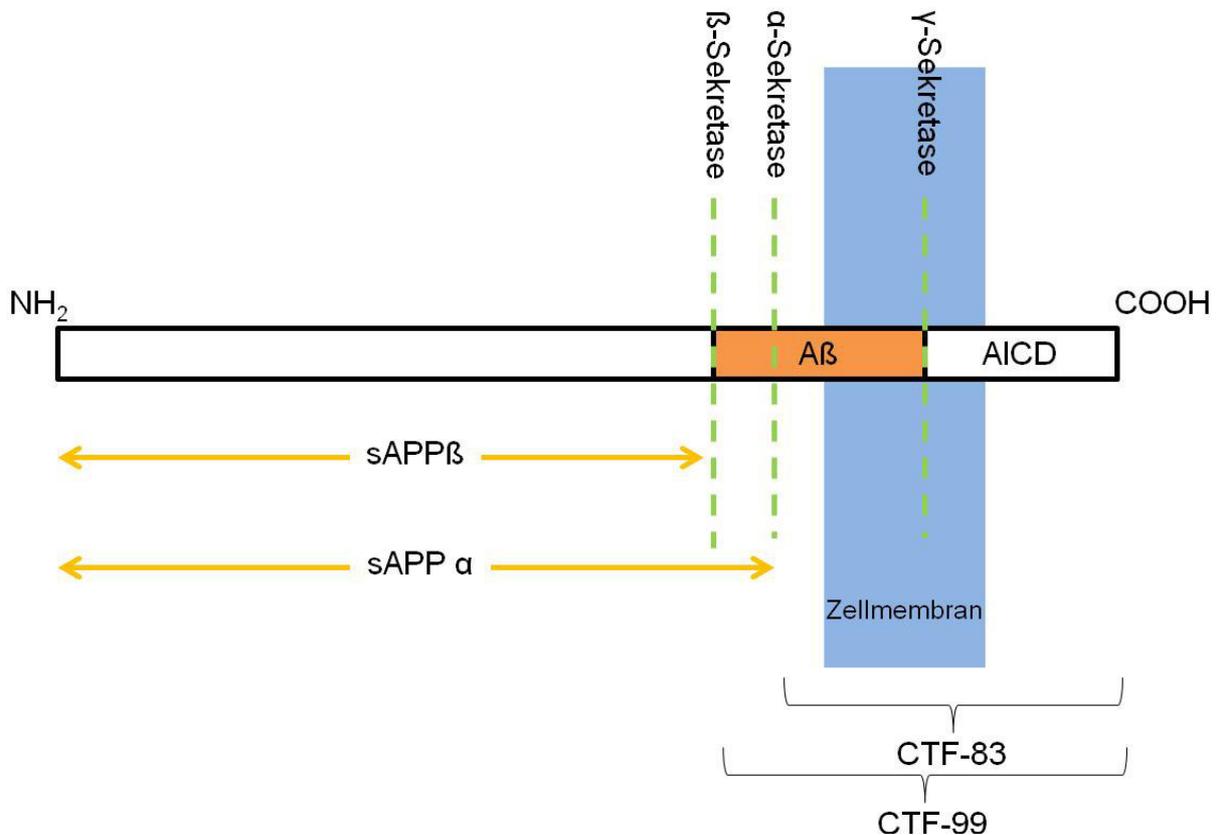


Abbildung 2-1: Prozessierung des Amyloidvorläuferproteins auf dem amyloidogenen und dem nicht-amyloidogenen Weg (Mohamed et al., 2016)

Abkürzungen: A β = Amyloid β , AICD = intrazelluläre Domäne des APPs, CTF = carboxy-terminales Fragment, sAPP = lösliches Amyloidvorläuferprotein

Beide Wege kommen physiologischerweise vor, wobei sich Produktion und Abbau die Waage halten (Hardy et al., 2002). Der Abbau von A β kann proteolytisch erfolgen, aber auch durch Rezeptoren, welche das Protein durch die Blut-Hirn-Schranke ins Plasma schleusen (Tanzi et al., 2004).

2.1.2.2 Amyloid-Akkumulation als Folge zellulären Stresses

Aufgrund der verschiedenen Verlaufsformen der Alzheimer-Erkrankung verlagert sich das Verständnis, dass es sich bei den beiden Hauptmerkmalen der Alzheimer-Erkrankung, den senilen Plaques und den Neurofibrillen-Bündeln, um die Auslöser

der Erkrankung handelt dahin, dass es sich dabei um zelluläre Adaptionvorgänge durch langandauernde Schädigung handelt (Anand et al., 2012).

Eine zentrale Rolle scheint der oxidative Stress zu spielen. Dieser kann unter anderem durch Metalle, wie Eisen und Kupfer, fortgeschrittene Glykierungsendprodukte, aktivierte Astrozyten und Mikroglia, proteosomale und mitochondrielle Dysfunktionen (Zhu et al., 2007), altersbedingte Hormon-Veränderungen oder Veränderung des Kalziumhaushaltes ausgelöst werden (Anand et al., 2012). Als Kompensationsmechanismus kommt es zu einer vermehrten Bildung von Amyloid β und zu einer Hyperphosphorylierung von TAU, die zunächst anti-oxidativ wirkt, im Übermaß jedoch zum verstärkten Zelluntergang führt (Anand et al., 2012).

Ein weiterer Erklärungsansatz ist das LEARn-Modell, welches davon ausgeht, dass es in jungen Jahren durch Umwelteinflüsse wie Schwermetalle, intrinsische Faktoren wie Zytokine, oder beispielsweise Cholesterin-haltige Ernährung durch Methylierung zu Veränderungen an Promotor-Regionen von Alzheimer-relevanten Genen kommen kann. Im höheren Alter kann es dann durch weitere Aggressoren wie altersbedingte Entzündungsfaktoren zu einer endgültigen pathologischen Genexpression kommen (Lahiri et al., 2008).

2.1.2.3 Risikofaktoren und protektive Faktoren

Die Genetik scheint bei der Alzheimer-Krankheit einen großen Einfluss zu haben, wie Zwillingsstudien zeigen, die das Ausmaß der Vererbung zwischen 58 und 79% einschätzen (Gatz et al., 2006).

Das APOE ϵ 4-Gen ist ein Hauptrisikofaktor der sporadisch auftretenden Fälle, da bei Heterozygoten ein 3-4-fach, bei Homozygoten ein 30fach erhöhtes Risiko einer Alzheimer-Demenz festgestellt werden konnte (Myers et al., 1996). Das Apolipoprotein E wird im Gehirn von Astrozyten produziert und hat eine komplexe Funktion im Gehirnstoffwechsel inne, wobei das Allel ϵ 4 unter anderem mit einer erhöhten A β -Produktion, einer erniedrigten A β -Clearance, der Hyperphosphorylierung von TAU und einem negativen Einfluss auf die Integrität von Synapsen assoziiert ist (Bu, 2009).

In weniger als 1% der Alzheimer-Fälle sind autosomal-dominante Vererbungen folgender Genmutationen ursächlich: APP auf Chromosom 21, Presenilin 1 auf Chro-

mosom 14 und Presenilin 2 auf Chromosom 1 (Bekris et al., 2010). Sie alle führen letztendlich zu einer erhöhten Produktion von A β ₁₋₄₂ (Scheuner et al., 1996).

In den letzten Jahren konnten noch einige weitere Polymorphismen aufgedeckt werden. Das individuelle Risiko durch diese zu erkranken ist jedoch im Vergleich zu oben genannten Genen weitaus geringer (Karch und Goate, 2015).

Neben determinierenden genetischen Faktoren gibt es auch sogenannte modifizierbare Risikofaktoren der Alzheimer-Erkrankung, darunter Diabetes, Hypertonie, Übergewicht, körperliche Inaktivität, Rauchen, geringe Schulbildung und Depression. Etwa einem Drittel aller Alzheimer-Fälle weltweit werden diese Faktoren ursächlich zugeschrieben (Norton et al., 2014).

Protektive Faktoren, welche vor der Erkrankung bzw. dessen schneller Progredienz schützen sollen, wurden hauptsächlich durch epidemiologische Studien ermittelt. Zu diesen zählen ein moderater Alkoholkonsum, gesunde Ernährungsgewohnheiten mit viel Obst, Gemüse und ungesättigten Fettsäuren, Vitamin E und körperliche Aktivität (Weuve et al., o.J.). Stern (2012) prägte den Begriff der kognitiven Reserve. Durch Faktoren wie beispielsweise Bildung, beruflicher Erfolg und Freizeitaktivitäten im fortgeschrittenen Alter kommt es zu einer Verbesserung selbiger. Dadurch kann das Gehirn nach einer Schädigung durch bereits erlernte Strategien die kognitiven Einbußen besser kompensieren.

2.1.3 Symptome

Typische Zeichen einer Alzheimer-Demenz sind ein sich stetiges Verschlechtern des episodischen Gedächtnisses, oft in Kombination mit Werkzeugstörungen, wie Aphasie, Apraxie und Agnosie. Auch Probleme bezüglich der Entscheidungsfindung, der Orientierung und des Urteilsvermögens werden häufig beobachtet (Blennow et al., 2006). Depressionen treten in frühen Phasen der Erkrankung oft begleitend auf, im Verlauf kommt es mit zunehmender Verschlechterung vermehrt zur Agitation, Aggression und zu psychotischen Symptomen (Lopez et al., 2003). Bei einem geringen Anteil der Fälle kann sich ein atypischer Verlauf präsentieren, zum Beispiel als posteriore kortikale Atrophie mit visuellen Störungen oder als primäre progressive Aphasie (Galton et al., 2000).

Grund für eine atypische Klinik kann auch das gleichzeitige Vorkommen verschiedener Pathologien sein. So konnte bei etwa einem Drittel der Patienten mit Alzheimer-Demenz eine zusätzliche zerebrovaskuläre Erkrankung nachgewiesen werden (Kalaria und Ballard, 1999).

Morbus Alzheimer ist eine Erkrankung des alten Menschen (Ferri et al., 2005). In nur 1 bis 6% der Fälle (Bekris et al. 2010) kann es als Alzheimer-Krankheit mit frühem Beginn laut ICD-10 auch zu Symptomen vor dem 65. Lebensjahr kommen (Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information [DIMDI], 2015), wobei dann bei etwa 60% eine familiäre Häufung auftritt (Bekris et al., 2010).

Als Vorstufe kann sich die leichte kognitive Störung manifestieren, eine im Alters- und Bildungsvergleich bestehende Gedächtnisverschlechterung, jedoch noch ohne Beeinträchtigungen des täglichen Lebens. Ursächlich kann Morbus Alzheimer sein, aber auch unter anderem die frontotemporale Demenz, die Lewy-Körper-Demenz, vaskuläre Demenzen, Depression, metabolische Erkrankungen, Obstruktionen der oberen Luftwege oder Schädel-Hirn-Traumata (Gauthier et al., 2006). Die Prävalenz in der Bevölkerung wird auf etwa 5% geschätzt, wobei die Wahrscheinlichkeit daraus eine Demenz zu entwickeln jährlich bei etwa 15% liegt (Ritchie, 2004).

Die mittlere Überlebensdauer nach dem Auftreten erster kognitiver Symptome beträgt je nach Studie zwischen 5 und 9,3 Jahren. Es wird jedoch diskutiert, ob diese Zahlen eventuell zu hoch gegriffen sind. Rasch progrediente Fälle wurden eventuell nicht berücksichtigt, da sie bereits nach kurzer Zeit versterben (Wolfson et al., 2001). Letztendlich versterben die Demenz-Erkrankten an generell häufig vorkommenden Todesursachen, wie an Pneumonien, kardialen Erkrankungen oder Schlaganfällen (Kukull et al., 1994).

2.1.4 Diagnostik

2.1.4.1 Leitlinien

Um die Diagnose Alzheimer-Krankheit zu stellen gibt es gleich mehrere Klassifikationssysteme, derer man sich bedienen kann. Zu den wichtigsten zählen wohl das ICD-10 (International Classification of Diseases) der WHO, das DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) der American Psychiatric Association, die nach 27 Jahren 2011 überarbeiteten Leitlinien der NIA-AA, einer Arbeitsgruppe

Einleitung

des amerikanischen National Institute on Aging und der Alzheimer's Association, sowie die IWG-2-Kriterien nach Dubois et al. (2014).

Bei der Einteilung der Alzheimer-Krankheit nach ICD-10 wird unter der Kategorie F00 zwischen der Demenz mit frühem Beginn, mit spätem Beginn und der atypischen beziehungsweise gemischten Alzheimer-Demenz unterschieden (DIMDI, 2015).

Die aktuellen Leitlinien der NIA-AA legen dagegen einen stärkeren Fokus auf Biomarker und unterteilen die Krankheit chronologisch in ein präklinisches Stadium, das Stadium der leichten kognitiven Störung und das Stadium der Demenz. Bezüglich der Biomarker werden dabei jeweils solche, die dem Nachweis einer Amyloid- β -Akkumulation dienen, von Biomarkern des neuronalen Untergangs unterschieden. So sind erniedrigte Konzentrationen von $A\beta_{1-42}$ im Liquor und ein erhöhter Amyloid-Nachweis im PET Zeichen einer vermehrten Amyloid- β -Ablagerung. Für eine neuronale Degeneration sprechen beispielsweise erhöhte TAU- und Phospho-TAU-Konzentrationen im Liquor, regionale Gehirnatrophien im MRT, wie zum Beispiel des Hippocampus, oder Hypometabolismen im FDG-PET (Albert et al., 2011).

Die präklinische Kategorie wird in drei Stadien eingeteilt (Sperling et al., 2011):

- Stadium 1: Zeichen der Amyloid- β -Akkumulation
- Stadium 2: Zeichen der Amyloid- β -Akkumulation und des neuronalen Untergangs
- Stadium 3: Amyloidose, Neurodegeneration und sehr leichte kognitive Einbußen ohne die Kriterien der leichten kognitiven Störung zu erfüllen

Zentrales Element der leichten kognitiven Störung ist weiterhin die Evaluation durch den Untersucher, welche in den klinischen Kernkriterien berücksichtigt wird. Voraussetzungen für die Diagnose Leichte Kognitive Störung sind (Albert et al., 2011):

- Wahrnehmung einer Veränderung der Kognition, subjektiv oder durch nahe-stehende Personen
- Objektivierete Störung in einer oder mehreren kognitiven Domänen über das für den Patienten normale Alter- und Bildungsniveau hinaus
- Keine Beeinträchtigung im Alltag
- Keine Demenz

Einleitung

Zur Erhärtung der Diagnose Alzheimer-Krankheit sollten desweiteren andere Ursachen für eine kognitive Störung ausgeschlossen werden, wie unter anderem Parkinson-Syndrome und vaskuläre, traumatische oder metabolische Ursachen. Auch genetische Faktoren, wie der ApoE-Genotyp und genetisch bedingte Alzheimer-Erkrankungen, sollten berücksichtigt werden. Zuletzt können in klinischen Forschungssettings folgende Kategorien unterschieden werden:

- Leichte kognitive Störung durch klinische Kernkriterien: Biomarker nicht verfügbar, nicht eindeutig bzw. widersprüchlich
- Leichte kognitive Störung durch AK – mittlere Wahrscheinlichkeit: nur ein Biomarker der A β -Akkumulation oder des neuronalen Untergangs positiv
- Leichte kognitive Störung durch AK – hohe Wahrscheinlichkeit: beide Biomarker-Kategorien positiv
- Leichte kognitive Störung – unwahrscheinlich durch AK: beide Biomarker-Kategorien negativ

Auch die Diagnosestellung der Demenz fußt auf klinischen Kernkriterien (McKhann et al., 2011):

- Symptome beeinträchtigen die Arbeit bzw. das alltägliche Leben
- Verschlechterung bezüglich des früheren Niveaus des Patienten
- Symptome lassen sich nicht durch ein Delir oder andere psychiatrische Erkrankungen erklären
- Kognitive Störungen werden durch Anamnese und neuropsychologische Testung objektiviert
- Zwei der folgenden Punkte treffen zu: Schwierigkeiten neue Informationen zu verarbeiten, Schwierigkeiten bei komplexeren Aufgaben bzw. gestörtes Urteilsvermögen, Störung des visuell-räumlichen Verständnisses, gestörte Sprachfunktion, Veränderungen der Persönlichkeit und des Verhaltens

Steht darüber hinaus die Frage der Alzheimer-Krankheit als Ursache im Raum, ist folgende Einteilung möglich:

- Wahrscheinliche Alzheimer-Demenz: bei schleichendem Beginn, kontinuierlicher kognitiver Verschlechterung, amnestischer oder nicht-amnestischer Symptompräsentation und unwahrscheinlicher anderer Ätiologie
- Mögliche Alzheimer-Demenz: zutreffende Kernkriterien, jedoch mit untypischer klinischer Präsentation, wie z.B. plötzlichem Beginn oder rascher Verschlechterung, oder ätiologisch uneinheitlicher Präsentation
- Wahrscheinliche oder mögliche Alzheimer-Demenz mit Nachweis eines Alzheimer-pathophysiologischen Prozesses: durch den Gebrauch von Biomarkern in klinischen Forschungssettings kann die Wahrscheinlichkeit einer Alzheimer-Genese nach den Biomarker-Befunden noch weiter bewertet werden; ist eine Biomarker-Kategorie positiv, die zweite nicht bestimmt worden oder unklar, so ist eine mittlere Wahrscheinlichkeit gegeben; sind beide Kategorien positiv, so ist eine hohe Wahrscheinlichkeit zu diagnostizieren
- Demenz mit unwahrscheinlicher Alzheimer-Ätiologie: Kernkriterien sind nicht erfüllt bzw. andere Ursache ist wahrscheinlich oder Biomarker sind negativ

Der Gebrauch des präklinischen Stadiums, sowie die Berücksichtigung von Biomarkern ist aktuell nur Forschungszwecken vorbehalten, während die klinischen Kernkriterien für den Einsatz im klinischen Alltag empfohlen werden (Alzheimer's Association, 2011).

In den IWG-2-Kriterien (Dubois et al., 2014) wird ebenfalls ein Miteinbeziehen von Biomarkern in die Diagnosestellung empfohlen. Auch hier wird die Wichtigkeit des Prodromalstadiums verdeutlicht. Die Unterscheidung erfolgt zwischen einer typischen und einer atypischen Alzheimer-Krankheit.

2.1.4.2 Neuropsychologische Testung

Eines der wichtigsten Standbeine der Demenz-Diagnostik ist die kognitive Testung. Zur orientierenden Einschätzung werden in den aktuellen S3-Leitlinien „Demenzen“ (Deuschl et al., 2016) kognitive Kurztests, wie der Mini-Mental Status Test MMST (Mitchell, 2009), der DemTect (Kalbe et al., 2004) oder der Montreal Cognitive Assessment Test MoCA (Nasreddine et al., 2005) empfohlen. Die diagnostische Aussagekraft kann mit Shulmans Uhrentest (Shulman, 2000) zusätzlich erhöht werden (Deuschl et al., 2016).

Für ausführlichere Testungen eignet sich unter anderem die Testbatterie des Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease CERAD (Morris et al., 1989) oder der Clinical Dementia Rating Scale CDR (Morris, 1993). Der CERAD überprüft Fähigkeiten der Orientierung, der Sprache, der konstruktiven Praxis und des Gedächtnisses. Der CDR berücksichtigt darüber hinaus auch eventuelle Störungen des sozialen und häuslichen Lebens und der Pflege.

2.1.4.3 Bildgebung

In der Praxis finden vor allem drei Verfahren Anwendung: das MRT, das PET und das SPECT.

Da bei etwa 4% der Demenzkranken eine potenziell reversible Ursache der Grund für die kognitive Störung ist (Hejl et al., 2002), sollte im Rahmen der Diagnostik ein cMRT, bei individuellen Kontraindikationen auch ein cCT, durchgeführt werden. Damit sollen Differentialdiagnosen wie Tumore, Hämatome, vaskuläre Läsionen, eine subkortikale arteriosklerotische Enzephalopathie oder ein Hydrozephalus ausgeschlossen werden (Deuschl et al., 2016). Zum Anderen kann die Diagnose Alzheimer mittels Fokus auf eine mediale temporale Atrophie oder mittels Hippocampus-Volumetrie untermauert werden. Besonders bei atypischer Präsentation kann das MRT wegweisend sein (Scheltens et al., 2016).

Mittels eines ^{18}F -FDG-PET wird die Glukose-Aufnahme von Neuronen und Gliazellen visualisiert, wobei ein negativer Befund eine Alzheimer-Diagnose praktisch ausschließt (Scheltens et al., 2016). Hypometabolismen des bilateralen Gyrus angularis, des posterioren Gyrus cinguli mit Precuneus und des inferioren Temporalkortex deuten dagegen auf eine Alzheimer-Pathologie hin (Jagust et al., 2009). Die Sensitivität und Spezifität dieser Untersuchung liegt bei jeweils 86% (Patwardhan et al., 2004). Eine weitere Möglichkeit ist das PET mit A β -Liganden. Florbetapir erkennt zum Beispiel mit einer Sensitivität von über 90% das Vorliegen einer Amyloidose (Clark et al., 2012). Jedoch konnten bei 10-30% der kognitiv gesunden älteren Bevölkerung positive Amyloid-PET-Befunde nachgewiesen werden (Quigley et al., 2011), sodass auch dieses Diagnosemittel vor allem dem Ausschluss einer Alzheimer-Erkrankung vorbehalten bleibt.

Bei der SPECT-Untersuchung wird das mit Technetium-99m markierte Radiopharmakon HMPAO zur Messung des zerebralen Blutflusses appliziert. Mit einer

Sensitivität von 66% und einer Spezifität von 79% findet sie vor allem in der Abklärung von Differentialdiagnosen Anwendung (Dougall et al., 2004).

2.1.4.4 Liquordiagnostik

Die Liquordiagnostik dient auch hier zum Einen zum Ausschluss von Differentialdiagnosen, wie zum Beispiel Enzephalitiden, Vaskulitiden, Metastasen, paraneoplastischen Syndromen oder Multipler Sklerose und zum Anderen als Standbein der Diagnostik bei Neurodegeneration (Deuschl et al., 2016).

A β_{1-42} als Marker der Amyloidablagerungen im Kortex, Gesamt-TAU als Marker der Neurodegeneration und Phospho-TAU als Marker der neurofibrillären Veränderungen sind in der Praxis die drei relevantesten neurodegenerativen Parameter im Liquor (Blennow et al., 2010). Dabei sprechen erniedrigte Konzentrationen von A β_{1-42} und erhöhte Konzentrationen des Gesamt-TAU und des hyperphosphorilierten TAU für eine Alzheimer-Genese (Ballard et al., 2011). Mit einer Sensitivität von 86% und einer Spezifität von 89% konnten damit post-mortem bestätigte AD-Patienten von einer gesunden Kontrollgruppe unterschieden werden (Engelborghs et al., 2008). Bis jetzt konnten jedoch noch keine Labor-übergreifenden Grenzwerte bestimmt werden, da aufgrund fehlender Standardisierung die Variabilität zu hoch ist (Mattsson et al., 2013).

2.1.4.5 Labordiagnostik

Der Nutzen der Blutuntersuchung ist bis heute auf den Ausschluss von Differentialdiagnosen beschränkt. Dazu empfehlen Deuschl et al. (2016) gegebenenfalls die Überprüfung auf Endokrinopathien, wie zum Beispiel einer Hypothyreose, sowie auf Vitaminmangelerscheinungen, metabolische Enzephalopathien, zum Beispiel aufgrund von Leber- oder Niereninsuffizienzen, Intoxikationen, Elektrolytstörungen, hämatologische Störungen und chronische Infektionskrankheiten.

Es besteht zusätzlich die Möglichkeit der Bestimmung des ApoE-Genotyps. Aufgrund einer zu geringen Sensitivität und Spezifität darf das Ergebnis der Genanalyse jedoch nur im Kontext der gesamten Diagnostik mit äußerster Vorsicht bewertet werden (Mayeux et al., 1998).

2.1.4.6 Schwierigkeiten der Diagnosestellung

Eine definitive Diagnosestellung der Alzheimer-Erkrankung kann bis heute nur durch die Neuropathologie post mortem erfolgen (Goldberg, 2007). Umso wichtiger ist daher eine umfassende Diagnostik prae mortem, um eine akkuraten Diagnosestellung gewährleisten zu können. Wie aus obigen Kapiteln deutlich wird, ist die aktuelle Diagnostik vor allem im Bezug auf den Ausschluss einer Alzheimer-Erkrankung beziehungsweise dessen Differentialdiagnosen aussagekräftig. Eine Kombination verschiedener Diagnostiken, wie zum Beispiel Liquoruntersuchung, MRT und PET scheint die Treffsicherheit jedoch zu erhöhen (Prestia et al., 2013), weshalb eine Miteinbeziehung aller zur Verfügung stehenden Informationen von hoher Wichtigkeit zu sein scheint.

Eine zusätzliche Schwierigkeit ist das häufige Vorkommen von Mischpathologien. Bei etwa zwei Drittel aller mit einer Alzheimer-Demenz diagnostizierten Patienten konnten zusätzliche Pathologien, wie zerebrovaskuläre oder parkinsonoide Veränderungen festgestellt werden (Lim et al., 1999).

2.1.5 Therapie

2.1.5.1 Pharmakologische Therapie

Dem Neurotransmitter-Defizit durch den Untergang cholinergischer Neurone, vor allem im Nucleus Basalis Meynert (Whitehouse et al., 1982) wird durch die Acetylcholinesterase-Inhibitoren Donepezil, Rivastigmin und Galantamin entgegengewirkt. Sie werden zur Behandlung der leichten bis mittelschweren Demenz eingesetzt (Deuschl et al., 2016). Je nach Studie kann sich unter dieser Therapie nach 6 bis 12 Monaten eine Besserung um 1,5 bis 2 Punkte im MMST einstellen (Ballard et al., 2011). Es gibt Hinweise darauf, dass der Verlauf der Erkrankung mit dem frühzeitigen Beginn der Medikation positiv beeinflusst wird (Winblad et al., 2006), trotzdem handelt es sich bei Acetylcholinesterase-Inhibitoren jedoch klassischerweise um eine rein symptomatische Therapie (Blennow et al., 2006).

Memantine als nicht-kompetitive NMDA-Antagonisten werden zur Therapie von moderaten bis schweren Demenzen eingesetzt (Deuschl et al., 2016). Diese verhindern den Untergang bereits vorgeschädigter Neuronen durch den exzitatorisch wirkenden

Transmitter Glutamat, welcher bei Alzheimer-Patienten im Gehirn vermehrt ausgeschüttet wird (Goldberg, 2007). Reisberg et al. (2003) konnten unter Memantin-Therapie im Vergleich zur Placebo-Gruppe ein signifikant besseres Outcome in diversen Scores feststellen. Auch hier handelt sich es jedoch lediglich um eine symptomatische Therapie (Blennow et al., 2006).

Auf psychische und Verhaltensauffälligkeiten scheinen Memantine und Acetylcholinesterase-Inhibitoren nur einen milden Effekt zu haben. Daher ist in einigen Fällen der zusätzliche Einsatz psychotroper Medikamente in Form von Antipsychotika, Antidepressiva, Antikonvulsiva oder Tranquilizer vonnöten. Dabei sollte jedoch auf anticholinerge Substanzen verzichtet werden und Benzodiazepine nur im Einzelfall eingesetzt werden (Deuschl et al., 2016). Antipsychotika sind mit einer erhöhten Mortalität und Morbidität assoziiert, sodass dessen Einsatz so kurz wie möglich und nur bei entsprechender Indikation erfolgen sollte (Ballard und Howard, 2006).

Im Hinblick auf krankheitsmodifizierende Medikamente wird in Richtung Anti-Amyloid-Immunsierung, γ - und β -Sekretase-Hemmer und Anti-Aggregations-Medikation geforscht. Die Studienergebnisse sind bis dato jedoch eher entmutigend (Scheltens et al., 2016). Hoffnung wird nun auf die frühe therapeutische Intervention bereits in der präklinischen Phase der Erkrankung gelegt (Sperling et al., 2011).

2.1.5.2 Psychosoziale Unterstützung

Neben der pharmakologischen Therapie sollte eine psychosoziale Unterstützung beispielsweise durch kognitive Verfahren, Ergotherapie, körperliche Aktivierung, künstlerische und sensorische Therapien erfolgen (Deuschl et al., 2016).

2.2 sAPP β im Blutplasma als Biomarker der Alzheimer-Krankheit

2.2.1 Biomarker

2.2.1.1 Definition und Anforderungen

Es existieren von verschiedenen Institutionen viele, sich größtenteils überschneidende Definitionen eines Biomarkers. Die Version der Biomarkers Definition Working Group definiert den Biomarker als ein „Merkmal, das objektiv gemessen und evaluiert werden kann als Indikator eines normalen biologischen Prozesses, eines pathologischen Prozesses oder einer pharmakologischen Reaktion auf eine therapeutische Intervention“ (Biomarkers Definition Working Group, 2001).

1998 formulierte die Arbeitsgruppe des Ronald und Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association und das National Institute on Aging 7 Merkmale des idealen Biomarkers für die Alzheimer-Krankheit. Er soll

- ein eindeutiges Merkmal der Alzheimer-Pathologie erkennen
- durch neuropathologisch bestätigte Alzheimer-Fälle validiert sein
- mit einer Sensitivität und Spezifität von mindestens 80% treffsicher sein, um die Alzheimer-Krankheit in einem frühen Stadium zu entdecken und von anderen Demenzen abzugrenzen
- reliabel
- nicht-invasiv
- einfach in der Durchführung und
- kostengünstig sein.

sAPP β scheint theoretisch einige dieser Anforderungen zu erfüllen. Als Nebenprodukt der Amyloid-Kaskade stellt sAPP β ein eng mit der Amyloid- β -Entstehung assoziiertes Merkmal der Alzheimer-Pathologie dar. Als Biomarker im Blut wäre die Diagnostik nicht-invasiv, einfach durchzuführen und kostengünstig.

Diagnostik, die aktuell in der Praxis Anwendung findet, zeigt meist nur Pathologien im fortgeschrittenen Stadium der Alzheimer-Krankheit auf. Abbildung 2-2 zeigt, dass es

Einleitung

sehr früh im Krankheitsverlauf, also bereits im präsymptomatischen Stadium, zu einer Vermehrung von Amyloid kommt, weshalb sAPP β als Marker der frühen Stadien fungieren könnte. Ein TAU-Anstieg im Liquor, Atrophien im MRT oder ein Abfall in der neuropsychologischen Testung sind dagegen erst in späteren Stadien zu finden.

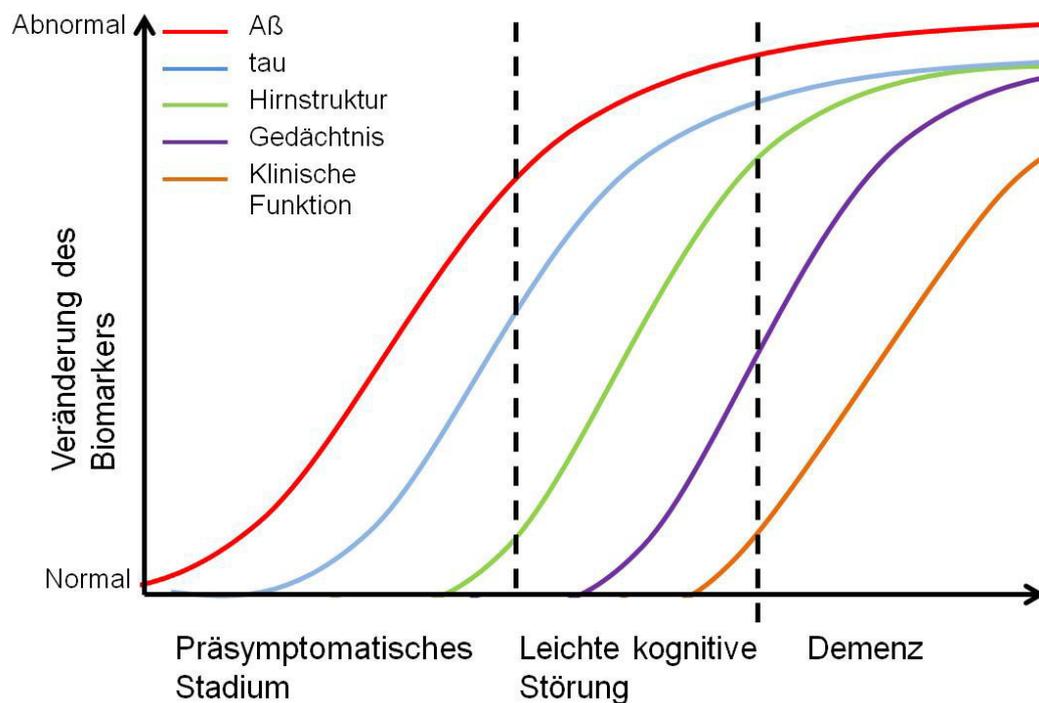


Abbildung 2-2: Veränderungen der Biomarker im Krankheitsverlauf, Grafik modifiziert nach Jack et al. (2010)

Abkürzungen: A β = Amyloid β

Je nach Zielsetzung gibt es mehrere Arten von Biomarkern, wobei in dieser Arbeit diagnostische Biomarker und prognostische Biomarker von Bedeutung sind. Unter einem diagnostischen Biomarker versteht man ein Merkmal, welches Individuen mit einer bestimmten Krankheit beziehungsweise einem bestimmten Zustand erkennt. Ein prognostischer Biomarker gibt dagegen über die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines klinischen Events, einer Progression oder eines Rezidivs Auskunft (Spring et al., 2016).

In folgender Arbeit wird in der PET-Studie sAPP β als diagnostischer Marker beurteilt, wobei die Nützlichkeit von sAPP β zur Unterscheidung zwischen Individuen ohne kognitiver Störung, mit leichter kognitiver Störung und mit Alzheimer-Demenz im Fokus steht. In der FOLLOWUP-Studie wird bei Patienten mit einer leichten kognitiven Störung bei klinisch vermuteter Alzheimer-Krankheit die sAPP β -Konzentration gemessen und im Rahmen eines longitudinalen Studiendesigns zwischen einer progre-

dienten Gruppe, welche eine wahrscheinliche Alzheimer-Demenz entwickelt hat, und einer im Beobachtungszeitraum nicht progredienten Gruppe mit weiterhin bestehender leichter kognitiver Störung unterschieden. Damit steht in der zweiten Studie die prognostische Eigenschaft von sAPP β als Biomarker im Mittelpunkt.

2.2.1.2 Herausforderungen bei der Entwicklung blut-basierter Biomarker

sAPP β als Biomarker-Kandidat der Alzheimer-Krankheit im Blut ist zum heutigen Zeitpunkt ein recht neuer Ansatz, weshalb potentielle Probleme und mögliche Einflussfaktoren bei der Auswertung und Interpretation der Resultate zu berücksichtigen sind. Henriksen et al. (2014) beschreiben in ihrer Arbeit einige Herausforderungen bei der Entwicklung von auf Blut basierenden Biomarkern der Alzheimer-Krankheit.

Beispielsweise ist der Einfluss der Blut-Hirn-Schranke zu bedenken. Sie soll den Übertritt von Proteinen vom Gehirn ins Blut theoretisch verhindern, scheint jedoch für kleinere Proteine eventuell passierbar zu sein. Im Rahmen der Alzheimer-Krankheit kommt es zu einer teilweisen Schädigung der Blut-Hirn-Schranke, deren Ausmaß und Einfluss auf die ZNS-stämmigen Proteine im Blut noch unbekannt ist.

Desweiteren ist der Einfluss von Komorbiditäten - oft gehen diese mit einer erhöhten Konzentration an Entzündungsfaktoren im Blut einher - und die Auswirkung von Medikamenten auf Alzheimer-relevante Proteine im Blut unklar.

Auch können die gemessenen Konzentrationen durch eine extrazerebrale Produktion des zu untersuchenden Proteins, unbekannte Protein-Bindung im Blut, Degradierung beziehungsweise Verstoffwechslung im Blut oder in anderen Organen und tägliche Schwankungen zum Beispiel durch die Ernährung oder die Diurese verfälscht werden.

Es sollten zusätzlich auch Fehlerquellen berücksichtigt werden, die im Rahmen der Studien-Durchführung auftreten können, beispielsweise der hohe Anteil falsch diagnostizierter Individuen. Durch häufig vorkommende Mischpathologien und die zu niedrige Treffsicherheit bereits etablierter Diagnostik kann es zu Fehlern bei der Rekrutierung von Individuen und in der Gruppeneinteilung kommen.

Desweiteren ist es schwierig, Kontrollindividuen zu finden, die in dem fortgeschrittenen Alter keine relevanten Komorbiditäten aufweisen und keine Alzheimer-

Pathologie vorweisen, wobei vor allem die präklinische Phase der Alzheimer-Demenz eine Fehlerquelle darstellt.

Zuletzt besteht die labortechnische Herausforderung darin, sehr niedrige Konzentrationen im Blut adäquat messen zu können.

2.2.2 sAPP β – Struktur und Eigenschaften

sAPP β entsteht durch die Abspaltung von APP, dem Amyloidvorläuferprotein. Dabei handelt es sich um einen glykosilierten integralen Transmembran-Zell-Oberflächen-Rezeptor mit einem großem extrazellulärem Anteil, einer hydrophoben Transmembranregion und einem kurzen C-terminalen intrazellulären Abschnitt (Zhang et al., 2012).

Das APP-Gen befindet sich auf Chromosom 21 (De Strooper und Annaert, 2000) und enthält 19 Exons, wobei durch alternatives Splicing der Exone 7, 8 und 15 verschiedene Isoformen vorkommen. Bei APP695 - die Namensgebung berücksichtigt hierbei die Anzahl der Aminosäuren - fehlen die Exone 7 und 8. Typischerweise kommt diese Isoform im Gehirn vor. APP770 mit Beteiligung aller Exons und APP751 mit Aussparung des Exons 8 repräsentieren weitere Isoformen (Sandbrink et al., 1994). Außer im Gehirn kommen APP-Varianten auch in vielen anderen nicht-neuronalen Geweben des menschlichen Körpers vor (Selkoe et al., 1988).

Die genaue Funktion des APP konnte bisher noch nicht vollständig geklärt werden. Der extrazelluläre Anteil des Proteins enthält mehrere Domänen, welche wichtige Rollen in der Funktion des APPs spielen. Neben seiner Funktion als Oberflächen-Rezeptor scheinen die Domänen E1 und E2 durch die Bildung von Dimeren zur Zell-Adhäsion beizutragen (Soba et al., 2005). Es gibt Hinweise darauf, dass diese Adhäsionseigenschaft auch bei der Synapsen-Integrität von Bedeutung ist (Wang et al., 2009). Der Serin-Proteasen-Inhibitor der Kunitz-Familie Typ II (KPI) kommt typischerweise in den Varianten APP770 und APP751, nicht jedoch in APP695 vor (Bush et al., 1990). Im Rahmen der Alzheimer-Krankheit scheint es zu einer vermehrten Expression von KPI-positiven APP-Isoformen zu kommen, die wiederum mit einer verstärkten Amyloid-Ablagerung korrelieren (Menéndez-Gonzalez et al., 2005).

sAPP β entsteht mittels des amyloidogenen Weges durch die Spaltung des Amyloidvorläuferproteins durch die β -Sekretase (Abbildung 2-1). Dabei wird das Pro-

tein im extrazellulären Anteil am NH₂-Terminus des A β -Abschnittes an der Stelle Asp1 geschnitten (Vassar et al., 1999; De Strooper und Annaert, 2000). Unter physiologischen Bedingungen schneidet die β -Sekretase vermehrt an der Stelle Glu11, wobei eine kürzere, weniger zur Aggregation neigende A β -Version mit 30 bis 32 Aminosäuren entsteht (Perneczky et al., 2014).

sAPP β der APP695-Isoform besteht aus 596 Aminosäuren und ist damit am C-Terminus 16 Aminosäuren kürzer als sAPP α . Dieser Abschnitt fehlt an einem der neuroprotektiv wirkenden Bereiche des löslichen APP-Anteils. Der übrige Aufbau gleicht sich bei beiden Proteinen mit Bindestellen für Kupfer, Zink und einen Wachstumsfaktor, sowie Domänen für neuroprotektive und neurotrophe Effekte. Der Verlust der 16 Aminosäuren bedingt daher die wohl teils unterschiedlichen Wirkungen von sAPP α und sAPP β (Chasseigneaux und Alliquant, 2012). sAPP α scheint neuroprotektiv zu wirken, indem es Neuronen vor Exzitotoxizität, A β -Toxizität und Glukosemangel schützt. sAPP β kann dieser Effekt nur zu einem vielfach geringeren Teil zugeschrieben werden (Furukawa et al., 1996). Auch hat es im Gegensatz zu sAPP α durch die fehlende Langzeitpotenzierung im Hippocampus keinen Einfluss auf die neuronale Plastizität (Taylor et al., 2008). Gemeinsam ist den beiden sAPP-Formen die Aktivierung von Mikroglia mit der daraus folgenden Produktion von Neurotoxinen (Barger und Harmon, 1997), ebenso wie die Induktion von axonalem Wachstum (Chasseigneaux et al., 2011). Im Gegensatz zu sAPP α fungiert sAPP β als Aktivator des Death Receptor 6 und der Caspase 6 und beeinflusst damit den neuronalen Zelltod (Nikolaev et al., 2009). sAPP β scheint jedoch nicht allein schädigend zu wirken, wie Freude et al. (2011) nachweisen konnten. Bei menschlichen embryonalen Stammzellen stimuliert es die neuronale Differenzierung.

2.2.3 Aktuelle Studienlage zu sAPP β als Biomarker

sAPP β wurde als Biomarker bis dato hauptsächlich im Liquor untersucht. Die Ergebnisse sind widersprüchlich. Einige Studien können keinen signifikanten Unterschied der sAPP β -Konzentration zwischen Alzheimer-Erkrankten und gesunden Kontrollen nachweisen (Sennvik et al., 2000; Olsson et al., 2003; Rosén et al., 2012; Brinkmalm et al., 2013). Andere Studien stellen eine signifikante Erhöhung der Konzentration im Liquor bei Alzheimer-Erkrankten fest (Lewczuk et al., 2010; Perneczky et al., 2011). Ältere Studien berichten von einer erniedrigten Konzentration der lösli-

chen APP-Derivate bei Alzheimer-Patienten (Palmert et al., 1990; Van Nostrand et al., 1992). Lewczuk et al. (2010) berichten zusätzlich von einer starken Korrelation zwischen sAPP β und sAPP α ($R = 0,96$). Ein Grund hierfür könnte der Rezeptor SORL1 sein, welcher der Apolipoprotein-E-Familie angehört. Er beeinflusst die Interaktion beider Sekretasen α und β mit dem Amyloidvorläuferprotein (Alexopoulos et al., 2010). Pernecky et al. (2014) ziehen jedoch auch einen methodologischen Fehler in Betracht. Kreuzreaktionen im Labor durch die ähnliche Struktur beider Proteine bzw. deren lange Halbwertszeit im Liquor bei der hohen Konzentration von APP im Gehirn könnten zu einer falsch-positiven Korrelation führen.

Bezüglich sAPP β im Blut als Biomarker-Kandidat wurden einige Studien veröffentlicht, bei denen APP und deren Abkömmlinge in Blutzellen im Fokus standen. In Thrombozyten konnte eine erhöhte Konzentration an APP mRNA bei Patienten mit kognitiver Störung nachgewiesen werden (Vignini et al., 2011). APP mRNA war auch in mononukleären Zellen von Alzheimer-Patienten signifikant erhöht (Jiang et al., 2003). Vom Verhältnis zwischen einer schwereren 130kDa-APP-Form und einer leichteren 110kDa-Form in Thrombozyten berichteten verschiedene Studien, wobei der Quotient bei Alzheimer-Erkrankten gegenüber gesunden Kontrollen signifikant erniedrigt war (Padovani et al., 2001; Baskin et al., 2000). Bei Marksteiner und Hummel (2013) zeigte sich sAPP β , nicht jedoch sAPP α , bei AD- und LKS-Patienten in Thrombozyten vermehrt.

Zu sAPP β als Biomarker im Blutplasma gibt es bis heute nur wenige Studien. Pernecky et al. (2013) wiesen im Plasma von Alzheimer-Patienten eine erniedrigte sAPP β -Konzentration nach, im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe und Patienten mit frontotemporaler Demenz. sAPP α zeigte keinen signifikanten Konzentrationsunterschied. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Untersuchung von Wu et al. (2011), die von einer erniedrigten sAPP β -, sAPP α - und APP-Konzentration im Gehirn von Alzheimer-Erkrankten berichtet, spricht dies für eine akkurate Widerspiegelung der Biomarker in der Peripherie. Im Gegensatz dazu berichtet eine weitere Studie von einer erhöhten Konzentration an sAPP β und sAPP α bei AD-Patienten im Blutplasma im Vergleich mit gesunden Kontrollen (Wu et al., 2012).

2.3 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, sAPP β als neuen blut-basierten Biomarker-Kandidaten der Alzheimer-Krankheit zu evaluieren. Dies geschieht vor dem Hintergrund, dass bis heute trotz der weltweiten Bedeutung der Alzheimer-Krankheit die Diagnose Morbus Alzheimer prae mortem lediglich als Verdachtsdiagnose gestellt werden kann.

Grund hierfür ist das Fehlen von ausreichend valider, treffsicherer Diagnostik. Vor allem im Hinblick auf die ansteigenden Fallzahlen in medizinisch weniger gut versorgten Regionen der Erde ist der Wunsch nach einem nicht-invasiven, kostengünstigen Biomarker groß. Zusätzlich wäre der Nutzen eines Biomarkers, der sich bereits sehr früh im Krankheitsverlauf ändert, im Sinne einer eventuell künftig bestehenden Therapiemöglichkeit bereits im präklinischen Stadium, groß.

Aufgrund der bis dato geringen und widersprüchlichen Studienlage zu sAPP β als Biomarker im Blut (Pernecky et al., 2013; Wu et al., 2012) ist es das Ziel dieser Arbeit, diesen Ansatz in einen breiteren Kontext zu stellen. Dafür wurde sAPP β als diagnostischer und als prognostischer Biomarker untersucht.

In der PET-Studie wurde hierfür sAPP β im Blutplasma in seiner diagnostischer Aussagekraft bei Patienten mit leichter kognitiver Störung und Alzheimer-Demenz im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe geprüft.

Der Frage nach der prognostischen Aussagekraft, inwieweit sAPP β im Blut im Stadium der leichten kognitiven Störung eine Aussage über die Progression der LKS zur Demenz bei Alzheimer-Krankheit treffen kann, wurde in der FOLLOWUP-Studie nachgegangen.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektive

Alle in den beiden Studien eingeschlossenen Patienten, mit Ausnahme der Individuen der gesunden Kontrollgruppe, wurden in der Gedächtnisambulanz des Klinikums rechts der Isar der TU München rekrutiert.

Die Diagnose wurde gemäß den jeweils aktuellen Kriterien nach Windblad et al. (2004) beziehungsweise den NIA-AA-Kriterien (Albert et al., 2011; McKhann et al., 2011) gestellt.

Im Rahmen der Erstvorstellung erfolgte eine Blutentnahme mit jeweils einer Serum- und EDTA-Monovette, mit der die Bestimmung der sAPP β -Konzentration im Plasma und die ApoE-Genotypisierung erfolgte.

Alle Patienten unterschrieben nach einer ausführlichen Aufklärung die „Einverständniserklärung zur Aufbewahrung und Analyse entnommener Blut- und Gewebeproben sowie von Datenmaterial aus bildgebenden Untersuchungen des Gehirns zum Zwecke der Diagnostik, der Wissenschaft und der Lehre“. Teilnehmer der Studie FOLLOWUP unterzeichneten desweiteren die Patienteneinwilligung zur Studie „Prädiktion der Alzheimer-Demenz durch Proteine im Blut bei Patienten mit leichter kognitiver Störung“. Die gesunden Kontrollprobanden der PET-Studie unterschrieben die Einwilligung „Blut und Liquormarker der Alzheimer-Krankheit bei kognitiv gesunden Menschen“.

3.1.1 Kollektiv der PET-Studie

Das Kollektiv PET besteht aus 88 Patienten.

64 der Patienten wurden zwischen dem 01.09.2010 und dem 31.01.2014 in der Gedächtnisambulanz vorstellig, wobei bei allen eine FDG-PET-Untersuchung durchgeführt wurde. Bei 21 der Patienten wurde nach den Kriterien der NIA-AA (Albert et al., 2011) eine „Leichte kognitive Störung durch Alzheimer-Demenz – mittlere Wahrscheinlichkeit“ diagnostiziert. Diese wurden in der Gruppe LKS-FDGpos zusammengefasst. 43 der Patienten litten gemäß der Kriterien an einer „wahrscheinlichen Alz-

Material und Methoden

heimer-Demenz – mittlere Wahrscheinlichkeit“ (McKhann et al., 2011), welche die Gruppe AD darstellt.

Als gesunde Kontrollgruppe KKS wurden 24 ältere Individuen eingeschlossen, die bereits im Rahmen einer Vorgänger-Studie rekrutiert worden sind (Werle, 2015). Bei ihnen konnten neuropsychiatrische Störungen und subjektive Gedächtnisbeschwerden ausgeschlossen werden. Im Rahmen von urologischen und orthopädischen Operationen unter Spinalanästhesie wurden vor der Injektion des Anästhetikums je acht Milliliter Liquor entnommen, dessen Befund bezüglich der Liquor-Demenzmarker A β ₁₋₄₂, Gesamt-TAU und Phospho-TAU unauffällig war. Die Blutentnahme erfolgt über eine peripher-venöse Verweilkanüle, die im Rahmen der Narkoseeinleitung gelegt wurde.

Einen Überblick über die Verteilung der Individuen gibt Abbildung 3-1.

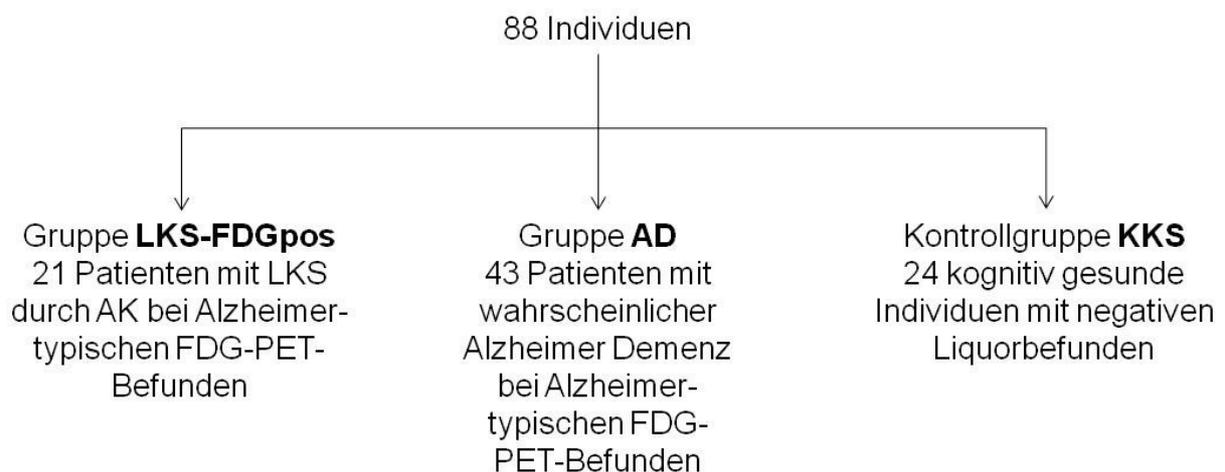


Abbildung 3-1: Fluss-Diagramm zur Übersicht über das Patientenkollektiv der PET-Studie

Abkürzungen: LKS = leichte kognitive Störung, FDG-PET = Positronen-Emissions-Tomographie mit Radiopharmakon 18F-Fluordesoxyglukose

3.1.2 Kollektiv der FOLLOWUP-Studie

Um sAPP β als prognostischen Biomarker zu evaluieren wurden 102 Patienten im Rahmen der FOLLOWUP-Studie nachuntersucht. Bei allen wurde eine „Leichte kognitive Störung“ nach Albert et al. (2011) diagnostiziert.

Material und Methoden

84 der Patienten erklärten sich im Rahmen der Studie zu einer Verlaufsuntersuchung bereit. Bei zwölf dieser Patienten verlängerte sich die Beobachtungsdauer durch weitere Verlaufsuntersuchungen in der Gedächtnisambulanz der TU München.

Zur Erweiterung des Patientenkollektivs wurden zusätzlich 13 Patienten eingeschlossen, die analog zur ersten Untersuchung in der Gedächtnisambulanz vorstellig wurden. Bei fünf Patienten erfolgte eine Verlaufsuntersuchung durch den telefonischen Test T3MS (Alexopoulos et al., 2006).

Desweiteren nahmen 31 der 102 Patienten an einem T3MS und 17 Patienten an einem AD8 (Galvin et al., 2005) teil.

Somit ergab sich ein Beobachtungszeitraum von durchschnittlich 27,33 Monaten (SD = 7,79).

Auf dieser Grundlage wurden 31 Patienten, welche Alzheimer-untypische Symptome beziehungsweise Verläufe präsentierten von der Studie ausgeschlossen. Dazu zählten vaskuläre Demenzen, Parkinson-Syndrome, frontotemporale Demenzen, kognitive Störungen als Medikamentennebenwirkung oder durch Betäubungsmittelabusus und schwere Depressionen. Zwei weitere Patienten wurden wegen im Vergleich vielfach erhöhten sAPP β -Werten als biologische Ausreißer ebenfalls aus der Stichprobe entfernt.

Die verbleibenden 69 Patienten wurden mit der Diagnose Leichte Kognitive Störung bei vermuteter Alzheimer-Pathogenese in das Kollektiv der FOLLOWUP-Studie aufgenommen.

Einen Überblick über den Ablauf der Patientenrekrutierung gibt Abbildung 3-2.

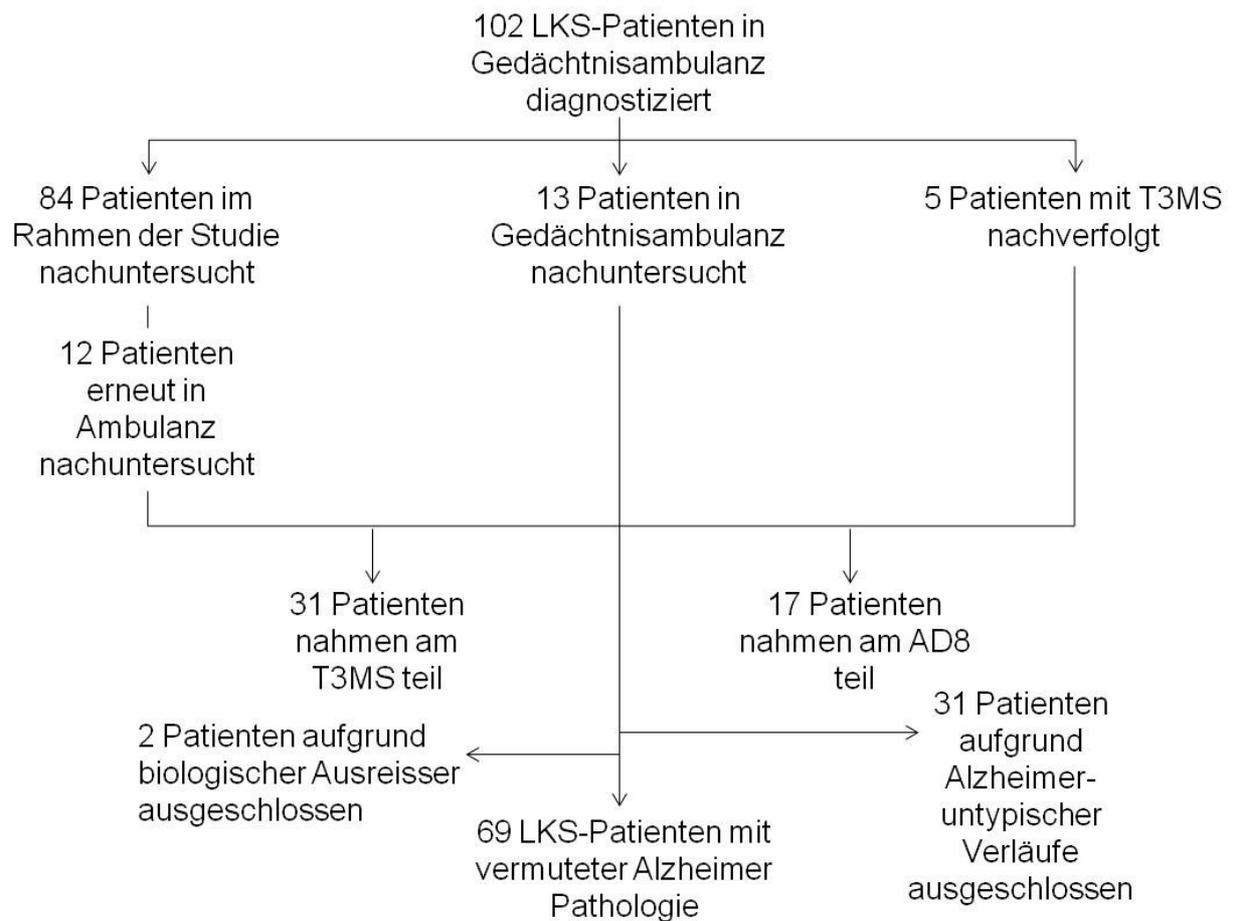


Abbildung 3-2: Fluss-Diagramm zur Übersicht über die Rekrutierung des FOLLOWUP-Kollektivs

Abkürzungen: LKS = leichte kognitive Störung, T3MS = telefonischer Test zur Erkennung kognitiver Störungen nach Alexopoulos et al., 2006, AD8 = Demenz-Screening-Interview nach Galvin et al., 2005

Auf Basis der Untersuchungen erfolgte zum Zeitpunkt Oktober 2014 eine Unterteilung der Patienten in die nicht progrediente Gruppe MCI-nonProg, deren Individuen im Verlaufszeitraum der Studie keine Demenz bei Alzheimer-Krankheit entwickelten und einen wahrscheinlich langsameren Krankheitsverlauf erlebten, und in die Gruppe MCI-Prog, deren Individuen im Verlauf eine „wahrscheinliche Alzheimer-Demenz“ (McKhann et al., 2011) entwickelten und damit eine schnellere Progression vorwiesen.

Ein- bzw. Ausschlusskriterien waren die Diagnose einer leichten kognitiven Störung, ein CDR von 0,5 (Morris, 1993), ein Mindestalter von 50 Jahren, der Ausschluss ei-

ner Bewusstseinsstörung und ein Mindestzeitraum von 12 Monaten nach der 1. Untersuchung.

3.2 Methoden

3.2.1 Diagnosestellung

Die Diagnosestellung in der Gedächtnisambulanz der TU München erfolgte durch die behandelnden Ärzte mittels Anamnese, körperlicher Untersuchung, Blutuntersuchung zum Ausschluss von Differentialdiagnosen und neuropsychologischer Testung. In einigen Fällen wurde die Diagnostik durch bildgebende Verfahren wie cMRT, cCT oder FDG-PET erweitert. Die neuropsychologische Testung setzte sich zusammen aus der Testbatterie des Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease CERAD (Morris et al., 1989), dem Uhrentest nach Shulman (Shulman, 2000) und dem Clinical Dementia Rating - Fragebogen (Morris, 1993).

Der unauffällige neuropsychiatrische Befund der Kontrollgruppe des PET-Kollektivs wurde neben einer Anamneseerhebung und einem negativem Liquorbefund mit Hilfe des Fragebogens zur subjektiven kognitiven Leistungsminderung (Geerlings et al., 1999), dem Mini-Mental Status Test (Folstein et al., 1975) und dem Montgomery-Asberg Depression Rating Scale - Fragebogens (Montgomery und Asberg, 1979) gestellt.

Die Nachuntersuchung im Rahmen der FOLLOWUP-Studie bestand aus einer ausführlichen Anamnese mit der Erhebung subjektiver kognitiver Leistungsminderung nach Geerling et al. (1999) und einer körperlichen Untersuchung. Der kognitive Status wurde mittels CERAD (Morris et al., 1989) und Uhrentest nach Shulman (Shulman, 2000) erhoben. Affektive Störungen wurden durch den Montgomery-Asberg Depression Rating Scale - Fragebogen (Montgomery und Asberg, 1979) erfasst. Bei Begleitung durch eine Bezugsperson beantwortete diese den Bayer Activities of Daily Living Scale B-ADL von Hindmarch et al. (1998). Ein Teil der Patienten nahm zusätzlich an dem telefonischen Test T3MS (Alexopoulos et al., 2006) und der Erhebung des AD8-Fragebogens (Galvin et al., 2005) teil.

3.2.2 FDG-PET

Die FDG-PET-Aufnahme erfolgte im zeitlichen Zusammenhang mit der Blutentnahme bei der Erstvorstellung in der Gedächtnisambulanz. Verwendet wurden die Geräte Siemens ECAT/EXACT HR+ (CTI, Knoxville, TN) und Siemens 951 R/31.

Die Auswertung der Befunde erfolgte mithilfe der NEUROSTAT-Software für automatisierte Bildanalyse durch zwei erfahrene Ärzte für Nuklearmedizin. Als Alzheimer-typische Befunde wurden Hypometabolismen des bilateralen Gyrus angularis, des posterioren Gyrus cinguli mit Precuneus und der inferioren Temporallappen gewertet.

3.2.3 Labordiagnostik

Auf die Blut- und Liquorentnahme erfolgte die zeitnahe Verarbeitung. Dazu wurden die Blut-Monovetten 15 Minuten bei 2000 x g, sowie 80% des Liquors zehn Minuten bei 3148 x g zentrifugiert und aliquotiert. Anschließend wurden die Proben zunächst bei -20°C, langfristig bei -80°C gelagert.

Der verbleibende Liquor wurde zur weiteren Liquor-Basisdiagnostik (Zellzahl, Glucose-, Lactat-, Gesamtprotein-, Albumin- und Immunglobulinkonzentrationen) an das Liquorlabor der Neurologischen Klinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar weitergeleitet.

Aus den mononukleären Zellen im EDTA-Blut wurde DNA isoliert, welche zur ApoE-Genotypisierung verwendet wurde.

3.2.3.1 Immunoassay

Um die sAPP β -Konzentration in Plasma zu bestimmen wurden die Immunoassays „Human sAPP β -w (highly sensitive)“-Assay Kit 27732 der Firma „Immuno-Biological Laboratories Co.“ (IBL) verwendet.

Dabei handelt es sich um einen Festphasen-fixierten Enzymimmunoassay vom Sandwich-Typ. Eine zentrale Rolle spielen zwei hoch spezifische Antikörper. Der erste Antikörper befindet sich auf der Mikrotiterplatte und bindet so das zu messende Protein, in diesem Fall sAPP β . Der zweite Antikörper, an den ein Enzym gekoppelt ist, bindet ebenfalls an den Antigen-Antikörper-Komplex. Das Enzym sorgt nach Zu-

Material und Methoden

gabe eines Chromogens für eine Farbentwicklung der Lösung. Über die Intensität der Färbung lässt sich proportional die sAPP β -Konzentration bestimmen.

Die Messung der Farbentwicklung erfolgte mit dem Photometer „FLUOstar Omega BMG Labtech“ mit entsprechender Geräte-Software. Dabei wird die Absorption von Licht einer definierten Wellenlänge, hier 450nm, durch die Probe gemessen. Die zu bestimmende Proteinkonzentration der Proben kann dann von der Standardkurve abgelesen werden.

Das Immunoassay-Kit hat folgende Bestandteile:

- eine 96-Well-Platte, an welcher der Antikörper „Anti-Human sAPP β -wild Type Rabbit IgG“ fixiert ist
- ein mit dem Enzym Meerrettichperoxidase gekoppelter Antikörper „Anti-Human APP (R101A4) Mouse IgG“
- das Standard-Protein „Recombinant human sAPP β -wild type protein“ zur Bestimmung der Standardkurve
- die EIA-Pufferlösung, bestehend aus 1% bovinem Serumalbumin und 0,05% Polysorbat20 in phosphatgepufferter Salzlösung
- Tetramethylbenzidin-Lösung als Chromogen
- H₂SO₄ zum Beenden der Substratreaktion und
- eine Waschlösung aus 0,05% Polysorbat20 in Phosphat-Puffer

Die Arbeitsschritte nach Angaben des Herstellers wurden wie folgt durchgeführt.

Zunächst wurde durch serielle Verdünnung eine Standardreihe angesetzt, bestehend aus dem Standardprotein und EIA-Puffer, mit den Konzentrationen 50 ng/ml, 25 ng/ml, 12,5 ng/ml, 6,25 ng/ml, 3,13 ng/ml, 1,56 ng/ml und 0,78 ng/ml. Zusätzlich wurde ein Test Sample Blank aus reinem EIA-Puffer durchgeführt. Die Plasmaproben wurden auf Raumtemperatur gebracht und im Verhältnis 1:7,5 mit EIA-Puffer verdünnt. Jeweils 100 μ l der verdünnten Plasmaproben, der Standardreihe und des Test Sample Blanks wurden auf eine Mikrotiterplatte mit dem darauf aufgebrauchten Antikörper gegeben und über Nacht bei 4°C inkubiert. Als Nächstes wurde die Platte mit der Waschlösung sieben Mal gewaschen. Nach Zugabe von je 100 μ l des mit EIA-Puffer verdünnten Enzym-gekoppelten Antikörpers folgte eine Inkubationszeit von 30 Minuten bei 4°C. Nach weiteren neun Waschschrritten wurden je 100 μ l Chromogen-

Material und Methoden

Lösung hinzugegeben und die Platte weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Zuletzt wurden 100µl H₂SO₄ als Stopp-Lösung hinzugefügt. Wie bereits oben beschrieben wurde die sAPPβ-Konzentration durch die Farbintensität mittels Photometer quantifiziert.

Um die Reliabilität der Messergebnisse zu sichern wurden neben den vom Hersteller vorgeschriebenen Blank- und Reinheitskontrollen zusätzliche Qualitätskontrollen durchgeführt.

Als Intraassay-Kontrolle wurden alle Proben in Duplikaten gemessen. Jeweils eine Probe pro Platte wurde zwei Mal als Duplikat an unterschiedlichen Positionen der Platte gemessen. Und je eine Probe wurde als Duplikat auf der darauffolgenden Platte mitbestimmt.

Als Interassay-Kontrolle wurde aus mehreren Plasmaproben mit sowohl unauffälligen als auch auffälligen Proben ein Plasma Pool erstellt. Um die Vergleichbarkeit der Platten zu gewährleisten wurde dieser auf jeder Platte gemessen. Spikeproben aus dem Standardprotein wurden einerseits rein, andererseits in einer 1:7,5-Mischung mit dem Plasma-Pool bestimmt. Dabei wurde eine ausreichende Wiederfindung dieses Spikes vorausgesetzt, um die Ergebnisse zu verifizieren.

Zur Bestimmung der Liquor-Demenzmarker Aβ₁₋₄₂, Gesamt-TAU und Phospho-TAU wurden Assays des Unternehmens Innogenetics verwendet. Für Aβ₁₋₄₂ wurden Werte > 643 ng/l des Kits „Innotest β-Amyloid₍₁₋₄₂₎“ Nr. 80324 als unauffällig gewertet. Selbes galt für Werte des Gesamt-TAUs < 252 ng/l des Kits „Innotest hTAU Ag“ Nr. 80323 und für Phospho-TAU < 60 ng/l des Kits „Innotest Phospho-TAU_(181P)“ Nr. 80317.

3.2.3.2 ApoE-Genotypisierung

Zur Bestimmung des ApoE-Genotyps muss zunächst DNA aus Vollblut extrahiert werden. Anschließend wird der ApoE-Genabschnitt mittels PCR amplifiziert und nach Restriktion des PCR-Produktes und Auftrennung der Fragmente im elektrischen Feld das Bandenmuster einem Genotyp zugeordnet.

3.2.3.2.1 DNA-Extraktion aus Vollblut

Um die im Vollblut enthaltene DNA zu extrahieren wurden die Produkte des „Gentra Puregene Blood Kit“ von Qiagen verwendet.

Material und Methoden

Zunächst wurde EDTA-Blut mit RBC-Lysis Solution (Red Blood Cell Lysis Solution) versetzt, die Lösung mindestens 10 Minuten inkubiert und anschließend 5 Minuten bei 2000 x g zentrifugiert. Dabei kommt es zur Lyse der Erythrozyten und zum Austritt des Hämoglobins. Der Überstand wurde verworfen. Die sich im Zentrifugat befindenden mononukleären Zellen wurden mit Cell Lysis Solution ebenfalls lysiert, um die darin enthaltene DNA freizusetzen. Ammoniumacetat bindet als Protein Precipitation Solution die lysierten mononukleären Zellen, die durch Zentrifugation für 10 Minuten bei 2000 x g von der DNA getrennt wurden. Der Überstand mit der enthaltenen DNA wurde nun mit Isopropanolol versetzt und 3 Minuten zentrifugiert. Es bildet sich ein weißes Pellet aus DNA, welches nach Abgießen des Überstands und durch hinzufügen von 70%igem Ethanol gereinigt wurde. Nach Zentrifugation für 5 Minuten wurde der Überstand abgegossen und das verbleibende Pellet über Nacht getrocknet. Zuletzt wurde durch Zugabe von DNA Hydration Solution die DNA bei Raumtemperatur über Nacht rekonstituiert.

3.2.3.2 Polymerase-Kettenreaktion

Um den ApoE-Genotyp aus der DNA bestimmen zu können musste zunächst der relevante Gen-Abschnitt mittels einer Polymerase-Kettenreaktion amplifiziert werden. Diese Methode wurde von Kary Mullis 1983 entwickelt.

Die DNA wurde in einer 1:50-Verdünnung mit einem Gemisch aus Desoxyribonukleosid-Triphosphaten (Epicentre Biotechnologies), Primern (durch individuelle Kundensynthese von Invitrogen), welche eine Synthese in 5'-3'- und 3'-5'-Richtung ermöglichen, und einem DNA-Polymerase-Gemisch (Epicentre Biotechnologies) versetzt.

Die folgenden Schritte fanden in einem Thermocycler (Applied Biosystems) statt:

- Denaturierung: bei 94 °C kommt es zur Spaltung der DNA in zwei Einzelstränge
- Annealing: nach Abkühlung auf 55°C binden die Primer an die dafür vorgesehenen DNA-Abschnitte
- DNA-Synthese: bei 72°C synthetisiert die DNA-Polymerase ausgehend von den Primern aus den Desoxyribonukleosid-Triphosphaten einen komplementären DNA-Strang

Das PCR-Produkt ist im Fall der ApoE-Genotypisierung 218 Basenpaare lang. Durch 35-maliges Wiederholen der drei Temperaturzyklen wurde der gewünschte DNA-Abschnitt exponentiell vervielfältigt.

3.2.3.2.3 Restriktion des PCR-Produkts und Bestimmung des Genotyps nach Bandenmuster

Im nächsten Schritt wurde der amplifizierte DNA-Abschnitt in zwei getrennten Ansätzen mit zwei verschiedenen Restriktionsendonukleasen versetzt. Jedes der Enzyme schneidet die DNA an einer spezifischen Stelle. So entstehen je nach Restriktionsenzym und Genotyp unterschiedlich lange DNA-Abschnitte. Es wurde nach der Methode von Chapman et al. (1996) vorgegangen.

Der Restriktionsansatz bestand zum einen aus HaeII, zum anderen aus AflIII, welche mit NEB-Puffer (beides von New England BioLabs Inc.) und bovinem Serumalbumin versetzt wurden. Dieser wurde über Nacht bei 37°C im Thermocycler (Primus 96 Plus, MWG-Biotech AG) inkubiert.

Die beiden Restriktionsansätze wurden nun nebeneinander auf einem 4% Mosiv 500 Agarosegel aufgetragen und bei 110 Volt für 1,5 Stunden aufgetrennt.

Dieses Gel wurde aus 500ml TBE-Puffer und 20g Mosiv-Agarose (peqlab) hergestellt. Als DNA-interkalierender Farbstoff wurden 50µl GelRed-Lösung (Genaxxon Bioscience) verwendet.

Die Laufweite des Restriktionsprodukts im Agarosegel ist durch unterschiedliche Ladungseigenschaften, Gewicht und Länge Genotypen-spezifisch. Die Zuordnung der DNA-Banden erfolgte mittels DNA-Längenmarker von BioRad (100 bp PCR).

Tabelle 3-1 zeigt die jeweilige Anzahl der Basenpaare nach dem Zusatz der Restriktionsendonukleasen. Unter Beachtung beider Enzyme weist jeder Genotyp eine spezifische Kombination von DNA-Fragmenten auf.

Tabelle 3-1: Zuordnung der Bandenmuster zum Genotyp nach Restriktionsanalyse

ApoE - Genotyp	Afl III	Hae II
$\epsilon 2 / \epsilon 2$	168 + 50	218
$\epsilon 3 / \epsilon 3$	168 + 50	195 (+23)
$\epsilon 4 / \epsilon 4$	218	195 (+23)
$\epsilon 2 / \epsilon 3$	168 + 50	218 + 195 (+23)
$\epsilon 2 / \epsilon 4$	218 + 168 + 50	218 + 195 (+23)
$\epsilon 3 / \epsilon 4$	218 + 168 + 50	195 (+23)

3.2.4 Statistische Datenanalyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM SPSS Statistics 20. Ergebnisse mit p-Werten $< 0,05$ wurden als statistisch signifikant gewertet.

Die Variable ApoE-Genotyp wurde bezüglich des Vorkommens eines $\epsilon 4$ -Allels dichotomisiert.

Die Normalverteilung der Variablen wurde mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests überprüft.

Je nach Verteilung wurde zur Prüfung eines signifikanten Unterschiedes der biologischen und demographischen Variablen zwischen den jeweiligen Patientengruppen der Mann-Whitney-U-Test, der t-Test für unabhängige Stichproben, eine Varianzanalyse (ANOVA), beziehungsweise der Kruskal-Wallis-Test bei intervallskalierten Variablen angewandt. Bei nominalskalierten Variablen wurde der χ^2 -Test nach Pearson verwendet.

Mittels linearer Regressionsanalysen durch schrittweise Selektion bzw. Rückwärtsselektion wurden die Einflüsse der erhobenen Kovariablen auf die sAPP β -Konzentration überprüft. Hierfür wurden die sAPP β -Werte logarithmisch transformiert um eine Normalverteilung der Daten zu erreichen. Davor wurde aufgrund von 0-Werten zu den Werten der Variablen sAPP β die Zahl 1 addiert.

Um eine bessere Vergleichbarkeit des Regressionskoeffizienten B innerhalb einer Studie gewährleisten zu können, wurden die gewonnenen Werte im Anschluss auf eine lineare Skala rücktransformiert (10^B).

4 Ergebnisse

4.1 Die PET-Studie: sAPP β als diagnostischer Biomarker der Alzheimer-Krankheit im Stadium der leichten kognitiven Störung

In dieser Studie wurden drei Gruppen unterschieden (siehe Abbildung 3-1): die Gruppe KKS, bestehend aus Patienten ohne subjektive Gedächtnisstörungen, ohne neuropsychiatrische Erkrankungen und mit einem unauffälligen Liquorbefund; die Gruppe LKS-FDGpos, dessen Patienten neben einer leichten kognitiven Störung einen für die Alzheimer-Krankheit typischen FDG-PET-Befund vorwiesen, sodass nach den aktuellen Leitlinien der NIA-AA (Albert et al., 2011) die Diagnose „Leichte kognitive Störung durch AK – mittlere Wahrscheinlichkeit“ gestellt werden konnte; und die Gruppe AD, dessen Patienten bereits an einer diagnostizierten „wahrscheinlichen Alzheimer-Demenz - mittlere Wahrscheinlichkeit“ litten, ebenfalls mit positivem FDG-PET-Befund. Im Fokus der Untersuchung stand neben weiteren Merkmalen wie Alter, Geschlecht, Ausbildungsdauer, ApoE ϵ 4-Träger und MMSE-Score die sAPP β -Konzentration im Blutplasma als diagnostischer Biomarker. Tabelle 4-1 zeigt einen Überblick über das Kollektiv.

Ergebnisse

Tabelle 4-1: Erhobene Daten der PET-Studie mit Mittelwert und Standardabweichung

* signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen KKS und LKS-FDGpos ($p = 0,024$) und zwischen den Gruppen LKS-FDGpos und AD ($p = 0,028$)

** signifikanter Unterschied zwischen allen Gruppen ($p < 0,001$)

*** signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen KKS und LKS-FDGpos ($p = 0,016$) und zwischen den Gruppen KKS und AD ($p < 0,001$)

	KKS	LKS-FDGpos	AD
Anzahl	24	21	43
Alter, Jahre	65,46 (8,54)	70,57 (7,64)	68,91 (9,12)
Geschlecht, m:w	17:7	9:12	21:22
Ausbildungsdauer, Jahre *	14,68 (4,48)	12,00 (3,00)	13,90 (3,57)
ApoEε4-Träger, pos:neg	10:14	12:9	22:21
MMSE-Score **	29,36 (0,79)	26,38 (2,27)	21,15 (5,22)
sAPPβ, ng/ml ***	6,05 (6,18)	2,53 (2,54)	2,06 (2,52)

4.1.1 Unterschiede zwischen den Gruppen

Im Vergleich konnten keine signifikanten Unterschiede der Variablen Alter ($p = 0,125$), Geschlecht ($\chi^2 = 4,229$, $p = 0,121$) und ApoEε4-Träger ($\chi^2 = 1,118$, $p = 0,572$) zwischen den drei Gruppen festgestellt werden.

Jedoch ergab sich ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die Ausbildungsdauer. Die Gruppe KKS wies 2,68 Bildungsjahre mehr vor als die Gruppe LKS-FDGpos ($p = 0,024$). Bei den Patienten der Gruppe AD dauerte die Ausbildung durchschnittlich 1,90 Jahre länger als bei den Patienten der Gruppe LKS-FDGpos ($p = 0,028$). Zwischen den Gruppen KKS und AD ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Ausbildungsdauer ($p = 0,886$).

Ergebnisse

Bezüglich der MMSE-Ergebnisse erreichten, wie erwartet, die Gruppen LKS-FDGpos und AD signifikant niedrigere Werte als die Gruppe KKS ($\chi^2 = 54,064$, KKS/LKS-FDGpos: $p < 0,001$, KKS/AD: $p < 0,001$, LKS-FDGpos/AD: $p < 0,001$). Bildlich dargestellt werden die Unterschiede in Abbildung 4-1. Die Patienten der Gruppe LKS-FDGpos erzielten in dem Gedächtnistest im Vergleich zur Gruppe ohne kognitive Störungen im Schnitt 2,98 Punkte weniger. Die Gruppe AD mit an Demenz bei Alzheimer-Krankheit leidenden Patienten erreichte 8,21 Punkte weniger als die Gruppe KKS und 5,23 Punkte weniger als die Gruppe LKS-FDGpos.

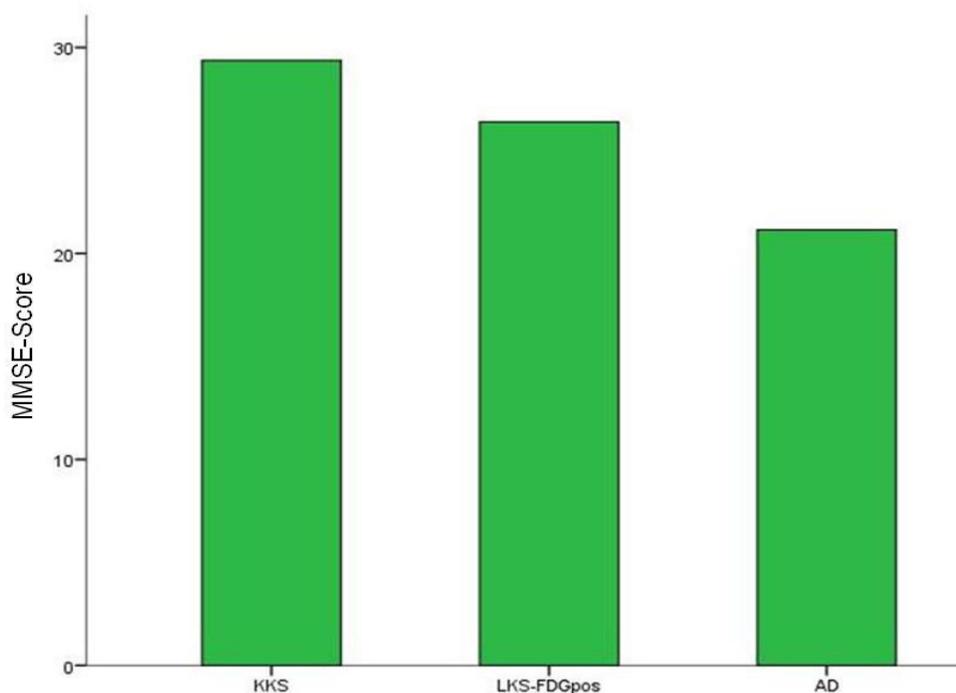


Abbildung 4-1: Balken-Diagramm der MMSE-Ergebnisse im Gruppenvergleich

Wie Abbildung 4-2 zeigt, konnten im Vergleich zur Gruppe KKS bezüglich der sAPP β -Werte signifikant niedrigere Konzentrationen in den Gruppen LKS-FDGpos ($p = 0,016$) und AD ($p < 0,001$) nachgewiesen werden ($\chi^2 = 13,678$). Im Mittelwertvergleich waren die sAPP β -Konzentrationen der Gruppe LKS-FDGpos um 3,52 ng/ml und die der Gruppe AD um 3,99 ng/ml niedriger als die Konzentration der gesunden Gruppe. Der Unterschied der Gruppen LKS-FDGpos und AD war mit 0,53 ng/ml jedoch nicht signifikant ($p = 0,673$).

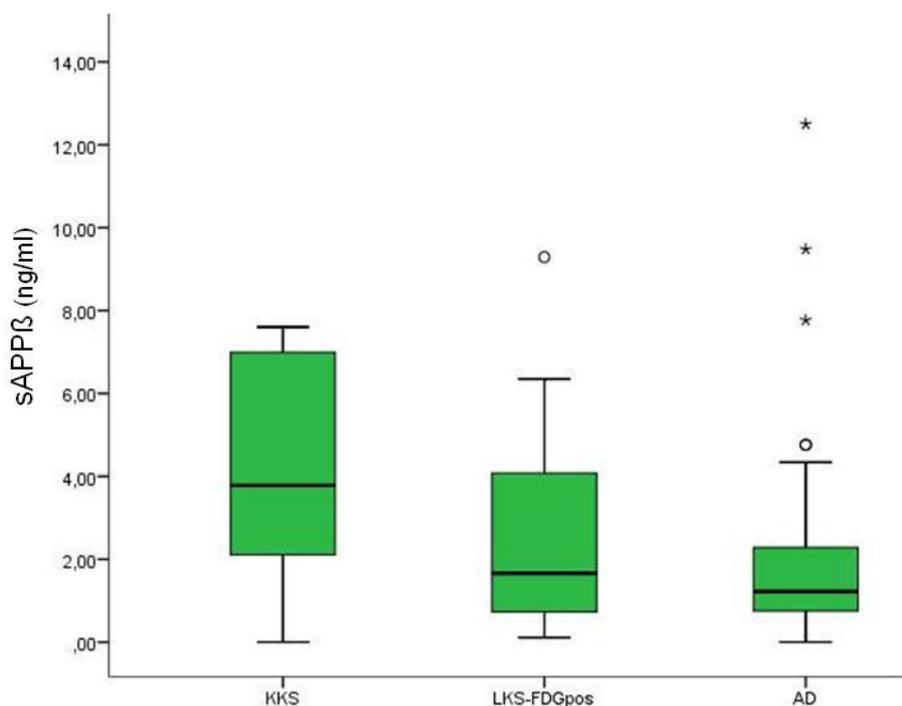


Abbildung 4-2: Boxplot-Diagramm der sAPPβ-Konzentration im Plasma

4.1.2 Einfluss der zusätzlich erhobenen Merkmale auf die sAPPβ-Konzentration

Im Folgenden wurde mittels schrittweiser Selektionsmethode eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Als abhängige Variable wurden, aufgrund der fehlenden Normalverteilung, die logarithmisch transformierten Werte der sAPPβ-Konzentration eingefügt. Die Merkmale Geschlecht, Ausbildungsdauer, ApoEε4-Träger, Alter und die Diagnosegruppen (KKS, LKS-FDGpos, AD) wurden als unabhängige Variablen eingesetzt.

Dabei konnte ein Einfluss des Geschlechts ($p = 0,445$), des Alters ($p = 0,124$) und des ApoEε4-Trägers ($p = 0,437$) ausgeschlossen werden. Insbesondere die Ausbildungsdauer, welche zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede aufwies, hatte keinen Einfluss auf die sAPPβ-Konzentration im Plasma ($p = 0,846$).

Allein die Diagnosegruppen KKS, LKS-FDGpos und AD hatten einen signifikanten Einfluss auf die sAPPβ-Konzentration ($p = 0,002$). In Bezug auf die gesunde Kontrollgruppe konnte der Gruppe LKS-FDGpos eine signifikant niedrigere sAPPβ-Konzentration im Plasma nachgewiesen werden ($B = -0,255$; $p = 0,007$). Nach Rück-

transformation der logarithmischen Variablen auf eine lineare Skala ergab sich der Faktor 0,556 als Ausdruck einer etwa halb so hohen sAPP β -Konzentration der Gruppe LKS-FDGpos im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe. Ähnlich verhielt es sich mit der Gruppe AD. Bezüglich der Gruppe KKS ergaben sich signifikant niedrigere Konzentrationen ($B = -0,292$; $p = 0,001$), ebenfalls mit einer Halbierung der sAPP β -Werte nach Rücktransformation (Faktor 0,511). Der Vergleich der beiden Regressionskoeffizienten B zeigt einen ähnlich starken Einfluss beider Diagnosen auf die sAPP β -Konzentration.

4.2 Die FOLLOWUP-Studie: sAPP β als prognostischer Biomarker der Alzheimer-Krankheit

In der FOLLOWUP-Studie wurde das Kollektiv, bestehend aus Patienten, die an einer leichten kognitiven Störung bei vermuteter Alzheimer-Pathogenese litten (siehe Abbildung 3-2), nach der Nachuntersuchung in zwei Gruppen unterteilt: die Gruppe der nicht-progredienten Fälle, im Sinne eines langsamen Krankheitsverlaufs, hier als MCI-nonProg bezeichnet, und die Gruppe MCI-Prog, deren Patienten im Rahmen der Nachuntersuchung von einer leichten kognitiven Störung zu einer „wahrscheinlichen Alzheimer-Demenz“ (McKhann et al., 2011) fortgeschritten sind. Im Fokus der Untersuchung stand erneut die sAPP β -Konzentration im Blutplasma, dieses Mal jedoch als prognostischer Biomarker. Untersucht werden sollte, ob sAPP β zum Zeitpunkt der Diagnose einer leichten kognitiven Störung bei vermuteter Alzheimer-Pathologie eine Auskunft über das Ausmaß der zukünftigen Progression geben kann. Zusätzlich wurden erneut weitere Merkmale wie Alter, Geschlecht, Ausbildungsdauer, ApoE ϵ 4-Trägers und MMSE-Scores berücksichtigt. Tabelle 4-2 gibt einen Überblick über das Kollektiv.

Ergebnisse

Tabelle 4-2: Erhobene Daten der FOLLOWUP-Studie mit Mittelwert und Standardabweichung

* signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p < 0,001$)

** signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,005$)

*** signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,002$)

**** signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p < 0,001$)

***** signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p < 0,001$)

	MCI-nonProg	MCI-Prog
Anzahl	49	20
Alter, Jahre *	65,16 (10,34)	71,65 (4,25)
Geschlecht, m:w	22:27	6:14
Ausbildungsdauer, Jahre	12,55 (2,48)	12,11 (3,57)
ApoE ϵ 4-Träger, pos:neg **	14:35	13:7
MMSE-Score der 1. Untersuchung ***	27,92 (1,51)	26,05 (2,52)
MMSE-Score der 2. Untersuchung ****	27,67 (1,25)	23,86 (2,66)
Differenz der MMSE-Scores *****	0,33 (1,52)	2,71 (2,76)
Zeit zwischen den Untersuchungen, Monate	22,63 (4,18)	23,80 (3,80)
sAPP β , ng/ml	3,86 (3,97)	3,80 (4,14)

4.2.1 Unterschiede zwischen den beiden Gruppen

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Geschlechterverteilung ($\chi^2 = 1,307$, $p = 0,253$), der Dauer der Ausbildung ($p = 0,249$) und dem Zeitraum zwischen den Untersuchungen ($p = 0,352$) festgestellt werden.

Das mittlere Alter unterschied sich zwischen beiden Gruppen signifikant ($p < 0,001$), wobei die Gruppe MCI-nonProg im Mittelwerte-Vergleich 6,49 Jahre jünger war.

Ergebnisse

Bezüglich der ApoE ϵ 4-Träger konnte ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen festgestellt werden ($\chi^2 = 7,913$, $p = 0,005$). In Abbildung 4-3 wird graphisch verdeutlicht, dass der Anteil ApoE ϵ 4-negativer Patienten in der Gruppe MCI-nonProg im Verhältnis deutlich höher ist als der der ApoE ϵ 4-positiven Patienten. Umgekehrt verhält es sich in der Gruppe MCI-Prog.

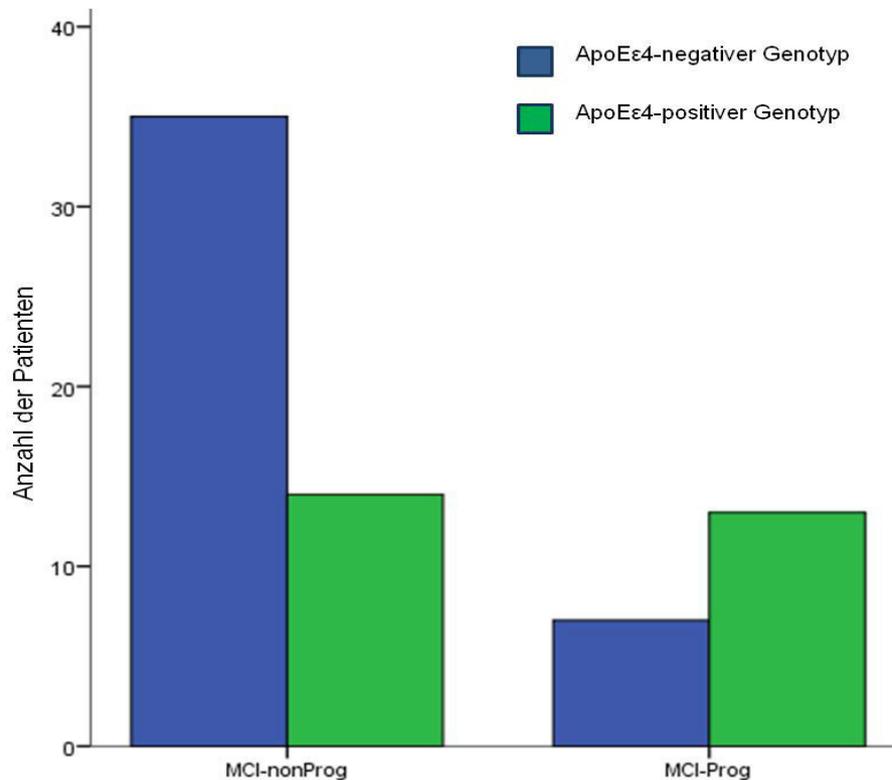


Abbildung 4-3: Balkendiagramm über die Verteilung der ApoE ϵ 4-Träger

Wie Abbildung 4-4 verdeutlicht, zeigten sich auch in den MMSE-Ergebnissen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. In der 1. Untersuchung erzielten die Patienten der Gruppe MCI-Prog im Mittel 1,62 Punkte weniger als die Gruppe MCI-nonProg ($p = 0,002$). In der Nachuntersuchung waren die mittlerweile an einer Demenz leidenden Patienten im Mittel 3,81 Punkte schlechter ($p < 0,001$). Zwar scheint die Abnahme von nur 2,19 MMSE-Punkten in der Gruppe MCI-Prog nach durchschnittlich 22,96 Monaten ($SD = 4,08$) relativ gering, sie ist jedoch im Vergleich zur Gruppe MCI-nonProg statistisch signifikant ($p < 0,001$).

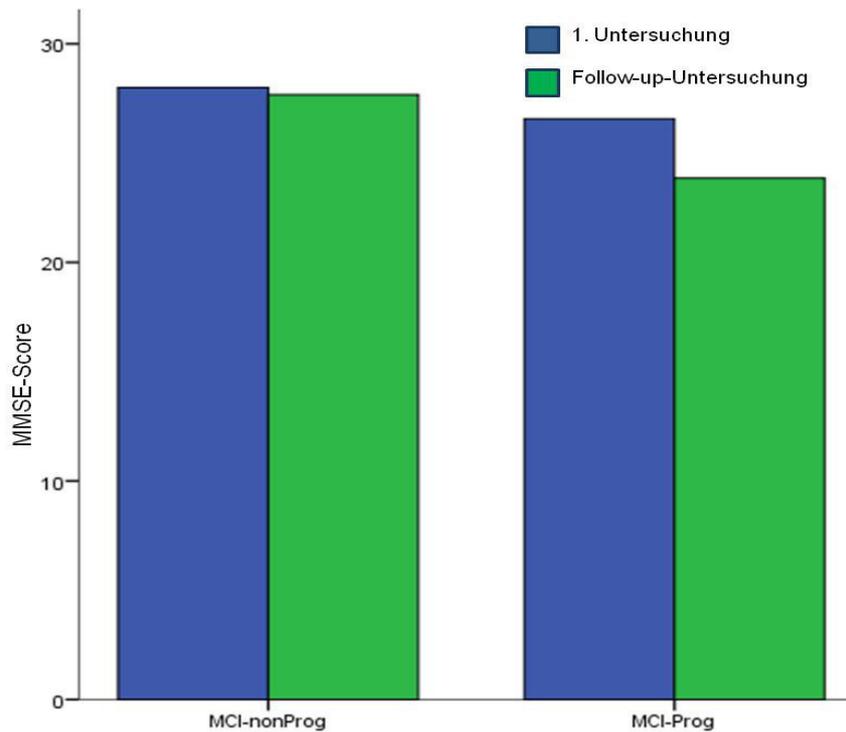


Abbildung 4-4: Balkendiagramm über die Entwicklung der MMSE-Ergebnisse von der 1. zur 2. Untersuchung

Bezüglich des sAPP β -Wertes im Plasma konnte zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p = 0,579$). Lediglich um 0,06 ng/ml war der Mittelwert der sAPP β -Konzentration der Gruppe MCI-Prog niedriger als der der Gruppe MCI-nonProg. Abbildung 4-5 verdeutlicht den Vergleich zwischen den beiden Gruppen.

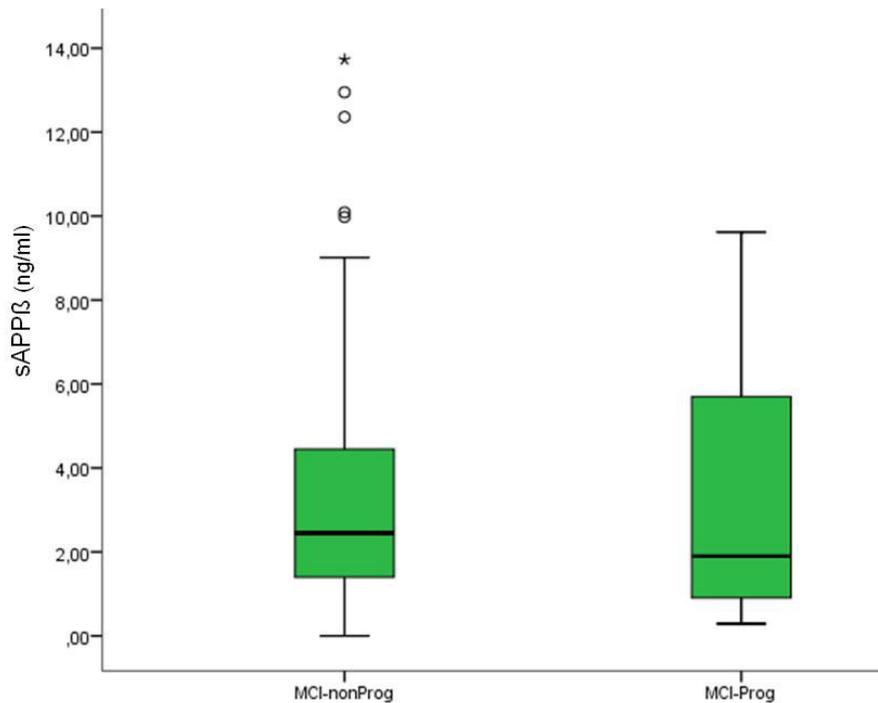


Abbildung 4-5: Boxplot-Diagramm der sAPPβ-Konzentration im Plasma

4.2.2 Einfluss der zusätzlich erhobenen Merkmale auf die sAPPβ-Konzentration

Als nächstes wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt, wobei auch hier aufgrund der beliebigen Verteilung die sAPPβ-Konzentration zunächst logarithmisch transformiert wurde, bevor sie als abhängige Variable eingesetzt wurde.

Als unabhängige Variable wurden die Merkmale Alter, Geschlecht, Ausbildungsdauer, ApoEε4-Träger und die Diagnosegruppen (MCI-Prog vs. MCI-nonProg) geprüft.

Es konnte kein Einfluss der Variablen auf die sAPPβ-Konzentration nachgewiesen werden. Dies wird in Tabelle 4-3 nach der Regressionsanalyse mittels Rückwärtsselektion deutlich:

Ergebnisse

Tabelle 4-3: p-Werte der einzelnen Modelle in der linearen Regressionsanalyse mittels Rückwärtsselektion

Modell	Variablen	p-Werte
1	Alter	0,394
	Geschlecht	0,855
	Ausbildungsjahre	0,902
	ApoEε4-Träger	0,303
	Diagnosegruppe	0,959
2	Alter	0,364
	Geschlecht	0,859
	Ausbildungsjahre	0,903
	ApoEε4-Träger	0,268
3	Alter	0,363
	Geschlecht	0,823
	ApoEε4-Träger	0,254
4	Alter	0,362
	ApoEε4-Träger	0,246
5	ApoEε4-Träger	0,194

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Wegen des Wunsches nach nicht-invasiver und kostengünstiger Diagnostik für die Alzheimer-Krankheit ist eine Fokussierung der Forschung auf Biomarker im Blut naheliegend. In der vorliegenden Arbeit wurde sAPP β im Blutplasma untersucht. Dabei standen sowohl seine diagnostischen als auch seine prognostischen Eigenschaften im Vordergrund.

In der PET-Studie wurde sAPP β als diagnostischer Biomarker untersucht, indem die sAPP β -Konzentration zwischen drei Gruppen verglichen wurde: einer kognitiv gesunden Kontrollgruppe (Gruppe KKS), einer an einer leichten kognitiven Störung leidenden Gruppe mit Alzheimer-typischem FDG-PET-Befund (Gruppe LKS-FDGpos) und einer an Alzheimer-Demenz leidenden Gruppe, ebenfalls mit entsprechendem positivem FDG-PET-Befund (Gruppe AD). Im Vergleich zur Kontrollgruppe konnte eine signifikant niedrigere, etwa halb so hohe sAPP β -Konzentration bei den Gruppen mit Alzheimer-Pathologie, also in den Gruppen LKS-FDGpos und AD festgestellt werden.

Als prognostischer Biomarker wurde sAPP β in der FOLLOWUP-Studie beurteilt. Ein Kollektiv aus LKS-Patienten bei vermuteter Alzheimer-Pathologie wurde nachuntersucht und in ihrer Progredienz beurteilt. Es wurde unterschieden zwischen der Gruppe MCI-Prog, dessen Patienten im Rahmen der Nachuntersuchung eine „wahrscheinliche Alzheimer-Demenz“ (McKhann et al., 2011) entwickelten und daher als progredient eingestuft wurden, und der Gruppe MCI-nonProg, dessen Patienten weiterhin an einer leichten kognitiven Störung litten und sich daher bei klinisch vermuteter Alzheimer-Pathologie nicht progredient zeigten. Zwischen den Gruppen ergaben sich bezüglich der sAPP β -Konzentration keine signifikanten Unterschiede.

5.2 Diskussion der Methoden

In der PET-Studie erfolgte die Gruppeneinteilung wie von der NIA-AA (Albert et al., 2011; McKhann et al., 2011) empfohlen mit Hilfe von Biomarkern des neuronalen Untergangs, nämlich Liquor- und FDG-PET-Befunden. Biomarker zum Nachweis

Diskussion

einer Amyloid- β -Akkumulation lagen nicht vor. Die Diagnose „LKS bei Alzheimer-Krankheit“ konnte daher mit einer mittleren Wahrscheinlichkeit gestellt werden. Die Gruppe AD wurde mit einer „wahrscheinlichen Alzheimer-Demenz mittlerer Wahrscheinlichkeit“ diagnostiziert.

In der FOLLOWUP-Studie wurden die Diagnosen im Allgemeinen ohne Einbeziehung von Biomarkern gestellt. Nur in manchen Fällen erfolgte ein FDG-PET im Rahmen der Erstvorstellung in der Gedächtnisambulanz der TU München. Bei der Diagnosestellung wurden jedoch neben ausführlicher Anamnese und neuropsychologischer Testung die Bildgebung (MRT, CT, teils FDG-PET) berücksichtigt, sowie der Befund der Verlaufsuntersuchung. Damit konnten Differentialdiagnosen ausgeschlossen werden. Die Diagnose LKS des Ausgangskollektivs mit vermuteter Alzheimer-Pathologie fußt daher laut Albert et al. (2011) lediglich auf klinischen Kernkriterien.

Zu bedenken ist desweiteren, dass die Blutproben beider Studien, mit Ausnahme derer der Gruppe KKS, in der Gedächtnisambulanz der TU München entnommen wurden. Daher muss angenommen werden, dass die Präanalytik nicht immer optimal verlief. Eine längere Lagerung einiger Vollblutproben bei Raumtemperatur scheint in diesem Rahmen wahrscheinlich. Durch eine verzögerte Weiterverarbeitung kann es jedoch zu falsch-hohen sAPP β -Konzentrationen kommen (Werle, 2015). Gegen einen allzu großen Einfluss der Qualität der Präanalytik scheint jedoch die Tatsache zu sprechen, dass in der PET-Studie trotz längerer Liegezeit die Proben der beiden pathologischen Gruppen LKS-FGDpos und AD immer noch signifikant niedriger sind als die der KKS-Gruppe, welche ohne Verzögerung verarbeitet wurde. Auch die Mittelwerte der FOLLOWUP-Studie sind im Vergleich zur KKS-Gruppe niedriger.

Im Hinblick auf die Entwicklung der MMSE-Ergebnisse in der FOLLOWUP-Studie fällt der geringe Abfall in der progredienten Gruppe bei der Nachuntersuchung auf. Der Unterschied beträgt nach durchschnittlich 23 Monaten lediglich 2,2 Punkte. Diese Tatsache kann für einen zu kurzen Nachverfolgungszeitraum sprechen. Im Hinblick auf das Ergebnis von 24 Punkten in der Nachuntersuchung der progredienten Gruppe scheint die Diagnose Demenz jedoch korrekt zu sein. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Differenzen zwischen den beiden MMSE-Untersuchungen zwischen den Gruppen statistisch signifikant unterschiedlich sind.

Studienübergreifend ist die Leistung des Immunoassays zu bewerten. Im Blick auf die jeweiligen Standardabweichungen, fällt die starke Variabilität der Messwerte auf.

Alle sAPP β -Konzentrationen bewegen sich am unteren Rand des ELISA-Messbereiches. Nach Angaben des Herstellers erfolgte eine Verdünnung des Plasmas zur Reduktion des Matrixeffektes, wobei darauf hingewiesen wurde, dass dies eine zu geringe Wiedererkennung der Proteinkonzentration bedingen kann (IBL international, o.J.). Das Problem der zu geringen Konzentration von sAPP β im Blutplasma, welches bereits von Henriksen et al. (2014) angesprochen wurde, ist daher bei weiteren Studien zu berücksichtigen. Eine Interferenz mit sAPP α schließt der Hersteller mit einem Anteil von 1,41 % nahezu aus.

Zuletzt müssen weitere generelle Einschränkungen der Arbeit erwähnt werden. Diese beinhalten die Rekrutierung der Patienten in einer spezialisierten Gedächtnisambulanz, der geringe Stichprobenumfang und die fehlende histopathologische Verifizierung der AD-Patienten.

5.3 Die PET-Studie

Die erniedrigten sAPP β -Konzentrationen der Alzheimer-pathologischen Gruppen im Gegensatz zur KKS-Gruppe liefern ein Argument für die Annahme von Pernecky et al. (2013), dass es im Rahmen der Alzheimer-Krankheit zu einer Reduktion der sAPP β -Werte kommt, und gegen die Theorie von Wu et al. (2012), die von erhöhten sAPP β -Werten ausgehen.

Die sAPP β -Werte unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen LKS-FGDpos und AD. In der Regressionsanalyse konnte außerdem ein gleich großer Regressionskoeffizient B beider Gruppen bestimmt werden. Beide Argumente können als Hinweis dafür interpretiert werden, dass bereits im Stadium der leichten kognitiven Störung sAPP β ähnlich aussagekräftig ist wie im dementiellen Stadium.

Die vorliegende Studie gibt damit Anhalt dafür, dass sAPP β im Blutplasma als diagnostischer Biomarker der Alzheimer-Krankheit fungieren kann.

Zwischen den Gruppen konnten signifikante Unterschiede in der Ausbildungsdauer und dem MMSE-Ergebnis festgestellt werden. Im Rahmen der Regressionsanalyse konnte jedoch ein Einfluss der Ausbildungsdauer auf die Protein-Konzentration ausgeschlossen werden. Die signifikanten Unterschiede der MMSE-Ergebnisse zwischen den drei Gruppen belegen die Richtigkeit der Diagnosestellung.

Eine zufriedenstellende Erklärung, warum es zu einer Reduktion der sAPP β -Konzentration im Plasma im Rahmen der Alzheimer-Krankheit kommt, gibt es noch nicht. Erkenntnisse von Wu et al. (2011) stützen die Beobachtung jedoch, indem sie von einer erniedrigten sAPP β -Konzentration in Gehirnen von Alzheimer-Patienten berichten.

Eine entscheidende Rolle scheint auch die Blut-Hirn-Schranke zu spielen. Mawuenyega et al. (2010) berichten zum Beispiel von einer gestörten Amyloid- β -Clearance im Gehirn von Alzheimer-Patienten. Ob davon auch sAPP β betroffen ist, ist jedoch noch nicht bekannt. Andererseits kommt es durch die geschädigte Blut-Hirn-Schranke zu einer verstärkten Permeabilität selbiger (Zipser et al., 2007). Dies würde eher für einen Anstieg von Hirn-stämmigen Proteinen im Blut sprechen.

Ungewiss ist auch die Rolle von Alzheimer-typischen Proteinen in Blutzellen. Einige Studien berichten von erhöhten Konzentrationen des Amyloidvorläuferproteins und sAPP β in Thrombozyten und mononukleären Zellen bei Alzheimer-Patienten (Vignini et al., 2011; Jiang et al., 2003; Marksteiner und Humpel, 2013). Auf den ersten Blick widerspricht dies den Ergebnissen im Blutplasma. In welchem Verhältnis die Proteinkonzentrationen in Blutzellen zu denen im zellfreien Plasma stehen ist jedoch noch vollkommen unklar.

5.4 Die FOLLOWUP-Studie

In der FOLLOWUP-Studie konnte zwischen der progredienten und der nicht progredienten Gruppe kein signifikanter Unterschied in der sAPP β -Konzentration festgestellt werden. Als prognostischer Biomarker, welcher bei Patienten mit einer leichten kognitiven Störung bei klinisch vermuteter Alzheimer-Pathogenese Auskunft über das Ausmaß der Progression gibt, scheint er damit nicht zu fungieren.

Weitere Studien zum Vergleich der Resultate liegen zum aktuellen Zeitpunkt (Auswertung 7/2016) nicht vor.

Protective Faktoren können als Grund für die fehlende Aussagekraft über den Krankheitsverlauf durch sAPP β vermutet werden. Die kognitive Reserve, das Hirnvolumen, Ernährungsgewohnheiten und körperliche Aktivität scheinen unter anderem einen Einfluss auf den klinischen Verlauf der Erkrankung und dessen klinische Prä-

sensation der vorliegenden Pathologie zu haben (Stern, 2012, Weuve et al., o.J.). Diese Faktoren wurden in der Studie jedoch nicht erfasst.

Lediglich die Ausbildungsdauer kann als ein Baustein der kognitiven Reserve gewertet werden. Diesbezüglich gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Die fehlende Signifikanz allein kann jedoch nicht als Argument gegen den Einfluss der kognitiven Reserve auf die Progredienz gewertet werden, da weitere Faktoren, wie beruflicher Erfolg oder Freizeitaktivitäten (Stern, 2012) nicht berücksichtigt wurden.

Für eine prognostische Eigenschaft von sAPP β sprechen jedoch Studien, die eine erhöhte Amyloid-Belastung im Gehirn mit einem stärkeren kognitiven Verfall korrelieren (Näslund et al., 2000; Mufson et al., 1999). Auch diese Annahme ist jedoch umstritten, da Giannakopoulos et al. (2003) einen prädiktiven Wert der Amyloid-Belastung auf kognitive Symptome bestreiten.

Zuletzt ergab sich zwischen den Gruppen ein signifikanter Unterschied der Variablen Alter und ApoE ϵ 4-Träger, wobei ein Einfluss dieses Unterschiedes auf den Proteinwert in der Regressionsanalyse ausgeschlossen werden konnte. In Abbildung 4-3 wird ersichtlich, dass sich in der nicht progredienten Gruppe signifikant mehr Patienten ohne ApoE ϵ 4-Allel befinden, während das ApoE ϵ 4-Allel häufiger in der progredienten Gruppe vorkommt. Das kann als Hinweis darauf gewertet werden, dass dieser Genotyp nicht nur die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Alzheimer-Demenz um ein vielfaches erhöht, sondern auch durch die komplexe Wirkungsweise (Bu, 2009) den Krankheitsverlauf beeinflusst.

5.5 Schlussfolgerung mit Ausblick

In Zusammenschau der Ergebnisse lässt sich sAPP β im Plasma als vielversprechender diagnostischer Biomarker bewerten, nicht jedoch als prognostischer Biomarker.

Zur weiteren Prüfung sollte daher nach den in Abschnitt 2.2.1 erwähnten Merkmalen des idealen Biomarkers der Alzheimer-Krankheit in weiteren Studien sAPP β in seiner Reliabilität geprüft werden, durch histopathologisch bestätigte Alzheimer-Fälle validiert werden und dessen Treffsicherheit in der Unterscheidung zwischen gesunden und kranken Individuen bestimmt werden. Die weiteren Forderungen, dass es sich

Diskussion

um ein eindeutiges Merkmal der Alzheimer-Pathologie handelt und dass der Biomarker nicht-invasiv, einfach in der Durchführung und kostengünstig ist, sind bereits gegeben.

Im Rahmen der Interpretation der Ergebnisse müssen jedoch auch die vielen weiterhin bestehenden unbekannteten Einflüsse auf die sAPP β -Konzentration im Blut beachtet werden, die in Abschnitt 2.2.1.2 bereits beschrieben wurden. Dazu gehören der Einfluss von Komorbiditäten und Medikamenten, der unbekanntete Anteil von sAPP β , welches im Blut an Plasmaproteine gebunden ist, die Verstoffwechslung im Blut und in Organen, der Einfluss extrazerebraler sAPP β -Produktion auf die gemessenen Konzentrationen und die Schwankungen im Tagesverlauf durch Ernährung und Diurese (Henriksen et al., 2014). Nähere Erkenntnisse in dieser Hinsicht könnten eine bessere Interpretation ermöglichen, sowie der Vermeidung von Fehlerquellen in künftigen Studien dienen.

Von weiterem Interesse ist auch die Entwicklung der sAPP β -Konzentration im Verlauf der Alzheimer-Krankheit, sowie sAPP β als pharmakodynamischer Biomarker nach einer therapeutischen Intervention.

Vor allem im Hinblick auf die Entwicklung von Therapien, welche bereits in sehr frühen präklinischen Krankheitsphasen ansetzen, sind Studien in diesem Stadium von Interesse.

Eine notwendige Voraussetzung für die Durchführung weiterer Studien ist jedoch die Optimierung des Assays. Eine Reduktion der auffällig hohen Variabilität der Messwerte scheint für eine Verbesserung der Validität von zukünftigen Studien dringend nötig.

Trotz der vielen ungewissen Faktoren bleibt zu hoffen, dass sich sAPP β als diagnostischer Biomarker im Blut etabliert, um den Weg zu einer verbesserten kosten- und zeiteffektiven Alzheimer-Diagnostik zu ebnen und damit die derzeit angewandte Diagnostik in ihrer Treffsicherheit zu verbessern.

6 Literaturverzeichnis

Albert, M. S.; DeKosky, S. T.; Dickson, D.; Dubois, B.; Feldman, H. H.; Fox, N. C.; Gamst, A.; Holtzman, D. M.; Jagust, W. J.; Petersen, R. C.; Snyder, P. J.; Carrillo, M. C.; Thies, B.; 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. In: *Alzheimer's & Dementia* 7 (3), S. 270–279. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.008.

Alexopoulos, P.; Kurz, A.; Lewczuk, P.; Kornhuber, J.; Wiltfang, J.; Maier, W.; Förstl, H.; Pernecky, R. (2010): The sortilin-related receptor SORL1 and the amyloid cascade: a possible explanation for the concurrent elevation of CSF soluble APP α and APP β in Alzheimer's disease. In: *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 25 (5), S. 542–543. DOI: 10.1002/gps.2349.

Alexopoulos, P.; Pernecky, R.; Cramer, B.; Grimmer, T.; Kurz, A. (2006): Validierung eines kurzen telefonischen Tests (T3MS) für die Erkennung kognitiver Störungen. In: *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 74 (6), S. 329–336.

Alzheimer's Association (19.04.2011): New Criteria and Guidelines for the Diagnosis of Alzheimer's Disease published for the first time in 27 years. Chicago. Online verfügbar unter http://www.alz.org/documents_custom/Alz_Assoc_diag_criteria_guidelines_press_release_041911.pdf, zuletzt geprüft am 01.06.2016.

Anand, R.; Kaushal, A.; Wani, W. Y.; Gill, K. D. (2012): Road to Alzheimer's disease: the pathomechanism underlying. In: *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology* 79 (2), S. 55–71. DOI: 10.1159/000332218.

Ballard, C.; Gauthier, S.; Corbett, A.; Brayne, C.; Aarsland, D.; Jones, E. (2011): Alzheimer's disease. In: *The Lancet* 377 (9770), S. 1019–1031. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61349-9.

Ballard, C.; Howard, R. (2006): Neuroleptic drugs in dementia: benefits and harm. In: *Nat Rev Neurosci* 7 (6), S. 492–500. DOI: 10.1038/nrn1926.

Barger, S. W.; Harmon, A. D. (1997): Microglial activation by Alzheimer amyloid precursor protein and modulation by apolipoprotein E. In: *Nature* 388 (6645), S. 878–881. DOI: 10.1038/42257.

Baskin, F.; Rosenberg, R. N.; Iyer, L.; Hynan, L.; Cullum, C. M. (2000): Platelet APP isoform ratios correlate with declining cognition in AD. In: *Neurology* 54 (10), S. 1907–1909.

Bekris, L. M.; Yu, C.-E.; Bird, T. D.; Tsuang, D. W. (2010): Review Article: Genetics of Alzheimer Disease. In: *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology* 23 (4), S. 213–227. DOI: 10.1177/0891988710383571.

Literaturverzeichnis

Biomarkers Definitions Working Group (2001): Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. In: *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 69 (3), S. 89–95. DOI: 10.1067/mcp.2001.113989.

Blennow, K.; de Leon, M.; Zetterberg, H. (2006): Alzheimer's disease. In: *Lancet* (London, England) 368 (9533), S. 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. In: *Nature reviews. Neurology* 6 (3), S. 131–144. DOI: 10.1038/nrneurol.2010.4.

Brinkmalm, G.; Brinkmalm, A.; Bourgeois, P.; Persson, R.; Hansson, O.; Portelius, E.; Mercken, M.; Andreasson, U.; Parent, S.; Lipari, F.; Öhrfelt, A.; Bjerke, M.; Minthon, L.; Zetterberg, H.; Blennow, K.; Nutu, M. (2013): Soluble amyloid precursor protein α and β in CSF in Alzheimer's disease. In: *Brain Research* 1513, S. 117–126. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.03.019.

Bu, G. (2009): Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. In: *Nature reviews. Neuroscience* 10 (5), S. 333–344. DOI: 10.1038/nrn2620.

Bush, A. I.; Martins, R. N.; Rumble, B.; Moir, R.; Fuller, S.; Milward, E.; Currie, J.; Ames, D.; Weidemann, A.; Fischer, P. (1990): The amyloid precursor protein of Alzheimer's disease is released by human platelets. In: *The Journal of biological chemistry* 265 (26), S. 15977–15983.

Chapman, J.; Estupiñan, J.; Asherov, A.; Goldfarb, L. G. (1996): A simple and efficient method for apolipoprotein E genotype determination. In: *Neurology* 46 (5), S. 1484–1485.

Chasseigneaux, S.; Allinquant, B. (2012): Functions of A β , sAPP α and sAPP β . Similarities and differences. In: *Journal of Neurochemistry* 120, S. 99–108. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07584.x.

Chasseigneaux, S.; Dinc, L.; Rose, C.; Chabret, C.; Couplier, F.; Topilko, P.; Mauger, G.; Allinquant, B.; Deli, M. (2011): Secreted Amyloid Precursor Protein β and Secreted Amyloid Precursor Protein α Induce Axon Outgrowth In Vitro through Egr1 Signaling Pathway. In: *PLoS ONE* 6 (1), S. e16301. DOI: 10.1371/journal.pone.0016301.

Clark, C. M.; Pontecorvo, M. J.; Beach, T. G.; Bedell, B. J.; Coleman, R. E.; Doraiswamy, P. M.; Fleisher, A. S.; Reiman, E. M.; Sabbagh, M. N.; Sadowsky, C. H.; Schneider, J. A.; Arora, A.; Carpenter, A. P.; Flitter, M. L.; Joshi, A. D.; Krautkramer, M. J.; Lu, M.; Mintun, M. A.; Skovronsky, D. M. (2012): Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid- β plaques: a prospective cohort study. In: *The Lancet. Neurology* 11 (8), S. 669–678. DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70142-4.

Deuschl G, Maier W et al. (2016): S3-Leitlinie Demenzen. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Hg. v. Deutsche Gesellschaft für Neurologie. Online verfügbar unter www.dgn.org/leitlinien, zuletzt geprüft am 01.06.2016.

Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) (Hg.) (2015): Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme. 10. Revision German Modification Version 2016. Online verfügbar unter <https://www.dimdi.de/static/de/klassi/icd-10-gm/kodesuche/onlinefassungen/htmlgm2016/>, zuletzt geprüft am 01.06.2016.

Dougall, N. J.; Bruggink, S.; Ebmeier, K. P. (2004): Systematic review of the diagnostic accuracy of 99mTc-HMPAO-SPECT in dementia. In: *The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry* 12 (6), S. 554–570. DOI: 10.1176/appi.ajgp.12.6.554.

Dubois, B.; Feldman, H. H.; Jacova, C.; Hampel, H.; Molinuevo, J. L.; Blennow, K.; DeKosky, S. T.; Gauthier, S.; Selkoe, D.; Bateman, R.; Cappa, S.; Crutch, S.; Engelborghs, S.; Frisoni, G. B.; Fox, N. C.; Galasko, D.; Habert, M.-O.; Jicha, G. A.; Nordberg, A.; Pasquier, F.; Rabinovici, G.; Robert, P.; Rowe, C.; Salloway, S.; Sarazin, M.; Epelbaum, S.; de Souza, Leonardo C; Vellas, B.; Visser, P. J.; Schneider, L.; Stern, Y.; Scheltens, P.; Cummings, J. L. (2014): Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. In: *The Lancet. Neurology* 13 (6), S. 614–629. DOI: 10.1016/S1474-4422(14)70090-0.

Engelborghs, S.; Vreese, K. de; Van de Castele, Tom; Vanderstichele, H.; van Everbroeck, B.; Cras, P.; Martin, J.-J.; Vanmechelen, E.; De Deyn, Peter Paul (2008): Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. In: *Neurobiology of aging* 29 (8), S. 1143–1159. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.02.016.

Ferri, C. P.; Prince, M.; Brayne, C.; Brodaty, H.; Fratiglioni, L.; Ganguli, M.; Hall, K.; Hasegawa, K.; Hendrie, H.; Huang, Y.; Jorm, A.; Mathers, C.; Menezes, P. R.; Rimmer, E.; Sczufca, M. (2005): Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. In: *The Lancet* 366 (9503), S. 2112–2117. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67889-0.

Folstein, M. F.; Folstein, S. E.; McHugh, P. R. (1975): "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. In: *Journal of psychiatric research* 12 (3), S. 189–198.

Fratiglioni, L.; Viitanen, M.; Strauss, E. von; Tontodonati, V.; Herlitz, A.; Winblad, B. (1997): Very old women at highest risk of dementia and Alzheimer's disease: incidence data from the Kungsholmen Project, Stockholm. In: *Neurology* 48 (1), S. 132–138.

Freude, K. K.; Penjwini, M.; Davis, J. L.; LaFerla, F. M.; Blurton-Jones, M. (2011): Soluble Amyloid Precursor Protein Induces Rapid Neural Differentiation of Human Embryonic Stem Cells. In: *J. Biol. Chem.* 286 (27), S. 24264–24274. DOI: 10.1074/jbc.M111.227421.

Furukawa, K.; Sopher, B. L.; Rydel, R. E.; Begley, J. G.; Pham, D. G.; Martin, G. M.; Fox, M.; Mattson, M. P. (1996): Increased activity-regulating and neuroprotective efficacy of alpha-secretase-derived secreted amyloid precursor protein conferred by a C-terminal heparin-binding domain. In: *Journal of Neurochemistry* 67 (5), S. 1882–1896.

Literaturverzeichnis

G8 Dementia Summit (2013): G8 Dementia Summit Declaration. Hg. v. Department of Health. London. Online verfügbar unter https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/265869/2901668_G8_DementiaSummitDeclaration_acc.pdf, zuletzt geprüft am 01.06.2016.

Galton, C. J.; Patterson, K.; Xuereb, J. H.; Hodges, J. R. (2000): Atypical and typical presentations of Alzheimer's disease: a clinical, neuropsychological, neuroimaging and pathological study of 13 cases. In: *Brain : a journal of neurology* 123 Pt 3, S. 484–498.

Galvin, J. E.; Roe, C. M.; Powlishta, K. K.; Coats, M. A.; Muich, S. J.; Grant, E.; Miller, J. P.; Storandt, M.; Morris, J. C. (2005): The AD8: A brief informant interview to detect dementia. In: *Neurology* 65 (4), S. 559–564. DOI: 10.1212/01.wnl.0000172958.95282.2a.

Gatz, M.; Reynolds, C. A.; Fratiglioni, L.; Johansson, B.; Mortimer, J. A.; Berg, S.; Fiske, A.; Pedersen, N. L. (2006): Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. In: *Archives of general psychiatry* 63 (2), S. 168–174. DOI: 10.1001/archpsyc.63.2.168.

Gauthier, S.; Reisberg, B.; Zaudig, M.; Petersen, R. C.; Ritchie, K.; Broich, K.; Belleville, S.; Brodaty, H.; Bennett, D.; Chertkow, H.; Cummings, J. L.; Leon, M. de; Feldman, H.; Ganguli, M.; Hampel, H.; Scheltens, P.; Tierney, M. C.; Whitehouse, P.; Winblad, B. (2006): Mild cognitive impairment. In: *Lancet (London, England)* 367 (9518), S. 1262–1270. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)68542-5.

Geerlings, M. I.; Jonker, C.; Bouter, L. M.; Adèr, H. J.; Schmand, B. (1999): Association between memory complaints and incident Alzheimer's disease in elderly people with normal baseline cognition. In: *The American journal of psychiatry* 156 (4), S. 531–537. DOI: 10.1176/ajp.156.4.531.

Giannakopoulos, P.; Herrmann, F. R.; Bussièrè, T.; Bouras, C.; Kövari, E.; Perl, D. P.; Morrison, J. H.; Gold, G.; Hof, P. R. (2003): Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. In: *Neurology* 60 (9), S. 1495–1500.

Goldberg, R. J. (2007): Alzheimer's disease. In: *Comprehensive therapy* 33 (2), S. 58–64.

Hall, K. S.; Gao, S.; Baiyewu, O.; Lane, K. A.; Gureje, O.; Shen, J.; Ogunniyi, A.; Murrell, J. R.; Unverzagt, F. W.; Dickens, J.; Smith-Gamble, V.; Hendrie, H. C. (2009): Prevalence rates for dementia and Alzheimer's disease in African Americans: 1992 versus 2001. In: *Alzheimer's & Dementia* 5 (3), S. 227–233. DOI: 10.1016/j.jalz.2009.01.026.

Hardy, J.; Selkoe, D. J. (2002): The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. In: *Science (New York, N.Y.)* 297 (5580), S. 353–356. DOI: 10.1126/science.1072994.

Hejl, A.; Høgh, P.; Waldemar, G. (2002): Potentially reversible conditions in 1000 consecutive memory clinic patients. In: *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 73 (4), S. 390–394.

Literaturverzeichnis

Henriksen, K.; O'Bryant, S. E.; Hampel, H.; Trojanowski, J. Q.; Montine, T. J.; Jeromin, A.; Blennow, K.; Lönneborg, A.; Wyss-Coray, T.; Soares, H.; Bazenet, C.; Sjögren, M.; Hu, W.; Lovestone, S.; Karsdal, M. A.; Weiner, M. W. (2014): The future of blood-based biomarkers for Alzheimer's disease. In: *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 10 (1), S. 115–131. DOI: 10.1016/j.jalz.2013.01.013.

Hindmarch, I.; Lehfeld, H.; Jongh, P. de; Erzigkeit, H. (1998): The Bayer Activities of Daily Living Scale (B-ADL). In: *Dementia and geriatric cognitive disorders* 9 Suppl 2, S. 20–26.

IBL international (Hg.): sAPP β -w high sensitive ELISA. Enzyme immunoassay for the quantitative determination of human sAPP β wild type in EDTA plasma, cerebrospinal fluid and cell culture supernatant. Online verfügbar unter http://www.ibl-international.com/media/catalog/product/J/P/JP27732_IFU_en_sAPPbeta-w_EIA_V2009_12_09_sym2.pdf, zuletzt geprüft am 12.07.2016.

Iqbal, K.; Alonso, Alejandra del C; Chen, S.; Chohan, M. O.; El-Akkad, E.; Gong, C.-X.; Khatoun, S.; Li, B.; Liu, F.; Rahman, A.; Tanimukai, H.; Grundke-Iqbal, I. (2005): Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. In: *Biochimica et biophysica acta* 1739 (2-3), S. 198–210. DOI: 10.1016/j.bbadis.2004.09.008.

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

Jagust, W. J.; Landau, S. M.; Shaw, L. M.; Trojanowski, J. Q.; Koeppe, R. A.; Reiman, E. M.; Foster, N. L.; Petersen, R. C.; Weiner, M. W.; Price, J. C.; Mathis, C. A. (2009): Relationships between biomarkers in aging and dementia. In: *Neurology* 73 (15), S. 1193–1199. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181bc010c.

Jiang, S.; Zhang, M.; Ren, D.; Tang, G.; Lin, S.; Qian, Y.; Zhang, Y.; Jiang, K.; Li, F.; Wang, D. (2003): Enhanced production of amyloid precursor protein mRNA by peripheral mononuclear blood cell in Alzheimer's disease. In: *Am. J. Med. Genet.* 118B (1), S. 99–102. DOI: 10.1002/ajmg.b.10067.

Kalaria, R. N.; Ballard, C. (1999): Overlap between pathology of Alzheimer disease and vascular dementia. In: *Alzheimer disease and associated disorders* 13 Suppl 3, S. S115-23.

Kalbe, E.; Kessler, J.; Calabrese, P.; Smith, R.; Passmore, A. P.; Brand, M.; Bullock, R. (2004): DemTect: a new, sensitive cognitive screening test to support the diagnosis of mild cognitive impairment and early dementia. In: *International journal of geriatric psychiatry* 19 (2), S. 136–143. DOI: 10.1002/gps.1042.

Karch, C. M.; Goate, A. M. (2015): Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. In: *Biological psychiatry* 77 (1), S. 43–51. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.05.006.

Kinsella, K. G.; Wan, H. (2009): *An aging world. 2008*. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National

Literaturverzeichnis

Institute on Aging; U.S. Department of Commerce, Economics and Statistics Administration, U.S. Census Bureau (International population reports. Series P-95, 09-1).

Kukull, W. A.; Brenner, D. E.; Speck, C. E.; Nochlin, D.; Bowen, J.; McCormick, W.; Teri, L.; Pfanschmidt, M. L.; Larson, E. B. (1994): Causes of death associated with Alzheimer disease: variation by level of cognitive impairment before death. In: *Journal of the American Geriatrics Society* 42 (7), S. 723–726.

Lahiri, D. K.; Zawia, N. H.; Greig, N. H.; Sambamurti, K.; Maloney, B. (2008): Early-life events may trigger biochemical pathways for Alzheimer's disease: the "LEARN" model. In: *Biogerontology* 9 (6), S. 375–379. DOI: 10.1007/s10522-008-9162-6.

Lewczuk, P.; Kamrowski-Kruck, H.; Peters, O.; Heuser, I.; Jessen, F.; Popp, J.; Bürger, K.; Hampel, H.; Frölich, L.; Wolf, S.; Prinz, B.; Jahn, H.; Luckhaus, C.; Perneczky, R.; Hüll, M.; Schröder, J.; Kessler, H.; Pantel, J.; Gertz, H.-J.; Klafki, H.-W.; Kölsch, H.; Reulbach, U.; Esselmann, H.; Maler, J. M.; Bibl, M.; Kornhuber, J.; Wiltfang, J. (2008): Soluble amyloid precursor proteins in the cerebrospinal fluid as novel potential biomarkers of Alzheimer's disease: a multicenter study. In: *Mol Psychiatry* 15 (2), S. 138–145. DOI: 10.1038/mp.2008.84.

Lim, A.; Tsuang, D.; Kukull, W.; Nochlin, D.; Leverenz, J.; McCormick, W.; Bowen, J.; Teri, L.; Thompson, J.; Peskind, E. R.; Raskind, M.; Larson, E. B. (1999): Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. In: *Journal of the American Geriatrics Society* 47 (5), S. 564–569.

Lobo, A.; Saz, P.; Marcos, G.; Dia, J. L.; De-la-Camara, C.; Ventura, T.; Montañes, J. A.; Lobo-Escolar, A.; Aznar, S. (2007): Prevalence of dementia in a southern European population in two different time periods: the ZARADEMP Project. In: *Acta Psychiatr Scand* 116 (4), S. 299–307. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2007.01006.x.

Lopez, O. L.; Becker, J. T.; Sweet, R. A.; Klunk, W.; Kaufer, D. I.; Saxton, J.; Habeych, M.; DeKosky, S. T. (2003): Psychiatric symptoms vary with the severity of dementia in probable Alzheimer's disease. In: *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* 15 (3), S. 346–353. DOI: 10.1176/jnp.15.3.346.

Marksteiner, J.; Humpel, C. (2013): Platelet-derived secreted amyloid-precursor protein- β as a marker for diagnosing Alzheimer's disease. In: *Current neurovascular research* 10 (4), S. 297–303.

Matthews, F. E.; Arthur, A.; Barnes, L. E.; Bond, J.; Jagger, C.; Robinson, L.; Brayne, C. (2013): A two-decade comparison of prevalence of dementia in individuals aged 65 years and older from three geographical areas of England: results of the Cognitive Function and Ageing Study I and II. In: *The Lancet* 382 (9902), S. 1405–1412. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61570-6.

Mattsson, N.; Andreasson, U.; Persson, S.; Carrillo, M. C.; Collins, S.; Chalbot, S.; Cutler, N.; Dufour-Rainfray, D.; Fagan, A. M.; Heegaard, Niels H H; Robin Hsiung, G.-Y.; Hyman, B.; Iqbal, K.; Kaeser, S. A.; Käser, S. A.; Lachno, D. R.; Lleó, A.; Lewczuk, P.; Molinuevo, J. L.; Parchi, P.; Regeniter, A.; Rissman, R. A.; Rissman, R.; Rosenmann, H.; Sancesario, G.; Schröder, J.; Shaw, L. M.; Teunissen, C. E.; Trojanowski, J. Q.; Vanderstichele, H.; Vandijck, M.; Verbeek, M. M.; Zetterberg, H.;

Blennow, K. (2013): CSF biomarker variability in the Alzheimer's Association quality control program. In: *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 9 (3), S. 251–261. DOI: 10.1016/j.jalz.2013.01.010.

Mawuenyega, K. G.; Sigurdson, W.; Ovod, V.; Munsell, L.; Kasten, T.; Morris, J. C.; Yarasheski, K. E.; Bateman, R. J. (2010): Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. In: *Science (New York, N.Y.)* 330 (6012), S. 1774. DOI: 10.1126/science.1197623.

Mayeux, R.; Saunders, A. M.; Shea, S.; Mirra, S.; Evans, D.; Roses, A. D.; Hyman, B. T.; Crain, B.; Tang, M. X.; Phelps, C. H. (1998): Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Disease Centers Consortium on Apolipoprotein E and Alzheimer's Disease*. In: *The New England journal of medicine* 338 (8), S. 506–511. DOI: 10.1056/NEJM199802193380804.

McKhann, G. M.; Knopman, D. S.; Chertkow, H.; Hyman, B. T.; Jack, C. R.; Kawas, C. H.; Klunk, W. E.; Koroshetz, W. J.; Manly, J. J.; Mayeux, R.; Mohs, R. C.; Morris, J. C.; Rossor, M. N.; Scheltens, P.; Carrillo, M. C.; Thies, B.; Weintraub, S.; 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. In: *Alzheimer's & Dementia* 7 (3), S. 263–269. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.

Menéndez-González, M.; Pérez-Pinera, P.; Martínez-Rivera, M.; Calatayud, M. T.; Blázquez Menes, B. (2006): APP Processing and the APP-KPI Domain Involvement in the Amyloid Cascade. In: *Neurodegener Dis* 2 (6), S. 277–283. DOI: 10.1159/000092315.

Mitchell, A. J. (2009): A meta-analysis of the accuracy of the mini-mental state examination in the detection of dementia and mild cognitive impairment. In: *Journal of psychiatric research* 43 (4), S. 411–431. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2008.04.014.

Mohamed, T.; Shakeri, A.; Rao, P. P. (2016): Amyloid cascade in Alzheimer's disease: Recent advances in medicinal chemistry. In: *European Journal of Medicinal Chemistry* 113, S. 258–272. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.02.049.

Montgomery, S. A.; Asberg, M. (1979): A new depression scale designed to be sensitive to change. In: *The British journal of psychiatry : the journal of mental science* 134, S. 382–389.

Morris, J. C. (1993): The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. In: *Neurology* 43 (11), S. 2412–2414.

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

Mufson, E. J.; Chen, E. Y.; Cochran, E. J.; Beckett, L. A.; Bennett, D. A.; Kordower, J. H. (1999): Entorhinal cortex beta-amyloid load in individuals with mild cognitive impairment. In: *Experimental Neurology* 158 (2), S. 469–490. DOI: 10.1006/exnr.1999.7086.

Literaturverzeichnis

- Myers, R. H.; Schaefer, E. J.; Wilson, P. W.; D'Agostino, R.; Ordovas, J. M.; Espino, A.; Au, R.; White, R. F.; Knoefel, J. E.; Cobb, J. L.; McNulty, K. A.; Beiser, A.; Wolf, P. A. (1996): Apolipoprotein E epsilon4 association with dementia in a population-based study: The Framingham study. In: *Neurology* 46 (3), S. 673–677.
- Näslund, J.; Haroutunian, V.; Mohs, R.; Davis, K. L.; Davies, P.; Greengard, P.; Buxbaum, J. D. (2000): Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. In: *JAMA* 283 (12), S. 1571–1577.
- Nasreddine, Z. S.; Phillips, N. A.; Bédirian, V.; Charbonneau, S.; Whitehead, V.; Collin, I.; Cummings, J. L.; Chertkow, H. (2005): The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. In: *Journal of the American Geriatrics Society* 53 (4), S. 695–699. DOI: 10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x.
- Nikolaev, A.; McLaughlin, T.; O'Leary, Dennis D. M.; Tessier-Lavigne, M. (2009): APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases. In: *Nature* 457 (7232), S. 981–989. DOI: 10.1038/nature07767.
- Norton, S.; Matthews, F. E.; Barnes, D. E.; Yaffe, K.; Brayne, C. (2014): Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. In: *The Lancet. Neurology* 13 (8), S. 788–794. DOI: 10.1016/S1474-4422(14)70136-X.
- Olsson, A.; Höglund, K.; Sjögren, M.; Andreasen, N.; Minthon, L.; Lannfelt, L.; Buerger, K.; Möller, H.-J.; Hampel, H.; Davidsson, P. (2003): Measurement of α - and β -secretase cleaved amyloid precursor protein in cerebrospinal fluid from Alzheimer patients. In: *Experimental Neurology* 183 (1), S. 74–80. DOI: 10.1016/S0014-4886(03)00027-X.
- Padovani, A.; Pastorino, L.; Borroni, B.; Colciaghi, F.; Rozzini, L.; Monastero, R.; Perez, J.; Pettenati, C.; Mussi, M.; Parrinello, G.; Cottini, E.; Lenzi, G. L.; Trabucchi, M.; Cattabeni, F.; Di Luca, M. (2001): Amyloid precursor protein in platelets: a peripheral marker for the diagnosis of sporadic AD. In: *Neurology* 57 (12), S. 2243–2248.
- Palmert, M. R.; Usiak, M.; Mayeux, R.; Raskind, M.; Tourtellotte, W. W.; Younkin, S. G. (1990): Soluble derivatives of the beta amyloid protein precursor in cerebrospinal fluid: alterations in normal aging and in Alzheimer's disease. In: *Neurology* 40 (7), S. 1028–1034.
- Patwardhan, M. B.; McCrory, D. C.; Matchar, D. B.; Samsa, G. P.; Rutschmann, O. T. (2004): Alzheimer disease: operating characteristics of PET--a meta-analysis. In: *Radiology* 231 (1), S. 73–80. DOI: 10.1148/radiol.2311021620.
- Pearson, R. C.; Esiri, M. M.; Hiorns, R. W.; Wilcock, G. K.; Powell, T. P. (1985): Anatomical correlates of the distribution of the pathological changes in the neocortex in Alzheimer disease. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82 (13), S. 4531–4534.
- Pernecky, R.; Guo, L.-H.; Kagerbauer, S. M.; Werle, L.; Kurz, A.; Martin, J.; Alexopoulos, P. (2013): Soluble amyloid precursor protein β as blood-based

Literaturverzeichnis

biomarker of Alzheimer's disease. In: *Transl Psychiatry* 3 (2), S. e227. DOI: 10.1038/tp.2013.11.

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

Perneckzy, R.; Alexopoulos, P.; Kurz, A. (2014): Soluble amyloid precursor proteins and secretases as Alzheimer's disease biomarkers. In: *Trends in Molecular Medicine* 20 (1), S. 8–15. DOI: 10.1016/j.molmed.2013.10.001.

Prestia, A.; Caroli, A.; van der Flier, Wiesje M; Ossenkoppele, R.; van Berckel, B.; Barkhof, F.; Teunissen, C. E.; Wall, A. E.; Carter, S. F.; Schöll, M.; Choo, I. H.; Nordberg, A.; Scheltens, P.; Frisoni, G. B. (2013): Prediction of dementia in MCI patients based on core diagnostic markers for Alzheimer disease. In: *Neurology* 80 (11), S. 1048–1056. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182872830.

Prince, M.; Wimo, A.; Guerchet, M.: *World Alzheimer Report 2015. The global impact of dementia ; an analysis of Prevalence, incidence, cost and trends.*

Qiu, C.; Strauss, E. von; Backman, L.; Winblad, B.; Fratiglioni, L. (2013): Twenty-year changes in dementia occurrence suggest decreasing incidence in central Stockholm, Sweden. In: *Neurology* 80 (20), S. 1888–1894. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318292a2f9.

Qiu, C.; Ronchi, D. de; Fratiglioni, L. (2007): The epidemiology of the dementias: an update. In: *Current opinion in psychiatry* 20 (4), S. 380–385. DOI: 10.1097/YCO.0b013e32816ebc7b.

Quigley, H.; Colloby, S. J.; O'Brien, J. T. (2011): PET imaging of brain amyloid in dementia: a review. In: *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 26 (10), S. 991–999. DOI: 10.1002/gps.2640.

Reisberg, B.; Doody, R.; Stöffler, A.; Schmitt, F.; Ferris, S.; Möbius, H. J. (2003): Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. In: *The New England journal of medicine* 348 (14), S. 1333–1341. DOI: 10.1056/NEJMoa013128.

Ritchie, K. (2004): Mild cognitive impairment: an epidemiological perspective. In: *Dialogues in clinical neuroscience* 6 (4), S. 401–408.

Rocca, W. A.; Petersen, R. C.; Knopman, D. S.; Hebert, L. E.; Evans, D. A.; Hall, K. S.; Gao, S.; Unverzagt, F. W.; Langa, K. M.; Larson, E. B.; White, L. R. (2011): Trends in the incidence and prevalence of Alzheimer's disease, dementia, and cognitive impairment in the United States. In: *Alzheimer's & Dementia* 7 (1), S. 80–93. DOI: 10.1016/j.jalz.2010.11.002.

Rosén, C.; Andreasson, U.; Mattsson, N.; Marcusson, J.; Minthon, L.; Andreasen, N.; Blennow, K.; Zetterberg, H. (2012): Cerebrospinal Fluid Profiles of Amyloid β -Related Biomarkers in Alzheimer's Disease. In: *Neuromol Med* 14 (1), S. 65–73. DOI: 10.1007/s12017-012-8171-4.

Literaturverzeichnis

Sandbrink, R.; Masters, C. L.; Beyreuther, K. (1994): Beta A4-amyloid protein precursor mRNA isoforms without exon 15 are ubiquitously expressed in rat tissues including brain, but not in neurons. In: *The Journal of biological chemistry* 269 (2), S. 1510–1517.

Scheltens, P.; Blennow, K.; Breteler, Monique M B; Strooper, B. de; Frisoni, G. B.; Salloway, S.; Van der Flier, Wiesje Maria (2016): Alzheimer's disease. In: *The Lancet*. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01124-1.

Scheuner, D.; Eckman, C.; Jensen, M.; Song, X.; Citron, M.; Suzuki, N.; Bird, T. D.; Hardy, J.; Hutton, M.; Kukull, W.; Larson, E.; Levy-Lahad, E.; Viitanen, M.; Peskind, E.; Poorkaj, P.; Schellenberg, G.; Tanzi, R.; Wasco, W.; Lannfelt, L.; Selkoe, D.; Younkin, S. (1996): Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. In: *Nature medicine* 2 (8), S. 864–870.

Schrijvers, E M C; Verhaaren, B F J; Koudstaal, P. J.; Hofman, A.; Ikram, M. A.; Breteler, M M B (2012): Is dementia incidence declining?: Trends in dementia incidence since 1990 in the Rotterdam Study. In: *Neurology* 78 (19), S. 1456–1463. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182553be6.

Selkoe, D. J.; Podlisny, M. B.; Joachim, C. L.; Vickers, E. A.; Lee, G.; Fritz, L. C.; Oltersdorf, T. (1988): Beta-amyloid precursor protein of Alzheimer disease occurs as 110- to 135-kilodalton membrane-associated proteins in neural and nonneural tissues. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85 (19), S. 7341–7345.

Sennvik, K.; Fastbom, J.; Blomberg, M.; Wahlund, L. O.; Winblad, B.; Benedikz, E. (2000): Levels of alpha- and beta-secretase cleaved amyloid precursor protein in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. In: *Neuroscience letters* 278 (3), S. 169–172.

Shulman, K. I. (2000): Clock-drawing: is it the ideal cognitive screening test? In: *International journal of geriatric psychiatry* 15 (6), S. 548–561.

Soba, P.; Eggert, S.; Wagner, K.; Zentgraf, H.; Siehl, K.; Kreger, S.; Löwer, A.; Langer, A.; Merdes, G.; Paro, R.; Masters, C. L.; Müller, U.; Kins, S.; Beyreuther, K. (2005): Homo- and heterodimerization of APP family members promotes intercellular adhesion. In: *The EMBO journal* 24 (20), S. 3624–3634. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600824.

Sperling, R. A.; Aisen, P. S.; Beckett, L. A.; Bennett, D. A.; Craft, S.; Fagan, A. M.; Iwatsubo, T.; Jack, C. R.; Kaye, J.; Montine, T. J.; Park, D. C.; Reiman, E. M.; Rowe, C. C.; Siemers, E.; Stern, Y.; Yaffe, K.; Carrillo, M. C.; Thies, B.; Morrison-Bogorad, M.; Wagster, M. V.; 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. In: *Alzheimer's & Dementia* 7 (3), S. 280–292. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.003.

Literaturverzeichnis

Spring, S.; Bethesda (2016): BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Hg. v. FDA-NIH Biomarker Working Group. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK338448/>, zuletzt geprüft am 11.07.2016.

Statistisches Bundesamt (Hg.): Gesundheit. Ausgaben, Krankheitskosten und Personal 2004. Statistisches Bundesamt. Wiesbaden.

Stern, Y. (2012): Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. In: *The Lancet Neurology* 11 (11), S. 1006–1012. DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70191-6.

Strooper, B. de; Annaert, W. (2000): Proteolytic processing and cell biological functions of the amyloid precursor protein. In: *Journal of cell science* 113 (Pt 11), S. 1857–1870.

Tanzi, R. E.; Moir, R. D.; Wagner, S. L. (2004): Clearance of Alzheimer's Aβ peptide: the many roads to perdition. In: *Neuron* 43 (5), S. 605–608. DOI: 10.1016/j.neuron.2004.08.024.

Taylor, C. J.; Ireland, D. R.; Ballagh, I.; Bourne, K.; Marechal, N. M.; Turner, P. R.; Bilkey, D. K.; Tate, W. P.; Abraham, W. C. (2008): Endogenous secreted amyloid precursor protein-α regulates hippocampal NMDA receptor function, long-term potentiation and spatial memory. In: *Neurobiology of Disease* 31 (2), S. 250–260. DOI: 10.1016/j.nbd.2008.04.011.

The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group (1998): Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". In: *Neurobiology of aging* 19 (2), S. 109–116.

Van Nostrand, W E; Wagner, S. L.; Shankle, W. R.; Farrow, J. S.; Dick, M.; Rozemuller, J. M.; Kuiper, M. A.; Wolters, E. C.; Zimmerman, J.; Cotman, C. W. (1992): Decreased levels of soluble amyloid beta-protein precursor in cerebrospinal fluid of live Alzheimer disease patients. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89 (7), S. 2551–2555.

Vassar, R.; Bennett, B. D.; Babu-Khan, S.; Kahn, S.; Mendiaz, E. A.; Denis, P.; Teplow, D. B.; Ross, S.; Amarante, P.; Loeloff, R.; Luo, Y.; Fisher, S.; Fuller, J.; Edenson, S.; Lile, J.; Jarosinski, M. A.; Biere, A. L.; Curran, E.; Burgess, T.; Louis, J. C.; Collins, F.; Treanor, J.; Rogers, G.; Citron, M. (1999): Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. In: *Science (New York, N.Y.)* 286 (5440), S. 735–741.

Vignini, A.; Sartini, D.; Morganti, S.; Nanetti, L.; Luzzi, S.; Provinciali, L.; Mazzanti, L.; Emanuelli, M. (2011): Platelet amyloid precursor protein isoform expression in Alzheimer's disease: evidence for peripheral marker. In: *International journal of immunopathology and pharmacology* 24 (2), S. 529–534.

Wang, Z.; Wang, B.; Yang, L.; Guo, Q.; Aithmitti, N.; Songyang, Z.; Zheng, H. (2009): Presynaptic and Postsynaptic Interaction of the Amyloid Precursor Protein Promotes Peripheral and Central Synaptogenesis. In: *Journal of Neuroscience* 29 (35), S. 10788–10801. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2132-09.2009.

Literaturverzeichnis

Werle, L. B.: Lösliches Amyloidvorläuferprotein Beta als Biomarker für die Alzheimer-Krankheit. Online verfügbar unter <http://mediatum.ub.tum.de?id=1219445>, zuletzt geprüft am 12.07.2016.

Weuve J, McQueen MB, Blacker D: The AlzRisk Database. Alzheimer Research Forum. Online verfügbar unter <http://www.alzforum.org>, zuletzt geprüft am 11.07.2016.

Whitehouse, P. J.; Price, D. L.; Struble, R. G.; Clark, A. W.; Coyle, J. T.; Delon, M. R. (1982): Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. In: *Science (New York, N.Y.)* 215 (4537), S. 1237–1239.

Wimo, A.; Jönsson, L.; Gustavsson, A.; McDaid, D.; Ersek, K.; Georges, J.; Gulácsi, L.; Karpati, K.; Kenigsberg, P.; Valtonen, H. (2011): The economic impact of dementia in Europe in 2008-cost estimates from the Eurocode project. In: *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 26 (8), S. 825–832. DOI: 10.1002/gps.2610.

Winblad, B.; Palmer, K.; Kivipelto, M.; Jelic, V.; Fratiglioni, L.; Wahlund, L.-O.; Nordberg, A.; Backman, L.; Albert, M.; Almkvist, O.; Arai, H.; Basun, H.; Blennow, K.; Leon, M. de; DeCarli, C.; Erkinjuntti, T.; Giacobini, E.; Graff, C.; Hardy, J.; Jack, C.; Jorm, A.; Ritchie, K.; van Duijn, C.; Visser, P.; Petersen, R. C. (2004): Mild cognitive impairment - beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. In: *J Intern Med* 256 (3), S. 240–246. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2004.01380.x.

Winblad, B.; Wimo, A.; Engedal, K.; Soininen, H.; Verhey, F.; Waldemar, G.; Wetterholm, A.-L.; Haglund, A.; Zhang, R.; Schindler, R. (2006): 3-year study of donepezil therapy in Alzheimer's disease: effects of early and continuous therapy. In: *Dementia and geriatric cognitive disorders* 21 (5-6), S. 353–363. DOI: 10.1159/000091790.

Wolfson, C.; Wolfson, D. B.; Asgharian, M.; M'Lan, C. E.; Ostbye, T.; Rockwood, K.; Hogan, D. B. (2001): A reevaluation of the duration of survival after the onset of dementia. In: *The New England journal of medicine* 344 (15), S. 1111–1116. DOI: 10.1056/NEJM200104123441501.

Wu, G.; Sankaranarayanan, S.; Hsieh, S. H.-K.; Simon, A. J.; Savage, M. J. (2011): Decrease in brain soluble amyloid precursor protein β (sAPP β) in Alzheimer's disease cortex. In: *J. Neurosci. Res.* 89 (6), S. 822–832. DOI: 10.1002/jnr.22618.

Wu, G.; Sankaranarayanan, S.; Wong, J.; Tugusheva, K.; Michener, M. S.; Shi, X.; Cook, J. J.; Simon, A. J.; Savage, M. J. (2012): Characterization of plasma β -secretase (BACE1) activity and soluble amyloid precursor proteins as potential biomarkers for Alzheimer's disease. In: *J. Neurosci. Res.* 90 (12), S. 2247–2258. DOI: 10.1002/jnr.23122.

Zhang, H.; Ma, Q.; Zhang, Y.-w.; Xu, H. (2012): Proteolytic processing of Alzheimer's β -amyloid precursor protein. In: *Journal of Neurochemistry* 120, S. 9–21. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07519.x.

Literaturverzeichnis

Zhu, X.; Lee, H.-g.; Perry, G.; Smith, M. A. (2007): Alzheimer disease, the two-hit hypothesis: an update. In: *Biochimica et biophysica acta* 1772 (4), S. 494–502. DOI: 10.1016/j.bbadis.2006.10.014.

Ziegler, U.; Doblhammer, G. (2009): Prävalenz und Inzidenz von Demenz in Deutschland. Eine Studie auf Basis von Daten der gesetzlichen Krankenversicherungen von 2002 = Prevalence and incidence of dementia in Germany :a study based on data from the Public Sick Funds in 2002. In: *Das Gesundheitswesen* 71 (5), S. 281–290.

Zipser, B. D.; Johanson, C. E.; Gonzalez, L.; Berzin, T. M.; Tavares, R.; Hulette, C. M.; Vitek, M. P.; Hovanesian, V.; Stopa, E. G. (2007): Microvascular injury and blood-brain barrier leakage in Alzheimer's disease. In: *Neurobiology of aging* 28 (7), S. 977–986. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2006.05.016.

7 Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Robert Perneczky für die Überlassung des Themas, sowie für seine Hilfsbereitschaft bei aufkommenden Fragen.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. Johann Förstl für die Möglichkeit der wissenschaftlichen Tätigkeit am Institut für Psychiatrie und Psychotherapie, sowie Herrn Prof. Dr. Alexander Kurz für seine Unterstützung bei der Patientenrekrutierung in der Gedächtnisambulanz der TU München.

Ein besonderer Dank geht an Herrn Dr. Panagiotis Alexopoulos für seine Betreuung, die stets konstruktiv, ermutigend und freundschaftlich war und der mir damit eine bereichernde Zeit in seinem neurobiologischen Labor ermöglichte.

Frau Tamara Eisele gebührt ein großer Dank für ihre Geduld mich in die labortechnischen Methoden einzuführen und für ihre Hilfe bei den Analysen, sowie für die überaus angenehme Arbeitsatmosphäre.

Danken möchte ich auch allen Probanden und Patienten, die durch ihre Teilnahme an der Studie diese Arbeit erst ermöglichten.

Auch meinen Freunden und insbesondere Benedict Cavalié möchte ich danken. Die vielen Gespräche und die unablässige Unterstützung waren mir eine große Hilfe.

Ein herzlicher Dank geht auch an meinen Bruder Ambros Gleixner, der mir mit seiner Erfahrung stets ein wichtiger Ansprechpartner war und dem ich für seine Hilfe nicht genug danken kann.

Vor allem möchte ich aber meinen Eltern danken, die mich so sehr unterstützt haben, sowohl bei dieser Arbeit, als auch bei jedem Schritt und in jeder Lebensphase davor, sodass ihnen der größte Dank gebührt.