

Aus der Klinik für Neurologie
(Prof. Dr. med. M. Bähr)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Gesamt-Tau, pTau, pTau rel, Beta-
Amyloid 1-42 und 1-40 sowie
Transthyretin in der
Differentialdiagnostik
neurodegenerativer Erkrankungen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Kari-Maria Jansen

aus

Bochum

Göttingen 2021

Dekan:	Prof. Dr. med. W. Brück
Referent/in	Prof. Dr. med. I. Zerr
Ko-Referent/in:	Prof. Dr. rer. nat. O. Wirths
Drittreferent/in:	Prof. Dr. mult. T. Meyer

Datum der mündlichen Prüfung: 03.11.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Gesamt-Tau, pTau, pTau rel, Beta-Amyloid 1-42 und 1-40 sowie Transthyretin in der Differentialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....

(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Demenz.....	2
1.2 Neurodegenerative Erkrankungen	2
1.3 Liquordiagnostik.....	7
1.4 Mini-Mental-Status-Test.....	12
1.5 Bildgebende Verfahren.....	13
1.6 Fragestellung	13
2 Material und Methoden.....	15
2.1 Studiendesign.....	15
2.2 Die Gewinnung der Daten	16
2.3 Messungen.....	16
2.4 Statistische Auswertung.....	18
2.5 Einteilung der Demenz bei Alzheimer-Krankheit nach dem Mini-Mental-Status-Test	19
2.6 Tabellen, Graphiken und Text	19
2.7 Ethikvotum	20
3 Ergebnisse	21
3.1 ELISA Vergleich zweier unterschiedlicher Hersteller.....	22
3.2 Vergleich neurodegenerativer Erkrankungen	24
3.3 Grenzwerte in der Alzheimer-Diagnostik	35
3.4 Destruktionsmarker und Demenzstadien bei Alzheimer-Krankheit	45
3.5 Weitere Zusammenhänge	48
3.6 Ergebnisse der TTR-Messungen im Liquor und im Serum	49

4	Diskussion.....	57
4.1	Gesamt-Tau, pTau und pTau rel.....	62
4.2	Amyloidpeptide	66
4.3	TTR im Liquor und im Serum	69
4.4	Studienbeschränkungen.....	70
5	Zusammenfassung.....	72
6	Anhang	73
7	Literaturverzeichnis	89

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Beziehungen zwischen ausgewählten neurodegenerativen Erkrankungen.....	6
Abbildung 2: Flussdiagramm Patientenkollektiv.....	15
Abbildung 3: Individualwerte und Korrelation nach Pearson für die Tau.	22
Abbildung 4: Individualwerte und Korrelation nach Pearson für A β 42.....	23
Abbildung 5: Patientenkollektiv.....	24
Abbildung 6: Boxplot für Gesamt-Tau.	27
Abbildung 7: Boxplot für A β 42.....	29
Abbildung 8: Boxplot für A β 40.....	30
Abbildung 9: Boxplot A β 42/40 Ratio.	32
Abbildung 10: Boxplot pTau.....	33
Abbildung 11: pTau rel ELISA von AJ Roboscreen GmbH.....	34
Abbildung 12: ROC-Kurven Kontrollen gegen Alzheimer-Krankheit.	37
Abbildung 13: ROC-Kurven Andere Demenzen gegen Alzheimer-Krankheit.	39
Abbildung 14: ROC-Kurven Gesamte Kohorte gegen Alzheimer-Krankheit.....	41
Abbildung 15: Gesamt-Tau und phosphoryliertes Tau bei <i>mild cognitive impairment</i> und unterschiedlichen Demenzschweregraden.	47
Abbildung 16: A β 42 und A β 42/40 Ratio bei <i>mild cognitive impairment</i> und unterschiedlichen Demenzschweregraden.	47
Abbildung 17: Übersicht der Kohorte.....	50
Abbildung 18: Korrelation nach Spearman zwischen dem Alter und TTR im Serum bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit.	52
Abbildung 19: Korrelation nach Spearman zwischen dem Alter und TTR im Liquor in der Kontrollgruppe.....	54
Abbildung 20: Korrelation nach Spearman zwischen dem Alter und dem TTR-Quotienten bei Patienten mit zerebraler Ischämie und AD.....	56

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht Kohorte.....	25
Tabelle 2: ROC-Analyse Gesamt-Tau.....	42
Tabelle 3: ROC-Analyse pTau.....	42
Tabelle 4: ROC-Analyse pTau rel.....	43
Tabelle 5: ROC-Analyse A β 42.....	43
Tabelle 6: ROC-Analyse A β 40.....	44
Tabelle 7: ROC-Analyse A β 42/40 Ratio.....	44
Tabelle 8: Grenzwerte Gesunde Kontrolle und Alzheimer-Krankheit.....	45
Tabelle 9: Beschreibung der Kohorte, Geschlecht, Alter und Anzahl.....	46
Tabelle 10: Geschlechterverteilung und Altersdurchschnitt.....	50
Tabelle 11: TTR-Werte im Serum.....	51
Tabelle 12: TTR-Werte im Liquor.....	53
Tabelle 13: Transthyretin-Quotient bei unterschiedlichen Diagnosen.....	55
Tabelle A 1: Gesamt-Tau.....	73
Tabelle A 2: Post Hoc Analyse nach Tamhane für Tau gemessen mit dem ELISA INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V.....	73
Tabelle A 3: Gesamt-Tau.....	74
Tabelle A 4: Post Hoc Analyse nach Tamhane den hTAU total ELISA AJ Roboscreen GmbH.....	74
Tabelle A 5: A β 42.....	75
Tabelle A 6: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den ELISA INNOTEST® β - AMYLOID (1-42) von Fujirebio Europe N.V.....	75
Tabelle A 7: A β 42.....	76
Tabelle A 8: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH.....	76
Tabelle A 9: A β 42/40 Ratio.....	77
Tabelle A 10: Post Hoc Analyse nach Tamhane für A β 42/40 Ratio von Fujirebio Europe N.V.....	77
Tabelle A 11: A β 42/40 Ratio.....	78

Tabelle A 12: Post Hoc Analyse nach Tamhane für A β 42/40 Ratio von IBL International GmbH.....	78
Tabelle A 13: A β 40.....	79
Tabelle A 14: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (old) von IBL International GmbH.....	79
Tabelle A 15: A β 40.....	80
Tabelle A 16: Post Hoc Analyse nach Tamhane für Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (novel) von IBL International GmbH.....	80
Tabelle A 17: pTau.....	81
Tabelle A 18: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181).....	81
Tabelle A 19: pTau rel.....	82
Tabelle A 20: Post hoc Analyse nach Bonferroni für den pTau rel ELISA von AJ Roboscreen GmbH.....	82
Tabelle A 21: MMST und Demenzschweregrad.....	83
Tabelle A 22: MMST und Demenzschweregrad.....	84
Tabelle A 23: Korrelation nach Spearman für das Alter und dem INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V.....	85
Tabelle A 24: Korrelation nach Pearson für den INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und den ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181).....	85
Tabelle A 25: Korrelation nach Pearson für den INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und den ELISA INNOTEST® β -AMYLOID (1-42) von Fujirebio Europe N.V.....	86
Tabelle A 26: Korrelation nach Pearson für INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und den Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA von IBL International GmbH.....	86
Tabelle A 27: Korrelation nach Pearson für INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und A β 42/40 Ratio.....	87
Tabelle A 28: Korrelation nach Pearson für den ELISA INNOTEST® β -AMYLOID (1-42) von Fujirebio Europe N.V. und den Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA von IBL International GmbH.....	87

Tabelle A 29: Korrelation nach Spearman für das Alter und TTR-Konzentration im Serum.....	87
Tabelle A 30: Korrelation nach Spearman für das Alter und TTR-Konzentration im Liquor.....	88
Tabelle A 31: Korrelation nach Spearman für das Alter und den TTR-Quotienten.....	88

Abkürzungsverzeichnis

A β 40	Beta-Amyloid (1-40)
A β 42	Beta-Amyloid (1-42)
AD	<i>Alzheimer's Disease</i>
APP	Amyloid-Precursor-Protein
ApoAI	Apolipoprotein A1
ARDA	Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
CJK	Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
CSF	<i>liquor cerebrospinalis</i>
CT	Computertomographie
DemTec	Demenz Detektion
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
DGPPN	Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde
EEG	Elektroenzephalografie
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EuroCoDe	European Collaboration on Dementia
FAP	Familiäre Amyloid-Polyneuropathie
FTD	Frontotemporale Demenz
Hb	Hämoglobin
HDL	<i>high density lipoprotein</i>
HSV	Herpes- Simplex-Viren
ICD-10	Aktuelle Ausgabe der Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme
Ig	Immunoglobuline
kDa	Kilo Dalton
LBD	Lewy-Body-Demenz
MCI	<i>mild cognitive impairment</i>
MD	Mischdemenz/ Gemischte Demenz
MMST	Mini-Mental-Status-Test
Moca-Test	<i>Montreal-Cognitive-Assessment</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
NFB	Neurofibrilläre Bündel

NINCDS	<i>National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke</i>
NMDA-Rezeptor	Bindungsstelle für N-Methyl-D-Aspartat Agonisten
NDH	Normaldruckhydrozephalus
PD	Morbus Parkinson/ <i>Parkinson's Disease</i>
pTau	Phospho-Tau
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PNP	Polyneuropathie
Q-Albumin	Albumin-Quotient Ratio
ROC	<i>receiver-operating-characteristic-curve</i>
SAE	Subkortikale arteriosklerotische Enzephalopathie
SPECT	<i>single photon emission computed tomography</i>
T-Tau	Gesamt / Total-Tau
UMG	Universitätsmedizin Göttingen
VaD	Vaskuläre Demenz
VZV	Varizelle-Zoster-Viren
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZOPS	Zeit, Ort, Person, Situation

1 Einleitung

Die Thematik Demenz ist weiterhin aktueller Gegenstand der Forschung. Ein Rückgang der kognitiven Leistung und eine eingeschränkte Alltagskompetenz sind die klinischen Kennzeichen einer Demenz. Ursächlich sind unterschiedliche neurodegenerative Prozesse. Durch neuropsychologische Testungen, Eigen- und Fremdanamnese kann die kognitive Leistungsfähigkeit und Beeinträchtigung im Alltagsleben beurteilt werden. Liquordiagnostik, Bildgebung und EEG ergänzen die Diagnostik und können Hinweise bezüglich einer Genese geben (McKhann et al. 2011).

Aufgrund des demographischen Wandels und der steigenden Patientenzahlen wird man nicht nur vor medizinische, sondern auch sozioökonomische Herausforderungen gestellt (Ferri et al. 2005). Die Prävalenz der Demenzerkrankungen bei Männern und Frauen in Deutschland lag im Juni 2018 bei 1,7 Millionen. Pro Jahr erkranken 2 % der über 65-Jährigen. Die mittlere Prävalenzrate des Demenziellen Syndroms nach EuroCoDe für über 65-jährige liegt für Frauen bei 10 % und für Männer bei 7 % (DAlzG 2018).

Die Alzheimer-Krankheit ist mit 50 – 60 % eine der häufigsten Erkrankungen, welche zu einer Demenz führt. Weitere neurodegenerative Erkrankungen sind die vaskuläre Demenz, Lewy-Body-Demenz und Frontotemporale Demenz. Seltener ist die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ursächlich. Patienten mit schwerer Depression und raumfordernden Prozessen können ebenfalls eine demenzielle Symptomatik entwickelt, welche jedoch reversibel sein kann (Förstl 2009).

Neuere Forschungsansätze sowie die aktuell gültige Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) und der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde (DGPPN) verlangen, dass man neurochemische Biomarker und Bildgebungsmarker in die diagnostischen Kriterien miteinbezieht (DGN und DGPPN 2016). Eine definitive Diagnosestellung der Alzheimer-Krankheit ist weiterhin nur postmortal durch eine Obduktion gegeben (McKhann et al. 1984).

Ziel der vorliegenden Dissertation ist die Untersuchung und der Vergleich unterschiedlicher Testverfahren für die Quantifizierung von neurochemischen Biomarkern bei der Demenz durch Alzheimer-Krankheit, vaskuläre Demenz, gemischte Demenztypen und bei der Lewy-Body-Demenz. Im Mittelpunkt stehen die diagnostischen Kriterien der Liquordiagnostik für die Alzheimer-Krankheit.

1.1 Demenz

Nach der ICD-10-Klassifikation ist die Demenz als ein klinisches Syndrom definiert. Sie ist die

„Folge einer meist chronischen oder fortschreitenden Krankheit des Gehirns mit Störung vieler höherer kortikaler Funktionen, einschließlich Gedächtnis, Denken, Orientierung, Auffassung, Rechnen, Lernfähigkeit, Sprache, Sprechen und Urteilsvermögen im Sinne der Fähigkeit zur Entscheidung. Das Bewusstsein ist nicht getrübt.“

Für die Diagnose einer Demenz nach ICD müssen die Symptome mindestens sechs Monate bestehen. Neben der kognitiven Beeinträchtigung können auch die Gefühlslage und das Sozialverhalten verändert sein. Häufig ist der Antrieb gemindert, wobei die Sinneswahrnehmung nicht beeinträchtigt ist (Dilling et al. 2008).

Es gibt primäre und sekundäre Demenzformen. Eine primäre Demenzform ist durch eine Erkrankung des Gehirns gekennzeichnet, die zu einem Verlust der Neurone führt. Die Alzheimer-Krankheit, Lewy-Body-Demenz und Frontotemporale Demenz sind Beispiele für primäre Demenzformen. Die sekundäre Demenzform tritt als Folge anderer organischen Erkrankung auf. Eine Gefäßerkrankung oder eine Depression können hier die Ursache sein (Dilling et al. 2008; DGN und DGPPN 2016). Weiterhin sollte bei Patienten mit Verdacht auf eine Demenz ein Verwirrheitszustand ausgeschlossen werden (Förstl 2009).

Oft ist eine Grenze zwischen dement und altersnormal nicht leicht zu definieren (Förstl 2009). Patienten, welche die Kriterien einer Demenz nicht erfüllen und unter einer kognitiven Störung leiden, die nicht der Altersnorm entspricht und nicht zu einer Beeinträchtigung der Alltagsfunktion führt, werden unter dem Syndrom der leichten kognitiven Beeinträchtigung (englisch: *mild cognitive impairment*) zusammengefasst. Das *mild cognitive impairment* ist ein sehr häufiges Syndrom bei älteren Menschen mit einer heterogenen Ätiologie. Die Gedächtnisbeeinträchtigung kann stabil bleiben, jedoch entwickeln ca. 40 bis 60 % der Patienten in den ersten fünf Jahre eine Alzheimer-Krankheit (Hampel et al. 2004).

1.2 Neurodegenerative Erkrankungen

1.2.1 Alzheimer-Krankheit

Die Alzheimer-Krankheit ist eine komplexe neurodegenerative Erkrankung und die häufigste Krankheitsursache für eine Demenz. Zentraler Risikofaktor ist das zunehmende Alter.

Aufgrund des demographischen Wandels wird die Inzidenz der Alzheimer-Erkrankten in den nächsten Jahren vermutlich drastisch zunehmen. Im Jahr 2018 waren schätzungsweise 50 Millionen Menschen an einer Demenz erkrankt, sodass die Differentialdiagnostik demenzieller Erkrankungen zunehmen an Wert gewinnt (Patterson 2018).

Die Alzheimer-Krankheit beginnt wahrscheinlich Jahre bevor die Patienten klinisch auffällig werden (Price und Morris 1999). Das Erkrankungsalter der Alzheimer-Krankheit beträgt im Mittel 78 Jahre. Ein früherer Beginn unter 65 Jahre wird als „präsenile Alzheimer-Krankheit“ bezeichnet. Die Alzheimer-Krankheit ist eine kortikale Demenz, die vor allem durch eine Neugedächtnisstörung und Störung des visuell-räumlichen Denkens gekennzeichnet ist. Alte Erinnerungen und die Persönlichkeit bleiben meist lange erhalten. Die Patienten können anfangs oft eine gute Fassade aufbauen und beginnende Gedächtnisstörungen verbergen. Zusätzlich zu der demenziellen Symptomatik kann es zu psychiatrischen Störungen wie Depression, Angst, Wahn oder Paranoia kommen (Schmidtke 2013). Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit haben eine herabgesetzte Lebenserwartung, wobei Männer eine geringere Lebenserwartung als Frauen haben. Zusätzliche Faktoren, die die Lebenserwartung beeinträchtigen sind eine schwere kognitive Beeinträchtigung, ein abnormales Gangbild, Stürze in der Vorgeschichte, ein Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen (Larson et al. 2004).

Generell kann der Krankheitsverlauf in drei Stadien unterteilt werden: (1) präsymptomatisch, (2) "prodromal" mit leichten Störungen im episodischen Gedächtnis und (3) symptomatisch mit dem Syndrom der Demenz. Während der präsymptomatischen Phase kommt es zu einem allmählichen Verlust von Axonen und Neuronen, welcher sich kaum im Alltag der Betroffenen bemerkbar macht. Der neuronale Verlust führt schließlich zu einer leichten Beeinträchtigung des Gedächtnisses, welche in der Regel progredient ist und schließlich mit einer hohen Wahrscheinlichkeit in eine Demenz mündet (Dubois et al. 2007).

Die Alzheimer-Krankheit lässt sich in eine (häufigere) sporadische und eine familiäre Form einteilen. Die familiäre Form, welche einem autosomal dominanten Erbgang folgt, weist Mutationen im Präsenilin 1 oder 2 Gen und APP-Gen auf. Das Erkrankungsalter ist meist unter 65 Jahre, sodass diese Form auch als Alzheimer-Krankheit mit frühem Beginn (englisch: *early-onset*) beschrieben wird (Schellenberg et al. 1992; Rogaev et al. 1995). Risikofaktoren für das Vorliegen einer familiären Form sind eine positive Familienanamnese und das Vorliegen des Apoε4-Allels auf Chromosom 19 (Strittmatter et al. 1993).

In der Bildgebung kann man bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit eine voranschreitende

Atrophie mehreren Hirnstrukturen (Temporallappens, Hippocampus, Thalamus, Amygdala und Kortex), sowie eine Erweiterung der Seitenventrikel feststellen (Zakzanis et al. 2003).

Die wichtigsten histopathologischen Kennzeichen der Alzheimer-Krankheit sind intraneuronale Neurofibrillenbündel (NFB) und senile Plaques kortikal und perivaskulär. Die senilen Plaques bestehen aus verschiedenen aggregierten Beta-Amyloid Peptiden, wobei vor allem das Peptide Beta-Amyloid 1-42 ($A\beta_{42}$) dominiert. Es gibt Hinweise darauf, dass diese pathologischen Veränderungen bereits vor Beginn von klinischen Zeichen einer Demenz nachweisbar sind (Morris und Price 2001). Daher sind, insbesondere in der Frühdiagnostik der Alzheimer Demenz, Liquormarker dieser histopathologischen Veränderungen von entscheidender Bedeutung. In der Liquordiagnostik zeigen sich unter anderem für die Biomarker Tau, pTau, $A\beta_{42}$ und die $A\beta_{42}/40$ Ratio bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit gravierende Unterschiede zu neurologisch gesunden Menschen (Motter et al. 1995; Galasko et al. 1998; Blennow et al. 2001; Hansson et al. 2006; Zetterberg und Blennow 2013). Die Bedeutung der genannten Biomarker für die Diagnostik einer Alzheimer-Krankheit und zur Unterscheidung zu anderen Demenzen wird auch in der derzeit gültigen Leitlinie der DGN und DGPPN hervorgehoben (DGN und DGPPN 2016).

1.2.2 Vaskuläre Demenz

Unter einer vaskulären Demenz werden alle demenziellen Syndrome zusammengefasst, die auf eine Erkrankung der Hirngefäße zurückführen. Mikro- und makrovaskuläre Erkrankungen werden zusammengefasst (DGN und DGPPN 2016). Die Kriterien einer Vaskuläre Demenz wurden 1993 folgendermaßen definiert (Román et al. 1993):

1. Demenzielles Syndrom nach ICD-10
2. Nachweis einer zerebrovaskulären Erkrankung
3. Zeitlicher Zusammenhang von 1 und 2

Die Demenz aufgrund einer vaskulären Erkrankung liegt in Europa bei 10 - 30 % und ist somit die zweithäufigste Ursache für eine Demenz nach der Alzheimer-Krankheit. Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Die Prävalenz steigt mit zunehmendem Alter (Förstl 2009).

1.2.3 Gemischte Demenz

Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit und einer zusätzlichen, zerebrovaskulären Erkrankung werden nach den aktuellen Leitlinien unter der eigenständigen klinischen Diagnose der „gemischten Demenz“ zusammengefasst. Bei diesem Patientenkollektiv lässt sich sowohl eine Alzheimer-Pathologie als auch eine vaskuläre Pathologie nachweisen. Hinweise für eine Alzheimer-Krankheit sind eine wie bereits zuvor beschriebene klinische Präsentation der Patienten (siehe Kap. 1.2.1) und ein erhöhtes Tau-Protein bzw. ein erhöhtes phosphoryliertes Tau-Protein und ein erniedrigtes A β 42 im Liquor oder ein positiver Amyloid-Nachweis im PET. Mindestens ein Biomarker im Liquor sollte pathologisch verändert sein. Eine vaskuläre Pathologie ist durch einen zurückliegenden Schlaganfall oder durch fokale neurologische Zeichen gekennzeichnet, und muss mittels MR-Diagnostik nachzuweisen sein (Dubois et al. 2014; DGN und DGPPN 2016).

1.2.4 Lewy-Body-Demenz

Die Lewy-Body-Demenz nach der Alzheimer-Krankheit ist die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung. Sie ist definiert durch das Vorkommen zahlreicher Lewy-Körperchen in kortikalen und subkortikalen Nervenzellen. Lewy-Körperchen kommen auch beim idiopathischen Parkinson-Syndrom (Morbus Parkinson, *Parkinson's Disease*) vor (Hansen und Samuel 1997). Lewy-Körperchen enthalten α -Synuklein, ein Protein mit bisher unbekannter Funktion. Mutationen und eine falsche Proteinverarbeitung führen zu einer Akkumulation des Proteins zur Bildung der sogenannten Lewy-Körperchen (Spillantini et al. 1997). Die Lewy-Body-Demenz und das idiopathische Parkinson-Syndrom werden demnach unter dem Begriff der α -Synukleinopathie zusammengefasst (Galvin et al. 2001).

Für die Diagnose der Lewy-Body-Demenz müssen mehrere Kriterien erfüllt sein. Das zentrale klinische Merkmal ist die progrediente Demenz. Weiterhin müssen zwei der folgenden klinischen Kriterien erfüllt sein: Fluktuation der Aufmerksamkeit und Wachheit, wiederkehrende visuelle Halluzinationen oder Parkinsonsymptome ein Jahr vor oder ein Jahr nach Auftreten der Demenz. Die Diagnose wird durch das Vorliegen eines Schenk-Syndroms, einer Neuroleptika-Überempfindlichkeit und einer reduzierten dopaminergen Innervation des Striatums im Liganden-SPECT oder -PET unterstützt. Klinische Symptome wie häufige Stürze, Inkontinenz, autonome Störungen und Bewusstseinsstörungen können hinzukommen. Die Therapie ist rein symptomatisch: Gegen die Parkinson-Symptomatik kann ein Ver-

sich mit einer L-Dopa Therapie unternommen werden und gegen die visuellen Halluzinationen eine Therapie mit Acetylcholinesterasehemmern (Schmidtke 2013; DGN und DGPPN 2016).

Die Lewy-Body-Krankheit kann auch kombiniert mit einer Alzheimer-Pathologie auftreten, als auch genannte Lewy-Body Variante der Alzheimer-Krankheit. Neben kortikalen Lewy-Körperchen zeigen sich typische Alzheimer-Pathologien (Hansen und Samuel 1997; Kraybill et al. 2005). Eine kombinierte Pathologie wird nun auch als eine gemischte Demenz bezeichnet (Dubois et al. 2014). Die Überlappung der Diagnosen Lewy-Body-Demenz, Alzheimer-Krankheit und Morbus Parkinson kann gut durch folgende Graphik (Abbildung 1) veranschaulicht werden.

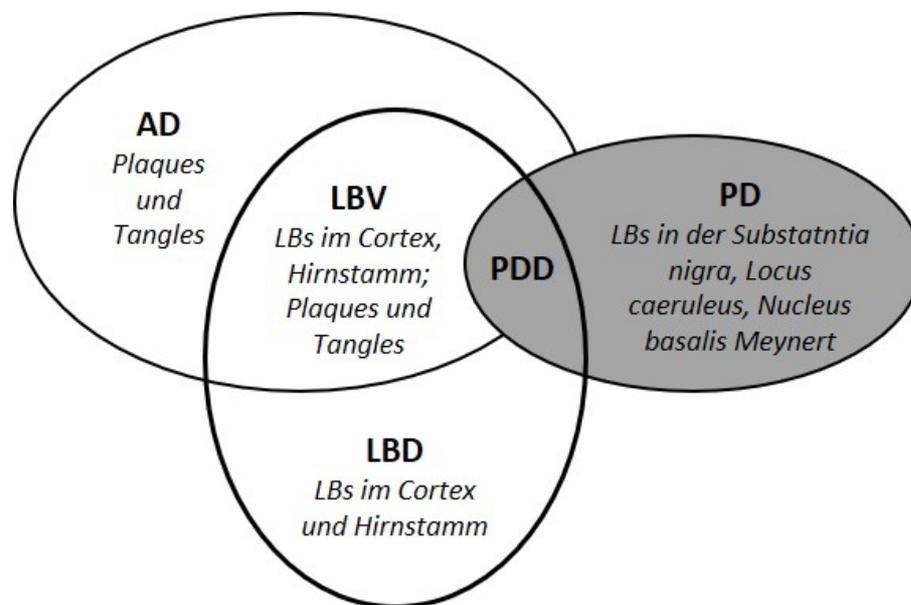


Abbildung 1: Beziehungen zwischen ausgewählten neurodegenerativen Erkrankungen. AD, Alzheimer-Krankheit; LBV, Lewy-Body Variante der AD; LBD, Lewy-Body Demenz; PDD, Morbus Parkinson mit Demenz; PD, Morbus Parkinson; LB, Lewy-Körperchen. (Adaptiert nach Weisman und McKeith 2007. Die Verwendung erfolgte mit freundlicher Genehmigung des Georg Thieme Verlags.)

1.2.5 Normaldruckhydrozephalus

Der Normaldruckhydrozephalus ist durch die Symptomtrias Demenz, Gangstörung und Harninkontinenz charakterisiert. Ursächlich ist eine Liquor-Resorptionsstörung. Man unterscheidet eine idiopathische und eine sekundäre Form. Beim idiopathischen Normaldruckhydrozephalus ist die Genese unbekannt. Er tritt zwischen dem sechsten und siebten Le-

bensjahrzehnt auf. Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Der sekundäre Normaldruckhydrozephalus kann nach einer Subarachnoidalblutung, einer Meningitis oder auch postoperativ nach Tumorresektion auftreten (Ågren-Wilsson et al. 2007; Schmidtke 2013).

In der Bildgebung kann man eine Erweiterung der inneren Liquorräume feststellen. Zur Diagnostik wird ein Liquor-Ablassversuch unternommen. Hierbei werden 30 - 50ml Liquor durch eine lumbale Punktion abgelassen. Innerhalb weniger Tage sollte es zur Besserung der Symptomatik kommen, was die Diagnose bestätigt. Therapeutisch profitieren die Patienten von einer ventrikulo-peritonealen oder -atrialen Shuntanlage (Black 1980; Walchenbach et al. 2002).

1.3 Liquordiagnostik

Der Liquor cerebrospinalis kann zur Diagnostik neurologischer Erkrankungen herangezogen werden. Der Liquor ist eine sensitive und spezifische Quelle, um Veränderungen der Protein-Konzentrationen bei neurodegenerativen Erkrankungen festzustellen. Durch den Liquorbefund kann der Verdacht auf eine neurologische Erkrankung bestätigt oder ausgeschlossen werden. Die Punktion des Liquors erfolgt lumbal zwischen dem dritten oder vierten Lendenwirbel. Für den klinischen Alltag wird zur Lumbalpunktion die atraumatische Sprotte® -Kanüle gewählt, da seltener post-punktionelle Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen zu beobachten sind (Peskind et al. 2009). Im Normalbefund ist der Liquor klar, enthält keine Zellen und nur eine geringe Eiweißkonzentration.

In der Demenzdiagnostik soll der Liquorbefund vor allem eine entzündliche Ursache der Symptomatik ausschließen. Ist diese ausgeschlossen, so kann eine Messung der für die Alzheimer-Krankheit typischen biologischer Marker erfolgen. Die Alzheimer-Pathologie ist gekennzeichnet durch eine Amyloid-Ablagerungen und eine Neurodegeneration bzw. neuronale Schädigung, welche durch spezielle Sandwich-ELISA detektiert werden kann. Als Marker für eine Amyloid-Deposition gilt ein erniedrigtes Beta-Amyloid 1-42 (A β 42) im Liquor, als Marker für eine neuronale Schädigung das Tau-Protein und/oder das phosphorylierte Tau-Protein. Ein positiver Befund erhöht die Wahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen einer Alzheimer-Krankheit (DGN und DGPPN 2016). Diese Biomarker weisen eine Sensitivität und eine Spezifität von jeweils mehr als 80 % auf (Blennow et al. 2001).

In den letzten Jahren wurden beide Marker weltweit zur Diagnostik und zu Forschungszwecken herangezogen und bei einer Vielzahl an Patienten gemessen. Allerdings wurden ELISA

verschiedener Anbieter genutzt, was zu einer großen Variabilität der Messergebnisse zwischen den verschiedenen Laboren führt, sodass ein Vergleich der gewonnenen Daten zwischen verschiedenen Liquor-Laboren massiv erschwert wird. Da es noch keine einheitlichen Grenzwerte gibt, muss jedes Labor eigene Grenzwerte und Referenzbereiche ermitteln. Hierzu wird, wie auch in dieser Dissertation, der Liquor ausgewählter, gut charakterisierter Patienten genutzt. Da dies nur mit innerklinischen Proben möglich ist, ist dieses Verfahren oft zeitaufwändig und teuer (Blennow et al. 2015). Um die Biomarker-Analyse zu optimieren und den diagnostischen Wert der Biomarker zu erhöhen, wurden bereits gewisse Standardarbeitsverfahren, sogenannte *standard operating procedures* (SOPs), für Probenverarbeitung, Labortechniken und Anwendung der verwendeten Testkits entwickelt, um mögliche Störfaktoren gering zu halten (Mattsson et al. 2011; del Campo et al. 2012). Als prä-analytische und biologische Störfaktoren werden Reagenzgläser aus Polystyrol (Lewczuk et al. 2006) und eine verlängerte Lagerzeit (Bibl et al. 2004) genannt. Die Einführung standardisierter Messverfahren und leistungsstärkerer Kits könnte die Variabilität verringern (Mattsson et al. 2011). Eine Standardisierung der angewandten Methode könnte einen Vergleich der Messergebnisse zwischen und innerhalb der Labore und somit die Festlegung einheitlicher Grenzwerte zur Diagnostik der Alzheimer-Krankheit ermöglichen (Blennow et al. 2015). Folglich gibt es Bestrebungen, die diagnostischen Verfahren in der Demenzdiagnostik zu optimieren. Die Alzheimer's Association hat hierzu ein weltweites Qualitätsmanagement-Programm eingeführt. Das Qualitätsmanagement-Programm hat zum Ziel die Ursachen für die Variabilität der Messergebnisse aufzudecken und schließlich eine standardisierte Methodik zu etablieren (Blennow et al. 2010).

1.3.1 Gesamt-Tau und phosphoryliertes-Tau

Tau ist ein Mikrotubuli-assoziiertes Protein (Weingarten et al. 1975), das reichlich im zentralen Nervensystem vorhanden ist und überwiegend in Axonen exprimiert wird (Binder et al. 1985). Die menschlichen Tau-Proteine werden von einem einzelnen Gen kodiert (Neve et al. 1986). Daraus können sechs Tau-Isoformen entstehen (Goedert et al. 1989). Es gibt 79 potentielle Serin- (Ser) und Threonin (Thr)-Phosphat-Akzeptorreste in der längsten Tau-Isoform. Eine Phosphorylierung ist an ca. 30 Stellen eines normalen Tau-Proteinen möglich (Billingsley und Kincaid 1997). Durch eine pathologische Hyperphosphorylierung der gepaarten helikalen Tau-Filamente (PHF) können diese zu intraneuralen Neurofibrillenbündeln (NFB), auch *tangles* genannt, aggregieren (Grundke-Iqbal et al. 1986; Kosik et al. 1986; Wood et al. 1986).

Das Protein löst sich durch die Phosphorylierung von den Mikrotubuli. Die Mikrotubuli werden instabil und der axonale Transport beeinträchtigt (Bramblett et al. 1993). NFB zählen zu den typischen Hirnläsionen der Alzheimer-Krankheit (Grundke-Iqbal et al. 1986).

Das Tau-Protein lässt sich im Liquor nachweisen. Da die Konzentrationen von Tau im Liquor sehr gering sind, muss die Nachweismethode jedoch sehr empfindlich sein (Vandermeeren et al. 1993). Bei mehreren neurodegenerativen Erkrankungen sind die Tau Proteine im Vergleich zu einem gesunden Kontrollkollektiv im Liquor erhöht. So zeigen sich sowohl bei der Alzheimer-Krankheit (Vandermeeren et al. 1993; Blennow et al. 1995; Arai et al. 1998a; Hulstaert et al. 1999; Andreasen et al. 2001), als auch bei der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit im Vergleich zu Gesunden stark erhöhte Werte im Liquor (Otto et al. 1997). Diese Erkrankungen werden daher auch Tauopathien genannt. Zu den Tauopathien gehören außerdem neurologische Krankheitsbilder wie der Morbus Pick, die Frontotemporale-Demenz, die progressive supranukleäre Blickparese und die Corticobasale Degeneration (Lee et al. 2001). Bei der vaskulären Demenz, Lewy-Body-Demenz und Frontotemporalen Demenz hingegen ist die Studienlage weniger eindeutig. Hier wurden erhöhte und normale Tau-Konzentrationen im Liquor gemessen (Blennow et al. 1995; Arai et al. 1998b; Green et al. 1999; Buerger et al. 2002; Gloeckner 2010; Kaerst et al. 2013).

Neben Gesamt-Tau kann man phosphoryliertes-Tau (pTau) im Liquor bestimmen. PTau zeigt sich ebenfalls erhöht bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit (Hampel et al. 2010). Der Nachweis erfolgt in der Regel über spezifische Antikörper, welche an bestimmte, phosphorylierte Abschnitte der Tau-Aminosäuresequenz binden. Bei der Alzheimer-Krankheit konnten charakteristische Phosphorylierungen (p-Tau181, -199 und -231) nachgewiesen werden. PTau-181 und pTau-231 ermöglichen zudem eine verhältnismäßig zuverlässige Unterscheidung von Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit von einer Kontrollgruppe oder auch von Patienten mit einer Lewy-Body-Demenz, einer vaskulärer Demenz, einem Normaldruckhydrozephalus und Frontotemporalen Demenz (Parnetti et al. 2001; Buerger et al. 2002; Grossman et al. 2005; Kapaki et al. 2007; Bian et al. 2008).

1.3.2 Amyloid-Peptide

A β 42 und A β 40 entstehen durch enzymatische Spaltung aus dem ubiquitären Membranprotein *amyloid precursor protein* (APP) durch transmembranöse Endoproteasen. Während die genaue Funktion dieses Vorläuferproteins bisher nicht bekannt ist, wurde den Endoproteasen eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Alzheimer-Krankheit zugeschrieben. APP kann

von der α - oder der β -Sekretase gespalten werden. Wird APP durch die α -Sekretase APP gespalten, entsteht lösliches (*soluble*) α -sAPP (Esch et al. 1990). Nur ein geringer Teil der APP-Moleküle werden über die α -Sekretase modifiziert. Die α -Sekretase ist wahrscheinlich eine Membran-verankerte Protease, die in der Lage ist, verschiedene Transmembranproteine zu spalten (Sisodia 1992; Ahmad et al. 2019). Wenn APP durch die β -Sekretase metabolisiert wird, entsteht das lösliche β -sAPP. β -sAPP kann anschließend an zwei verschiedenen Stellen durch die γ -Sekretase geteilt werden und es entsteht A β 42 oder A β 40. Die C-terminalen Heterogenität kommt durch die Ungenauigkeit der γ -Sekretase zustande. Eine Vielzahl an verschiedene A β -Peptide kann entstehen. Die häufigsten Peptide enden an Position 40 (A β 40) (\sim 80 - 90 %) und an Position 42 (A β 42, \sim 5 - 10 %). Insbesondere A β 42 ist hydrophob und fibrillogen, wodurch es leicht aggregieren und sich im Gehirn zu senilen Plaques ablagern kann (Selkoe 2001). Diese senilen Plaques können neurotoxisch wirken (Yankner et al. 1990; Kowall et al. 1991). Sie sind an der Entstehung der sporadischen Alzheimer-Krankheit beteiligt (Iwatsubo et al. 1994). Die Aktivität der β -Sekretase ist bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit signifikant erhöht (Holsinger et al. 2002). In der Literatur wurden Amyloid-Ablagerungen kortikal und perivaskulär als erstes bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit und Down-Syndrom beschrieben (Glennier und Wong 1984).

Die γ -Sekretase besteht aus vier Proteinuntereinheiten (APH1, PEN2, Nicastrin, und Präsenilin (PS1 oder PS2)) und ist eine weitere wichtige Schnittstelle bei der Entstehung der Alzheimer-Krankheit (de Strooper 2003). Missense-Mutationen in den Präsenilin-Genen sind die häufigste Ursache für die familiären Form der Alzheimer-Krankheit (Scheuner et al. 1996). Unter einer Missense-Mutation versteht man eine Punktmutation, die zum Einbau einer falschen Aminosäure in das Protein führt. Die Mutationen sind über die Präsenilin-Gene verteilt und verändern das Protein maßgebend in seiner biochemischen Struktur. Es kommt zu einer relativen Zunahme der A β -Peptide (Scheuner et al. 1996). Mutationen im Präsenilin-1-Gen auf Chromosom 14 und dem Präsenilin-2-Gen auf Chromosom 1 folgen dem autosomalen Erbschema und erhöhen das Risiko für eine frühe Alzheimer-Krankheit (Schellenberg et al. 1992; Rogaev et al. 1995). Mutationen im APP-Gen auf Chromosom 21 wurden nur selten bei der familiären Form gefunden (Goate et al. 1991).

Biochemische und in vitro Modelle zeigen, dass die Anhäufung des A β -Peptids insbesondere in der präklinischen Phase der Erkrankung eine Rolle spielt. Anders das Tau-Protein: Es führt zu einer Neurodegeneration während und kurz vor der klinischen Phase (Hardy und Selkoe 2002). In der präklinischen Phase der Alzheimer-Krankheit akkumulieren senile

Plaques und NFB über etwa 10 - 15 Jahre, bevor es zu einem neuronalen Verlust und einer kognitiven Verschlechterung kommt (Morris und Price 2001).

1.3.3 Transthyretin

Transthyretin (TTR) ist ein homotetrameres Protein mit einem molekularen Gewicht von 55 kDa (Blake und Oatley 1977). Es wird vor allem in der Leber und im Plexus choroideus synthetisiert (Dickson et al. 1985). Die Transportfunktionen des Proteins für die Thyroidhormone und Retinol sind bereits gut erforscht. Es werden weitere wichtige Funktionen für das zentrale Nervensystem angenommen und eine neuroprotektive Wirkung vermutet. TTR wurde 1942 zum ersten Mal im Serum (Seibert und Nelson 1942) und im Liquor (Kabat et al. 1942) beschrieben. Zunächst wurde TTR Präalbumin genannt, da es in der Serumelektrophorese vor die Albuminfraktion wandert. 1958 wurde die Transportfunktion für die Thyroxine belegt, sodass es den Namen Thyroxin-bindendes Präalbumin (TBPA) erhielt (Ingbar 1958). Weitere Forschungen ergaben 1968, dass TBPA einen Komplex mit dem Retinol-bindenden-Protein eingeht, um Retinol zu transportieren (Kanai et al. 1968). Schließlich wurde 1981 durch die International Union of Biochemistry der Begriff „Transthyretin“ für diese Protein festgelegt: *TRANSport of THYroid hormones and RETinol-binding-protein*. Anhand des Namens soll die Proteinfunktion ersichtlich werden (Journal of Biological Chemistry 1981).

Des Weiteren interagiert TTR im Lipidstoffwechsel. Apolipoprotein A-I (ApoA1) ist Teil der Lipoproteine hoher Dichte (HDL) und ermöglicht den Transport von HDL im Blut. Eine Fraktion von Plasma-TTR zirkuliert im HDL und interagiert mit dem gebundenen ApoA1 (Sousa et al. 2000). Wenn TTR ApoA1 spaltet, kann der Stoffwechselprozess des HDL und somit die Entwicklung von Arteriosklerose reduziert werden kann (Liz et al. 2007).

In vitro Studien zeigten, dass die TTR-Konzentration mit einer Plasma-Konzentration von 170 - 240 mg/l im Serum etwa zehnmal höher ist als im Liquor (Ingenbleek und Young 1994, Vatassery et al. 1991). Beim Menschen wird 90 % des TTR im Serum in der Leber produziert, allerdings sinkt im höheren Alter die TTR-Konzentration im Serum (Ingenbleek und De Visscher 1979). Der Hauptsyntheseort TTRs im Liquor sind die epithelialen Zellen des Plexus choroideus (Aleshire et al. 1983). Im Liquor liegt die TTR-Konzentration bei 5 - 20 mg/l (Vatassery et al. 1991).

Dass TTR eine Rolle bei der Alzheimer Krankheit spielt, wurde schon in einigen Studien angenommen. Erniedrigte TTR-Konzentrationen konnten bei Patienten mit Alzheimer-

Krankheit gefunden werden (Serot et al. 1997b; Merched et al. 1998; Gloeckner 2010; Wang et al. 2016). Im Mittel lag die Konzentration von TTR im Liquor bei 17,5 mg/l (Serot et al. 1997b). Es bindet die A β -Peptide und schützt somit vor der Fibrillenbildung (Schwarzman et al. 2005). Der genaue Mechanismus ist noch nicht genug erforscht.

Veränderungen des TTR-Proteins können zu der Entstehung der Transthyretin-Amyloidose führen. Amyloidosen können erworbenen oder hereditär auftreten. Es kommt hierbei zu Amyloidablagerungen in den Organen wie Herz und Nervengewebe, die schädlich für das Organ sind. Die Transthyretin-Amyloidose ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, die sich in den Erwachsenenaltern manifestieren. Mutationen im Transthyretin-Gen führen zu einer Instabilität des Proteins, die eine Fehlfaltung begünstigt. Durch die Fehlfaltung lagern sich Amyloid-Fibrillen in unterschiedlichen Organen ab (Park et al. 2019). Erstmals wurde die erbliche Form der Transthyretin-Amyloidose bei einer Familie in Portugal beschrieben, deren Mitglieder erste klinische Symptome (wie Kribbelparästhesien, Paresen, gastrointestinale Beschwerden, Blasen- und Mastdarmlstörungen) bereits im mittleren Erwachsenenalter entwickelten. Diese hereditäre Amyloidose wurde Familiäre Amyloid-Polyneuropathie vom Portugiesischen-Typ (FAP I) bezeichnet (Andrade 1952). Am häufigsten wurde bei der FAP I die Punktmutation Val30Met im TTR-Gen beschrieben (Coelho et al. 2013), jedoch wurden eine Vielzahl weitere Mutationen gefunden (Sekijima et al. 2012).

1.4 Mini-Mental-Status-Test

Der Mini-Mental-Status-Test (MMST) ist ein wichtiges Verfahren in der Demenzdiagnostik zur Ermittlung kognitiver Defizite und ihrer Verlaufsbeobachtung. Er ist ein Kurztest und wird als Orientierungshilfe zur Schweregradeinteilung der Alzheimer Demenz herangezogen. Der Test besteht aus mehreren Aufgabenkomplexen: zeitliche und räumliche Orientierung, Merk- und Erinnerungsfähigkeit, Aufmerksamkeit, Sprache und Sprachverständnis, Lesen, Schreiben, Zeichnen und Rechnen. Es können maximal 30 Punkte erreicht werden (Folstein et al. 1975). Die aktuellen Leitlinien von 2015 teilen die Alzheimer Erkrankung anhand der im MMST erreichten Punktzahl in folgende Stadien ein:

- MMST > 26 Punkte: Kein Hinweis auf Alzheimer-Demenz
- MMST 20 - 26 Punkte: Leichte Alzheimer-Demenz
- MMST 10 - 19 Punkte: Mittelschwere Alzheimer-Demenz
- MMST < 10 Punkte: Schwere Alzheimer-Demenz

1.5 Bildgebende Verfahren

Derzeit werden konventionelle cCT oder cMRT Untersuchungen zur Differenzialdiagnostik empfohlen. Die Bildgebung soll andere Ursachen und behandelbaren Krankheiten, wie beispielsweise Tumore, einen Normaldruckhydrozephalus oder ein entzündliches Geschehen, ausschließen. Auch vaskuläre Veränderungen können mittels cCT oder cMRT aufgedeckt werden (DGN und DGPPN 2016).

1.6 Fragestellung

Die Liquordiagnostik rückt immer weiter in den Vordergrund der Alzheimer-Diagnostik. Die derzeitigen Leitlinien beschreiben ein typisches Liquorprofil für eine Alzheimer-Pathologie als eine erhöhte Konzentration der Tau- und pTau-Proteine und beziehungsweise oder eine Verminderung der A β 42-Konzentrationen (DGN und DGPPN 2016). Anhand dieses speziellen Liquorprofils können Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit von gesunden Kontrollgruppen oder auch von anderen neurodegenerativen Erkrankungen abgegrenzt werden. Testkits zur Messung dieser Parameter werden durch verschiedene Firmen angeboten. Derzeitige Marktführer sind die Firmen EUROIMMUN, Fujirebio Europe N.V., IBL International und Roche. Sie werben mit einer automatisierten Abarbeitung der ELISAs. Dadurch verkürzt sich die Testdauer und unterschiedliche ELISAs können parallel abgearbeitet werden. Zudem sollen dadurch analytische Störfaktoren ausgeschaltet werden.

Eine standardisierte Methodik zur Probenverarbeitung, Messung- und Auswertung der Testergebnisse sowie Handhabung der Testkits ist derzeit dabei sich zu etablieren (Mattsson et al. 2011; del Campo et al. 2012; Blennow et al. 2015). Einheitliche Grenzwerte stehen nicht zur Verfügung. Neurochemische Labore definieren ihre Grenzwerte anhand eines ausgewählten Probenkollektivs, folglich können sich die Grenzwerte zwischen verschiedenen Laboren deutlich unterscheiden. Oft ändert sich auch die Methodik und neuere Testkits kommen auf den Markt. Durch eine neue Methodik und neue, leistungsfähigere Testkits, müssen die Grenzwerte neu ermittelt werden.

Innerhalb dieser Dissertation werden die Testkits zweier Anbieter miteinander verglichen. Es wird geprüft inwieweit sich die Messergebnisse der Testkits für Tau, A β 42 und A β 40 der Firmen Fujirebio Europe N.V. und IBL International am selben Patientenkollektiv unterscheiden. Anschließend wurden Grenzwerte zur Abgrenzung einer gesunden Kontrollgruppe und anderen neurodegenerativen Erkrankungen mittels *receiver operating characteristic* (ROC) errechnet. In einer weiteren Analyse wurde das Liquorprofil von Alzheimer-Patienten

mit unterschiedlichen Demenzschweregraden gegeneinander aufgetragen. Die Schweregrad-einteilung erfolgte anhand des MMST. Ferner wurde geprüft, wie sich das Protein Transthyretin im Liquor und Serum bei an der Alzheimer-Krankheit erkrankten Patienten verhält, da in der Literatur erniedrigte Konzentrationen bei Alzheimerpatienten beschrieben wurden (Serot et al. 1997b; Merched et al. 1998; Gloeckner 2010; Wang et al. 2016).

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Die vorliegende Dissertation ist eine retrospektive Studie. Das Patientenkollektiv stammt von Liquorpunktionen neurologischer Patienten der Universitätsmedizin Göttingen (UMG), die sich zu diagnostischen Zwecken im Zeitraum vom Oktober 2014 bis August 2017 in stationärer oder ambulanter Behandlung befanden. Des Weiteren wurden Patientenproben der Prionen-Forschungsgruppe Göttingen verwendet. Insgesamt wurden 467 Proben mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen in einer Datenbank gesammelt. Alle Proben wurden anhand von diagnostischen Lumbalpunktionen gewonnen und umgehend nach Entnahme in das Neurochemische Labor der UMG gebracht und verarbeitet. Zu jeder gemessenen Probe wurde eine Rückstellprobe erstellt, damit jederzeit weitere Messungen vorgenommen oder wiederholt werden können (Standardvorgehen). Die Rückstellproben wurden bei - 80 Grad in Eppendorf Gefäßen eingefroren und gelagert. Messtechniken oder Geräte des Labors änderten sich in dem oben genannten Zeitraum nicht. Testergebnisse, die außerhalb des Messbereichs lagen, konnten für die Analytik nicht verwendet werden, siehe Abbildung 2.

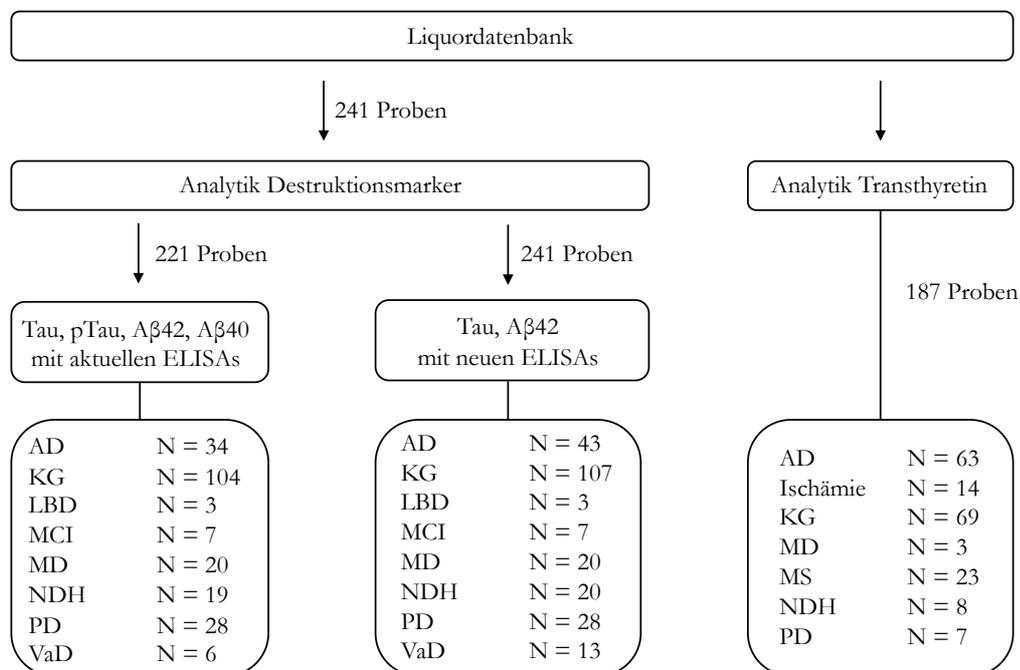


Abbildung 2: Flussdiagramm Patientenkollektiv. AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Körperchen-Demenz; MCI, *mild cognitive impairment*; MD, Mischdemenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

2.2 Die Gewinnung der Daten

Die notwendigen Patientendaten und Informationen zu Diagnosen und Krankheitsverläufen sowie Angaben zu weiteren diagnostischen Untersuchungen wurden mit Hilfe des Krankenhaus-Informationssystems „Xserv“ herangezogen und in eine Microsoft Excel Datenbank übertragen. Die Patientendaten wurden mittels einer fortlaufenden Zahlenfolge anonymisiert. Neben den Parametern der Liquorbefunde wurde das Punktionsdatum, Alter der Patienten zur Zeit der Punktion, Geschlecht sowie Haupt- und Nebendiagnosen in die Statistik aufgenommen. Auch kardiovaskuläre Risikofaktoren (wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie, Nikotinabusus, positive Familienanamnese), Hypo- und Hyperthyreose, rezidivierende Thrombosen, Hyperurikämie und weitere Vorerkrankungen sowie der Befund der körperlichen Untersuchung wurden berücksichtigt. Bildgebende Befunde (cMRT) und neurophysiologische Testungen (MMST, DemTect, MOCA, ZOPS) wurden zur Diagnosesicherung hinzugezogen. Die klinische Symptomatik sowie die Beeinträchtigungen der Patienten hinsichtlich Kurzzeit- oder Gedächtnisstörungen, Gangstörung, Rigor, Tremor, Depression, Paresen, Myoklonien, Ataxie, Dysarthrie, Bettlägerigkeit, Halluzinationen, Pyramidenbahnzeichen und Hypokinesie wurden anhand der neurologischen Untersuchung erfasst. In Zusammenschau der Befunde ließen sich die Hauptdiagnosen jeweils bestätigen.

Durch die Sammlung der Proben über den angegebenen Zeitraum konnten folgende Diagnosegruppen gebildet werden: Alzheimer-Krankheit, Lewy-Body-Demenz, Ischämie, Kontrollgruppe, *mild cognitive impairment*, Mischdemenz, Multiple Sklerose, Normaldruckhydrozephalus, Morbus Parkinson und vaskuläre Demenz. Bei der Kontrollgruppe handelte es sich um Patienten mit Kopfschmerzen, Schwindel, Depressionen, Spinalkanalstenosen, Paresen oder Hypästhesie ohne anhaltende neurologische Störungen.

2.3 Messungen

Neben den Routineparametern wurden die neuronalen Destruktionsmarker und TTR bestimmt. Zu den Destruktionsmarkern zählen Gesamt-Tau, pTau, pTau rel, A β 42 und A β 40. Es wurden ELISA Kits der Firma Fujirebio und IBL verwendet. Zu den Routineparametern zählen: Zellzahl, Laktat- und Glucosekonzentration, Erythrozytenzahl, Hb, Gesamtprotein, Albuminquotient, intrathekale IgG-, IgM- und IgA-Produktion, oligoklonale Banden, Beschaffenheit, Masern-, Röteln-, VZV-, HSV- und Borrelien-Antikörperindices.

2.3.1 ELISA-Verfahren

ELISAs sind *enzyme-linked immunosorbent assay*, die zum immunologischen Nachweis bestimmter Zielsubstanzen dienen. Auf einer Mikrotiter Platte sind spezifische monoklonale Antikörper immobilisiert. Diese binden ein bestimmtes Antigen einer Probelösung. Daraufhin wird das gebundene Antigen von einem weiteren monoklonalen, spezifischen Antigen bindenden Antikörper erkannt. Dieser Antikörper hat ein Substrat gebunden, welches durch die Kopplung in ein detektierbares Endprodukt umgewandelt wird. Mittels eines Fotometers kann die optische Dichte der Probelösung gemessen werden, welche proportional zur Konzentration des Proteins ist. Zu jeder Messreihe wird eine Eichkurve mittels eines Standards erstellt. Über diese Eichkurve kann dann die Konzentration des zu messenden Antigens berechnet werden.

2.3.2 Bestimmung von Gesamt-Tau im Liquor

Es wurde eine ELISA-Methode zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an Tau-Protein im Liquor verwendet. Als Testkits wurden der INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. aus der Routinemessung und hTAU total ELISA AJ Roboscreen GmbH (vertrieben durch IBL International GmbH) genutzt.

2.3.3 Bestimmung von Beta-Amyloid 1-42 im Liquor

Es wurde eine ELISA-Methode zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an Beta-Amyloid 1-42 im Liquor verwendet. Als Testkits wurden der INNOTEST® β -AMYLOID(1-42) von Fujirebio Europe N.V. aus der Routinemessung und der Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH genutzt.

2.3.4 Bestimmung von Beta-Amyloid 1-40 im Liquor

Es wurde eine ELISA-Methode zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an Beta-Amyloid 1-40 im Liquor verwendet. Als Testkit wurde das alte und neue Kit des Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (RE59651) von IBL International GmbH genutzt.

2.3.5 Bestimmung von phosphorylierten Tau-Fraktionen im Liquor

Es wurde eine ELISA-Methode zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an phosphorylierten Tau-Fraktionen im Liquor verwendet. Es wird speziell die Phosphorylierung in der 181 Position der Aminosäure gemessen. Als Testkit wurde der INNOTEST® PHOSPHO-

TAU (181P) von Fujirebio Europe N.V. aus der Routinemessung verwendet.

2.3.6 Bestimmung der nicht phosphorylierten Tau-Fractionen

Es wurde eine ELISA-Methode zur quantitativen Bestimmung der nicht phosphorylierten Sequenzen am Tau Protein verwendet. Hierbei wurden die nicht-phosphorylierten Sequenzen in den Positionen 175, 181 und 231 des Tau Proteins gemessen. Als Testkit wurde der pTAU rel ELISA von AJ Roboscreen vertrieben durch die Firma IBL verwendet. Das Messverfahren des Testkits hat sich im Verlauf der Studie geändert und das alte Testkit war nicht mehr erhältlich, sodass das Patientenkollektiv kleiner als bei den anderen Marker ist.

2.3.7 Bestimmung von Transthyretin

Transthyretin wurde im Serum und im Liquor bestimmt. Die quantitative Bestimmung erfolgte anhand einer immunchemischen Nephelometrie. Es wurden die Testkits und das BN ProSpec[®] System der Firma Siemens genutzt. Bei den Testkits handelt es sich um N Antisera gegen Transthyretin. Die Nephelometrie ist eine Trübungsmessung. Es wird die Streuung des Lichtes an den Antikörper-Antigen-Komplexen gemessen. Aus der Intensität des Streulichtes ergibt sich die Konzentration des Proteins.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von Microsoft[®] Excel Version 15.38, IBM[®] SPSS[®] Statistics für Mac, Version 15.0 (IBM Corp., Armonk, New York USA) sowie GraphPad Prism Version 8.0.0 für Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com).

Es wurde das Verhältnis der Destruktionsmarker für verschiedenen neurologische Erkrankungen untersucht. Es ergaben sich zwei Kohorten, die nacheinander beschrieben wurden. Im ersten Teil wurde näher auf die Marker Tau, pTau, pTau rel, A β 42, A β 40 und die A β 42/40 Ratio eingegangen, im zweiten Teil auf TTR. Für jede Diagnosegruppe wurden der Mittelwert, Median, Standardabweichung sowie minimal und maximal Werte berechnet. Die Ratio A β 42/40 errechnete sich wie folgt:

$$A\beta - Ratio = \frac{A\beta 42}{A\beta 40} \times 10$$

Die Testwerte für A β 42 und A β 40 stammten von derselben Probe. Um signifikante Unter-

schiede zwischen den Gruppen nachzuweisen, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) oder ein Mehrfachvergleich nach genutzt. P-Werte $< 0,5$ galten als signifikant.

Des Weiteren sollte die Vergleichbarkeit der beiden Testkits (IBL und Fujirebio) für Tau und A β 42 untersucht werden. Es wurde die Korrelation nach Pearson gewählt. Bei einem Korrelationskoeffizienten von $- / + 1$ bestand ein linearer Zusammenhang. Bei einem Wert von 0 wurde kein linearer Zusammenhang angenommen.

Weiterhin wurden die Grenzwerte zur Darstellung der Trennschärfe der Marker anhand einer ROC-Analyse berechnet. Hierbei wurde die Richtig-Positiv-Rate (= Sensitivität) gegenüber der Falsch-Positiven-Rate (= $1 -$ Spezifität) in Prozent aufgetragen. Als optimaler Cut-off wurde in dieser Studie der Youden-Index gewählt (Youden-Index = [Sensitivität + Spezifität] - 1). Die *area under the curve* (AUC) entspricht der Fläche unter der Kurve und ist ein Maß für die Güte eines Tests. Die Fläche nimmt Werte zwischen 0,5 und 1 an. Ein höherer Wert spricht somit für eine bessere Güte. So können unterschiedliche Diagnosegruppen zueinander in Bezug gesetzt und anhand eines Parameters getrennt werden.

2.5 Einteilung der Demenz bei Alzheimer-Krankheit nach dem Mini-Mental-Status-Test

Der Mini-Mental-Status-Test (MMST) wurde zur Schweregradeinteilung für Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit verwendet. Bei einigen Patienten wurde im stationären Aufenthalt der MMST erhoben, sodass eine Schweregradeinteilung vorgenommen werden konnte. Es erfolgte eine Einteilung der Demenz in drei Schweregrade: leicht (20 - 26 Punkte), mittel (10 - 19 Punkte) und schwer (< 10 Punkte) Anhand dieser Einteilung konnte der Verlauf für die Destruktionsmarker Tau, A β 42, pTau und für die A β 42/40 Ratio in Abhängigkeit der Schweregrade der Alzheimer-Demenz untersucht und grafisch dargestellt werden. Da es sich bei dieser Studie um eine retrospektive Studie handelt, ist die Einteilung nur Anhand der schriftlichen Ergebnisse der Arztbriefe oder psychopathologischen Untersuchungsberichten erfolgt. Im Falle der anderen neurodegenerativen Erkrankungen mit Demenz konnte aufgrund unzureichender Informationen keine Einteilung nach Schweregraden vorgenommen werden.

2.6 Tabellen, Graphiken und Text

Alle Tabellen dieser Studie wurden mit dem Programm Microsoft® EXCEL Version 15.38

erstellt. Zur graphischen Darstellung der Ergebnisse wurden IBM ® SPSS ® Statistics für Mac, Version 15.0 (IBM Corp., Armonk, New York USA), Microsoft ® EXCEL Version 15.38, GraphPad Prism Version 8.0.0 für Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com) und Microsoft ® Power Point Version 15.38 verwendet. Die Ergebnisse der Arbeit wurden mittels Microsofts ® Word Version 15.38 zusammengefasst und weiterbearbeitet.

2.7 Ethikvotum

Die Ethik-Kommission der Universitätsmedizin Göttingen hat in der Sitzung vom 19.10.2017 unter Vorsitz von Prof. Dr. Brockmöller die Studie beraten und zustimmend bewertet (Antragsnummer 18/8/15).

3 Ergebnisse

In der Literatur sind erniedrigte Konzentrationen für A β 42 und erhöhte Konzentrationen für Tau oder pTau im Liquor bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit oder Lewy-Body-Demenz beschrieben, welche durch die im Folgenden ausführlich dargestellte Analytik geprüft wurden. Die Ermittlung der Proteinkonzentrationen im Liquor erfolgte mittels spezieller *sandwich* ELISAs. Hersteller wie Fujirebio N.V., IBL oder Roche vertreiben ELISA Testkits zur Ermittlung der Proteinkonzentrationen im Liquor. In der vorliegenden Dissertation wurden Liquorproben verschiedener Patientenkollektive mit Testkits der Firma Fujirebio N.V. und IBL untersucht. Es gilt zu prüfen inwieweit sich eine Variabilität der Messergebnisse für Tau, pTau, A β 42 und A β 40 im Liquor ergibt, wenn eine Probe mit dem ELISA der Firma Fujirebio N.V. oder IBL verarbeitet wird. Es soll veranschaulicht werden, dass Grenzwerte individuell für jeden ELISA anhand gut charakterisierter Patientenkollektive ermittelt werden müssen. Für diese Untersuchung wurden Liquorproben von verschiedensten Patienten über zwei Jahre gesammelt. Für Gesamt-Tau wurden der ELISA INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. mit dem hTAU total ELISA AJ Roboscreen GmbH vertrieben durch IBL verglichen. Für Beta-Amyloid 1-42 wurde der ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. mit dem Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH verglichen.

Anschließend wurden folgende Diagnosegruppen gewählt und genauer betrachtet: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, Lewy-Body-Demenz, *mild cognitive impairment*, gemischte Demenz, Normaldruckhydrozephalus, Morbus Parkinson und vaskulärer Demenz. In der Gruppe der Patienten mit einem Morbus Parkinson wurden Patienten ohne eine kognitive Beeinträchtigung und mit einer beginnenden demenziellen Entwicklung zusammengefasst.

Die Liquorbiomarker Gesamt-Tau, phosphoryliertes-Tau, A β 42 und A β 40 sowie die A β 42/40 Ratio wurden innerhalb dieser Gruppen verglichen. Dann wurden die Grenzwerte für die Alzheimer-Krankheit in der differentialdiagnostischen Abgrenzung zu anderen neurodegenerativen Erkrankungen und in Abgrenzung zu einer Kontrollgruppe analysiert.

Weiterhin wurde der Biomarker Transthyretin im Serum und im Liquor als potentieller Marker für die Diagnostik der Alzheimer-Krankheit untersucht, da in der Literatur erniedrigte Konzentrationen bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit beschrieben wurden. Dies gilt es ferner zu überprüfen. Weitere Ergebnisse sind in Form von Tabellen und Abbildungen im Anhang zu finden.

3.1 ELISA Vergleich zweier unterschiedlicher Hersteller

3.1.1 Gesamt-Tau im Liquor

Gesamt-Tau wurde an einem gewählten Patientenkollektiv mit dem ELISA INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und mit dem hTAU total ELISA AJ Roboscreen GmbH vertrieben durch IBL im Liquor gemessen. Es wurden 451 Proben untersucht. Wie in Abbildung 3 A dargestellt ergab der ELISA INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. im Vergleich zu dem hTAU total ELISA AJ Roboscreen GmbH (vertrieben durch IBL) ein im Mittel um 25,6 pg/ml niedrigeres Ergebnis für die Tau-Liquorkonzentration (Mittelwert \pm SEM: $260,3 \pm 10,5$ pg/ml versus $285,9 \pm 12,4$ pg/ml; $p < 0,0001$). Zum Vergleich der unterschiedlichen ELISA wurde die Korrelation nach Pearson gewählt. Es zeigte sich eine starke positive Korrelation ($r(451) = 0,94$; $p < 0,001$). Die Regressionsgerade ist durch folgende Gleichung definiert: $y = 1,11 \cdot x - 4,32$, siehe Abbildung 3B.

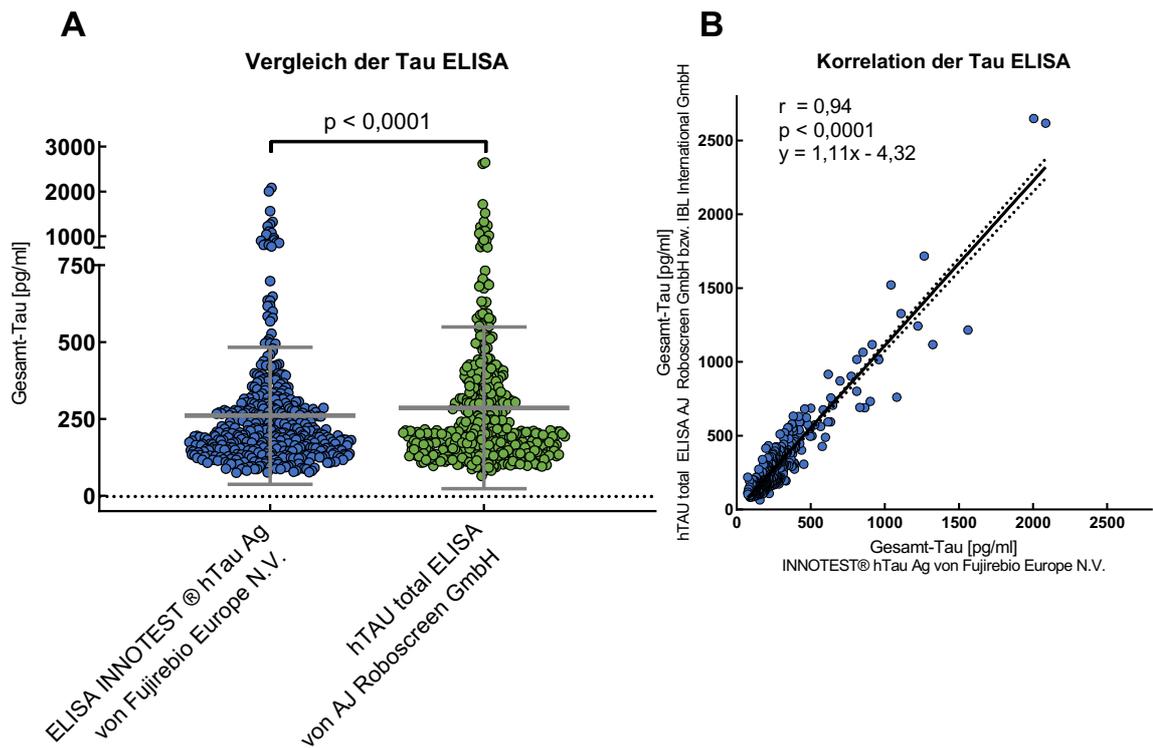


Abbildung 3: Individualwerte (A) und Korrelation nach Pearson (B) für die Tau gemessen mit den ELISA Kits der Firma Fujirebio und der Firma IBL.

3.1.2 A β 42 im Liquor

A β 42 wurde an einem gewählten Patientenkollektiv mit dem ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. und mit dem Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH im Liquor gemessen. Es wurden 519 Proben untersucht. Der ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. ergab, wie in Abbildung 4A dargestellt, im Vergleich zu dem ELISA Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH ein im Mittel um 61,7 pg/ml höheres Ergebnis für die β -Amyloid-Liquorkonzentration (Mittelwert \pm SEM: 1285,7 \pm 17,2 pg/ml versus 1224,0 \pm 18,7 pg/ml; $p < 0,0001$). Zum Vergleich der ELISA wurde die Korrelation nach Pearson gewählt. Es zeigte sich eine starke positive Korrelation ($r(519) = 0,86$; $p < 0,001$). Die Regressionsgerade ist durch folgende Gleichung definiert: $y = 0,93 \cdot x + 25,83$ (Abbildung 4B).

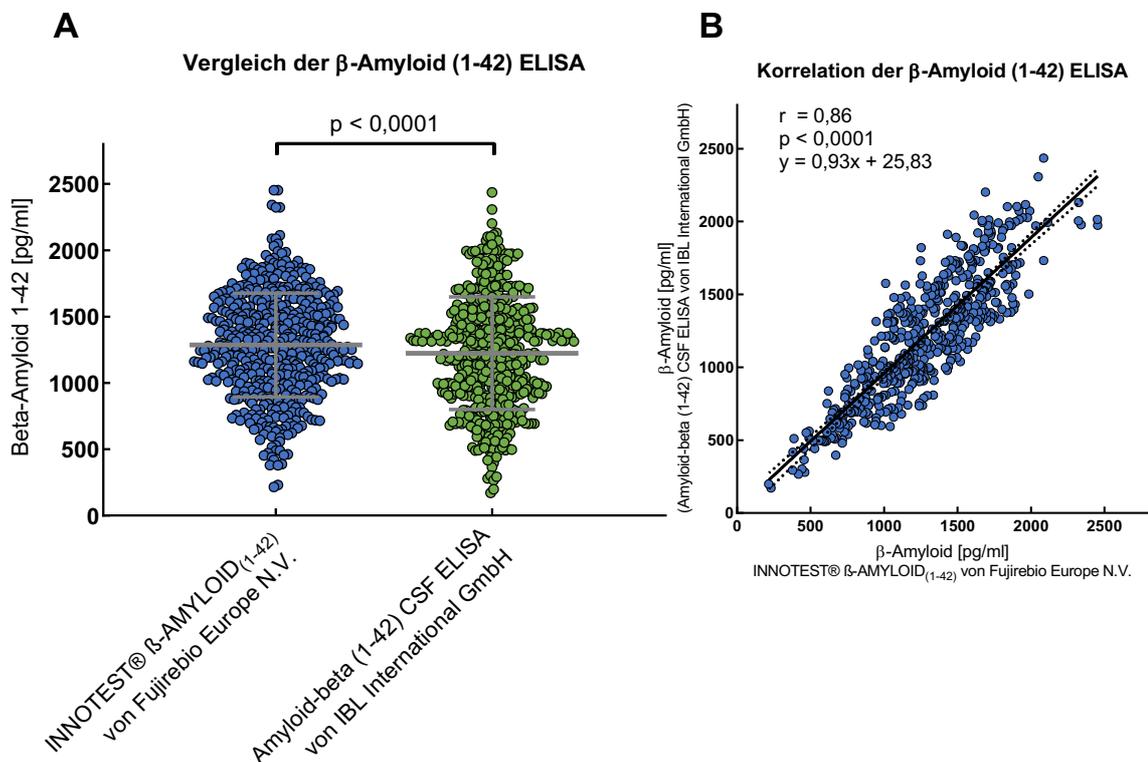


Abbildung 4: Individualwerte (A) und Korrelation nach Pearson (B) für A β 42 gemessen mit den ELISA Kits von Fujirebio Europe N.V. und IBL International GmbH.

3.2 Vergleich neurodegenerativer Erkrankungen

3.2.1 Ausgewählte Diagnosegruppen

In dieser Studie sollte das Verhalten der Destruktionsmarker Gesamt-Tau, pTau, pTau rel A β 42 und A β 40 sowie die A β 42/40 Ratio innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen genauer betrachtet werden. Folgende Diagnosegruppen wurden gewählt: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, Lewy-Body-Demenz, *mild cognitive impairment*, Mischdemenz, Normaldruckhydrozephalus, Morbus Parkinson und vaskulärer Demenz, siehe Abbildung 5. Insgesamt ergab sich ein Kollektiv von 221 Proben. Die Kontrollgruppe setzte sich aus Patienten zusammen, die eine Liquorpunktion zur Ausschlussdiagnostik erhielten. Sie litten unter folgenden Symptomen: Kopfschmerzen, Schwindel, depressive Verstimmung, Spinalkanalstenosen, Paresen oder Hypästhesie ohne anhaltende neurologische Störungen.

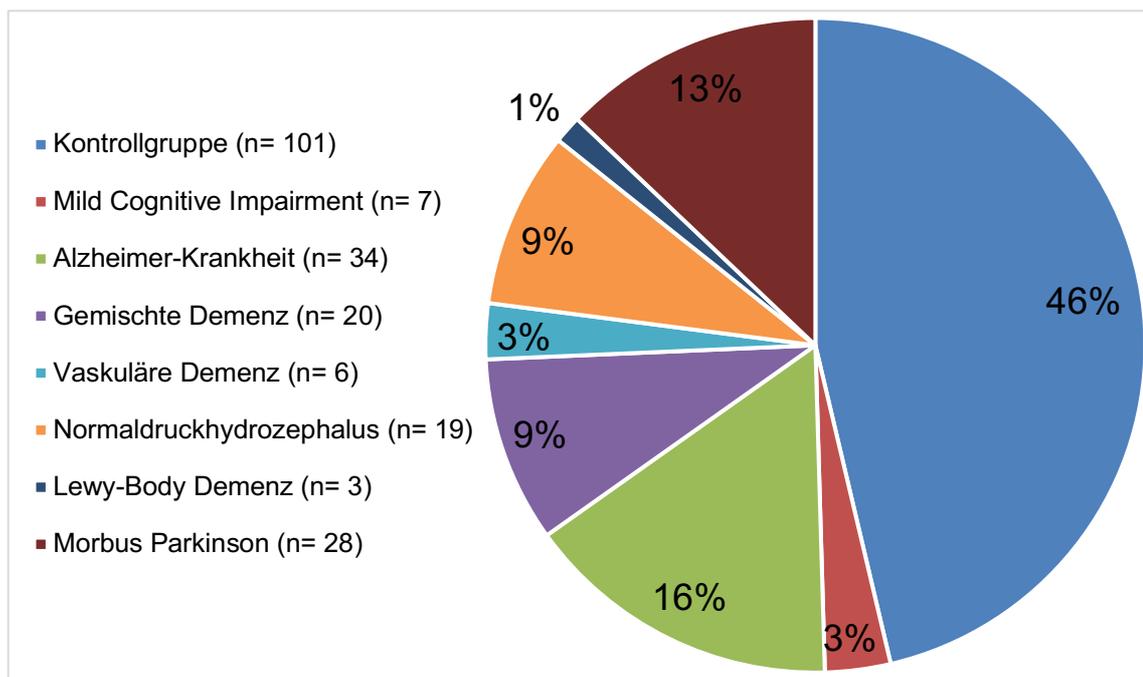


Abbildung 5: Patientenkollektiv.

3.2.2 Alters- und Geschlechtsverteilung innerhalb der Gruppen

Das Durchschnittsalter lag bei 60 Jahren mit einer Spannweite von 16 bis 89 Jahren. 117 Probanden waren weiblich, 101 waren männlich. Für die Gruppe der Patientengruppe mit einer Alzheimer-Krankheit ergab sich ein mittleres Alters von 73 Jahren, für die Patientengruppe mit einer Lewy-Body-Demenz von 78 Jahren, für die Patientengruppe mit einem *mild*

cognitive impairment von 67 Jahren, für die Patientengruppe mit einer Mischdemenz von 76 Jahren, für die Patientengruppe mit einem Normaldruckhydrozephalus von 74 Jahren, für die Patientengruppe mit einem Morbus Parkinson von 68 Jahren und für die Patientengruppe mit einer vaskulären Demenz von 72 Jahren. Es zeigte sich ein deutlich erhöhter Frauenanteil für die Gruppe der Patientengruppe mit einer Alzheimer-Krankheit (w/m = 21/13) und ein deutlich erhöhter Männeranteil für die Gruppe der Patientengruppe mit Morbus Parkinson (w/m = 5/23), siehe Tabelle 1.

Tabelle 1: Übersicht Kohorte.

Alters- und Geschlechtsverteilung der Kohorten				
	Geschlecht	Alter Frauen	Alter Männer	Alter Gesamt-
	w / m (% w)	MW (± SD)	MW (± SD)	kohorte MW (± SD)
Kontrollgruppe	50/51 (49,5 %)	48 (± 20)	43 (± 18)	45 (± 19)
<i>Mild cognitive impairment</i>	1/6 (14,3 %)	61 (± 0)	68 (± 10)	67 (± 9)
Alzheimer-Krankheit	21/13 (61,8 %)	74 (± 11)	71 (± 11)	73 (± 11)
Gemischte Demenz	11/9 (55 %)	78 (± 6)	74 (± 14)	76 (± 10)
Vaskuläre Demenz	3/3 (50 %)	69 (± 18)	76 (± 11)	72 (± 14)
Normaldruckhydrozephalus	9/10 (47,4 %)	70 (± 9)	77 (± 6)	74 (± 8)
Lewy-Body-Demenz	1/2 (33,3 %)	82 (± 0)	75 (± 7)	78 (± 6)
Morbus Parkinson	5/23 (17,9 %)	67 (± 7)	68 (± 12)	68 (± 11)

3.2.3 Gesamt-Tau im Liquor

Es wurde Gesamt-Tau innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.

In der folgenden Abbildung (Abbildung 6) wurden Gesamt-Tau im Liquor in Abhängigkeit

der Diagnosegruppen mittels Boxplots aufgetragen. Die Ergebnisse der ELISA Kits von Fujirebio Europe N.V. wurden in blau und die Ergebnisse der ELISA Kits von IBL International GmbH wurden in grün dargestellt. Der Mittelwert ist mit einem Punkt angegeben. Die Gesamt-Tau-Konzentrationen gemessen mit dem ELISA der Firma IBL International GmbH fielen insgesamt etwas höher aus. Für die Gruppe der Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit ergab sich mit dem ELISA Kit von Fujirebio Europe N.V. eine größere Streuung der Werte als mit dem ELISA Kit von IBL. Für die andere Gruppe zeigte sich eine breitere Streuung der Messergebnisse mit dem ELISA der Firma IBL International GmbH. Nur in der Gruppe der Patienten mit vaskulärer Demenz ergaben sich größere Unterschiede der Messergebnisse.

Es wurde geprüft, ob sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen und der Kontrollgruppe finden. Es zeigten sich signifikant erhöhte Mittelwerte bei Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit. Für den ELISA INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. ergab sich bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ein Mittelwert von 621 pg/ml und ein Median von 491 pg/ml. Für den hTAU total ELISA von AJ Roboscreen GmbH vertrieben durch IBL ergab sich ein Mittelwert von 613 pg/ml und ein Median von 558 pg/ml. In der Kontrollgruppe ergab sich mit dem ELISA INNOTEST® hTau Ag ein Mittelwert von 163 pg/ml und Median von 147 pg/ml, für den hTAU total ELISA von AJ Roboscreen GmbH ergab sich ein Mittelwert von 186 pg/ml und Median von 173 pg/ml. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,02$, siehe Abbildung 7 und Tabellen im Anhang.

Gesamt-Tau Konzentration je Kohorte

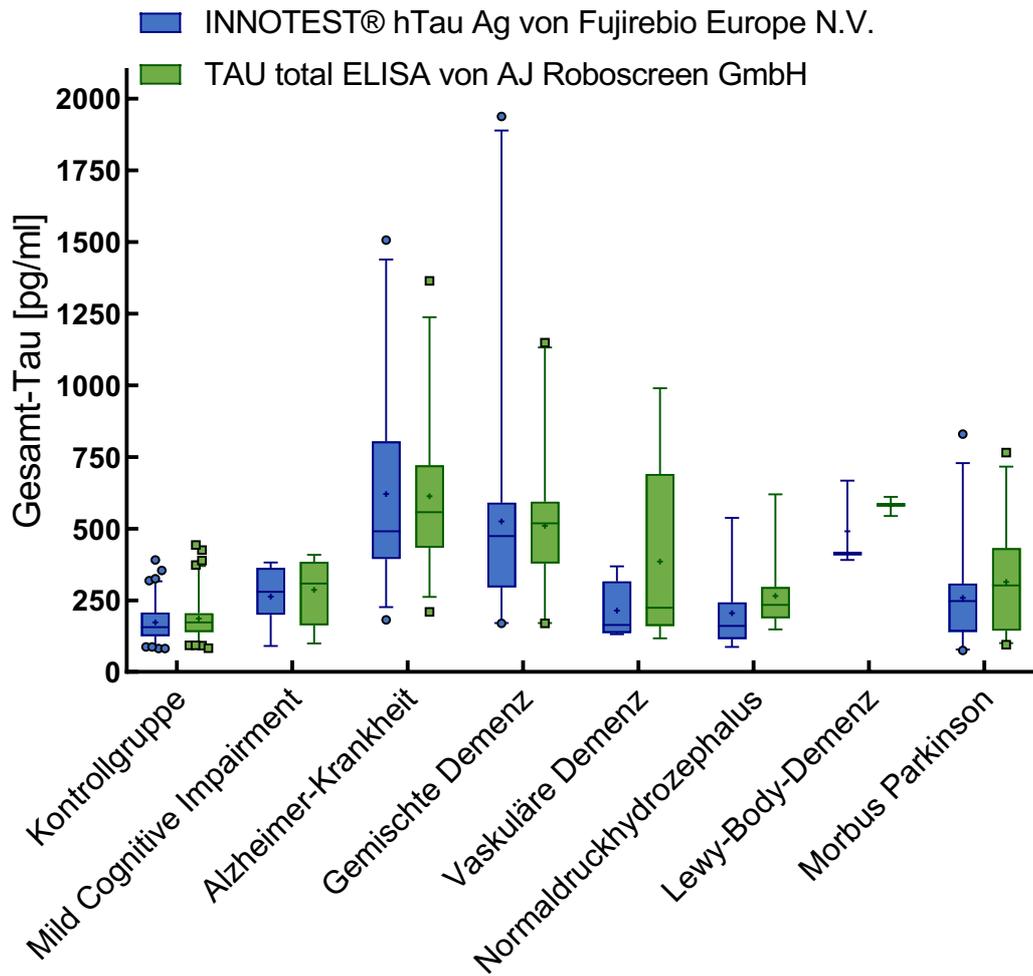


Abbildung 6: Boxplot für Gesamt-Tau gemessen mit dem ELISA von Fujirebio Europe N.V. und dem ELISA von AJ Roboscreen GmbH vertrieben durch IBL International GmbH.

3.2.4 A β 42 im Liquor

Es wurde A β 42 innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.

In der folgenden Abbildung (Abbildung 7) wurde A β 42 im Liquor in Abhängigkeit der Diagnosegruppen mittels Boxplots aufgetragen. Die Ergebnisse der ELISA Kits von Fujirebio Europe N.V. wurden in blau und die Ergebnisse der ELISA Kits von IBL International GmbH wurden in grün dargestellt. Der Mittelwert ist mit einem Punkt angegeben.

Insgesamt fielen die Mittelwerte der Proben gemessenen mit dem ELISA Kit von IBL niedriger aus. Die Streubreite war annähernd gleich.

Es zeigten sich signifikant erniedrigte Mittelwerte bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, Mischdemenz, Lewy-Body-Demenz und Normaldruckhydrozephalus. Mit dem ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. ergab sich für Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ein Mittelwert von 652 pg/ml und ein Median von 660 pg/ml, für Patienten mit einer Mischdemenz ein Mittelwert von 870 pg/ml und ein Median von 687 pg/ml, für Patienten mit einer Lewy-Body-Demenz ein Mittelwert von 638 pg/ml und ein Median von 617 pg/ml und für Patienten mit einem Normaldruckhydrozephalus ein Mittelwert von 928 pg/ml und ein Median von 947 pg/ml. Mit dem Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH ergab sich bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ein Mittelwert von 556 pg/ml und ein Median von 545 pg/ml, für Patienten mit einer Mischdemenz ein Mittelwert von 769 pg/ml und ein Median von 544 pg/ml, für Patienten mit einer Lewy-Body-Demenz ein Mittelwert von 433 pg/ml und ein Median von 397 pg/ml, für Patienten mit einer Normaldruckhydrozephalus ein Mittelwert von 797 pg/ml und ein Median von 778 pg/ml. Innerhalb der Kontrollgruppe errechnete sich einem Mittelwert von 1420 pg/ml bzw. 1353 pg/ml. Und ein Median von 1454 pg/ml bzw. 1371 pg/ml. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,02$, siehe Abbildung 7 und Tabellen im Anhang.

Beta-Amyloid (1-42) Konzentration je Kohorte

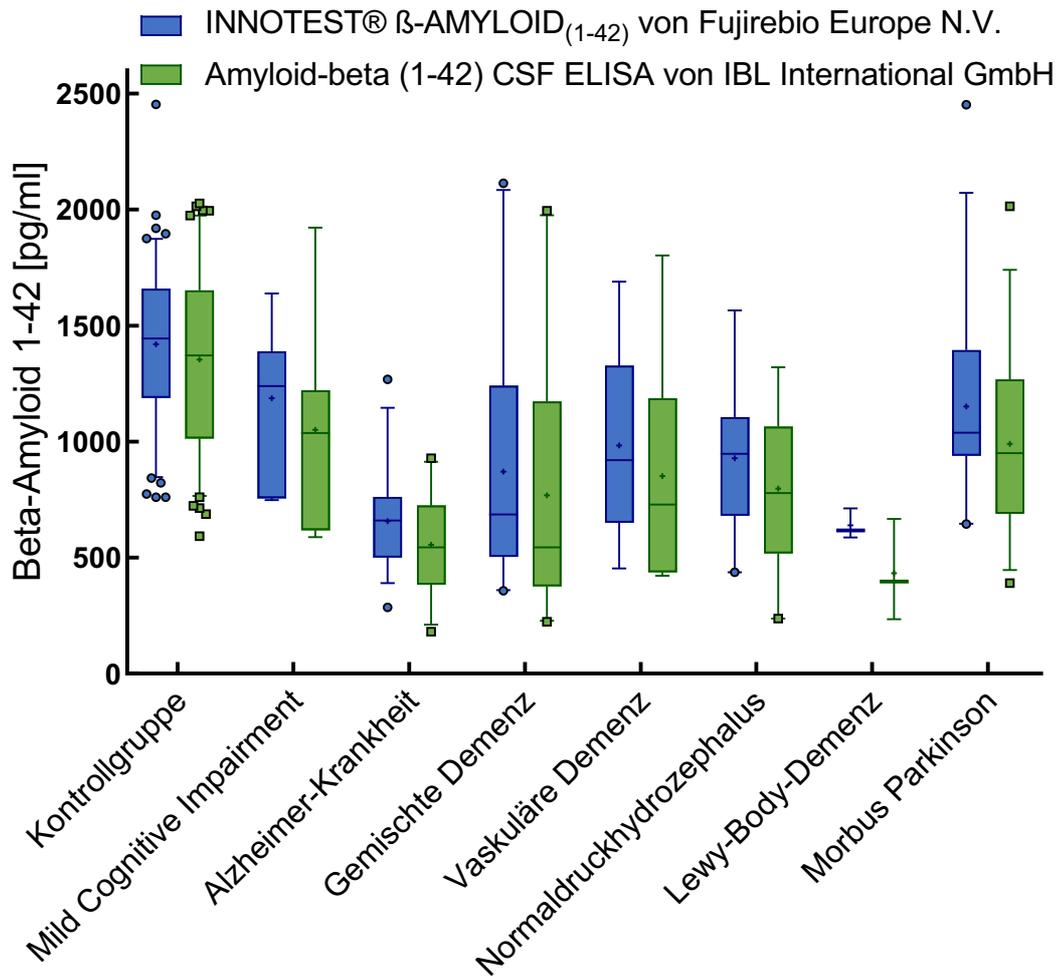


Abbildung 7: Boxplot für A β 42 gemessen mit dem ELISA von Fujirebio Europe N.V. und dem ELISA von IBL International GmbH.

3.2.5 A β 40 im Liquor

Es wurde A β 40 innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.

In der folgenden Abbildung 8 wurde A β 40 im Liquor in Abhängigkeit der Diagnosegruppen mittels Boxplots aufgetragen. Die Ergebnisse des alten ELISAs von IBL wurden in blau, die des neuen ELISAs in grün aufgetragen. Der Mittelwert ist mit einem Punkt angegeben. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen oder den ELISAs.

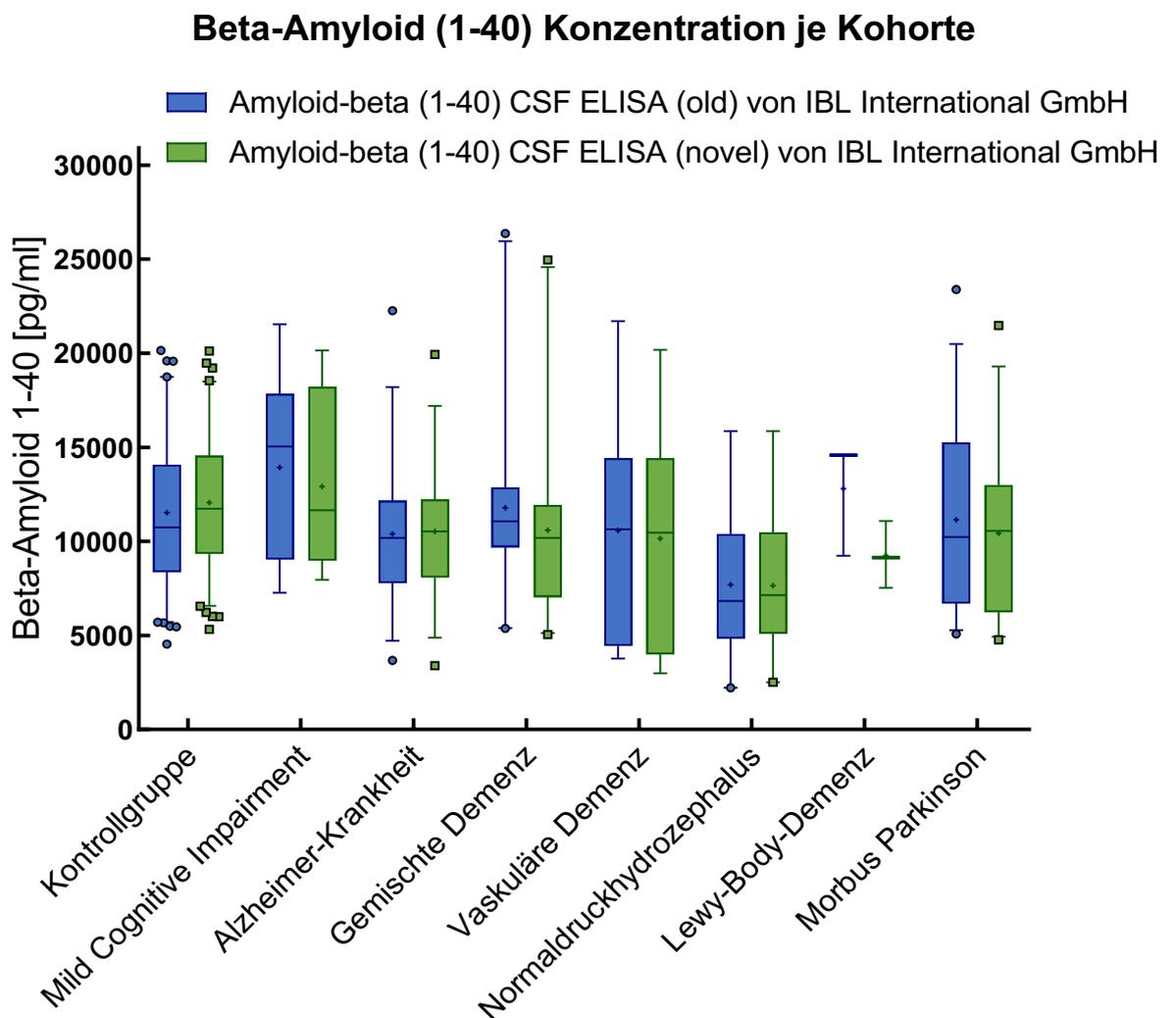


Abbildung 8: Boxplot für A β 40 gemessen mit den ELISAs von IBL International GmbH.

3.2.6 A β 42/40 Ratio

Es wurde das Verhalten der A β 42/40 Ratio innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.

In der folgenden Abbildung (Abbildung 9) wurde A β 42/40 im Liquor in Abhängigkeit der Diagnosegruppen mittels Boxplots aufgetragen. Die Ergebnisse der ELISA Kits von Fujirebio Europe N.V. wurden in blau und die Ergebnisse der ELISA Kits von IBL International GmbH wurden in grün dargestellt. Die errechneten Mittelwerte von A β 42/40 gemessen mit IBL fielen im Vergleich etwas niedriger aus. Die Streuung beider Gruppen war annähernd gleich. Pro Gruppe sind 1 bis 2 Ausreißer zu verzeichnen.

Signifikante Unterschiede ergaben sich zwischen Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit und einer Mischdemenz gegenüber der gesunden Kontrollgruppe ($p < 0,01$). Für Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ergab ein Mittelwert von 0,71 bzw. 0,49 und ein Median von 0,65 bzw. 0,44. Für Patienten mit einer Mischdemenz ergab sich ein Mittelwert von 0,76 bzw. 0,73 und ein Median von 0,68 bzw. 0,70. Für die Kontrollgruppe ergab sich ein Mittelwert von 1,32 bzw. 1,19 und ein Median von 1,28 bzw. 1,17, siehe Abbildung 9 und Tabellen im Anhang.

Beta-Amyloid 1-42 zu 1-40 Ratio je Kohorte

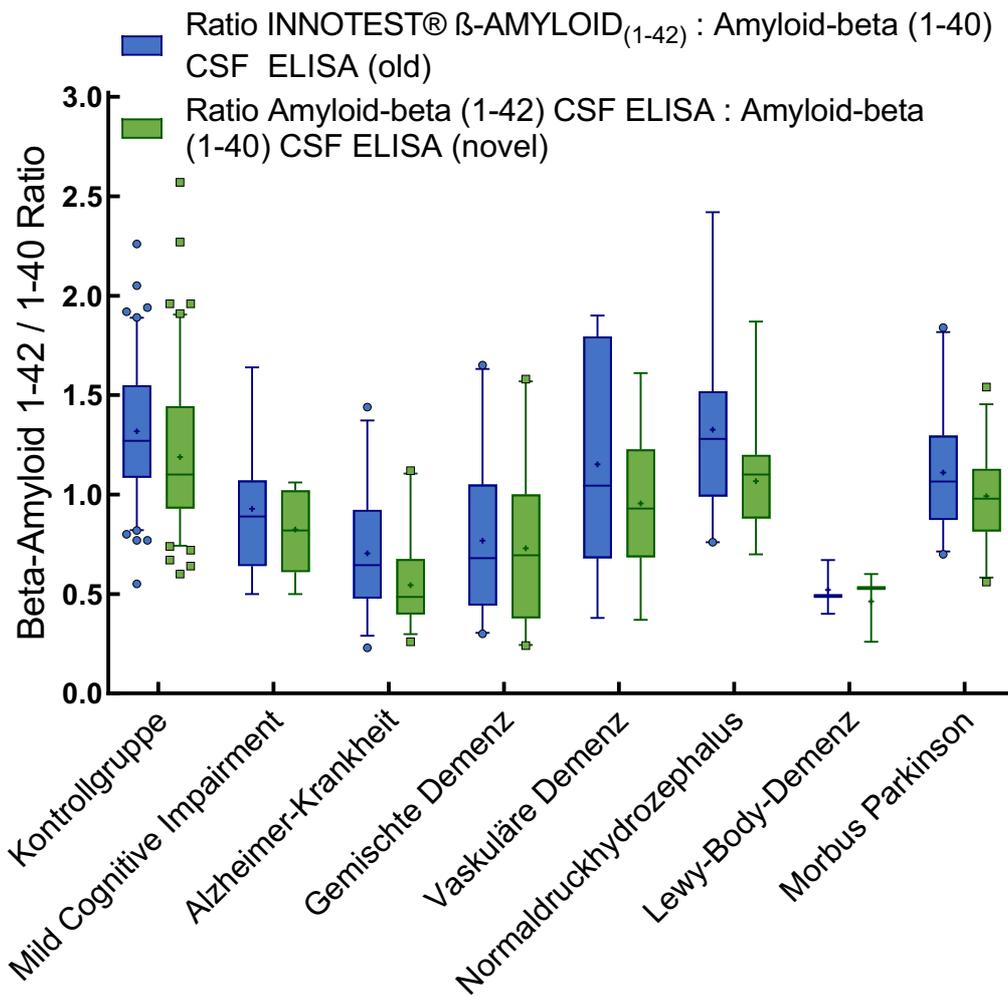


Abbildung 9: Boxplot A β 42/40 Ratio.

3.2.7 Phosphoryliertes-Tau 181 gemessen mit dem ELISA von Fujirebio Europe N.V.

Es wurde phosphoryliertes Tau (pTau) innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.

Es zeigten sich signifikant erhöhte Werte Mittelwerte bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit und einer Mischdemenz. Für die Alzheimer-Krankheit ergab sich für pTau ein Mittelwert von 76 pg/ml und ein Median von 69 pg/ml. Für die Mischdemenz ergab sich ein Mittelwert von 63 pg/ml und ein Median von 65 pg/ml. Für die Kontrollgruppe ergab sich ein Mittelwert von 32 pg/ml und ein Median von 30 pg/ml. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$, siehe Abbildung 10 und Tabellen im Anhang.

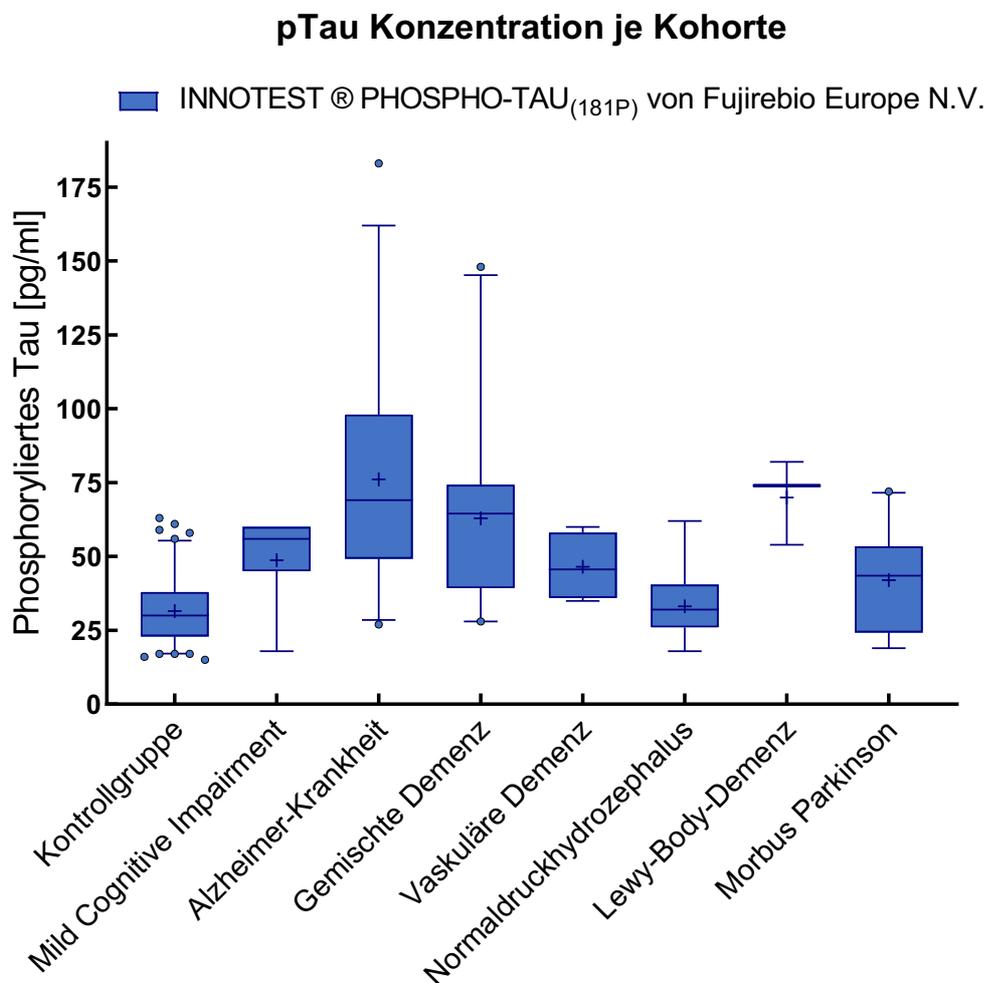


Abbildung 10: Boxplot pTau.

3.2.8 Nicht-phosphorylierte Tau-Fraktion

Es wurde die nicht-phosphorylierten Tau-Fractionen (pTau rel) innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Da das Testkit im Verlauf der Studie nicht mehr zu erhalten war, sind die Gruppen kleiner.

Es zeigten sich signifikant erhöhte Werte Mittelwerte bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit. Der Mittelwert lagen bei 174 pg/ml und der Median bei 82 pg/ml. Bei der Kontrollgruppe lag der Mittelwert bei 54 pg/ml und der Median bei 48 pg/ml. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$, siehe Abbildung 11 und Tabellen im Anhang.

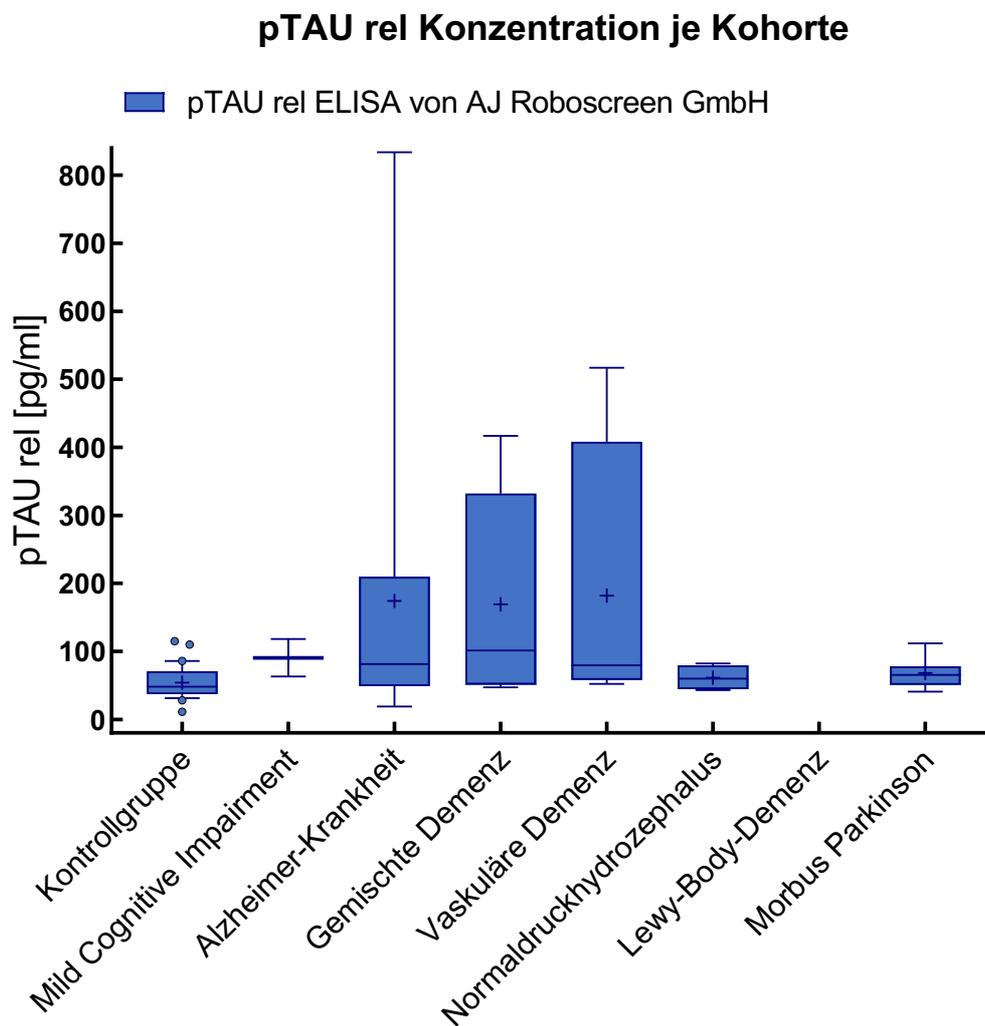


Abbildung 11: pTau rel ELISA von AJ Roboscreen GmbH.

3.3 Grenzwerte in der Alzheimer-Diagnostik

Ziel der Arbeit war auch die Definition neuer Grenzwerte der in dieser Dissertationsarbeit untersuchten ELISA zur Diagnostik einer Alzheimer-Krankheit. Es wurden Grenzwerte (engl. *Cut-off*) für beide Hersteller bestimmt. Zur Berechnung des *cut-off* Parameters wurde der Youden-Index gewählt. Mit Hilfe des Youden-Index kann eine maximale Sensitivität und Spezifität definiert werden (Youden-Index = [Sensitivität + Spezifität] - 1). Die Wertigkeit dieser *cut-offs* ist durch die AUC bestimmt. Ein Zusammenhang ist nur bei Werten zwischen 0.5 und 1 gegeben. Die beste Diskriminierungsfähigkeit liegt bei einem Wert von 1. Nachfolgend wurden Cut-offs ermittelt für: Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit zu Abgrenzung einer Kontrollgruppe, anderen Demenzen und der gesamten Kohorte.

3.3.1 Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit versus gesunde Kontrollen

Für Gesamt-Tau wurden insgesamt 119 Proben (34 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 85 gesunde Kontrollen) mit dem INNOTEST® hTau ELISA von Fujirebio Europe N.V. und AJ Roboscreen TAU total ELISA (vertrieben durch IBL International GmbH), untersucht. Für den INNOTEST® hTau ELISA errechnete sich ein Grenzwert von > 315 pg/ml mit einer AUC von 96 %. Für den AJ Roboscreen TAU total ELISA errechnete sich ein Grenzwert von > 280 pg/ml mit einer AUC von 96 %. Der INNOTEST® hTau ELISA erreichte eine diagnostische Spezifität von 92 % und einer Sensitivität von 91 %. Der AJ Roboscreen TAU total ELISA zeigte eine geringere diagnostischen Spezifität von 86 %, aber eine höhere Sensitivität von 97 %.

Für pTau wurden insgesamt 135 Proben (34 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 101 gesunde Kontrollen) mit dem ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181) von der Firma Fujirebio Europe N.V. untersucht. Es errechnete sich ein Grenzwert von 45 pg/ml. Die AUC lag bei 93 %. Die diagnostische Spezifität und Sensitivität lagen bei 89 % bzw. 85 %.

Für pTau rel wurden insgesamt 78 Proben (14 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 64 gesunde Kontrollen) mit dem pTau rel ELISA von AJ Roboscreen vertrieben durch IBL untersucht. Es errechnete sich ein Grenzwert von 88 pg/ml. Die AUC lag bei 75 %. Die diagnostische Spezifität und Sensitivität lagen bei 97 % bzw. 50 %.

Für A β 42 wurden insgesamt 135 Proben (34 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 101 gesunde Kontrollen) mit dem ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. und dem Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH untersucht. Für den ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ errechnete sich ein Grenzwert von

< 899 pg/ml mit einer AUC von 97 %. Für den Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA errechnete sich ein Grenzwert von < 928 pg/ml mit einer AUC von 96 %. Der ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ erreichte eine diagnostische Spezifität von 94 % und einer Sensitivität von 92 %. Der Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA zeigte eine geringere diagnostischen Spezifität von 86 %, aber eine höhere Sensitivität von 100 %.

Für die Beta-Amyloid (1-40) ELISA lag die AUC unter 50 %. Relevante Grenzwerte ergaben sich nicht.

Für die A β 42/40 Ratio berechnete sich ein Grenzwert von < 0,96 bzw. < 0,74. Für die Ratio der Messergebnisse der ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ und Amyloid-beta (1-40) (old) CSF ELISA errechnete sich eine AUC von 91% mit einer diagnostischen Spezifität von 89 % und einer Sensitivität von 82 %. Für die Ratio der Messergebnisse der Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA und Amyloid-beta (1-40) (*novel*) CSF ELISA errechnete sich eine AUC von 96 % mit einer diagnostischen Spezifität von 95 % und einer Sensitivität von 91 %, siehe Abbildung 12 und Tabelle 2 bis 7.

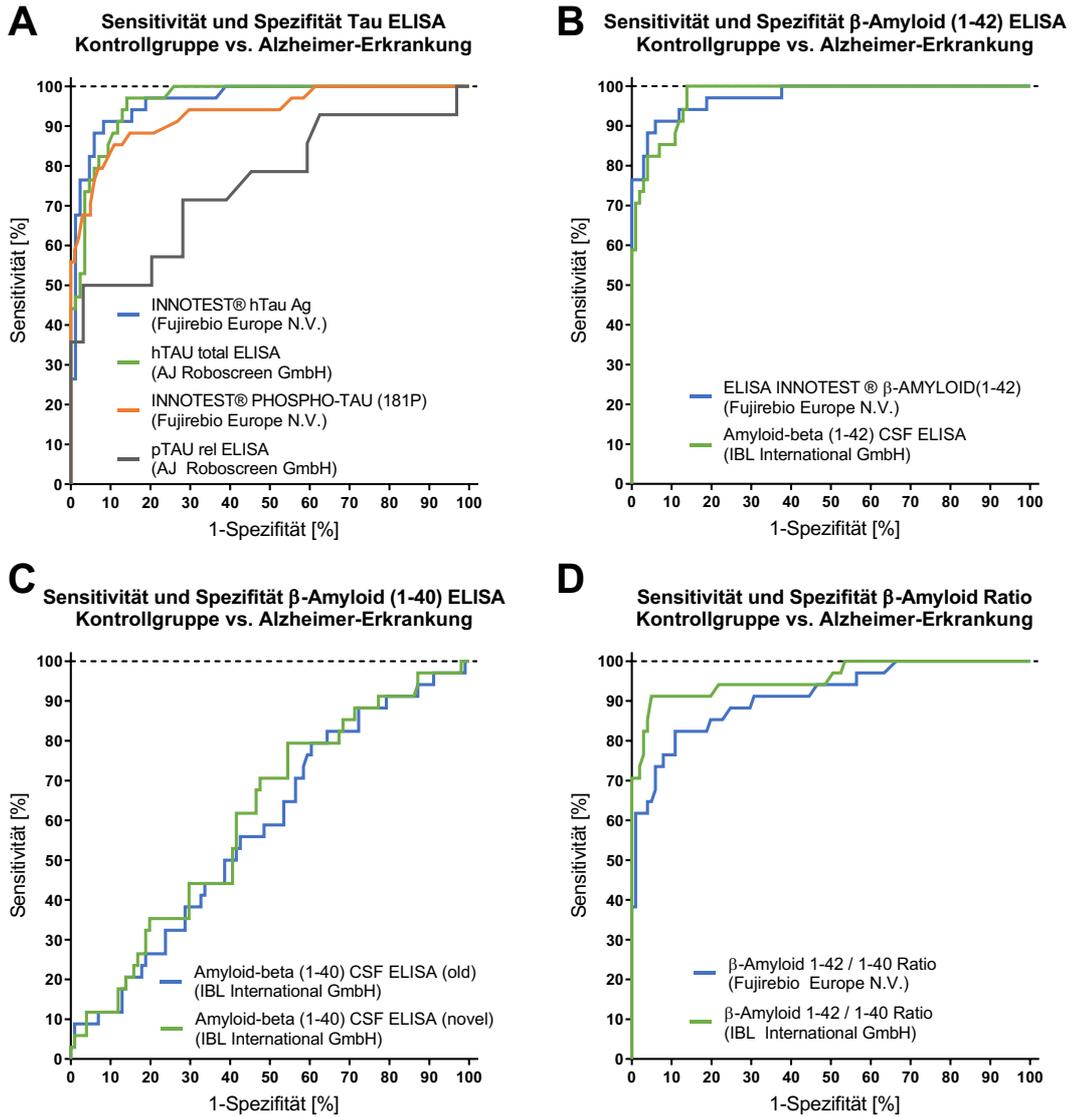


Abbildung 12: ROC-Kurven Kontrollen gegen Alzheimer-Krankheit.

3.3.2 Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit versus andere Demenzen

Weiterhin wurden Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit und anderen Demenzen verglichen. Folgende Erkrankungen wurde unter andere Demenzen zusammengefasst: Normaldruckhydrozephalus, Demenz bei Morbus Parkinson, Lewy-Body-Demenz, Frontotemporale Demenz, Demenz bei atypischen Parkinsonsyndromen.

Für Gesamt-Tau wurden insgesamt 76 Proben (34 Patienten mit AD, 42 Patienten mit anderen Demenzen) mit dem INNOTEST® hTau ELISA von Fujirebio Europe N.V. und AJ Roboscreen TAU total ELISA, vertrieben durch IBL, untersucht. Für den ELISA INNOTEST errechnete sich ein Grenzwert von > 355 pg/ml mit einer AUC von 89 %. Für den AJ Roboscreen TAU total ELISA errechnete sich ein Grenzwert von > 446 pg/ml mit einer AUC von 84 %. Der INNOTEST® hTau ELISA erreichte eine diagnostische Spezifität von 83% und einer Sensitivität von 88 %. Der AJ Roboscreen TAU total ELISA zeigte eine bessere diagnostischen Spezifität von 86 %, aber eine geringere Sensitivität von 74 %.

Für pTau wurden insgesamt 80 Proben (34 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 46 Patienten mit anderen Demenzen) mit dem ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181) von der Firma Fujirebio Europe N.V. untersucht. Es errechnete sich ein Grenzwert von 59 pg/ml. Die AUC lag bei 81 %. Die diagnostische Spezifität und Sensitivität lagen bei 83 % bzw. 69 %.

Für pTau rel wurden insgesamt Proben 44 (14 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 30 Patienten mit anderen Demenzen) mit dem pTau rel ELISA von AJ Roboscreen vertrieben durch IBL untersucht. Es errechnete sich ein Grenzwert von 106 pg/ml. Die AUC lag bei 61%. Die diagnostische Spezifität und Sensitivität lagen bei 91 % bzw. 43 %.

Für A β 42 wurden insgesamt 85 Proben (34 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit 51 Patienten mit anderen Demenzen) mit dem ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. und dem Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH untersucht. Für den ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ errechnete sich ein Grenzwert von < 834 pg/ml mit einer AUC von 81 %. Für den Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA errechnete sich ein Grenzwert von < 928 pg/ml mit einer AUC von 75 %. Der ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ erreichte eine diagnostische Spezifität von 63 % und einer Sensitivität von 88 %. Der Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA zeigte eine geringere diagnostischen Spezifität von 45 %, aber eine höhere Sensitivität von 100 %.

Für die Beta-Amyloid (1-40) ELISA lag die AUC unter 60 %. Relevante Grenzwerte ergaben sich nicht.

Für die Ratio des ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ und Amyloid-beta (1-40) (old) CSF ELISA berechnete sich ein Grenzwert von $< 1,12$ mit einer AUC von 90 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 77 % und die Sensitivität bei 91 %. Für die Ratio der Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA und Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (*novel*) berechnet sich ein Grenzwert von $< 0,74$ mit einer AUC von 93 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 86 % und die Sensitivität bei 91 %, siehe Abbildung 3 und Tabelle 2 bis 7.

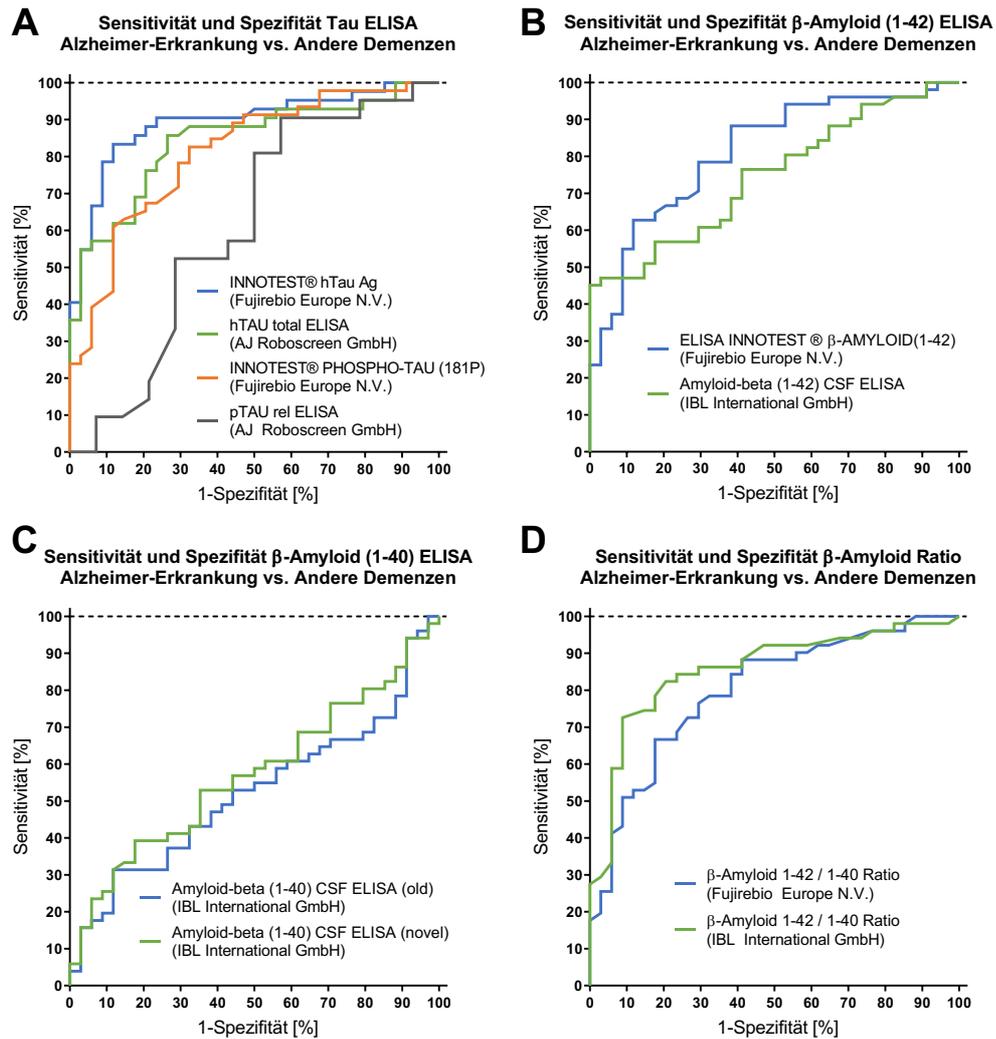


Abbildung 13: ROC-Kurven Andere Demenzen gegen Alzheimer-Krankheit.

3.3.3 Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit versus gesamte Kohorte

Es wurden Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit mit der Gesamten Kohorte verglichen, die aus verschiedenen neurologischen Erkrankungen und den gesunden Kontrollen besteht.

Für Gesamt-Tau wurden insgesamt 359 Proben (34 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 325 Patienten mit anderen Erkrankungen inklusive der gesunden Kontrollen) mit dem INNOTEST® hTau ELISA von Fujirebio Europe N.V. und AJ Roboscreen TAU total ELISA, vertrieben durch IBL, untersucht. Für den INNOTEST® hTau ELISA errechnete sich ein Grenzwert von > 335 pg/ml mit einer AUC von 90 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 83 % und die Sensitivität bei 88 %. Für den AJ Roboscreen TAU total ELISA errechnete sich ein Grenzwert von > 417 pg/ml mit einer AUC von 87%. Die diagnostische Spezifität lag bei 84 % und die Sensitivität bei 79 %.

Für pTau wurden insgesamt 357 Proben (34 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 323 Patienten aus der gesamten Kohorte) mit dem ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181) von der Firma Fujirebio Europe N.V. untersucht. Es errechnete sich ein Grenzwert von 59 pg/ml mit einer AUC von 85 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 88 % und die Sensitivität bei 68 %.

Für pTau rel wurden insgesamt Proben (14 Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, 94 Patienten aus der gesamten Kohorte) mit dem pTau rel ELISA von AJ Roboscreen vertrieben durch IBL untersucht. Es errechnete sich ein Grenzwert von 64 pg/ml mit einer AUC von 66 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 61 % und die Sensitivität bei 72 %.

Für A β 42 wurden insgesamt 408 Proben (34 Patienten mit AD, 374 Patienten aus der gesamten Kohorte) mit dem ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. und dem Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH untersucht. Für den ELISA INNOTEST errechnete sich ein Grenzwert von < 834 pg/ml mit einer AUC von 93 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 88 % und die Sensitivität bei 88 %. Für den Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA errechnete sich ein Grenzwert von < 928 pg/ml mit einer AUC von 92 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 74 % und die Sensitivität bei 100 %.

Für die Beta-Amyloid (1-40) ELISA lag die AUC unter 60 %. Relevante Grenzwerte ergaben sich nicht.

Für die Ratio des ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ und Amyloid-beta (1-40) (old)

CSF ELISA berechnete sich ein Grenzwert von $< 0,96$ mit einer AUC von 84 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 73 % und die Sensitivität bei 82 %. Für die Ratio des Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA und Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (*novel*) berechnet sich ein Grenzwert von $< 0,74$ mit einer AUC von 91 %. Die diagnostische Spezifität lag bei 83 % und die Sensitivität bei 91 %, siehe Abbildung 14 und Tabellen 2 bis 7.

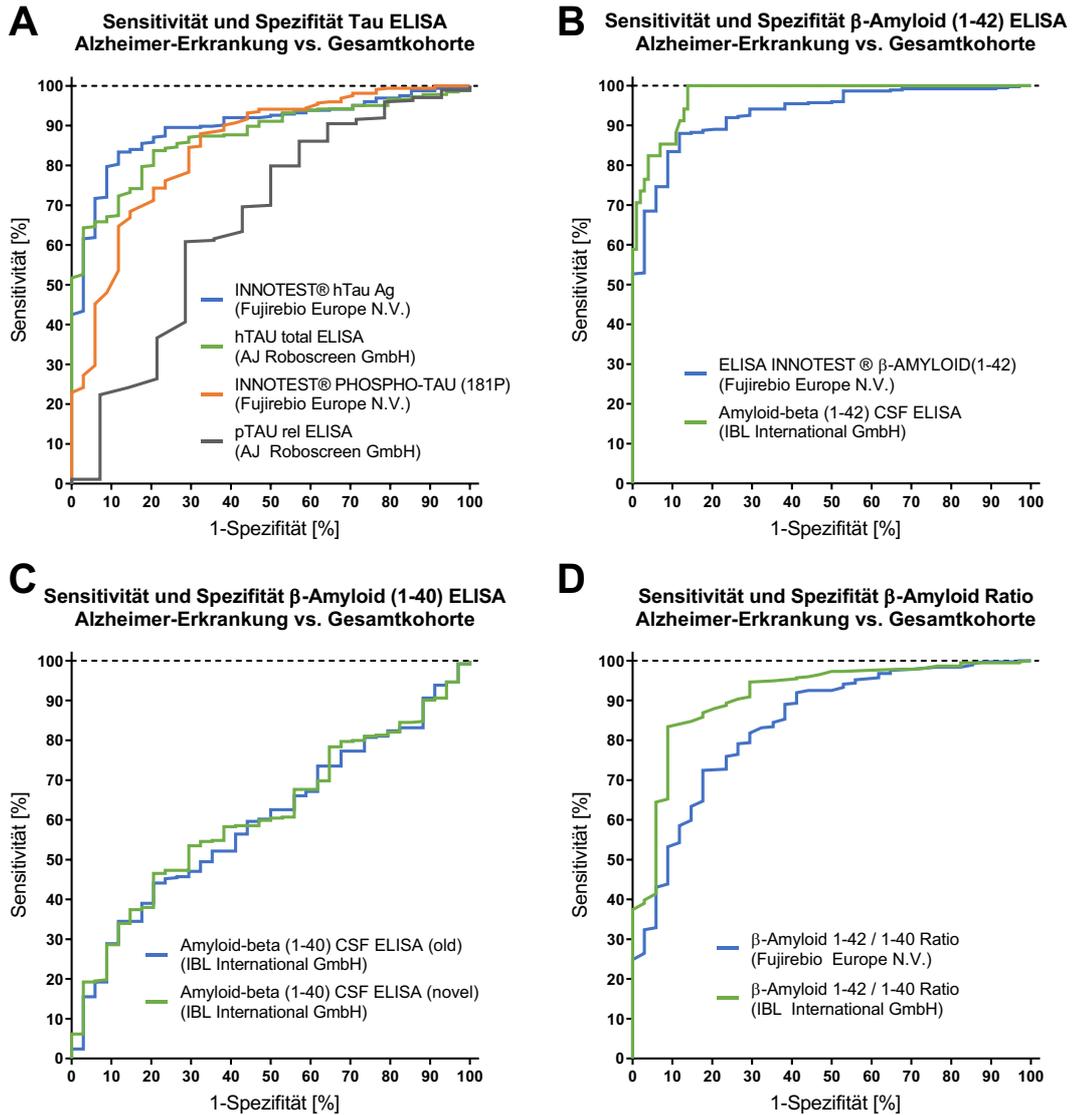


Abbildung 14: ROC-Kurven Gesamte Kohorte gegen Alzheimer-Krankheit.

Tabelle 2: ROC-Analyse Gesamt-Tau.

INNOTEST ® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V./ hTAU total ELISA AJ Roboscreen

	AD vs. Kontrollen	AD vs. Andere Demenzen	AD vs. Gesamte Kohorte
Grenzwert nach YI (pg/ml)	315 / 280	355 / 446	335 / 417
Sensitivität (%)	91 / 97	88 / 74	88 / 79
Spezifität (%)	92 / 86	83 / 86	83 / 84
PPV (%)	81 / 73	81 / 80	36 / 34
NPV (%)	96 / 99	90 / 80	99 / 98
Optimal Criterion (%)	83 / 83	72 / 59	72 / 63
AUC (%)	96 / 96	89 / 84	90 / 87

AD, Alzheimer-Krankheit; PPV, positiver prädiktiver Wert; NPV, negativer prädiktiver Wert; YI, Youden-Index.

Tabelle 3: ROC-Analyse pTau.

INNOTEST ® PHOSPHO-TAU (181P) von Fujirebio Europe N.V.

	AD vs. Kontrollen	AD vs. Andere Demenzen	AD vs. Gesamte Kohorte
Grenzwert nach YI (pg/ml)	45	59	59
Sensitivität (%)	85	68	68
Spezifität (%)	89	83	88
PPV (%)	73	74	37
NPV (%)	95	78	96
Optimal Criterion (%)	74	50	55
AUC (%)	93	81	85

AD, Alzheimer-Krankheit; PPV, positiver prädiktiver Wert; NPV, negativer prädiktiver Wert; YI, Youden-Index.

Tabelle 4: ROC-Analyse pTau rel.

pTau rel ELISA von AJ Roboscreen vertrieben durch IBL GmbH

	AD vs. Kontrollen	AD vs. Andere Demenzen	AD vs. Gesamte Kohorte
Grenzwert nach YI (pg/ml)	88	106	64
Sensitivität (%)	50	43	71
Spezifität (%)	97	91	61
PPV (%)	78	75	9
NPV (%)	90	70	98
Optimal Criterion (%)	47	33	32
AUC (%)	75	61	66

AD, Alzheimer-Krankheit; PPV, positiver prädiktiver Wert; NPV, negativer prädiktiver Wert; YI, Youden-Index.

Tabelle 5: ROC-Analyse A β 42.

ELISA INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V. / Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA IBL International GmbH

	AD vs. Kontrollen	AD vs. Andere Demenzen	AD vs. Gesamte Kohorte
Grenzwert nach YI (pg/ml)	899 / 928	834 / 928	834 / 928
Sensitivität (%)	91 / 100	88 / 100	88 / 100
Spezifität (%)	94 / 86	63 / 45	88 / 74
PPV (%)	84 / 71	61 / 55	40 / 26
NPV (%)	97 / 100	89 / 100	99 / 100
Optimal Criterion (%)	85 / 86	51 / 45	76 / 74
AUC (%)	97 / 97	81 / 74	93 / 92

AD, Alzheimer-Krankheit; PPV, positiver prädiktiver Wert; NPV, negativer prädiktiver Wert; YI, Youden-Index.

Tabelle 6: ROC-Analyse A β 40.

Beta-Amyloid 1-40 ELISA von AJ Roboscreen vertrieben durch IBL International GmbH			
	AD vs. Kontrollen	AD vs. Andere Demenzen	AD vs. Gesamte Kohorte
Grenzwert nach YI (pg/ml)	22260/19925	6993/7334	12994/11482
Sensitivität (%)	3/3	88/88	33/44
Spezifität (%)	99/98	28/33	82/71
PPV (%)	50/33	33/35	91/89
NPV (%)	75/75	85/87	18/19
Optimal Criterion (%)	2/1	16/21	15/14
AUC	42/39	49/57	55/53

AD, Alzheimer-Krankheit; PPV, positiver prädiktiver Wert; NPV, negativer prädiktiver Wert; YI, Youden-Index.

Tabelle 7: ROC-Analyse A β 42/40 Ratio.

Beta-Amyloid 1-42/40 Ratio für Fujirebio Europe N.V. / IBL International GmbH			
	AD vs. Kontrollen	AD vs. Andere Demenzen	AD vs. Gesamte Kohorte
Grenzwert nach YI (pg/ml)	0,96 / 0,74	1,12 / 0,74	0,96 / 0,74
Sensitivität (%)	82 / 91	91 / 91	82 / 91
Spezifität (%)	89 / 95	77 / 86	73 / 83
PPV (%)	72 / 86	72 / 81	21 / 33
NPV (%)	94 / 97	93 / 94	98 / 99
Optimal Criterion (%)	71 / 86	68 / 77	55 / 75
AUC	91 / 96	90 / 93	84 / 91

AD, Alzheimer-Krankheit; PPV, positiver prädiktiver Wert; NPV, negativer prädiktiver Wert; YI, Youden-Index.

Tabelle 8: Grenzwerte Gesunde Kontrolle und Alzheimer-Krankheit.

Zusammengefasste Grenzwerte Kontrollgruppe gegenüber Alzheimer-Krankheit		
Elisa Kit	Grenzwert nach YI	AUC
INNOTEST® hTau ELISA	> 315 pg/ml	96 %
AJ Roboscreen TAU total ELISA	> 280 pg/ml	96 %
ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181)	> 45 pg/ml	93 %
AJ Roboscreen pTau rel ELISA	> 88 pg/ml	75 %
ELISA INNOTEST® β -AMYLOID ₍₁₋₄₂₎	< 899 pg/ml	97 %
Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA	< 928 pg/ml	96 %
Ratio: ELISA INNOTEST® β -AMYLOID ₍₁₋₄₂₎ / Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA	< 0,96	91 %
Ratio: Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA/ Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA	< 0,74	96 %

YI, Youden-Index.

3.4 Destruktionsmarker und Demenzstadien bei Alzheimer-Krankheit

Es wurden die einzelnen Destruktionsmarker in Abhängigkeit der Demenzstadien bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit und bei Patienten mit einem *mild cognitive impairment* miteinander verglichen. Der MMST dient zur Beurteilung des kognitiven Defizits bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit. Ab einem Wert weniger 26 Punkten liegt bereit eine leichte Demenz vor. Es wurde bei insgesamt 39 Patienten ein Test durchgeführt. Es ergeben sich folgende Gruppe: Patienten mit einem *mild cognitive impairment*, Patienten mit leichter, mittelschwerer und schwerer Alzheimer-Demenz. Patienten mit einem MMST von 20 - 26 Punkten wurden unter leichte Demenz eingeteilt (N = 13), Patienten mit einem MMST von 10 - 19 unter mittelschwere Dement (N = 12) und Patienten mit weniger 9 Punkten unter schwere Demenz (N = 3), siehe Tabelle 9. Die jeweiligen Gruppen wurden anhand der nachfolgenden Graphiken verglichen.

Tabelle 9: Beschreibung der Kohorte, Geschlecht, Alter und Anzahl.

	MCI	Leichte Demenz	Mittelschwere Demenz	Schwere Demenz
m/w	5/6	5/8	5/7	12
Mittelwert Alter in Jahren	67	74	71	82
Anzahl	11	13	12	3

MCI, *mild cognitive impairment*.

Als erstes wurde Gesamt-Tau und pTau in Abhängigkeit der Demenzstadien dargestellt. Für Tau zeigten sich erhöhte Werte für jedes Stadium der Demenz. Es ist ein Anstieg von Gesamt-Tau bis zum Stadium der mittelschweren Demenz zu verzeichnen. Für den INNOTEST® hTau ELISA steigt der Mittelwert bzw. Median von 448 pg/ml bzw. 398 pg/ml auf 722 pg/ml bzw. 622 pg/ml an. Für den AJ Roboscreen TAU total ELISA von 389 pg/ml bzw. 353 pg/ml auf 703 pg/ml bzw. 638 pg/ml. Ebenso zeigt sich ein Anstieg des Mittelwerts bzw. Median für den ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181P) von 64 pg/ml bzw. 61 pg/ml auf 88 pg/ml bzw. 86 pg/ml. Signifikante Unterschiede zeigten sich nur für pTau und Patienten mit einem *mild cognitive impairment* verglichen mit Patienten mit mittelschwerer oder schwerer Demenz ($p = < 0,05$, siehe Abbildung 15).

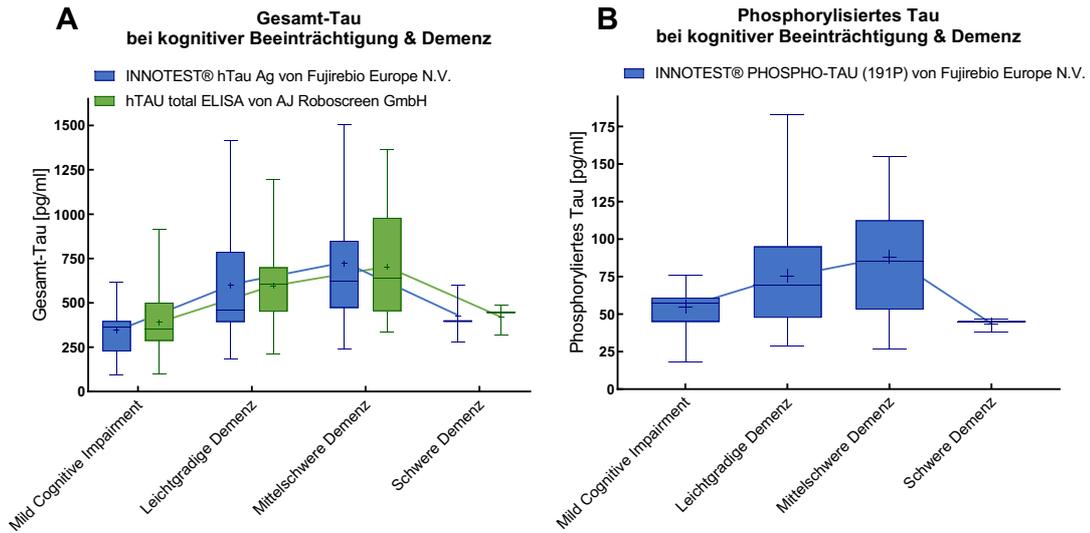


Abbildung 15: Gesamt-Tau (A) und phosphoryliertes Tau (B) bei *mild cognitive impairment* und unterschiedlichen Demenzschweregraden.

Weiterhin wurden A β 42 und die A β 42/40 Ratio in Anhängigkeit der Demenzstadien dargestellt. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, die Mittelwerte sind annähernd gleich, siehe Abbildung 16 und Tabellen im Anhang.

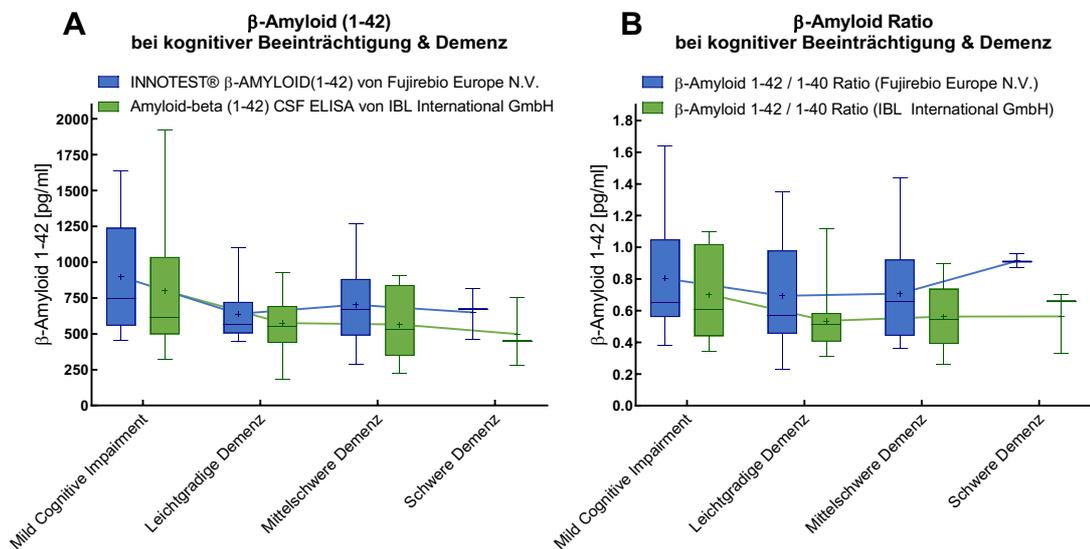


Abbildung 16: A β 42 (A) und A β 42/40 Ratio (B) bei *mild cognitive impairment* und unterschiedlichen Demenzschweregraden.

3.5 Weitere Zusammenhänge

Im nachfolgenden wurden weitere Zusammenhänge der Destruktionsmarker Gesamt-Tau, pTau, A β 40, A β 42 und der Ratio A β 42/40 der Routinemessung untersucht.

Für Gesamt-Tau und das Alter der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ergab sich eine schwache negative Korrelation ($r(34) = -0,388$; $p < 0,05$). Eine Korrelation zwischen dem Alter und Gesamt-Tau der Kontrollgruppe oder den anderen Diagnosegruppen ergab sich nicht. In der Kontrollgruppe ergab sich ein Altersdurchschnitt von 45 Jahren, in der Gruppe der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit von 75 Jahren, siehe Tabellen im Anhang.

Die Konzentrationen für Gesamt-Tau und pTau korrelieren in den meisten Fällen. Es korrelierte Gesamt-Tau und pTau für die Gruppe der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ($r = 0,813$; $p < 0,001$), die Kontrollgruppe ($r = 0,534$; $p < 0,001$), für die Gruppe der Patienten mit Mischdemenz ($r = 0,906$; $p < 0,001$), für die Gruppe der Patienten mit Normaldruckhydrozephalus ($r = 0,626$; $p = 0,009$) für Gruppe der Patienten mit Morbus Parkinson ($r = 0,426$; $p = 0,024$) und die Gruppe der Patienten mit vaskulärer Demenz ($r = 0,979$; $p = 0,021$), siehe Tabellen im Anhang.

Ferner findet sich ein korrelativer Zusammenhang zwischen Tau und A β 42 für die Gruppe der Patienten mit Alzheimer-Krankheit ($r = -0,368$; $p = 0,032$) und die Kontrollgruppe ($r = 0,245$; $p = 0,016$), siehe Tabellen im Anhang.

Zwischen Tau- und A β 40 zeigte eine Korrelation für die Gruppe der Patienten mit Alzheimer-Krankheit ($r = 0,576$; $p < 0,001$) und die Kontrollgruppe ($r = 0,391$; $p < 0,001$), siehe Tabellen im Anhang.

Für Tau- und A β 42/40 Ratio zeigte sich eine Korrelation für die Gruppe der Patienten mit Alzheimer-Krankheit ($r = -0,624$; $p < 0,001$), für die Kontrollgruppe ($r = -0,363$; $p < 0,001$), für die Gruppe der Patienten mit *mild cognitive impairment* ($r = -0,973$; $p = 0,019$), Normaldruckhydrozephalus ($r = -0,506$; $p = 0,038$) und Morbus Parkinson ($r = -0,435$; $p = 0,021$), siehe Tabellen im Anhang.

Für A β 42 und A β 40 zeigte sich eine Korrelation für die Kontrollgruppe ($r = 0,736$; $p < 0,001$), die Gruppe der Patienten mit Mischdemenz ($r = 0,632$; $p = 0,003$), Normaldruckhydrozephalus ($r = 0,852$; $p < 0,001$) und Morbus Parkinson ($r = 0,865$; $p < 0,001$), Tabelle im Anhang.

3.6 Ergebnisse der TTR-Messungen im Liquor und im Serum

3.6.1 Die Kohorte

Im zweiten Teil der Studie ergab sich ein Kollektiv von 187 Patienten. Anhand dieser Kohorte wurde Transthyretin (TTR) im Liquor und im Serum untersucht. Die Kontrollgruppe bestand aus 69 Patienten, wobei 33 männlich und 26 weiblich waren mit einem Altersdurchschnitt von 47 Jahren, die Gruppe der Patienten mit Alzheimer-Krankheit bestand aus 63 Patienten, wobei 27 männlich und 36 weiblich waren mit einem Altersdurchschnitt von 66 Jahren. Die Ischämie-Gruppe bestand aus 23 Patienten, wobei 12 männlich und 11 weiblich waren mit einem Altersdurchschnitt von 63 Jahren. Die Gruppe der Patienten mit gemischter Demenz bestand aus 3 Patienten, wobei diese 3 weiblich waren mit einem Altersdurchschnitt von 80 Jahren. Die Gruppe der Patienten mit Multipler Sklerose bestand aus 14 Patienten, wobei 4 männlich und 10 weiblich waren mit einem Altersdurchschnitt von 38 Jahren. Die Gruppe der Patienten mit Normaldruckhydrozephalus bestand aus 8 Patienten, wobei 5 männlich und 3 weiblich waren mit einem Altersdurchschnitt von 73 Jahren und die Gruppe der Patienten mit Morbus Parkinson bestand aus 7 Patienten, wobei 6 männlich und 1 weiblich waren mit einem Altersdurchschnitt von 67 Jahren, siehe Abbildung 17 und Tabelle 7. Die TTR wurden im Serum und im Liquor gemessen und die Diagnosegruppen mit der Kontrollgruppe verglichen. Es wurde ein Zusammenhang zwischen dem Alter und TTR im Liquor, Serum und des TTR-Quotienten der verschiedenen Gruppe untersucht.

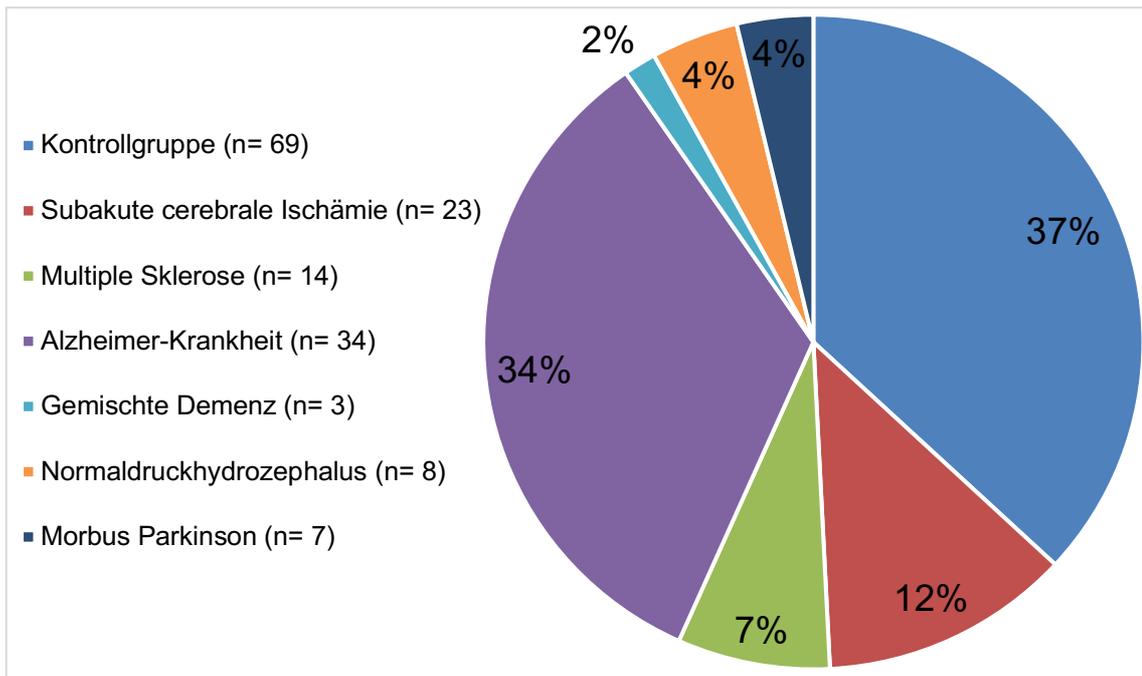


Abbildung 17: Übersicht der Kohorte.

Tabelle 10: Geschlechterverteilung und Altersdurchschnitt.

Alters- und Geschlechtsverteilung der Kohorten				
	Geschlecht w / m (% w)	Alter Frauen MW (\pm SD)	Alter Männer MW (\pm SD)	Alter Gesamtkohorte MW (\pm SD)
Kontrollgruppe	61/52 (54 %)	48 (\pm 20)	45 (\pm 20)	47 (\pm 20)
Subakute zerebrale Ischämie	14/15 (48 %)	66 (\pm 14)	61 (\pm 13)	64 (\pm 14)
Multiple Sklerose	13/6 (68 %)	39 (\pm 15)	38 (\pm 13)	38 (\pm 14)
Alzheimer-Krankheit	36/27 (57 %)	69 (\pm 11)	62 (\pm 11)	66 (\pm 11)
Gemischte Demenz	4/0 (100 %)	82 (\pm 7)	-	82 (\pm 7)
Normaldruckhydrozephalus	4/5 (44 %)	68 (\pm 10)	78 (\pm 6)	74 (\pm 9)
Morbus Parkinson	5/8 (39 %)	66 (\pm 4)	68 (\pm 11)	67 (\pm 9)

3.6.2 Transthyretin im Serum bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen

Zunächst wurde TTR im Serum gemessen und die Mittelwerte sowie Mediane der unterschiedlichen Diagnosegruppen mit der Kontrollgruppe verglichen. Im Mehrfachvergleich zeigten sich keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. In der Gruppe der Patienten mit Alzheimer-Krankheit lag der Mittelwert bei 255 mg/l (SD = 66) bzw. Median bei 252 mg/l und in Kontrollgruppe bei 288 mg/l (SD = 77) bzw. Median bei 275 mg/l, siehe Tabelle 8.

Tabelle 11: TTR-Werte im Serum.

		KG	AD	MD	Ischämie	MS	NDH	PD
TTR (mg/l)	Mittelwert	288	255	203	263	291	237	302
	Median	275	252	216	247	287	245	272
	SD	77	66	27	78	82	61	93
	Minimum	149	101	179	111	143	127	186
	Maximum	512	477	232	403	414	323	436
	Anzahl	66	59	3	19	14	8	7

KG, Kontrollgruppe; AD, Alzheimer-Krankheit; MS, Multiple Sklerose; MD, gemischte Demenz; NHD, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; SD, Standardabweichung.

3.6.3 Zusammenhang zwischen Transthyretin im Serum und dem Alter

Es wurde geprüft, ob ein linearer Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten und der Transthyretin-Konzentration im Serum bestand. Es zeigte sich eine negative Korrelation innerhalb der Gruppe der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ($r = -0,422$; $p = 0,002$), siehe Abbildung 18.

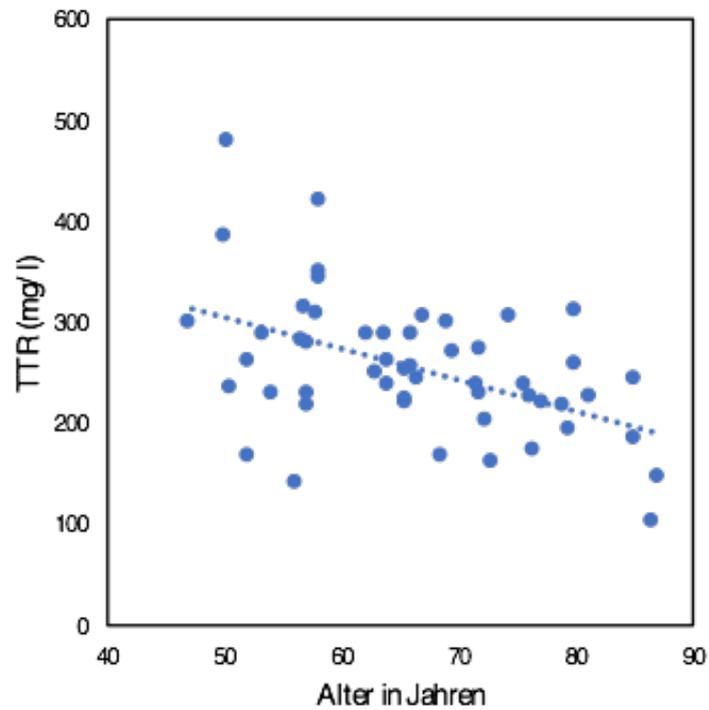


Abbildung 18: Korrelation nach Spearman zwischen dem Alter und TTR im Serum bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit.

3.6.4 Transthyretin im Liquor bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen

Es wurde TTR im Liquor gemessen und die Mittelwerte der Diagnosegruppen mit der Kontrollgruppe verglichen. Im Mehrfachvergleich zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Der Mittelwert der Gruppe der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit lag bei 19,3 mg/l (SD= ± 2,2 mg/l) bzw. Median bei 19,1 mg/l und der Mittelwert der Kontrollgruppe bei 19,1 mg/l (SD= ± 1,3 mg/l) bzw. Median bei 18,9 mg/l, siehe Tabelle 12.

Tabelle 12: TTR-Werte im Liquor.

		KG	AD	MD	Ischämie	MS	NDH	PD
TTR (mg/l)	Mittelwert	19,1	19,3	20,1	20,1	20,3	19,9	20,3
	Median	18,9	19,1	19,5	19,5	19,6	20,5	19,8
	SD	1,3	2,2	1,1	2,7	2,3	2,0	2,3
	Minimum	16,3	11,9	19,2	16,7	17,4	17,1	17,2
	Maximum	21,9	23,5	21,4	29,4	25,4	22,2	23,8
	Anzahl	69	63	3	23	14	8	7

KG, Kontrollgruppe; AD, Alzheimer-Krankheit; MS, Multiple Sklerose; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; SD, Standardabweichung.

Zusätzlich wurde untersucht, ob sich ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit und der Kontrollgruppe ergab, falls Patienten gleichen Alters verglichen wurden. Auch hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Es zeigte sich ein Mittelwert bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit von 19,4 mg/l und innerhalb der gleichaltrigen Kontrollgruppe von 19,3 mg/l.

3.6.5 Zusammenhang zwischen der Transthyretin im Liquor und dem Alter

Es wurde geprüft, ob ein linearer Zusammenhang zwischen dem Alter und TTR im Liquor bestand. Es zeigte sich eine schwache positive Korrelation innerhalb der Kontrollgruppe ($r = 0,276$; $p = 0,022$), siehe Abbildung 19.

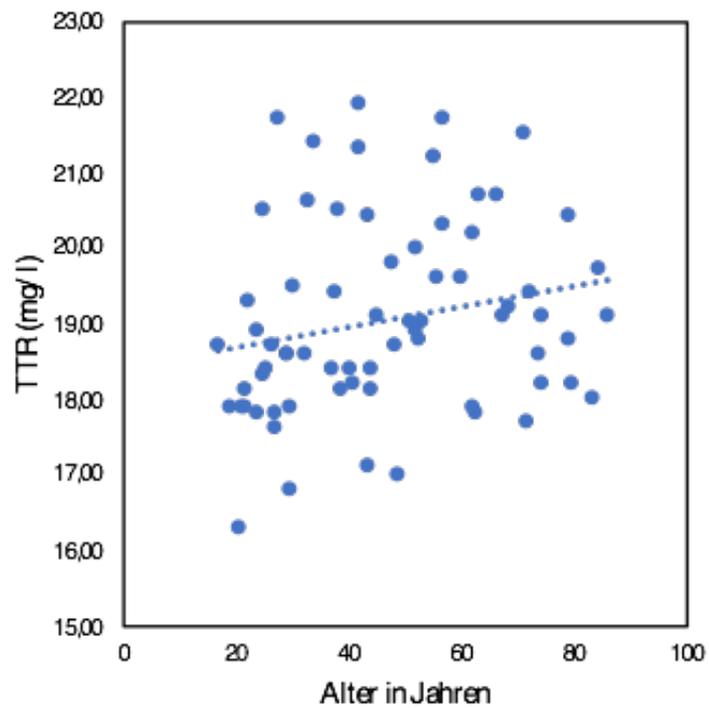


Abbildung 19: Korrelation nach Spearman zwischen dem Alter und TTR im Liquor in der Kontrollgruppe.

3.6.6 Transthyretin-Quotient bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen

Es wurde der TTR-Quotient aus der TTR-Konzentration im Liquor und im Serum berechnet. Anschließend wurden die Diagnosegruppen mit der Kontrollgruppe verglichen. Im Mehrfachvergleich gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Der Mittelwert In der Gruppe der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit lag der Mittelwert bei 0,81 (SD = \pm 0,3) bzw. Median bei 0,75 und in der Kontrollgruppe bei 0,71 (SD = \pm 0,19) bzw. Median bei 0,71, siehe Tabelle 13.

Tabelle 13: Transthyretin-Quotient bei unterschiedlichen Diagnosen.

		KG	AD	MD	Ischämie	MS	NDH	PD
Transthyretin- Quotient	Mittelwert	0,71	0,81	1,00	0,85	0,77	0,89	0,72
	Median	0,71	0,75	0,96	0,76	0,67	0,85	0,70
	SD	0,19	0,30	0,08	0,34	0,30	0,25	0,20
	Minimum	0,37	0,40	0,92	0,50	0,46	0,66	0,50
	Maximum	1,30	2,13	1,07	1,88	1,45	1,35	1,06
	Anzahl	66	59	3	19	14	8	7

KG, Kontrollgruppe; AD, Alzheimer-Krankheit; MS, Multiple Sklerose; MD, gemischte Demenz; NHD, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; SD, Standardabweichung.

3.6.7 Zusammenhang zwischen dem TTR-Quotienten und dem Alter

Es wurde geprüft, ob ein linearer Zusammenhang zwischen dem Alter und dem TTR-Quotienten bestand. Es zeigte sich eine schwache positive Korrelation innerhalb der Gruppe der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit ($r = 0,432$; $p = 0,001$). Außerdem ergab sich eine positive Korrelation bei Patienten mit Ischämie ($r = 0,502$ $p = 0,029$), siehe Abbildung 20.

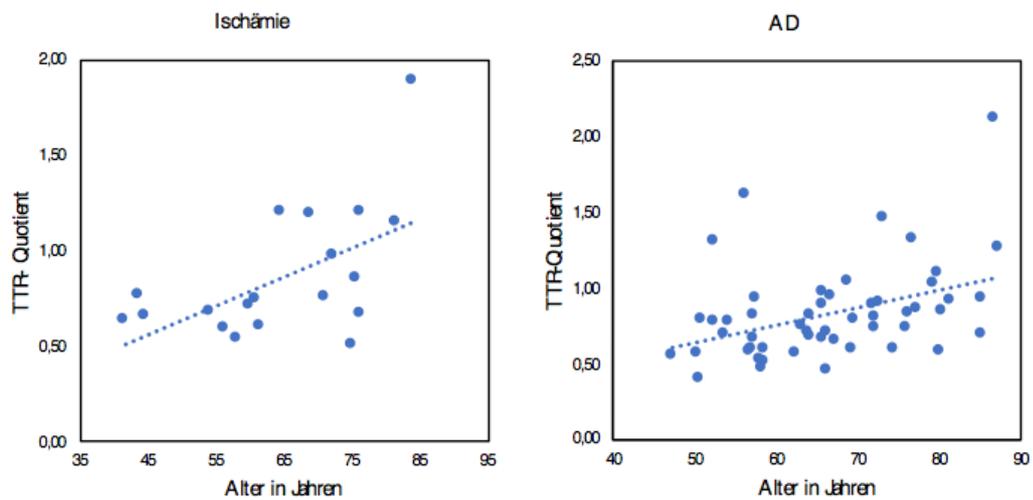


Abbildung 20: Korrelation nach Spearman zwischen dem Alter und dem TTR-Quotienten bei Patienten mit zerebraler Ischämie und AD (Alzheimer-Krankheit).

4 Diskussion

Die vorliegenden Daten zeigen, wie sich die Protein-Konzentrationen der Destruktionsmarker Gesamt-Tau, pTau, pTau rel, A β 42, A β 42 und TTR sowie die errechnete A β 42/40 Ratio bei Patienten mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen verhalten. Diese Proteine sind Bestandteil aktueller Forschungen, vor allem in Hinsicht auf die Differentialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen. Die Ergebnisse dieser Dissertation wurden mit der aktuellen wissenschaftlichen Literatur verglichen, um eventuelle Abweichungen zu prüfen.

Die oben genannten Patientenkollektive wurden anhand der Entlassungsdiagnose ausgewählt. In dieser Arbeit wurde sich auf Patienten mit Alzheimer Demenz, *mild cognitive impairment*, Vaskulärer Demenz, Mischdemenz, Demenz mit Lewy-Body, Morbus Parkinson und Normaldruckhydrozephalus konzentriert. Die gewählten Daten wurden mit gesunden Kontrollen verglichen. Die Kontrollgruppe setzte sich aus Patienten zusammen, die unter Kopfschmerzen, Schwindel oder Depressionen litten und deren Symptome spontan regredient waren. Eine organische Ursache konnte nicht festgestellt werden.

Die Liquorbefunde für diese Studie wurden über zwei Jahre gesammelt und stammen von Patienten, die im Rahmen eines stationären oder ambulanten Aufenthaltes in der Abteilung für Neurologie der UMG behandelt wurden. Trotz einer Datensammlung über zwei Jahre war die Fallzahl mancher Diagnosegruppen gering, sodass die Ergebnisse kritisch betrachtet werden müssen (vgl. Kap. 4.4).

Aus den gewonnenen Proben konnte eine Liquordatenbank erstellt werden. Die Liquorproben wurden nach standardisierten Methoden verarbeitet, gemessen und eingefroren aufbewahrt (DGN und DGPPN 2016).

Biomarker für die Diagnostik einer Alzheimer-Krankheit wurde 1998 wie folgt definiert: Ein idealer Biomarker sollte die ursächlichen Pathologien aufdecken können und anhand neuropathologisch bestätigter Diagnosen validiert sein. Die Sensitivität zur Differenzierung gegenüber Kontrollen sollte > 80 % sein und die Spezifität zur Differenzierung gegenüber anderen Demenzen > 80 %. Weiterhin sollte ein Biomarker zuverlässig, reproduzierbar, nicht invasiv, einfach in der Handzuhaben und kostengünstig sein (The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group 1998).

In einem Infoblatt der Deutschen Alzheimer Gesellschaft von 2016 wurden epidemiologische Fakten der Demenz in Europa zusammengefasst. Die Prävalenz für über 65-jährige

liegt bei 9 %. Frauen sind fast doppelt so häufig betroffen wie Männer. Im frühen Stadium der Alzheimer-Krankheit ist es schwierig eine Diagnose zu stellen. Kognitive Test helfen oft nicht weiter, um zwischen einer altersbedingten Veränderung oder dem Beginn einer Alzheimer-Krankheit zu differenzieren (DGN und DGPPN 2016).

Zu den diagnostischen Verfahren gehören Biomarker im Liquor, welche vor allem in dieser Studie diskutiert werden und bildgebende Verfahren. In Europa kommen beide Verfahren zum Einsatz. In den USA hingegen werden vor allem bildgebende Verfahren bei der Demenzdiagnostik genutzt. Die Lumbalpunktion ist ein invasives Verfahren, welches mit Komplikationen einhergehen kann. Häufige unerwünschte Nebenwirkungen sind der post-punktionelle Kopfschmerz oder Rückenschmerzen (Evans 1998; Ahmed et al. 2006; Duits et al. 2016). Bei Patienten mit Antikoagulationstherapie ist besondere Vorsicht geboten, da das Risiko für stärkere Blutungen sowie einer Hämatombildung stark erhöht sein kann (Ruff und Dougherty 1981; Duits et al. 2016). Eine große multizentrische Studie von Duits et al. (2016) postulierte, dass Komplikationen, die eine nachträglichen Intervention bedürfen bei nur ca. 1 % lagen. Somit ist die Liquorpunktion weiterhin ein sicheres, kostengünstigere und schneller diagnostisches Verfahren. Ferner wird durch die aktuelle Literatur betont, dass die Diagnose Alzheimer-Krankheit rein durch das Liquorprofil der Patienten definiert werden kann, sodass in Zukunft wahrscheinlich die Biomarker in der Diagnosesicherung einen vornehmlichen Stellenwert einnehmen werden. Hierzu wurde ein Klassifikationssystem „das ATN-Klassifikationssystem“ erstellt, auf welches im Verlauf der Diskussion näher eingegangen wird (Jack et al. 2018).

Aktuelle Grenzwerte sind von den untersuchten Kohorten abhängig und unterscheiden sich dadurch von Labor zu Labor. Jedes Institut ermittelt seine eigenen Grenzwerte (Blennow und Zetterberg 2018). Standardisierten Bedingungen definiert in sogenannten *standard operating procedures* (SOPs) werden immer weiter ausgebaut, um präanalytische Fehler zu reduzieren und vergleichbare Ergebnisse zu schaffen, mit dem gemeinsamen Ziel allgemeingültige Grenzwerte festzulegen (Teunissen et al. 2010; Lehmann et al. 2014).

Trotz standardisierter Methoden beeinflussen präanalytische und analytische Faktoren weiterhin die Messergebnisse. Liquor kann (in seltenen Fällen) durch eine Ventrikelpunktion oder typischerweise durch eine Lumbalpunktion gewonnen werden. Für diese Dissertation gewonnene Liquorproben stammen von Lumbalpunktionen. Eine Vielzahl an Studien konnte keine signifikanten Unterschiede der A β 42-Konzentrationen bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit zwischen ventrikulär oder lumbal gewonnenen Liquor beobachten

werden (Aasebø et al. 2014; Cicognola et al. 2016), sodass ermittelte Grenzwerte auf beide Probetypen angewandt werden können.

Für Patienten mit einem Normaldruckhydrozephalus zeigte sich ein anderes Verhältnis. In einer Studie von Brandner et al. (2014) wurde bei Patientin mit Normaldruckhydrozephalus (N=15) eine höhere A β 42-Konzentration lumbal als ventrikulär gemessen. Weiterhin besteht die Vermutung, dass die Gesamt-Tau und pTau-Konzentration bei Patienten mit Normaldruckhydrozephalus von ventrikulär nach lumbal abnimmt (Brandner et al. 2014; Cicognola et al. 2016; Djukic et al. 2016). Demnach sollten Liquorproben einheitlich gewonnen werden.

Das Liquorpunktat wurden schließlich in polypropylenhaltige (PP) Röhrchen gefüllt, um eine gute Konservierung der Liquorproteine zu gewährleisten, da Studien zeigten, dass Polystyrolhaltige Röhrchen (PS) oder Glasröhrchen Gesamt-Tau-, pTau- und A β -Konzentrationen signifikant reduzieren können (Schoonenboom et al. 2004; Lewczuk et al. 2006; Bjerke et al. 2010; del Campo et al. 2012).

Zwei voneinander unabhängige Studien berichten, dass sogar PP-Röhrchen unterschiedlicher Hersteller und daraus resultierender verschiedener Kunststoff-Zusammensetzungen präanalytischen Fehler bedingen können (Lewczuk et al. 2006; Perret-Liaudet et al. 2012). In Perret-Liaudet et al.'s (2012) Studie wurden die A β -Konzentrationen von acht Patienten in fünf verschiedenen Röhrchen abgefüllt und gemessen. Der Mediane der A β 42-Konzentrationen pendelten beispielsweise zwischen 80 % - 128 %. Im Liquor enthaltenen Proteine interagieren mit Oberflächen, sodass Messergebnisse beeinflusst werden können (Toombs et al. 2014). Jeder Reagenzwechsel sollte somit kritisch betrachtet werden.

Weitere präanalytische Faktoren sind Temperatur und Lagerungszeit. Es wurden stabile Proteinkonzentrationen für A β 42 bei – 80 Grad Celsius dokumentiert (Bjerke et al. 2010). Meistens konnte kein signifikanter Unterschied durch mehrere Einfrier- oder Auftauzyklus für A β 42 und Gesamt-Tau festgestellt werden (Schoonenboom et al. 2004; Bjerke et al. 2010; Simonsen et al. 2013). Le Bastard et al. (2015) dokumentierten wiederum in ihrer Studie signifikant erniedrigte A β 42-Konzentrationen nach dem vierten Einfrier-/Auftauzyklus. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, ob das Reagenz schließlich bei - 20 oder - 80 Grad konserviert wurde. Wenn das Reagenz 48 Stunden anstelle von 24 Stunden vor dem Einfrieren unter Raumtemperatur gelagert wurde, ergaben sich jedoch signifikant höherer A β 42-Konzentrationen. Um eine definitive Aussage treffen zu können, müssen jedoch noch

weitere Untersuchungen unternommen werden.

Eine Liquorpunktion kann anhand unterschiedlicher Punktionssets durchgeführt werden. In den deutschen Kliniken kommt die atraumatische Nadel (Sprotte-Nadel) oder die Hohlnadel (Quincke-Nadel) zum Einsatz. Bevorzugt wird die atraumatische Sprottenadel verwendet. Nicht nur das Risiko einen post-punktionellen Kopfschmerz zu entwickeln wird gesenkt, sondern auch das Risiko einer Blutbeimengung der Liquorproben (Ahmed et al. 2006; Lavi et al. 2006; del Campo et al. 2012; Duits et al. 2016). Weiterhin wird diskutiert, inwiefern mit Blut verunreinigte Proben einen Einfluss auf die Messergebnisse haben können (Hansson et al. 2018). Demnach wurden blutige Proben aus dieser Studie ausgeschlossen.

Die Datenlage bezüglich des Einflusses der zirkadianen Rhythmik oder des Alters auf die A β 42- und pTau-Konzentrationen ist laut aktueller Studienlage nicht eindeutig geklärt (Hansson et al. 2018).

Sogar eine Intra-Assay-Variabilität wurde beschrieben. In einer Studie von 2015 wurden die A β 42-Konzentrationen derselben Probe über eine komplette Platte verteilt und diese dann in 3 Einheiten unterteilt. Die errechneten Mittelwerte der A β 42-Spiegel waren im ersten Teil der Platte signifikant höher als im dritten Teil (Fourier et al. 2015). Demnach empfiehlt die *AD biomarker working group* ELISA Platten für A β 42 nur zur Hälfte zu befüllen.

Ein ELISA-Test ist nur gültig, wenn das entsprechend vorgegebene Messprotokoll eingehalten wird. Neben Probengröße, Verdünnung, Zentrifugation und Inkubation muss für jedes Testkit eine Standardkurve berechnet werden. Anhand dieser Standardkurve können schließlich die Messergebnisse abgelesen werden. Manuelle Pipettiervorgänge haben zum Nachteil, dass in der Verdünnungsphase durch ungenaues Pipettieren oder einen Pipettenspitzenwechsel die Variabilität der Proben erhöht werden kann (Teunissen et al. 2010). Standardproben sind in den meisten *Kits* enthalten, um eine Eichkurve zu kalibrieren. Um eine Reproduzierbarkeit der *Assays* zu gewährleisten sollten zusätzlich eigene Proben zur Erstellung der Eichkurve verwendet werden (Fourier et al. 2015).

Ein weiteres Problem der Liquordiagnostik ist das Detektionslimit der Marker. Protein-Konzentrationen können oberhalb oder unterhalb des messbaren Bereiches beziehungsweise außerhalb der Eichkurve liegen. Diese Ergebnisse können nicht in die Statistik mit einbezogen werden und fallen somit bei der Grenzwertermittlung raus. Grenzwerte hängen stets sehr stark von dem untersuchten Patientenkollektiv ab. Nur eine sehr hohe Studienteilnehmerzahl könnte diesen analytischen Fehler reduzieren (Schoonenboom et al. 2004; Lewczuk et al. 2006).

Auch Messergebnisse von Testkits verschiedener Hersteller können nicht gleichgesetzt oder in denselben Pool zur Grenzwertermittlung einfließen. In dieser Dissertation lagen beispielsweise die Cut-offs für A β 42 gemessen mit dem ELISA INNOTEST[®] β -AMYLOID⁽¹⁻⁴²⁾ bei 899 pg/ml und für Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA bei 928 pg/ml (vgl. Tabelle 5). Verwey et al. beschrieben eine „*intercenter coefficients of variance*“ von mehr als 20 % für A β 42 bedingt durch unterschiedlicher *Assays*. Die Variabilität konnte auf 10 % gesenkt werden, indem Assays eines Herstellers verwendet wurden (Verwey et al. 2009).

In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass die Liquordiagnostik ein mögliches Verfahren ist, um die Diagnose einer Alzheimer-Krankheit zu sichern. Liquormarker wie Gesamt-Tau, pTau und A β 42 können Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit von einer Kontrollgruppe mit einer hohen Sensitivität und Spezifität abgrenzen (Blennow und Zetterberg 2018).

Die Ergebnisse der Liquormarker sollen laut aktuellen deutschen Leitlinien die Diagnose einer Alzheimer-Erkrankung stützen (DGN und DGPPN 2016).

2018 veröffentlichte die NIA-AA neue Kriterien für die Alzheimer Forschung. Für wissenschaftliche Zwecke soll nun die Alzheimer Krankheit nicht mehr anhand der Klinik (Anamnese, Fremdanamnese, psychologische Testung) sondern rein biologisch definiert werden. Die Alzheimer-Krankheit soll klar von dem bisherigen klinischen Bild getrennt werden (Jack et al. 2018).

Die NIA-AA stellte ein neues Klassifikationssystem das sog. „ATN-Klassifikationssystem“ auf. „A“ steht für eine positive Amyloid-PET-Bildgebung oder erniedrigte A β 42-Konzentrationen im Liquor. „T“ steht für eine erhöhte Konzentration an phosphoryliertem Tau im Liquor oder eine auffällige kortikale Tau-PET-Bildgebung. Unter „N“ fallen diejenigen Biomarker, welche für eine neuronale Schädigung wie ein erhöhtes Gesamt-Tau im Liquor, FDG-PET-Hypometabolismus oder Hirnatrophie im MRT. Jeder Biomarker wird als positiv oder negativ eingestuft. Um ein wirksames Instrument in der kognitiven Alterungsforschung zu sein, muss das neue diagnostische System alle möglichen Biomarker-Profile und alle Personen in der Bevölkerung erfassen. Die Autoren des Manifests betonen mehrmals, dass dieser Entwurf nicht zu diagnostischen Zwecken genutzt werden darf, sondern aktuell zu Forschungszwecken dient. Individuen mit positiven neuropathologischen Status ohne manifeste Symptome, sollen anhand des neues Klassifikationssystems aufgedeckt werden (Jack et al. 2018).

Zuvor wurde die Tauopathie und die Neurogeneration als wichtigstes diagnostische Kriterium erfasst (McKhann et al. 2011). Laut Studienlage ist eine Trennung der beiden Faktoren notwendig, da neurodegenerative Prozesse in typischen Hirnregionen für die Alzheimer-Krankheit auch bei Patienten ohne Alzheimer-Krankheit auftreten können. Vor allem gilt dies für älteren Patienten mit diversen Komorbiditäten (Kovacs et al. 2013).

Fortschreitender kognitiver Zerfall ist kein sensitiver Marker für die Diagnostik der Alzheimer-Krankheit. Eine Vielzahl an kognitiven unbeeinträchtigten älteren Individuen zeigten Alzheimer typische neuropathologische Veränderungen bei der Autopsie (Bennett et al. 2006). Außerdem steigt mit zunehmendem Alter die Prävalenz für Alzheimer typische Pathologien und gemischten Hirnpathologien an. Eine kognitive Beeinträchtigung muss nicht zwingend damit einhergehen (Schneider et al. 2009).

Es bleibt zu diskutieren, inwieweit das „ATN-Klassifikations-System“ allein zur Diagnosesicherung in Zukunft Verwendung finden wird, da neuropathologische Veränderungen des Gehirns auch ohne ein kognitives Defizit vorkommen können.

4.1 Gesamt-Tau, pTau und pTau rel

Tau-Proteine im Liquor sind wichtiger Bestandteil der Alzheimer-Diagnostik. Innerhalb dieser Dissertation wurde Gesamt-Tau, pTau (181) und pTau rel im Liquor bei Alzheimer-Patienten, gesunden Kontrollen und anderen neurodegenerativen Erkrankungen untersucht und verglichen. Die aktuelle Studienlage kann durch die vorliegende Dissertation bestätigt werden, da sich auch hier für Gesamt-Tau und pTau im Liquor signifikant erhöhte Werte bei einer Alzheimer-Krankheit gegenüber gesunden Kontrollen finden. Gesamt-Tau und pTau können Alzheimer-Patienten mit einer Sensitivität und Spezifität von >80 % von gesunden Kontrollen abgrenzen (Arai et al. 1998a; Shoji et al. 1998; Blennow et al. 2001; Wallin et al. 2006; Blennow und Zetterberg 2009; Shaw et al. 2009).

Neben der Alzheimer-Krankheit wurden erhöhte Tau oder pTau Konzentrationen im Liquor bei der Mischdemenz und Lewy-Body-Demenz gemessen. Wie bereits in der Literatur beschrieben, waren die Tau-Konzentrationen bei der Lewy-Body-Demenz weniger stark erhöht (Gómez-Tortosa et al. 2003; Mollenhauer et al. 2005). In der Literatur finden sich vermehrt Daten, dass erhöhte Tau-Konzentrationen im Liquor ebenfalls bei einer Frontotemporale Demenz oder Creutzfeldt-Jakob-Krankheit auftreten. (Green et al. 1999; Buerger et al. 2002; Bian et al. 2008; Gmitterová et al. 2018, Grangeon et al. 2016). Vor allem bei der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit finden sich stark erhöhte Werte (Otto et al. 1997; Grangeon et

al. 2016).

Nicht nur bei neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit, der Lewy-Body-Demenz, Frontotemporalen Demenz oder der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit zeigt sich Tau signifikant erhöht, sondern auch im Liquor bei Patienten mit Schlaganfällen oder Hirntraumata (Otto et al. 1997; Hesse et al. 2001; Riemenschneider et al. 2003; Kaerst et al. 2013). Bei Schlaganfall Patienten stiegen die Gesamt-Tau-Konzentrationen wenige Tage nach dem Ereignis an und fielen im Verlauf wieder ab (Hesse et al. 2000; Kaerst et al. 2013). Neben akuten ischämischen Ereignissen wurden in den vorliegenden Daten erhöhte Tau-Konzentrationen bei Patienten mit Meningitis/Enzephalitis gefunden.

Tau kann an unterschiedlichen Stellen phosphoryliert werden, sodass sich der Marker pTau ergibt. Bereits Hampel et al. (2004) veröffentlichte eine Studie in dem Tau phosphoryliert an Stelle 231,181 und 199 bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit gegenüber anderen Gruppen signifikant erhöht war, wobei pTau 231 und pTau 181 eine Spezifität von über 75 % erreichten. In der vorliegenden Studie wurde der ELISA für pTau (181p) untersucht. Es erwies sich eine diagnostische Spezifität und Sensitivität über 80 % zur Abgrenzung gesunden Kontrollen von Alzheimer Patienten. Bereits vorangegangene Studien stützen diese Ergebnis und betonen, dass sich pTau (181) zur Diagnostik der Alzheimer-Krankheit neben Gesamt-Tau und A β 42/40 gut eignet (Blennow et al. 2001; Buerger et al. 2002; Hampel et al. 2004).

Es wird vermutet, dass pTau ein besserer Marker zur Ermittlung der zerebralen Tauopathie als Gesamt-Tau ist (Maddalena et al. 2003; Hansson et al. 2006; Mattsson et al. 2009). Diese Aussage wird durch histopathologische Studie gestützt, welche einen positiven Zusammenhang für pTau und der Anzahl neurofibrillärer Bündel (NFB) vertreteten (Buerger et al. 2005; Seppälä et al. 2012). In der Literatur ergeben sich nur wenige Hinweise das Gesamt-Tau im Liquor ein Messwert für kortikale NFB ist (Tapiola et al. 2009).

Es wird deutlich, dass sich erhöhte Tau-Konzentrationen im Liquor bei verschiedenen neurodegenerativen Prozessen finden. Dennoch nimmt die Messung von Tau Proteine im Liquor einen wichtigen Stellwert in der Differentialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen ein. In den vorliegenden Daten weisen Tau, A β 42 und die A β 42/40 Ratio eine bessere Teststärke zur Unterscheidung auf als pTau oder pTau rel (AUC: Ratio > Gesamt-Tau > A β 42 > pTau > pTau rel). Andere Studien betonen jedoch eine Überlegenheit von pTau (181) mit einer höheren Teststärke zur Unterscheidung einer Alzheimer-Krankheit und anderen dementiellen Erkrankungen (Struyfs et al. 2015; Goossens et al. 2017). pTau im Liquor

kann zudem bei der Differenzierung einer Alzheimer-Krankheit von einer Frontotemporalen Demenz oder Lewy-Body-Demenz helfen (Hampel et al. 2004). Die Studienlage bezüglich der diagnostischen Unterschiede bei der vaskulären Demenz oder Demenz infolge eines Morbus Parkinson sind nicht eindeutig (Andreasen et al. 2001; Buerger et al. 2002; Stefani et al. 2012; Kaerst et al. 2013; Gmitterová et al. 2018). Wir konnten keine erhöhten Gesamt-Tau-Konzentrationen bei einer vaskulären Demenz oder einem Morbus Parkinson mit oder ohne Demenz finden. Um Patienten mit einer Frontotemporalen Demenz oder Depressionen von einer Alzheimer-Krankheit abzugrenzen ist Gesamt-Tau im Liquor, mit einer geschätzten diagnostischen Wertigkeit von $> 90 \%$, ein guter diagnostischer Marker (Sjögren et al. 2000; Andreasen et al. 2001; Irwin et al. 2013).

Die Annahme, dass Gesamt-Tau auch bei der Erkennung eines Normaldruckhydrozephalus relevant sein kann (Kudo et al. 2000), konnte anhand dieser Studie nicht bestätigt werden (vgl. Kap. 3.2). Im Gegenteil, Gesamt-Tau kann eher zur Differenzierung zwischen einer Alzheimer-Krankheit und einem Normaldruckhydrozephalus herangezogen werden (Ågren-Wilsson et al. 2007; Kapaki et al. 2007).

Neben pTau wurde der Biomarker pTau rel untersucht. Der ELISA für pTau rel ermittelt die Konzentrationen der nicht-phosphorylierten Tau Fraktionen. PTau rel wird eine vergleichbare diagnostische Stärke wie Gesamt-Tau und pTau zugeschrieben (Lewczuk et al. 2017). Diese Annahme konnte anhand der vorliegenden Daten nicht gestützt werden. Wie auch andere Studien zuvor berichteten, weist pTau rel als alleiniger Marker oder auch in Kombination mit den anderen Destruktionsmarkern eine geringe AUC im Hinblick auf die Differenzierung einer Alzheimer-Krankheit und anderen Demenzen auf, und beweist somit eine Überlegenheit der bisherigen etablierten Marker (Goossens et al. 2017). Erste Hinweise ergeben sich, dass pTau rel zur Differenzierung einer Alzheimer-Krankheit und Creutzfeld-Jakob-Krankheit Vorteile erbringen kann (Ermann et al. 2018)

Des Weiteren wird ein Zusammenhang zwischen Gesamt-Tau bzw. pTau im Liquor und dem Krankheitsstadium diskutiert. Auf diese Annahme weisen auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit hin (vgl. Kap. 3.9.1). In der vorliegenden Arbeit wurde eine positive Korrelation für die Demenzschweregrade und pTau gefunden. Für Gesamt-Tau ergaben sich keinen signifikanten Unterschieden, jedoch war ein ansteigender Trend der Gesamt-Tau Konzentrationen im Liquor mit zunehmendem Demenzstadium zu verzeichnen. Bereits Buerger et al. (2005) beschrieben einen Zusammenhang zwischen pTau im Liquor und dem kognitiven Zerfall. Weitere Daten beschrieben eine signifikante positive Korrelation für

pTau und der Anzahl an kognitiven Einschränkungen bewertet nach DSM-IV- und NINCDS-ADRDA-Kriterien (Wallin et al. 2006). Eine Vielzahl andere Studien bestätigt, dass kein Zusammenhang zwischen Gesamt-Tau im Liquor und dem Schweregrad der Demenz oder dem MMST festzustellen ist (Arai et al. 1995; Motter et al. 1995; Galasko et al. 1997; Wallin et al. 2006). Demgegenüber steht eine alte neuropathologischen *post mortem* Studien, welche einen Zusammenhang zwischen Gesamt-Tau im Liquor und dem Demenzschweregrad darlegt (Braak und Braak 1991).

Dennoch wird in der Literatur betont, dass Gesamt-Tau proportional mit dem kognitiven Verfall im Laufe der Alzheimer Erkrankung steigt, und als Maß für das Fortschreiten einer Alzheimer-Krankheit nicht vernachlässigt werden darf (Tato et al. 1995; Kanai et al. 2004; Blom et al. 2009; Sämgård et al. 2009). Die Studie von Sämgård et al. (2009) veranschaulichte anhand von 142 an der Alzheimer-Krankheit erkrankten Patienten, dass ein schwerer Krankheitsverlauf mit Gesamt-Tau im Liquor korreliert. Alzheimer Patienten mit einer Gesamt-Tau-Konzentration > 800 ng/l erreichten in kognitiven Test schlechtere Ergebnisse als Patienten mit einem Level < 800 ng/l. Blom et al. haben anhand von 58 Patienten mit einem *mild cognitive impairment* gezeigt, dass diejenigen mit hohen Gesamt-Tau- oder pTau-Spiegel schneller eine Alzheimer-Krankheit entwickeln.

Inwieweit sich Gesamt-Tau oder pTau im Alter verhält, wird kontrovers diskutiert. In der vorliegenden Studie konnte nur ein Zusammenhang in der Gruppe der Alzheimer-Krankheit gefunden werden, dies könne daran liegen, dass ältere Patienten an einer weiter fortgeschrittenen Demenz leiden oder ein höheres Risiko für neurodegenerative Prozesse haben. Für die gesunden Probanden ergab sich keine Korrelation bezüglich des Alters und Gesamt-Tau. Es ist jedoch zu beachten, dass der Altersdurchschnitt der gesunden Kontrollen bei 45 Jahren lag und der Altersdurchschnitt der Alzheimer Patienten bei 75 Jahren, somit kann keine Aussage von gesunden Kontrollen im hohen Alter und der Tau-Konzentrationen im Liquor getroffen werden. Die meisten Studien konnten weder einen Zusammenhang zwischen dem Alter und den Gesamt-Tau-Konzentration bei Alzheimer-Krankheit noch bei gesunden Probanden feststellen (Andreasen et al. 1998; Burkhard et al. 2004; Hansson et al. 2006). Vermehrt bestand jedoch die Annahme, dass die Konzentrationen für Gesamt-Tau und pTau bei gesunden Probanden mit dem Alter zunehme (Arai et al. 1995; Shoji et al. 1998; Engelborghs et al. 2006).

Zusammenfassend kann der Destruktionsmarker Gesamt-Tau oder pTau Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit von der gesunden Kontrollgruppe signifikant unterscheiden und ist ein

wertvolles diagnostisches Kriterium mit einer diagnostischen Sensitivität und Spezifität von 80 - 90 %. In der Differentialdiagnostik dementieller Erkrankungen ist laut vorliegender Arbeit Gesamt-Tau pTau überlegen, was wiederum kritisch zu diskutieren ist, da mehrere Studien darauf verweisen, das pTau Gesamt-Tau in Hinsicht auf einer Abgrenzung der Alzheimer-Krankheit gegenüber anderen Demenzen überlegen ist. Tau eignet sich gut zur Differenzierung gesunder Probanden, Patienten mit einer vaskulären Demenz, einem Normaldruckhydrozephalus oder Morbus Parkinson von Alzheimer-Erkrankten. Zur diagnostischen Abgrenzung einer Lewy-Body Demenz kann er nicht herangezogen werden. Für pTau ergeben sich gleichwertige Ergebnisse. Tau ist auch als prognostischer Marker vielversprechend. Vor allem ist pTau ein guter Marker den Krankheitsverlauf und die Demenzstadien zu beschreiben. pTau rel ist in der Alzheimer-Diagnostik zu vernachlässigen. Weder in der Erkennung noch in der Abgrenzung zu anderen in dieser Arbeit genannten Demenzen erzielt dieser Marker gute diagnostische Kriterien. Schließlich gilt, dass vor allem eine Kombination von zweier oder mehrere Biomarker eine Alzheimer-Krankheit genauer diagnostiziert als ein Marker alleine (Maddalena et al. 2003; Hansson et al. 2006; Mattsson et al. 2009).

4.2 Amyloidpeptide

Neben den Tau-Proteinen bilden die Amyloid-Peptide im Liquor einen wichtigen Stellwert in der Alzheimer-Diagnostik. Vor allem haben sich A β 42 und A β 40 in der Alzheimer-Diagnostik bewährt. Die vorliegenden Daten unterstützen die allgemein gültige Annahme, dass A β 42 im Liquor bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant erniedrigt ist und für die Alzheimer-Diagnostik herangezogen werden kann (Motter et al. 1995; Tamaoka et al. 1997; Galasko et al. 1998; Shoji et al. 1998; Mehta et al. 2000). Unsere Daten (vgl. Kap. 3.2.4) wie auch weitere Studien bestätigen, dass hohen Tau- bzw. niedrigen A β 42-Konzentrationen hochgradig prädiktiv für eine Alzheimer-Krankheit sind und niedrige Tau- bzw. hohe A β 42-Konzentrationen typisch für ein gesundes Kontrollkollektiv (Mulder et al. 2002; Gloeckner 2010). Beide Liquormarker sollten bei der Diagnostik einer Alzheimer-Krankheit bestimmt werden, um die diagnostische Sensitivität und Spezifität zu steigern (Galasko et al. 1998; Hulstaert et al. 1999; Andreasen et al. 2001).

Durch A β 42 wird wie durch Tau ist in einem gewissen Maß die Neurodegeneration wiedergegeben. Mehrfach konnte durch Autopsien und *in vivo* PET Bildgebung gezeigt werden, dass sich A β 42 im Liquor umgekehrt proportional zu Amyloid Ablagerungen im Gehirn verhält (Strozyk et al. 2003; Fagan et al. 2007; Grimmer et al. 2009).

Wie auch in dieser Studie gezeigt wurde, werden bei Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen wie der Lewy-Body-Demenz, dem Normaldruckhydrozephalus oder der Creutzfeld-Jakob-Krankheit ebenfalls erniedrigte A β 42-Spiegel gemessen (Otto et al. 1997; Andreasen et al. 2001; Gloeckner 2010). Weiterhin konnte ein erhöhter Prozentsatz an Alzheimer-typischen Liquorprofilen bei Patienten mit nicht Alzheimer-Demenzen, wie beispielsweise der Frontotemporalen Demenz gefunden werden (Ling et al. 2010; Toledo et al. 2012, Schoonenboom et al. 2012). Auch bei Patienten mit überlappenden Diagnosen wie eine Alzheimer-Krankheit und Frontotemporale Demenz sind die Biomarker nur beschränkt aussagekräftig (Toledo et al. 2012). Auch in den vorliegenden Daten hat A β 42 eine geringere diagnostische Wertigkeit mit einer AUC von um die 80 % hinsichtlich der Differentialdiagnostik zu anderen Demenzen. Die Spezifität der Biomarker gilt es weiterhin kritisch zu betrachten. Zu einer definitiven Diagnosesicherung werden weiterhin mehrere diagnostische Verfahren benötigt (Schoonenboom et al. 2012).

Vor allem bei Patienten mit einem Normaldruckhydrozephalus ist es wichtig Tau-Proteine und die Amyloid-Peptide im Zusammenhang zu sehen. Insgesamt sind die Proteinkonzentrationen bei diesen Patienten im Liquor niedrig. Neben erniedrigten Tau-Konzentrationen weisen sie erniedrigte Konzentrationen für A β 42 und A β 40 auf, womit die Ratio innerhalb des Referenzbereiches bleibt (vgl. Kap. 3.6). Es wird deutlich, dass vor allem die Ratio ein Differentialdiagnostik ermöglicht (Ågren-Wilsson et al. 2007; Gloeckner 2010; Graff-Radford 2014). Für die niedrigen Proteinkonzentrationen im Liquor soll ein verminderter periventrikulärer Stoffwechsel ursächlich sein (Momjian et al. 2004). Das Risiko Amyloide-Plaques zu entwickeln sei geringer (Jeppsson et al. 2013). Beim Vorliegen eines Normaldruckhydrozephalus und einer Alzheimer-Krankheit kann der Normaldruckhydrozephalus das Liquorprofil der Alzheimer-Krankheit maskieren. Zur Differenzierung werden A β -PET Studien als weiteres diagnostisches Kriterium vorgeschlagen (Jeppsson et al. 2013).

In den vorliegenden Daten erbrachte der alleinige Marker A β 40 keine diagnostische Überlegenheit, um eine Alzheimer-Krankheit von Kontrollen oder anderen neurodegenerativen Erkrankungen abzugrenzen. In den unterschiedlichen Gruppen waren die Werte annähernd gleich. Dies wird auch in gängiger Literatur bestätigt (Mehta et al. 2000; Hansson et al. 2007). Es finden sich nur wenige Hinweise, dass zum Beispiel erhöhte Konzentrationen von A β 40 im Liquor bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe gefunden wurde (Lewczuk et al. 2015). Obwohl A β 40 im Liquor keine Veränderungen in der Alzheimer-Krankheit zeigt, hat sich vor allem das Verhältnis von A β 42/40 als

sinnvoller Marker etabliert. Wie auch die vorliegenden Daten zeigen eignet sich die A β 42/40 Ratio besser als A β 42 allein, um Alzheimer-Erkrankte von anderen Demenzen zu unterscheiden (Dorey et al. 2015; Janelidze et al. 2016).

Um die Beziehung zwischen A β 42 und dem Demenzschweregraden bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit zu untersuchen, erfolgte eine Schweregradeinteilung anhand des MMST. Grafisch imponiert ein leicht positiver Trend der Mittelwerte, signifikante Unterschiede fanden sich nicht (vgl. Kap. 3.9.2). Viele Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen Liquormarkern und dem MMST feststellen (Motter et al. 1995; Tamaoka et al. 1997; Mehta et al. 2000; Wallin et al. 2006). Wallin et al. (2006) beschreiben lediglich, dass Alzheimer-Patienten, die während einer fünfjährigen *follow up* Studie verstorben waren, niedrigere A β 42-Spiegel im Liquor aufwiesen, als diejenigen die überlebten. Auch histopathologische post mortem Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen der Anzahl seniler Plaques und dem Schweregrad der Erkrankung feststellen (Hyman et al. 1993). Wenige Studien verweisen jedoch auf eine Korrelation der MMST und der A β 42-Spiegel (Galasko et al. 1998).

Engelborghs et al. (2006) beschrieben einen Zusammenhang für den Verlauf zerebro-vaskulären Erkrankungen. Unserer Daten bestätigen lediglich, dass Erkrankungen mit akuten degenerativen Prozessen wie eine Ischämie oder Meningitis/Enzephalitis erniedrigte A β 42-Konzentrationen aufweisen (Andreasen et al. 2001).

Die vorliegenden Daten zeigen, dass der Median für A β 42 bei einem *mild cognitive impairment* gegenüber der Kontrollgruppe niedriger ist. Patienten mit einem *mild cognitive impairment* und pathologischen Destruktionsmarker weisen ein erhöhtes Risiko auf, schneller eine Alzheimer-Krankheit zu entwickeln (Buchhave et al. 2012). Darüber hinaus wird vermutet, dass niedrige A β 42-Spiegel zum Diagnosezeitpunkt mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf und somit mit einem erhöhten Letalitätsrisiko einhergehen (Engelborghs et al. 2006; Wallin et al. 2006).

Zusammenfassend können die Destruktionsmarker hilfreich sein, um zwischen neurodegenerativen Erkrankungen zu unterscheiden. In den vorliegenden Daten weist die A β 42/40 Ratio eine bessere diagnostische Wertigkeit als A β 42 im Hinblick auf die Unterscheidung zu anderen Demenzen auf. Was auch durch viele Studien bestätigt wird (Shoji et al. 1998; Fukuyama et al. 2000; Kanai et al. 2004; Hansson et al. 2007; Olsson et al. 2016). Der alleinige

Marker A β 40 kann nicht zur Differentialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen herangezogen werden. Ob A β 42 oder die A β 42/40 Ratio mit dem Demenzschweregrad in Bezug gesetzt werden können ist aktuell nicht eindeutig geklärt.

4.3 TTR im Liquor und im Serum

Mehrere Experimente und Studien gehen von einem Zusammenhang der Alzheimer-Erkrankung und der TTR-Spiegel im Liquor aus. Die TTR-Spiegel im Liquor korrelieren negativ mit der Anzahl seniler Plaque, sodass eine neuroprotektive Wirkung vermutet wird (Merched et al. 1998). Durch TTR werden Neurone vor toxische und prätoxische A β -Aggregate geschützt. Diese direkten Protein-Protein-Interaktion konnten mittels Oberflächenplasmonenresonanz veranschaulicht werden (Buxbaum et al. 2008).

Liu und Murphy (2006) untersuchten die Wirkung von TTR auf A β -Aggregatgröße und dessen Morphologie. Durch die Zugabe von 1 μ M TTR zu 140 μ M A β verringert sich die Anzahl der großen Aggregate merklich und senkt signifikant die Länge dieser beobachteten Aggregate ohne grobe Veränderungen in ihrer linearen Morphologie. Angesichts dieser Analyse stellten sie die Hypothese auf, dass TTR bevorzugt an wachsenden A β -Filamente bindet und die Verlängerung sowie die laterale Ausrichtung der Fibrillen hemmt. Durch diese Interaktion wird die Ablagerung von β -Amyloiden zu senilen Plaques unterbrochen und der neuronale Tod verhindern oder verzögern (Liu und Murphy 2006).

Die Studienlage bezüglich der diagnostischen Wertigkeit von TTR bei neurodegenerativen Erkrankungen ist widersprüchlich und nur wenige Publikationen waren zu dieser Thematik zu finden. Einige Studien ermittelten signifikant erniedrigte TTR-Spiegel bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit im Gegensatz zu gesunden Kontrollen (Serot et al. 1997b; Merched et al. 1998; Hansson et al. 2009; Gloeckner 2010; Wang et al. 2016). Als ursächlicher Pathomechanismus wird eine verminderte TTR-Produktion vermutet (Serot et al. 1997a). Gloeckner (2010) untersuchte TTR hinsichtlich der diagnostischen Wertigkeit bei neurodegenerativen Erkrankungen. Die Studie beschrieb erniedrigte Konzentrationen für Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit und mit einem Normaldruckhydrozephalus. Bei Patienten mit einer Creutzfeld-Jakob-Krankheit, Lewy-Body-Demenz oder Frontotemporalen Demenz ergaben sich normwertige Ergebnisse, sodass hier durch TTR eine Abgrenzung möglich wurde. Die Fallzahl auf die diese Studie ihre Ergebnisse stützt ist jedoch sehr gering: Alzheimer-Krankheit: N=23; Kontrollgruppe: N=19. Weiterhin fanden sich in der Literatur erniedrigte TTR-Konzentrationen bei Patienten mit einer schweren Depression (Hatterer, J.

A. et al. 1993; Sullivan et al. 2006). In dieser Dissertation (vgl. Kap. 3.10) und anderen Studien konnte keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Schultz et al. 2010). In der vorliegenden Studie ist die Fallzahl höher: Alzheimer-Krankheit: N = 63; Kontrollgruppe: N = 69. Auffällig sind jedoch vereinzelt erniedrigte TTR-Spiegel in der Gruppe der Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit, sodass dennoch ein Zusammenhang zwischen TTR und der Alzheimer-Krankheit vermutet werden kann.

Ein schon oft dargelegter Zusammenhang zwischen einer Abnahme der TTR-Spiegel im Liquor mit zunehmendem Alter (Serot et al. 1997b; Sullivan et al. 2006), kann durch die vorliegende Studie bestätigt werden (vgl. Kap. 3.10.5). Goeckner konnte wiederum keinen Zusammenhang finden.

In dieser Untersuchung ergab sich eine positive Korrelation zwischen dem TTR-Quotienten und dem Alter bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit und bei Patienten nach einem akut ischämischen Ereignis. Die Korrelationskoeffizienten lagen bei 0,43 bzw. 0,5 (vgl. Kap. 3.10.7). Es konnten keine vergleichbare Literatur gefunden werden. Es könnte ein Zusammenhang mit dem Schweregrad der Erkrankungen bestehen, jedoch fehlen weitere Daten, diese Annahme zu unterstützen.

Zusammenfassend besteht aufgrund der Datenlage dieser Arbeit die Annahme, dass TTR keine ausschlaggebende Relevanz in der Differentialdiagnostik der oben aufgeführten neurologischen Erkrankungen hat. Jedoch fallen bei manchen Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit besonders niedrige TTR im Liquor auf. Laut Literatur und diversen Experimenten wird vermutet, dass TTR eine Rolle bei der Ablagerung von Beta-Amyloiden spielt. Demnach ist es interessant weiterhin die TTR-Konzentrationen im Liquor bei Patienten mit einer Alzheimer-Krankheit zu ermitteln.

4.4 Studienbeschränkungen

Die vorliegende Dissertation weist einige Limitationen auf. Die Anzahl der Patienten in den unterschiedlichen Diagnosegruppen, ausgenommen der Kontrollgruppe, waren relativ gering. Für den pTau rel ELISA ergab ich die Problematik, dass dieser im Verlauf der Messungen nicht mehr erhältlich war, sodass das Studienkollektiv für pTau rel kleiner ausfiel als für die anderen Marker. Ferner gab es nur sehr wenige Patienten in der Gruppe für die Lewy-Body-Demenz. Patienten mit Frontotemporaler Demenz oder Creutzfeld-Jakob-Krankheit waren kein Bestandteil des Kollektivs. Die Probensammlung erfolgte unselektiert über die Patientenaufnahme der neurologischen Klinik der UMG, sodass vor allem die Anzahl an

Patienten mit einer dementiellen Erkrankung gering war. Vor allem Patienten mit Multipler Sklerose, Pseudotumor cerebri, Depressionen, Meningitis, Enzephalitis oder Patienten, die sich zum Ausschluss einer akuten Pathologie vorstellten, bildeten die Gruppen der am häufigsten punktierten Patienten in unserer Klinik. Es ist anzunehmen, dass zwar dementiell erkrankte Patienten stationär aufgenommen wurden, nur im Verlauf keine Liquordiagnostik erfolgte, da die Risiko-Nutzen Abwägung zu gering oder eine Anstrengung für den Patienten zu hoch waren. Zudem wurde nur Proben über einen Zeitraum von zwei Jahren gesammelt. Ein längerer Zeitraum hätte gewiss mehr Patienten für die vorliegende Studie geschaffen. Ferner wurden nur Patienten mit einer gesicherten Diagnose eingeschlossen. Verdachtsdiagnosen oder unklare Fälle wurden ausgeschlossen. Somit wurde zwar eine klare Trennung der Gruppen ermöglicht, schränkt jedoch auch die statistischen Analysen ein. Weiterhin gab es eine Vielzahl an Proben, bei denen die Proteinkonzentrationen von vor allem Tau oder pTau oberhalb oder unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Zu hohe Tau oder pTau Konzentrationen ergaben sich vor allem bei Patienten mit schwer fortgeschrittenen Demenzen, akuten Pathologien wie einer zerebralen Ischämie oder Enzephalitis. Für die Kontrollgruppe ergaben sich auf der anderen Seite häufig Werte unterhalb der Nachweisgrenze. Es erscheint, als ob den aktuellen ELISAs die notwendige Empfindlichkeit zur Ermittlung der genauen Proteinkonzentrationen fehlt. Somit wird eine Verwendung der Biomarker in der Differentialdiagnostik erschwert. Daraus ergibt sich außerdem, dass die ermittelten Grenzwerte dieser Studie nur bedingt aussagekräftig sind.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Ergebnisse unterschiedlicher ELISAs zur Bestimmung von neuronalen Destruktionsmarkern bei Patienten mit Alzheimer-Erkrankung und anderen neurodegenerativen Erkrankungen sowie einer Vergleichskohorte verglichen. Hierbei zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den ELISAs der unterschiedlichen Hersteller. Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnte eine Grenzwertbestimmung erfolgen, mit deren Hilfe die diagnostische Genauigkeit der verwendeten ELISAs eingeschätzt werden konnte. Die vorliegenden Ergebnisse verdeutlichen, dass eine genaue Kenntnis der Unterschiede zwischen den verwendeten ELISAs und ihrer jeweiligen Grenzwerte für die Differentialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen unabdingbar ist. Eine valide Differentialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen mittels Liquordiagnostik zur Identifizierung einer Alzheimer-Krankheit ist bisher nur begrenzt möglich.

Limitierend für die vorliegende Studie ist das retrospektive und monozentrische Design. Eine Stärke liegt in der Patientenzahl und -charakterisierung sowie dem Vergleich der Alzheimer Erkrankung mit anderen, neurodegenerativen Erkrankungen und einer gesunden Vergleichskohorte.

Die Ergebnisse dieser Dissertation legen dar, dass vor allem A β 42 und die A β 42/40 Ratio Alzheimerpatienten signifikant von gesunden Kontrollen abgrenzt. Für eine Unterscheidung der Demenzschweregrade sind sie jedoch nur wenig aussagekräftig. Hier ergaben sich bessere Ergebnisse für Tau und pTau. Präanalytische und analytische Bedingungen verdeutlichen, inwieweit Grenzwerte der einzelnen Proteine schwanken können. Um allgemeingültige Referenzwerte zu definieren, muss die Methodik standardisiert und einheitlich sein. Weiterhin sind die Biomarker nur ein Wegweiser in der Demenz-Diagnostik und kein diagnostisches Kriterium. Ob die Bestimmung von TTR ein sinnvolles Instrument in der Differentialdiagnostik ist, bleibt trotz Hinweisen auf biologische Zusammenhänge bei teilweise widersprüchlicher Studienlage unklar.

6 Anhang

Tabelle A 1: Gesamt-Tau.

		INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V.							
		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
Gesamt-Tau (pg/ml)	Mittelwert	163	263	621	525	214	189	491	240
	Median	147	280	491	475	164	140	413	214
	SD	68	101	350	382	101	117	154	164
	Minimum	68	91	182	169	132	87	391	75
	Maximum	391	382	1507	1938	368	537	668	830
	Anzahl	96	7	34	20	5	17	3	28

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 2: Post Hoc Analyse nach Tamhane für Tau gemessen mit dem ELISA INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V.; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	0,995	0	0,059	1	1	1	0,946

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 3: Gesamt-Tau.

hTAU total ELISA AJ Roboscreen GmbH

		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
Gesamt-Tau (pg/ml)	Mittelwert	186	286	613	510	338	265	579	314
	Median	173	309	558	519	214	234	583	302
	SD	73	115	273	214	336	126	34	178
	Minimum	83	100	209	169	98	148	544	95
	Maximum	579	408	1365	1149	990	620	611	765
	Anzahl	83	7	34	20	6	14	3	25

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 4: Post Hoc Analyse nach Tamhane den hTAU total ELISA AJ Roboscreen GmbH; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	0,828	0	0	1	0,646	0,016	0,045

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 5: A β 42.

INNOTEST® β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ von Fujirebio Europe N.V.

		AD	KG	LBD	MCI	MD	NDH	PD	VaD
A β 42 (pg/ml)	Mittelwert	657	1421	639	1187	870	929	1152	984
	Median	660	1454	617	1240	687	947	1039	920
	SD	208	316	65	329	467	311	370	431
	Minimum	285	760	587	748	357	437	645	453
	Maximum	1268	2453	712	1638	2113	1565	2452	1690
	Anzahl	34	104	3	7	20	19	28	6

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 6: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den ELISA INNOTEST® β -AMYLOID (1-42) von Fujirebio Europe N.V.; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	1	0	0,006	1	0	0,001	0,142

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 7: A β 42.

Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH

		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
A β 42 (pg/ml)	Mittelwert	1353	1051	556	769	851	798	433	990
	Median	1371	1037	545	544	729	778	397	950
	SD	368	451	217	504	534	344	218	355
	Minimum	593	588	181	224	422	237	235	390
	Maximum	2027	1922	928	1995	1802	1321	667	2015
	Anzahl	101	7	34	20	6	19	3	28

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 8: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA von IBL International GmbH; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	0,972	0	0,002	0,867	0	0	0

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 9: A β 42/40 Ratio.

A β 42/40 Ratio, Fujirebio Europe N.V.

		AD	KG	LBD	MCI	MD	NDH	PD	VaD
A β 42/40 Ratio	Mittelwert	0,71	1,32	0,52	0,93	0,77	1,33	1,11	1,15
	Median	0,65	1,28	0,49	0,89	0,68	1,28	1,07	1,05
	SD	0,31	0,32	0,14	0,37	0,37	0,38	0,29	0,58
	Minimum	0,23	0,55	0,40	0,50	0,30	0,76	0,70	0,38
	Maximum	1,44	2,26	0,67	1,64	1,65	2,42	1,84	1,90
	Anzahl	34	104	3	7	20	19	28	6

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 10: Post Hoc Analyse nach Tamhane für A β 42/40 Ratio von Fujirebio Europe N.V.; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	NDH	VaD	LBD	PD
p-Wert	0,985	0	0	1	1	0,427	0,245

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 11: A β 42/40 Ratio.

		Aβ42/40 Ratio, IBL International GmbH							
		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
A β 42/40 Ratio	Mittelwert	1,19	0,82	0,55	0,73	0,96	1,07	0,46	0,99
	Median	1,10	0,82	0,49	0,70	0,93	1,10	0,53	0,98
	SD	0,37	0,21	0,21	0,38	0,41	0,28	0,18	0,24
	Minimum	0,60	0,50	0,26	0,24	0,37	0,70	0,26	0,56
	Maximum	2,57	1,06	1,12	1,58	1,61	1,87	0,60	1,54
	Anzahl	101	7	34	20	6	19	3	28

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 12: Post Hoc Analyse nach Tamhane für A β 42/40 Ratio von IBL International GmbH; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	NDH	VaD	LBD	PD
p-Wert	0,073	0	0,001	0,961	0,999	0,778	0,033

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 13: A β 40.

Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (old) von IBL International GmbH

		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
A β 40 (pg/ml)	Mittelwert	11518	13924	10401	11782	10572	7697	12805	11143
	Median	10745	15046	10182	11064	10641	6829	14576	10240
	SD	4219	4998	3720	4434	6464	3579	3094	4635
	Minimum	4537	7272	3671	5367	3776	2209	9233	5079
	Maximum	31815	21543	22260	26359	21703	15861	14607	23376
	Anzahl	101	7	34	20	6	19	3	28

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 14: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (old) von IBL International GmbH; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	1	0,989	1	1	0,008	1	1

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 15: A β 40.

Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (novel) von IBL International GmbH

		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
A β 40 (pg/ml)	Mittelwert	12068	12907	10531	10592	10151	7651	9250	10431
	Median	11733	11654	10520	10188	10462	7142	9142	10559
	SD	4104	4648	3362	4419	6264	3330	1773	4192
	Minimum	5317	7951	3397	5051	2982	2517	7534	4767
	Maximum	33047	20144	19925	24956	20172	15861	11075	21475
	Anzahl	101	7	34	20	6	19	3	28

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 16: Post Hoc Analyse nach Tamhane für Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA (novel) von IBL International GmbH; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	1	0,611	0,996	1	0,001	0,935	0,881

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 17: pTau.

ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181)

		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p'Tau (pg/ml)	Mittelwert	32	49	76	63	47	33	70	42
	Median	30	56	69	65	46	32	74	44
	SD	11	15	37	28	12	11	14	17
	Minimum	15	18	27	28	35	18	54	19
	Maximum	63	60	183	148	60	62	82	72
	Anzahl	101	7	34	20	4	20	3	17

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 18: Post Hoc Analyse nach Tamhane für den ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181); neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	0,955	0	0,009	1	1	0,997	0,404

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 19: pTau rel.

pTau rel ELISA von AJ Roboscreen GmbH vertrieben durch IBL

		KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
pTau rel (pg/ml)	Mittelwert	54	91	174	169	182	61	-	68
	Median	48	91	82	102	80	60	-	66
	SD	21	39	221	150	224	19	-	21
	Minimum	11	63	19	47	52	43	-	41
	Maximum	115	118	834	417	517	82	-	112
	Anzahl	64	2	14	8	4	4	-	12

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 20: Post hoc Analyse nach Bonferroni für den pTau rel ELISA von AJ Roboscreen GmbH; neurodegenerative Erkrankungen verglichen mit der Kontrollgruppe.

	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
p-Wert	1	0	0,047	0,271	1	-	1

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 21: MMST und Demenzschweregrad.

MMST und Demenzstadien (Fujirebio Europe N.V.)					
		Gesamt-Tau (pg/ml)	pTau (pg/ml)	A β 42/40 (pg/ml)	A β 42/40 Ratio
MCI	Mittelwert	448	64	586	0,65
	Median	398	61	558	0,61
	SD	123	9	130	0,25
	Minimum	315	55	456	0,38
	Maximum	618	76	736	1,05
	Anzahl	5	5	5	5
Leichte Demenz	Mittelwert	598	76	639	0,69
	Median	459	69	568	0,57
	SD	361	40	180	0,35
	Minimum	182	29	444	0,23
	Maximum	1416	183	1105	1,35
	Anzahl	13	13	13	13
Mittelschwere Demenz	Mittelwert	722	88	703	0,71
	Median	622	86	669	0,66
	SD	392	41	279	0,33
	Minimum	241	27	285	0,36
	Maximum	1507	155	1268	1,44
	Anzahl	12	12	12	12
Schwere Demenz	Mittelwert	424	43	650	0,91
	Median	397	45	673	0,91
	SD	163	5	178	0,05
	Minimum	277	38	461	0,87
	Maximum	599	47	815	0,96
	Anzahl	3	3	3	3

MCI, *mild cognitive impairment*; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 22: MMST und Demenzschweregrad.

MMST und Demenzstadien (IBL International GmbH)					
		Gesamt-Tau (pg/ml)	pTau rel (pg/ml)	A β 42/40 (pg/ml)	A β 42/40 Ratio
MCI	Mittelwert	389	-	801	0,70
	Median	353	-	618	0,61
	SD	219	-	464	0,29
	Minimum	100	-	322	0,34
	Maximum	916	-	1922	1,10
	Anzahl	5	-	5	5
Leichte Demenz	Mittelwert	596	-	573	0,53
	Median	607	-	553	0,51
	SD	249	-	207	0,20
	Minimum	209	-	181	0,31
	Maximum	1195	-	928	1,12
	Anzahl	13	-	13	13
Mittelschwere Demenz	Mittelwert	703	-	565	0,56
	Median	638	-	534	0,54
	SD	319	-	258	0,20
	Minimum	336	-	222	0,26
	Maximum	1365	-	908	0,90
	Anzahl	12	-	12	12
Schwere Demenz	Mittelwert	417	-	494	0,56
	Median	446	-	451	0,66
	SD	90	-	239	0,20
	Minimum	317	-	279	0,33
	Maximum	489	-	751	0,70
	Anzahl	3	-	3	3

MCI, *mild cognitive impairment*; SD, Standardabweichung.

Tabelle A 23: Korrelation nach Spearman für das Alter und dem INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V..

Alter und Gesamt-Tau								
	KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
Korrelationskoeffizient	0,049	0,25	-0,388	0,268	0,7	0,147	0,5	0,274
Signifikanz (2-seitig)	0,637	0,589	0,023	0,253	0,188	0,573	0,667	0,158

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 24: Korrelation nach Pearson für den INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und den ELISA INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181).

Gesamt-Tau und pTau								
	KG	MCI	AD	MD	VaD	NDH	LBD	PD
Korrelationskoeffizient	0,534	0,608	0,813	0,906	0,979	0,626	0,768	0,426
Signifikanz (2-seitig)	0	0,148	0	0	0,021	0,009	0,442	0,024

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 25: Korrelation nach Pearson für den INNOTEST ® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und den ELISA INNOTEST ® β -AMYLOID (1-42) von Fujirebio Europe N.V..

Gesamt-Tau und Aβ42								
	AD	KG	LBD	MCI	MD	NDH	PD	VaD
Korrelationskoeffizient	-0,368	0,245	0,987	-0,331	-0,362	-0,110	-0,083	-0,240
Signifikanz (2-seitig)	0,032	0,016	0,102	0,468	0,117	0,673	0,676	0,697

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vasculäre Demenz.

Tabelle A 26: Korrelation nach Pearson für INNOTEST ® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und den Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA von IBL International GmbH.

Gesamt-Tau und Aβ40								
	AD	KG	LBD	MCI	MD	NDH	PD	VaD
Korrelationskoeffizient	0,576	0,391	0,432	0,622	0,149	0,231	0,149	-0,126
Signifikanz (2-seitig)	0	0	0,715	0,136	0,532	0,372	0,448	0,840

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vasculäre Demenz.

Tabelle A 27: Korrelation nach Pearson für INNOTEST® hTau Ag von Fujirebio Europe N.V. und A β 42/40 Ratio.

Gesamt-Tau und Aβ42/40 Ratio								
	AD	KG	LBD	MCI	MD	NDH	PD	VaD
Korrelationskoeffizient	-0,624	-0,363	-0,118	-0,973	-0,519	-0,506	-0,435	-0,238
Signifikanz (2-seitig)	0	0	0,924	0	0,019	0,038	0,021	0,700

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz

Tabelle A 28: Korrelation nach Pearson für den ELISA INNOTEST® β -AMYLOID (1-42) von Fujirebio Europe N.V. und den Amyloid-beta (1-40) CSF ELISA von IBL International GmbH.

Aβ42 und Aβ40								
	AD	KG	LBD	MCI	MD	NDH	PD	VaD
Korrelationskoeffizient	0,043	0,736	0,283	0,504	0,632	0,852	0,865	0,724
Signifikanz (2-seitig)	0,808	0	0,818	0,249	0,003	0	0	0,104

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; LBD, Lewy-Body-Demenz; MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung; MD, gemischte Demenz; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson; VaD, vaskuläre Demenz.

Tabelle A 29: Korrelation nach Spearman für das Alter und TTR-Konzentration im Serum.

Alter und TTR im Serum						
	KG	AD	Ischämie	MS	NDH	PD
Korrelationskoeffizient	-0,157	-0,422	-0,415	0,385	0,119	0,214
Signifikanz	0,209	0,002	0,077	0,175	0,779	0,645

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; MS, Multiple Sklerose; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson.

Tabelle A 30: Korrelation nach Spearman für das Alter und TTR-Konzentration im Liquor.

Alter und TTR im Liquor						
	KG	AD	Ischämie	MS	NDH	PD
Korrelationskoeffizient	0,276	0,049	0,2	0,466	-0,286	0,214
Signifikanz	0,022	0,721	0,36	0,093	0,493	0,645

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; MS, Multiple Sklerose; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson.

Tabelle A 31: Korrelation nach Spearman für das Alter und den TTR-Quotienten.

Alter und TTR-Quotient						
	KG	AD	Ischämie	MS	NDH	PD
Korrelationskoeffizient	0,217	0,432	0,502	0,459	-0,167	-0,071
Signifikanz	0,08	0,001	0,029	0,098	0,693	0,879

AD, Alzheimer-Krankheit; KG, Kontrollgruppe; MS, Multiple Sklerose; NDH, Normaldruckhydrozephalus; PD, Morbus Parkinson.

7 Literaturverzeichnis

Aasebø E, Opsahl JA, Bjørlykke Y, Myhr KM, Kroksveen AC, Berven FS (2014): Effects of Blood Contamination and the Rostro-Caudal Gradient on the Human Cerebrospinal Fluid Proteome. *PLoS ONE* 9, e90429

Ågren-Wilsson A, Lekman A, Sjöberg W, Rosengren L, Blennow K, Bergenheim AT, Malm J (2007): CSF biomarkers in the evaluation of idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Acta Neurol Scand* 116, 333–339

Ahmad SS, Khan S, Kamal MA, Wasi U (2019): The Structure and Function of α , β and γ -Secretase as Therapeutic Target Enzymes in the Development of Alzheimer's Disease: A Review. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 18, 657–667

Ahmed SV, Jayawarna C, Jude E (2006): Post lumbar puncture headache: diagnosis and management. *Postgrad Med J* 82, 713–716

Aleshire SL, Bradley CA, Richardson LD, Parl FF (1983): Localization of human prealbumin in choroid plexus epithelium. *J Histochem Cytochem* 31, 608–612

Andrade C (1952): A peculiar form of peripheral neuropathy; familiar atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain* 75, 408–27

Andreasen N, Vanmechelen E, Van de Voorde A, Davidsson P, Hesse C, Tarvonen S, Raiha I, Sourander L, Winblad B, Blennow K (1998): Cerebrospinal fluid tau protein as a biochemical marker for Alzheimer's disease: a community based follow up study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 64, 298–305

Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, Blennow K (2001): Evaluation of CSF-tau and CSF-A β 42 as Diagnostic Markers for Alzheimer Disease in Clinical Practice. *Arch Neurol* 58, 373–379

Arai H, Terajima M, Miura M, Higuchi S, Muramatsu T, Machida N, Seiki H, Takase S, Clark CM, Lee VMY, et al. (1995): Tau in cerebrospinal fluid: A potential diagnostic marker in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 38, 649–652

Arai H, Clark CM, Ewbank DC, Takase S, Higuchi S, Miura M, Seki H, Higuchi M, Matsui T, Lee VY (1998a): Cerebrospinal fluid tau protein as a potential diagnostic marker in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 19, 125–126

Arai H, Satoh-Nakagawa T, Higuchi M, Morikawa Y, Miura M, Kawakami H, Seki H, Sakasi H (1998b): No increase in cerebrospinal fluid tau protein levels in patients with vascular

dementia. *Neurosci Lett* 256, 174–176

Bennett DA, Schneider JA, Arvanitakis Z, Kelly JF, Aggarwal NT, Shah RC, Wilson RS (2006): Neuropathology of older persons without cognitive impairment from two community-based studies. *Neurology* 66, 1837–1844

Bian H, Swieten JCV, Leight S, Massimo L, Wood E, Forman M, Moore P, Koning I de, Clark CM, Rosso S, et al. (2008): CSF biomarkers in frontotemporal lobar degeneration with known pathology. *Neurology* 70, 1827–1835

Bibl M, Esselmann H, Otto M, Lewczuk P, Cepek L, R  ther E, Kornhuber J, Wiltfang J (2004): Cerebrospinal fluid amyloid β peptide patterns in Alzheimer’s disease patients and nondemented controls depend on sample pretreatment: Indication of carrier-mediated epitope masking of amyloid β peptides. *Electrophoresis* 25, 2912–2918

Billingsley ML, Kincaid RL (1997): Regulated phosphorylation and dephosphorylation of tau protein: effects on microtubule interaction, intracellular trafficking and neurodegeneration. *Biochem J* 323, 577–591

Binder LI, Frankfurter A, Rebhun LI (1985): The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *J Cell Biol* 101, 1371–1378

Bjerke M, Portelius E, Minthon L, Wallin A, Anckars  ter H, Anckars  ter R, Andreasen N, Zetterberg H, Andreasson U, Blennow K (2010): Confounding Factors Influencing Amyloid Beta Concentration in Cerebrospinal Fluid. *Int J Alzheimers Dis* 2010, 1–11

Black P (1980): Idiopathic normal-pressure hydrocephalus: Results of shunting in 62 patients. *J Neurol Neurosurg* 52, 371–377

Blake CCF, Oatley SJ (1977): Protein–DNA and protein–hormone interactions in prealbumin: a model of the thyroid hormone nuclear receptor? *Nature* 268, 115–120

Blennow K, Zetterberg H (2009): Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer’s disease. *J Alzheimers Dis* 18, 413–417

Blennow K, Zetterberg H (2018): Biomarkers for Alzheimer’s disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med* 284, 643–663

Blennow K, Wallin A,   gren H, Spenger C, Siegfried J, Vanmechelen E (1995): Tau protein in cerebrospinal fluid. *Mol Chem Neuropathol* 26, 231–245

Blennow K, Vanmechelen E, Hampel H (2001): CSF total tau, A β 42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer’s disease. *Mol Neurobiol* 24, 87–97

- Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H (2010): Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 6, 131–144
- Blennow K, Dubois B, Fagan AM, Lewczuk P, de Leon MJ, Hampel H (2015): Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 11, 58–69
- Blom ES, Giedraitis V, Zetterberg H, Fukumoto H, Blennow K, Hyman BT, Irizarry MC, Wahlund LO, Lannfelt L, Ingelsson M (2009): Rapid Progression from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease in Subjects with Elevated Levels of Tau in Cerebrospinal Fluid and the APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ Genotype. *Dement Geriatr Cogn Disord* 27, 458–464
- Braak H, Braak E (1991): Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 82, 239–259
- Bramblett GT, Coedert M, Jakes R, Merrick SE, Trojanowski JQ (1993): Abnormal Tau Phosphorylation at Ser366 in Alzheimer's Disease Recapitulates Development and Contributes to Reduced Microtubule Binding. *Neuron* 10, 1089–1099
- Brandner S, Thaler C, Lelental N, Buchfelder M, Kleindienst A, Maler JM, Kornhuber J, Lewczuk P (2014): Ventricular and Lumbar Cerebrospinal Fluid Concentrations of Alzheimer's Disease Biomarkers in Patients with Normal Pressure Hydrocephalus and Posttraumatic Hydrocephalus. *J Alzheimers Dis* 41, 1057–1062
- Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin ÅK, Blennow K, Hansson O (2012): Cerebrospinal Fluid Levels of β -Amyloid 1-42, but Not of Tau, Are Fully Changed Already 5 to 10 Years Before the Onset of Alzheimer Dementia. *Arch Gen Psychiatry* 69, 98–106
- Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Tapiola T, Arai H, Blennow K, Andreasen N, Hofmann-Kiefer K, DeBernardis J, Kerkman D, et al. (2002): Differential Diagnosis of Alzheimer Disease With Cerebrospinal Fluid Levels of Tau Protein Phosphorylated at Threonine 231. *Arch Neurol* 59, 1267–1272
- Buerger K, Ewers M, Andreasen N, Zinkowski R, Ishiguro K, Vanmechelen E, Teipel SJ, Graz C, Blennow K, Hampel H (2005): Phosphorylated tau predicts rate of cognitive decline in MCI subjects: A comparative CSF study. *Neurology* 65, 1502–1503
- Burkhard PR, Fournier R, Mermillod B, Krause KH, Bouras C, Irminger I (2004): Cerebrospinal fluid tau and Ab42 concentrations in healthy subjects: delineation of reference intervals and their limitations. *Clin Chem Lab Med* 42, 396–407
- Buxbaum JN, Ye Z, Reixach N, Friske L, Levy C, Das P, Golde T, Masliah E, Roberts AR,

- Bartfai T (2008): Transthyretin protects Alzheimer's mice from the behavioral and biochemical effects of A β toxicity. *Proc Natl Acad Sci* 105, 2681–2686
- Cicognola C, Chiasserini D, Eusebi P, Andreasson U, Vanderstichele H, Zetterberg H, Parretti L, Blennow K (2016): No diurnal variation of classical and candidate biomarkers of Alzheimer's disease in CSF. *Mol Neurodegener* 11, 65
- Coelho T, Maurer MS, Suhr OB (2013): THAOS – The Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey: initial report on clinical manifestations in patients with hereditary and wild-type transthyretin amyloidosis. *Curr Med Res Opin* 29, 63–76
- De Strooper B (2003): Aph-1, Pen-2, and Nicastrin with Presenilin Generate an Active γ -Secretase Complex. *Neuron* 38, 9–12
- Del Campo M, Mollenhauer B, Bertolotto A, Engelborghs S, Hampel H, Simonsen AH, Kapaki E, Kruse N, Le Bastard N, Lehmann S, et al. (2012): Recommendations to standardize preanalytical confounding factors in Alzheimer's and Parkinson's disease cerebrospinal fluid biomarkers: an update. *Biomark Med* 6, 419–430
- Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. (Hrsg.) (2018): Informationsblatt 1: Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen. <https://www.deutsche-alzheimer.de/ueber-uns/presse/artikel-ansicht/artikel/neues-informationsblatt-der-deutschen-alzheimer-gesellschaft-alle-100-sekunden-erkrankt-in-deutsch.html>; abgerufen am 13.11.2018
- DGN und DGPPN (2016): S3-Leitlinie „Demenzen“. S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie und der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde. <https://www.dgn.org/leitlinien/3176-leitlinie-diagnose-und-therapie-von-demenzen-2016>; abgerufen am 01.01.2017
- Dickson PW, Howlett GJ, Schreiber G (1985): Rat transthyretin (prealbumin). Molecular cloning, nucleotide sequence, and gene expression in liver and brain. *J Biol Chem* 260, 8214–8219
- Dilling H, Mombour W, Schmidt M (Hrsg.): Internationale Klassifikation psychischer Störungen: ICD–10 Kapitel V (F). Klinisch–diagnostische Leitlinien. 6. Auflage; Huber, Bern 2008
- Djukic M, Spreer A, Lange P, Bunkowski S, Wiltfang J, Nau R (2016): Small cisterno-lumbar gradient of phosphorylated Tau protein in geriatric patients with suspected normal pressure hydrocephalus. *Fluids Barriers CNS* 13, 1–5
- Dorey A, Perret-Liaudet A, Tholance Y, Fourier A, Quadrio I (2015): Cerebrospinal Fluid

A β 40 Improves the Interpretation of A β 42 Concentration for Diagnosing Alzheimer's Disease. *Front Neurol* 6, 247

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, et al. (2007): Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 6, 734–746

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, DeKosky ST, Gauthier S, Selkoe D, Bateman R, et al. (2014): Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol* 13, 614–629

Duits FH, Martínez-Lage P, Paquet C, Engelborghs S, Lleó A, Hausner L, Molinuevo JL, Stomrud E, Farotti L, Ramakers IHGB, et al. (2016): Performance and complications of lumbar puncture in memory clinics: Results of the multicenter lumbar puncture feasibility study. *Alzheimers Dement* 12, 154–163

Engelborghs S, Maertens K, Vloeberghs E, Aerts T, Somers N, Marien P, de Deyn PP (2006): Neuropsychological and behavioural correlates of CSF biomarkers in dementia. *Neurochem Int* 48, 286–295

Ermann N, Lewczuk P, Schmitz M, Lange P, Knipper T, Goebel S, Kornhuber J, Zerr I, Llorens F (2018): CSF nonphosphorylated Tau as a biomarker for the discrimination of AD from CJD. *Ann Clin Transl Neurol* 5, 883–887

Esch F, Keim PS, Beattie EC, Blacher RW, Culwell AR, Oltersdorf T, McClure D, Ward PJ (1990): Cleavage of Amyloid Beta Peptide During Constitutive Processing of Its Precursor. *Science* 4, 1122–1124

Evans RW (1998): Complications of Lumbar Puncture. *Neurol Clin* 16, 83–105

Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, Lee SY, Dence CS, Shah AR, LaRossa GN, Spinner ML, Klunk WE, Mathis CA, et al. (2006): Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. *Ann Neurol* 59, 512–519

Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, et al. (2005): Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 366, 2112–2117

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975): "Mini-mental state": A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12, 189–198

Förstl H (Hrsg.): Demenzen in Theorie und Praxis. 2. Auflage; Springer Medizin, Heidelberg 2009

- Fourier A, Portelius E, Zetterberg H, Blennow K, Quadrio I, Perret-Liaudet A (2015): Pre-analytical and analytical factors influencing Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarker variability. *Clin Chim Acta* 449, 9–15
- Fukuyama R, Mizuno T, Mizuno T, Mori S, Nakajima K, Fushiki S, Yanagisawa K (2000): Age-Dependent Change in the Levels of A β 40 and A β 42 in Cerebrospinal Fluid from Control Subjects, and a Decrease in the Ratio of A β 42 to A β 40 Level in Cerebrospinal Fluid from Alzheimer's Disease Patients. *Eur Neurol* 43, 155–160
- Galasko D, Clark C, Chang L, Miller B, Green RC, Motter R, Seubert P (1997): Assessment of CSF levels of tau protein in mildly demented patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 48, 632–635
- Galasko D, Chang L, Motter R, Clark CM, Kaye J, Knopman D, Thomas R, Kholodenko D, Schenk D, Lieberburg I, et al. (1998): High Cerebrospinal Fluid Tau and Low Amyloid β 42 Levels in the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease and Relation to Apolipoprotein E Genotype. *Arch Neurol* 55, 937–945
- Galvin JE, Lee VMY, Trojanowski JQ (2001): Synucleinopathies: Clinical and Pathological Implications. *Arch Neurol* 58, 186–190
- Glenner GG, Wong CW (1984): Alzheimer's Disease and Down's Syndrome: Sharing of a Unique Cerebrovascular Amyloid Fibril Protein. *Biochem Biophys Res Commun* 122, 1131–1135
- Gloeckner SF (2010): Transthyretin-, A β 1-40- und A β 1-42- und Tau-Protein-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis bei demenziellen Erkrankungen. Med. Diss. Göttingen 2010.
- Gmitterová K, Gawinecka J, Llorens F, Vargas D, Valkovič P, Zerr I (2018): Cerebrospinal fluid markers analysis in the differential diagnosis of dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 270, 461–470
- Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, et al. (1991): Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349, 704–706
- Goedert M, Spillantini MC, Rutherford D, Crowther RA (1989): Multiple Isoforms of Human Microtubule-Associated Protein Tau: Sequences and localization in Neurofibrillary Tangles of Alzheimer's Disease. *Neuron* 3, 519–526
- Gómez-Tortosa E, Gonzalo I, Fanjul S, Sainz MJ, Cantarero S, Cemillán C, Yébenes JG, Ser T del (2003): Cerebrospinal Fluid Markers in Dementia With Lewy Bodies Compared With

Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 60, 1218–1222

Goodman DS. Statement regarding nomenclature for the protein known as prealbumin, which is also (recently) called transthyretin. In: Glenner GG, Osserman EF, Benditt EP, Calkins E, Cohen AS, Zucker-Franklin D (Hrsg.): *Amyloidosis*. Plenum, New York 1986, 287–288

Goossens J, Bjerke M, Struyfs H, Niemantsverdriet E, Somers C, Van den Bossche T, Van Mossevelde S, De Vil B, Sieben A, Martin JJ, et al. (2017): No added diagnostic value of non-phosphorylated tau fraction (p-taurel) in CSF as a biomarker for differential dementia diagnosis. *Alzheimers Res Ther* 9, 49

Graff-Radford NR (2014): Alzheimer CSF biomarkers may be misleading in normal-pressure hydrocephalus. *Neurology* 83, 1573–1575

Grangeon L, Paquet C, Bombois S, Quillard-Muraine M, Martinaud O, Bourre B, Lefaucheur R, Nicolas G, Dumurgier J, Gerardin E, et al. (2016): Differential Diagnosis of Dementia with High Levels of Cerebrospinal Fluid Tau Protein. *J Alzheimers Dis* 51, 905–913

Green A, Harvey R, Thompson E, Rossor M (1999): Increased tau in the cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 259, 133–135

Grimmer T, Riemenschneider M, Förstl H, Henriksen G, Klunk WE, Mathis CA, Shiga T, Wester HJ, Kurz A, Drzezga A (2009): Beta amyloid in Alzheimer's disease: increased deposition in brain is reflected in reduced concentration in cerebrospinal fluid. *Biol Psychiatry* 65, 927–934

Grossman M, Farmer J, Leight S, Work M, Moore P, Van Deerlin V, Pratico D, Clark CM, Coslett HB, Chatterjee A, et al. (2005): Cerebrospinal fluid profile in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 57, 721–729

Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI (1986): Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83, 4913–4917

Hampel H, Teipel SJ, Fuchsberger T, Andreasen N, Wiltfang J, Otto M, Shen Y, Dodel R, Du Y, Farlow M, et al. (2004): Value of CSF β -amyloid_{1–42} and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Mol Psychiatry* 9, 705–710

Hampel H, Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Goedert M, Andreasen N, Sjogren M, DeBernardis J, Kerkman D, Ishiguro K, et al. (2004): Measurement of Phosphorylated Tau

Epitopes in the Differential Diagnosis of Alzheimer Disease: A Comparative Cerebrospinal Fluid Study. *Arch Gen Psychiatry* 61, 95–102

Hampel H, Blennow K, Shaw LM, Hoessler YC, Zetterberg H, Trojanowski JQ (2010): Total and Phosphorylated Tau Protein as Biological Markers of Alzheimer's Disease. *Exp Gerontol* 45, 30–40

Hansen LA, Samuel W (1997): Criteria for Alzheimer's Disease and the Nosology of Dementia with Lewy Bodies. *Neurology* 48, 126–132

Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L (2006): Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol* 5, 228–234

Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Andreasson U, Londos E, Minthon L, Blennow K (2007): Prediction of Alzheimer's Disease Using the CSF A β 42/A β 40 Ratio in Patients with Mild Cognitive Impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 23, 316–320

Hansson O, Mikulskis A, Fagan AM, Teunissen C, Zetterberg H, Vanderstichele H, Molinuevo JL, Shaw LM, Vandijck M, Verbeek MM, et al. (2018): The impact of pre-analytical variables on measuring CSF biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis: A review. *Alzheimers Dement* 14, 1313-1333

Hansson SF, Andréasson U, Wall M, Skoog I, Andreasen N, Wallin A, Zetterberg H, Blennow K (2009): Reduced Levels of Amyloid- β -Binding Proteins in Cerebrospinal Fluid from Alzheimer's Disease Patients. *Int J Alzheimers Dis* 16, 389–397

Hardy J, Selkoe DJ (2002): The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science* 297, 353–356

Hatterer, J. A., Herbert, J, Hidaka, C., Roose, S. P., Gormann, J. M. (1993): CSF Transthyretin in Patients With Depression. *Am J Psychiatry* 150, 813–815

Hesse C, Rosengren L, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Jensen C, Davidsson P, Blennow K (2000): Cerebrospinal Fluid Markers for Alzheimer's Disease Evaluated after Acute Ischemic Stroke. *Int J Alzheimers Dis* 2, 199–206

Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, Davidsson P, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K (2001): Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosci Lett* 293, 187–190

Holsinger RMD, McLean CA, Beyreuther K, Masters CL, Evin G (2002): Increased expression of the amyloid precursor β -secretase in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 51, 783–786

Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, Deyn PPD, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD, et al. (1999): Improved discrimination of AD patients using-amyloid (1-42) and tau levels in CSF. *Neurology* 52, 1555–1555

Hyman BT, Marzloff K, Arriagada PV (1993): The Lack of Accumulation of Senile Plaques or Amyloid Burden in Alzheimer's Disease Suggests a Dynamic Balance Between Amyloid Deposition and Resolution. *J Neuropathol Exp Neurol* 52, 594–600

Ingbar SH (1958): Pre-Albumin: A Thyroxine-Binding Protein of Human Plasma. *Endocrinology* 63, 256–259

Ingenbleek Y, De Visscher M (1979): Hormonal and nutritional status: Critical conditions for endemic goiter epidemiology? *Metabolism* 28, 9–19

Ingenbleek Y, Young V (1994): Transthyretin (prealbumin) in health and disease: nutritional implications. *Annu Rev Nutr* 14, 495–533

Irwin DJ, Trojanowski JQ, Grossman M (2013): Cerebrospinal fluid biomarkers for differentiation of frontotemporal lobar degeneration from Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 5, 6

Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y (1994): Visualization of A β 42(43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A β monoclonals: Evidence that an initially deposited species is A β 42(43). *Neuron* 13, 45–53

Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, Holtzman DM, Jagust W, Jessen F, Karlawish J, et al. (2018): NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 14, 535–562

Janelidze S, Zetterberg H, Mattsson N, Palmqvist S, Vanderstichele H, Lindberg O, van Westen D, Stomrud E, Minthon L, Blennow K, et al. (2016): CSF A β 42/A β 40 and A β 42/A β 38 ratios: better diagnostic markers of Alzheimer disease. *Ann Clin Transl Neurol* 3, 154–165

Jeppsson A, Zetterberg H, Blennow K, Wikkelso C (2013): Idiopathic normal-pressure hydrocephalus: Pathophysiology and diagnosis by CSF biomarkers. *Neurology* 80, 1385–1392

Journal of Biological Chemistry (1981): Nomenclature Committee of IUB (NC-IUB) IUB-IUPAC Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Newsletter 1981. *J Biol Chem* 256, 12–14

- Kabat EA, Moore DH, Landow H (1942): An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins. *J Clin Invest* 21, 571–577
- Kaerst L, Kuhlmann A, Wedekind D, Stoeck K, Lange P, Zerr I (2013): Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer’s disease, vascular dementia and ischemic stroke patients: a critical analysis. *J Neurol* 260, 2722–2727
- Kanai M, Raz A, Goodman DS (1968): Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest* 47, 2025–2044
- Kanai M, Matsubara E, Isoe K, Urakami K, Nakashima K, Arai H, Sasaki H, Abe K, Iwatsubo T, Kosaka T, et al. (2004): Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A β 1–40, and A β 1–42(43) in Alzheimer’s disease: A study in Japan. *Ann Neurol* 44, 17–26
- Kapaki EN, Paraskevas GP, Tzerakis NG, Sfagos C, Seretis A, Kararizou E, Vassilopoulos D (2007): Cerebrospinal fluid tau, phospho-tau181 and β -amyloid1–42 in idiopathic normal pressure hydrocephalus: a discrimination from Alzheimer’s disease. *Eur J Neurol* 14, 168–173
- Kosik KS, Joachim CL, Selkoe DJ (1986): Microtubule-associated protein tau is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83, 4044–4048
- Kovacs GG, Milenkovic I, Wöhner A, Höftberger R, Gelpi E, Haberler C, Hönigschnabl S, Reiner-Concin A, Heinzl H, Jungwirth S, et al. (2013): Non-Alzheimer neurodegenerative pathologies and their combinations are more frequent than commonly believed in the elderly brain: a community-based autopsy series. *Acta Neuropathol (Berl)* 126, 365–384
- Kowall NW, Beal MF, Busciglio J, Duffy LK, Yannkner B (1991): An in vivo model for the neurodegenerative effects of f8 amyloid and protection by substance P. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 7247–7251
- Kraybill ML, Larson EB, Tsuang DW, Teri L, McCormick WC, Bowen JD, Kukull WA, Leverenz JB, Cherrier MM (2005): Cognitive differences in dementia patients with autopsy-verified AD, Lewy body pathology, or both. *Neurology* 64, 2069–2073
- Kudo T, Mima T, Hashimoto R, Nakao K, Morihara T, Tanimukai H, Tsujio I, Koike Y, Tagami S, Mori H, et al. (2000): Tau protein is a potential biological marker for normal pressure hydrocephalus. *Psychiatry Clin Neurosci* 54, 199–202
- Larson EB, Shadlen MF, Wang L, McCormick WC, Bowen JD, Teri L, Kukull WA (2004):

- Survival after Initial Diagnosis of Alzheimer Disease. *Ann Intern Med* 140, 501-509
- Lavi R, Yernitzky D, Rowe JM, Weissman A, Segal D, Avivi I (2006): Standard vs atraumatic Whitacre needle for diagnostic lumbar puncture: A randomized trial. *Neurology* 67, 1492–1494
- Le Bastard N, De Deyn PP, Engelborghs S (2015): Importance and Impact of Preanalytical Variables on Alzheimer Disease Biomarker Concentrations in Cerebrospinal Fluid. *Clin Chem* 61, 734–743
- Lee VMY, Goedert M, Trojanowski JQ (2001): Neurodegenerative Tauopathies. *Annu Rev Neurosci* 1121–1159
- Lehmann S, Schraen S, Quadrio I, Paquet C, Bombois S, Delaby C, Dorey A, Dumurgier J, Hirtz C, Krolak-Salmon P, et al. (2014): Impact of harmonization of collection tubes on Alzheimer's disease diagnosis. *Alzheimers Dement* 10, 390-394
- Lewczuk P, Beck G, Esselmann H, Bruckmoser R, Zimmermann R, Fiszer M, Bibl M, Maler JM, Kornhuber J, Wiltfang J (2006): Effect of Sample Collection Tubes on Cerebrospinal Fluid Concentrations of Tau Proteins and Amyloid β Peptides. *Clin Chem* 52, 332–334
- Lewczuk P, Lelental N, Spitzer P, Maler JM, Kornhuber J (2015): Amyloid-A β 42/40 Cerebrospinal Fluid Concentration Ratio in the Diagnostics of Alzheimer's Disease: Validation of Two Novel Assays. *Journal of Alzheimer's Disease* 183–191
- Lewczuk P, Lelental N, Lachmann I, Holzer M, Flach K, Brandner S, Engelborghs S, Teunissen CE, Zetterberg H, Molinuevo JL, et al. (2017): Non-Phosphorylated Tau as a Potential Biomarker of Alzheimer's Disease: Analytical and Diagnostic Characterization. *J Alzheimers Dis* 55, 159–170
- Ling H, O'Sullivan SS, Holton JL, Revesz T, Massey LA, Williams DR, Paviour DC, Lees AJ (2010): Does corticobasal degeneration exist? A clinicopathological re-evaluation. *Brain* 133, 2045–2057
- Liu L, Murphy RM (2006): Kinetics of Inhibition of β -Amyloid Aggregation by Transthyretin. *Biochemistry* 45, 15702–15709
- Liz MA, Gomes CM, Saraiva MJ, Sousa MM (2007): ApoA-I cleaved by transthyretin has reduced ability to promote cholesterol efflux and increased amyloidogenicity. *J Lipid Res* 48, 2385–2395
- Maddalena A, Papassotiropoulos A, Müller-Tillmanns B, Jung HH, Hegi T, Nitsch RM, Hock C (2003): Biochemical diagnosis of Alzheimer disease by measuring the cerebrospinal

fluid ratio of phosphorylated tau protein to beta-amyloid peptide⁴². *Arch Neurol* 60, 1202–1206

Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, Herukka SK, van der Flier WM, Blankenstein MA, Ewers M, et al. (2009): CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 302, 385–393

Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Arai H, Batish SD, Bernardini S, Bocchio-Chiavetto L, Blankenstein MA, Carrillo MC, Chalbot S, et al. (2011): The Alzheimer's Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 7, 386-395

McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM (1984): Clinical diagnosis of Alzheimer's disease Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 34, 939–939

McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack Jr. CR, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, et al. (2011): The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7, 263–269

Mehta PD, Pirttilä T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM (2000): Plasma and Cerebrospinal Fluid Levels of Amyloid β Proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 57, 100–105

Merched A, Serot JM, Visvikis S, Aguilon D, Faure G, Siest G (1998): Apolipoprotein E, transthyretin and actin in the CSF of Alzheimer's patients: relation with the senile plaques and cytoskeleton biochemistry. *FEBS Lett* 425, 225–228

Mollenhauer B, Cepek L, Bibl M, Wiltfang J, Schulz-Schaeffer WJ, Ciesielczyk B, Neumann M, Steinacker P, Kretschmar HA, Poser S, et al. (2005): Tau Protein, A β 42 and S-100B Protein in Cerebrospinal Fluid of Patients with Dementia with Lewy Bodies. *Dement Geriatr Cogn Disord* 19, 164–170

Momjian S, Owler BK, Czosnyka Z, Czosnyka M, Pena A, Pickard JD (2004): Pattern of white matter regional cerebral blood flow and autoregulation in normal pressure hydrocephalus. *Brain* 127, 965–972

- Morris JC, Price JL (2001): Pathologic correlates of nondemented aging, mild cognitive impairment, and early-stage Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* 17, 101–118
- Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, Chang L, Miller B, Clark C, Green R. (1995): Reduction of beta-amyloid peptide₄₂ in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 38, 643–648
- Mulder C, Schoonenboom SNM, Wahlund LO, Scheltens P, Kamp GJ van, Veerhuis R, Hack CE, Blomberg M, Schutgens RBH, Eikelenboom P (2002): CSF markers related to pathogenetic mechanisms in Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 109, 1491–1498
- Neve RL, Harris P, Kosik KS, Kurnit DM, Donlon TA (1986): Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Mol Brain Res* 1, 271–280
- Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, Hölttä M, Rosén C, Olsson C, Strobel G, et al. (2016): CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 15, 673–684
- Otto M, Wiltfang J, Tumani H, Zerr I, Lantsch M, Kornhuber J, Weber T, Kretzschmar HA, Poser S (1997): Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt–Jakob disease. *Neurosci Lett* 3, 210–212
- Park GY, Jamerlan A, Shim KH, An SSA (2019): Diagnostic and Treatment Approaches Involving Transthyretin in Amyloidogenic Diseases. *Int J Mol Sci* 20, 2982
- Parnetti L, Lanari A, Amici S, Gallai V, Vanmechelen E, Hulstaert F (2001): CSF phosphorylated tau is a possible marker for discriminating Alzheimer's disease from dementia with Lewy bodies. *Neurol Sci* 22, 77–78
- Patterson C (2018): World Alzheimer Report 2018 - The state of the art of dementia research: New frontiers. *Alzheimer's Dis Int*; <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2018/>; abgerufen am 01.03.2019
- Perret-Liaudet A, Pelpel M, Tholance Y, Dumont B, Vanderstichele H, Zorzi W, ElMoualij B, Schraen S, Moreaud O, Gabelle A, et al. (2012): Risk of Alzheimer's Disease Biological Misdiagnosis Linked to Cerebrospinal Collection Tubes. *J Alzheimers Dis* 31, 13–20
- Peskind E, Nordberg A, Darreh-Shori T, Soininen H (2009): Safety of Lumbar Puncture Procedures in Patients with Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res* 6, 290–292
- Price JL, Morris JC (1999): Tangles and plaques in nondemented aging and “preclinical” Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 45, 358–368

- Riemenschneider M, Wagenpfeil S, Vanderstichele H, Otto M, Wiltfang J, Kretschmar H, Vanmechelen E, Förstl H, Kurz A (2003): Phospho-tau/total tau ratio in cerebrospinal fluid discriminates Creutzfeldt–Jakob disease from other dementias. *Mol Psychiatry* 8, 343–347
- Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, Chi H, Lin C, Holman K, Tsuda T, et al. (1995): Familial Alzheimer’s disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer’s disease type 3 gene. *Nature* 376, 775–778
- Román G, Tatemichi T, Erkinjuntti T, Cummings J, Masdeu J, Gracia J, Amaducci L, Orgogozo J, Brun A, Hofmann A, et al. (1993): Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology* 43, 250–260
- Ruff R, Dougherty J (1981): Complication of Lumbar Puncture Followed by Anticoagulation. *Stroke* 12, 879–881
- Sämgård K, Zetterberg H, Blennow K, Hansson O, Minthon L, Londos E (2009): Cerebrospinal fluid total tau as a marker of Alzheimer’s disease intensity. *Int J Geriatr Psychiatry* 25, 403–410
- Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, Orr HT, Anderson L, Nemens E, White JA, Bonnycastle L, Weber JL, Alonso ME, et al. (1992): Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer’s disease locus on chromosome 14. *Science* 258, 668–671
- Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, Bird TD, Hardy J, Hutton M, Kukull W, et al. (1996): Secreted amyloid β -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. *Nat Med* 2, 864–870
- Schmidtke K: Degenerative Erkrankungen. In: Hufschmidt A, Lücking C, Rauer S (Hrsg.): *Neurologie compact: für Klinik und Praxis*. Thieme, Stuttgart 2013, 308-318
- Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE, Bennett DA (2009): The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann Neurol* 66, 200–208
- Schoonenboom NSM, Mulder C, Vanderstichele H, Elk EJ van, Kok A, Kamp GJ van, Scheltens P, Blankenstein MA (2004): Effects of Processing and Storage Conditions on Amyloid (1-42) and Tau Concentrations in Cerebrospinal Fluid: Implications for Use in Clinical Practice. *Clin Chem* 51, 189–195
- Schoonenboom NSM, Reesink FE, Verwey NA, Kester MI, Teunissen CE, van de Ven PM,

Pijnenburg YAL, Blankenstein MA, Rozemuller AJ, Scheltens P, van der Flier WM (2012): Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. *Neurology* 78, 47–54

Schultz K, Nilsson K, Nielsen JE, Lindquist SG, Hjermland LE, Andersen BB, Wallin A, Nilsson C, Petersén Å (2010): Transthyretin as a potential CSF biomarker for Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies: effects of treatment with cholinesterase inhibitors: CSF transthyretin as a biomarker. *Eur J Neurol* 17, 456–460

Schwarzman AL, Tsiper M, Gregori L, Goldgaber D, Frakowiak J, Mazur-Kolecka B, Taraskina A, Pchelina S, Vitek MP (2005): Selection of peptides binding to the amyloid b-protein reveals potential inhibitors of amyloid formation. *Amyloid* 12, 199–209

Seibert FB, Nelson JW (1942): Electrophoretic study of the blood protein response in tuberculosis. *J Biol Chem* 143, 29–38

Sekijima Y, Yoshida K, Tokuda T, Ikeda S: Familial Transthyretin Amyloidosis. GeneReviews®, University of Washington, Seattle 2001

Selkoe DJ (2001): Alzheimer's Disease: Genes, Proteins, and Therapy. *Physiol Rev* 81, 741–766

Seppälä TT, Nerg O, Koivisto AM, Rummukainen J, Puli L, Zetterberg H, Pyykkö OT, Helisalmi S, Alafuzoff I, Hiltunen M, et al. (2012): CSF biomarkers for Alzheimer disease correlate with cortical brain biopsy findings. *Neurology* 78, 1568–1575

Serot JM, BéNé MC, Foliguet B, Faure GC (1997a): Altered Choroid Plexus Basement Membrane and Epithelium in Late-Onset Alzheimer's Disease: An Ultrastructural Study. *Ann N Y Acad Sci* 826, 507–509

Serot JM, Christmann D, Dubost T, Couturier M (1997b): Cerebrospinal fluid transthyretin: aging and late onset Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 63, 506–508

Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, Soares H, Simon A, Lewczuk P, et al. (2009): Cerebrospinal Fluid Biomarker Signature in Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative Subjects. *Ann Neurol* 65, 403–413

Shoji M, Matsubara E, Kanai M, Watanabe M, Nakamura T, Tomidokoro Y, Shizuka M, Wakabayashi K, Igeta Y, Ikeda Y, et al. (1998): Combination assay of CSF Tau, Ab1-40 and Ab1-42(43) as a biochemical marker of Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 158, 134–140

Simonsen AH, Bahl JMC, Danborg PB, Lindstrom V, Larsen SO, Grubb A, Heegaard NHH,

- Waldemar G (2013): Pre-analytical factors influencing the stability of cerebrospinal fluid proteins. *J Neurosci Methods* 215, 234–240
- Sisodia SS (1992): Beta-Amyloid precursor protein cleavage by a membranebound protease. *Proc Natl Acad Sci USA* 89, 6075–6079
- Sjögren M, Minthon L, Davidsson P, Granérus A-K, Clarberg A, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Wallin A, Blennow K (2000): CSF levels of tau, β -amyloid 1-42 and GAP-43 in frontotemporal dementia, other types of dementia and normal aging. *J Neural Transm* 107, 563–579
- Sousa MM, Berglund L, Saraiva MJ (2000): Transthyretin in high density lipoproteins: association with apolipoprotein AI. *J Lipid Res* 41, 58–65
- Spillantini MC, Schmidt M, Lee VMY, Trojanowski J, Jakes R, Goedert M (1997): α -Synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388, 839–840
- Stefani A, Brusa L, Olivola E, Pierantozzi M, Martorana A (2012): CSF and clinical hallmarks of subcortical dementias: focus on DLB and PDD. *J Neural Transm* 119, 861–875
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD (1993): Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 1977–1981
- Strozyk D, Blennow K, White LR, Launer LJ (2003): CSF Abeta 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study. *Neurology* 60, 652–656
- Struyfs H, Niemantsverdriet E, Goossens J, Franssen E, Martin JJ, De Deyn PP, Engelborghs S (2015): Cerebrospinal Fluid P-Tau181P: Biomarker for Improved Differential Dementia Diagnosis. *Front Neurol* 6, 138
- Sullivan GM, Mann JJ, Oquendo MA, Lo ES, Cooper TB, Gorman JM (2006): Low Cerebrospinal Fluid Transthyretin Levels in Depression: Correlations with Suicidal Ideation and Low Serotonin Function. *Biol Psychiatry* 60, 500–506
- Tamaoka A, Sawamura N, Fukushima T, Shoji S, Matsubara E, Shoji M, Hirai S, Furiya Y, Endoh R, Mori H (1997): Amyloid-beta protein 42(43) in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 148, 41–45
- Tato RE, Frank A, Hernanz A (1995): Tau protein concentrations in cerebrospinal fluid of patients with dementia of the Alzheimer type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 59, 280–283

- Teunissen CE, Verwey NA, Kester MI, van Uffelen K, Blankenstein MA (2010): Standardization of Assay Procedures for Analysis of the CSF Biomarkers Amyloid β (1-42), Tau, and Phosphorylated Tau in Alzheimer's Disease: Report of an International Workshop. *Int J Alzheimers Dis* 2010, 635053
- 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". *Neurobiol Aging* 19, 109–116
- Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK, Parkkinen L, Hartikainen P, Soininen H, Pirttilä T (2009): Cerebrospinal Fluid β -Amyloid 42 and Tau Proteins as Biomarkers of Alzheimer-Type Pathologic Changes in the Brain. *Archives of Neurology* 66, 382-389
- Toledo JB, Brettschneider J, Grossman M, Arnold SE, Hu WT, Xie SX, Lee VM-Y, Shaw LM, Trojanowski JQ (2012): CSF biomarkers cutoffs: the importance of coincident neuropathological diseases. *Acta Neuropathol (Berl)* 124, 23–35
- Toombs J, Paterson RW, Schott JM, Zetterberg H (2014): Amyloid-beta 42 adsorption following serial tube transfer. *Alzheimers Res Ther* 6, 5
- Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, Voorde A, Martin JJ, Cras P (1993): Detection of Proteins in Normal and Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid with a Sensitive Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Neurochem* 61, 1828–1834
- Vatassery GT, Quach HT, Smith WE, Benson BA, Eckfeldt JH (1991): A sensitive assay of transthyretin (prealbumin) in human cerebrospinal fluid in nanogram amounts by ELISA. *Clin Chim Acta* 197, 19–25
- Verwey NA, van der Flier WM, Blennow K, Clark C, Sokolow S, De Deyn PP, Galasko D, Hampel H, Hartmann T, Kapaki E, et al. (2009): A worldwide multicentre comparison of assays for cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease. *Ann Clin Biochem* 46, 235–240
- Walchenbach R, Geiger E, Thomeer RTWM, Vanneste JAL (2002): The value of temporary external lumbar CSF drainage in predicting the outcome of shunting on normal pressure hydrocephalus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 72, 503–506
- Wallin Å. K, Blennow K, Andreasen N, Minthon L (2006): CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease: Levels of β -Amyloid, Tau, Phosphorylated Tau Relate to Clinical Symptoms and Survival. *Dement Geriatr Cogn Disord* 21, 131–138

- Wang J, Cunningham R, Zetterberg H, Asthana S, Carlsson C, Okonkwo O, Li L (2016): Label-free quantitative comparison of cerebrospinal fluid glycoproteins and endogenous peptides in subjects with Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and healthy individuals. *Proteomics Clin Appl* 10, 1225–1241
- Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW (1975): A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* 72, 1858–1862
- Weisman D, McKeith I (2007): Dementia with Lewy Bodies. *Semin Neurol* 27, 042–047
- Wood JG, Mirra SS, Pollock NJ, Binder LI (1986): Neurofibrillary tangles of Alzheimer disease share antigenic determinants with the axonal microtubule-associated protein tau (tau). *Proc Natl Acad Sci USA* 83, 4040–4043
- Yankner BA, Caceres A, Duffy LK (1990): Nerve growth factor potentiates the neurotoxicity of beta-amyloid. *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 9020–9023
- Zakzanis KK, Graham SJ, Campbell Z (2003): A Meta-Analysis of Structural and Functional Brain Imaging in Dementia of the Alzheimer's Type: A Neuroimaging Profile. *Neuropsychol Rev* 13, 1–18
- Zetterberg H, Blennow K (2013): Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease: more to come? *J Alzheimers Dis* 33, 361–369

Danksagung

Hiermit danke ich Frau Prof. Dr. med. Zerr für die Überlassung des Dissertationsthema und die gute Betreuung der vorliegenden Arbeit. Weiterhin danke ich der gesamten Abteilung des Neurochemischen Labors der Universitätsmedizin Göttingens, im Besonderen Herrn Lange für die großartige Hilfe und Unterstützung im Labor.