AUS DER ABTEILUNG PSYCHIATRIE UND PSYCHOTHERAPIE
(PROF. DR. MED. P. FALKAI)
IM ZENTRUM PSYCHOSOZIALE MEDIZIN
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT GÖTTINGEN

Die Bedeutung des Pyroglutamat-Abeta-Oligomer-
Blutplasmaspiegels
und des Apolipoprotein-E-Genotyps bei der
Alzheimer-Krankheit

INAUGURAL – DISSERTATION

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

vorgelegt von

GABRIEL VON WALDENFELS

aus

Hamburg

Göttingen 2012

Dekan:

Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter:

Prof. Dr. rer. nat. T. A. Bayer

II. Berichterstatter/in

.....

III. Berichterstatter/in:

.....

Tag der mündlichen Prüfung

.....

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	4
TABELLENVERZEICHNIS	5
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
1 EINLEITUNG	8
1.1 DIE DEMENZ	8
1.2 DIE ALZHEIMER-KRANKHEIT	10
1.2.1 Klinik	10
1.2.2 Diagnostik	10
1.2.3 Therapie	11
1.3 DIE NEUROPATHOLOGIE DER ALZHEIMER-KRANKHEIT	11
1.3.1 Amyloid-Plaques	12
1.3.2 Tau-Protein-Fibrillen	12
1.4 DER PATHOMECHANISMUS DER ALZHEIMER-KRANKHEIT	13
1.4.1 Das Amyloid-Precursor-Protein (APP)	13
1.4.2 Die APP-Prozessierung	13
1.4.3 Die Amyloid-Kaskaden-Hypothese	14
1.5 RISIKOFAKTOREN DER ALZHEIMER-KRANKHEIT	16
1.5.1 Genetik	16
1.5.1.1 Die APP-Mutationen	16
1.5.1.2 Präsenilin-1- und Präsenilin-2-Mutationen	17
1.5.1.3 Das Apolipoprotein E (ApoE)	17
1.6 BLUTTESTS	19
1.7 DIE BEDEUTUNG VON ABETA-VARIANTEN FÜR DIE ALZHEIMER-KRANKHEIT	19
1.7.1 Pyroglutamat Abeta (A β pE3)	20
1.8 ZIELSETZUNG UND FRAGESTELLUNG	22

2	PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN	24
2.1	PATIENTEN	24
2.2	KLINISCHE KLASSIFIZIERUNG	24
2.3	DATENERHEBUNG	25
2.3.1	Mini-Mental State Examination (MMSE)	25
2.3.2	Subjektive kognitive Leistungsminderung (Subjective Memory Complaints = SMC)	26
2.3.3	Bayer Activities of Daily Living Scale (B-ADL)	26
2.4	BLUTPROBEN	26
2.5	GENOTYPISIERUNG	27
2.5.1	Arbeitsgeräte und Verbrauchsmaterialien	27
2.5.2	Chemikalien, Puffer und Lösungen	27
2.5.3	DNA-Isolierung	27
2.5.4	PCR und Bestimmung des ApoE-Genotyps	28
2.6	BESTIMMUNG DES ABPE3-PLASMASPIEGELS	29
2.7	STATISTIK	29
3	ERGEBNISSE	30
3.1	APOE-GENOTYP	30
3.1.1	Charakterisierung der Patienten	30
3.1.2	Untersuchung des ApoE-Profiles	32
3.1.3	Häufigkeit von ApoE2 und ApoE4	34
3.1.4	Alzheimer-Erkrankungsalter, abhängig vom ApoE-Genotyp	35
3.1.5	Häufigkeit einer Alzheimer-Familienanamnese bei Vorliegen des ϵ 4-Allels	37
3.1.6	MMSE-Score bei Patienten unter Statin-Therapie	38
3.2	ABPE3-OLIGOMER SPIEGEL	41
3.2.1	Charakterisierung der Patienten	41
3.2.2	A β pE3-Spiegel bei kognitiv eingeschränkten Patienten	41
3.3	ABPE3-SPIEGEL UND APOE-GENOTYP	44
3.3.1	Charakterisierung der Patienten	44

3.3.2	Verhältnis von AβpE3-Spiegel zu ApoE2 und ApoE4	44
3.3.3	Gemeinsames Verhältnis von ApoE4- und AβpE3-Spiegel zu MMSE-Score	45
3.3.4	Gemeinsames Verhältnis von ApoE2- und AβpE3-Spiegel zu MMSE-Score	46
4	DISKUSSION.....	48
4.1	BEWERTUNG DER METHODEN	48
4.2	KLINISCHE FAKTOREN.....	49
4.3	DIE BEDEUTUNG VON PYROGLUTAMAT-ABETA-OLIGOMEREN IM BLUTPLASMA.....	49
4.4	DIE BEDEUTUNG DES APOE-GENOTYPS.....	50
4.4.1	Der Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und psychiatrischer Diagnose.....	50
4.4.2	Der Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und Erkrankungsalter	51
4.4.3	Der Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und Alzheimer-Familienanamnese	52
4.5	DER ZUSAMMENHANG ZWISCHEN APOE-GENOTYP UND PYROGLUTAMAT ABETA	53
4.6	DIE GEMEINSAME BEDEUTUNG VON PYROGLUTAMAT ABETA UND APOE-GENOTYP	53
4.7	AUSBLICK - ETABLIERUNG EINES ALZHEIMER-BLUTTESTS.....	53
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	56
6	ANHANG	57
6.1	DECKBLATT DES STUDIENPROTOKOLLS.....	57
6.2	DECKBLATT DES PRÜFBOGENS (CRF).....	58
6.3	EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG	59
6.4	SUBJECTIVE MEMORY COMPLAINTS (SMC)	60
6.5	BAYER ACTIVITIES OF DAILY LIVING SCALE (B-ADL)	61
6.6	MINI-MENTAL STATE EXAMINATION (MMSE)	62
6.7	NINCDS-ADRDA	66
7	LITERATURVERZEICHNIS	67

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Die APP-Prozessierung.....	14
Abbildung 2: Klassische und modifizierte Amyloid-Hypothese.	15
Abbildung 3: Hypothese zur Pathologie von A β pE3-Oligomeren im Gehirn Alzheimer-Kranker.	20
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Entstehung von A β pE3-Oligomeren und A β -Plaques.	21
Abbildung 5: Geschlechts- und Altersverteilung des Kollektivs mit ermitteltem ApoE-Genotyp.....	32
Abbildung 6: Vorkommen der Allelkombination ϵ 4/ ϵ 4.....	33
Abbildung 7: ApoE-Genotyp-Verteilung.....	35
Abbildung 8: Durchschnittliches Erkrankungsalter, abhängig vom ApoE-Genotyp.	36
Abbildung 9: Durchschnittliches Erkrankungsalter, abhängig vom ϵ 4-Allel.	36
Abbildung 10: Vorliegen einer Alzheimer-Familienanamnese, abhängig vom ϵ 4-Allel.....	38
Abbildung 11: Durchschnittlicher MMSE-Score, abhängig von Statin-Einnahme.	39
Abbildung 12: Durchschnittlicher MMSE-Score der Alzheimer-Patienten, abhängig von Statin- Einnahme.....	40
Abbildung 13: A β pE3-Plasmaspiegel in der Demenz- und Kontrollgruppe.....	42
Abbildung 14: A β pE3-Plasmaspiegel, abhängig vom ϵ 4-Allel.	45
Abbildung 15: A β pE3-Plasmaspiegel, abhängig vom ϵ 2-Allel.	45
Abbildung 16: Durchschnittlicher MMSE-Score, abhängig vom A β pE3-Spiegel und ApoE-Genotyp.	47
Abbildung 17: Klinische Diagnosekriterien für die „wahrscheinliche“ (engl. „probable“) und mögliche (engl. „possible“) Alzheimer-Krankheit.....	66

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Klinische Gruppen.....	25
Tabelle 2: Charakterisierung des Kollektivs mit ermitteltem ApoE-Genotyp.	31
Tabelle 3: ApoE-Genotyp-Verteilung in den klinischen Gruppen.....	32
Tabelle 4: Vereinfachte ApoE-Genotyp-Verteilung.	34
Tabelle 5: ApoE2 und ApoE4: Chi-Square-Test und Berechnung der Odds Ratio.	34
Tabelle 6: Durchschnittliches Erkrankungsalter, abhängig vom ApoE-Genotyp.	35
Tabelle 7: Durchschnittliches Alzheimer-Erkrankungsalter bei homozygoten und heterozygoten ApoE4-Allelträgern.	36
Tabelle 8: Charakterisierung der Patienten mit ermittelter Familienanamnese und ApoE-Genotyp.	37
Tabelle 9: Vierfeldertabelle zur Untersuchung der Alzheimer-Familienanamnese.	37
Tabelle 10: Charakterisierung der Patienten, abhängig von Statin-Therapie.....	38
Tabelle 11: Vergleich des durchschnittlichen MMSE-Scores, abhängig von Statin-Einnahme.	39
Tabelle 12: Vergleich des durchschnittlichen MMSE-Scores bei Alzheimer-Patienten, abhängig von Statin-Einnahme.	39
Tabelle 13: Charakterisierung der Patienten mit ermitteltem A β pE3-Oligomer-Plasmaspiegel.	41
Tabelle 14: A β pE3-Oligomer-Plasmaspiegel, abhängig von kognitiver Leistung.....	42
Tabelle 15: Vierfeldertabelle zur Untersuchung der Häufigkeit eines niedrigen A β pE3-Plasmaspiegels in der Demenz- und Kontrollgruppe	43
Tabelle 16: Charakterisierung des A β pE3/ApoE4-Kollektivs.	44
Tabelle 17: A β pE3-Plasmaspiegel (in a.u.) bei Vorliegen der Allele ApoE2 und ApoE4.	44
Tabelle 18: Durchschnittlicher MMSE-Score bei Vorliegen und Fehlen des ApoE4-Allels.....	46
Tabelle 19: Durchschnittlicher MMSE-Score bei Vorliegen und Fehlen des ApoE2-Allels.....	46

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

a.u.	<i>arbitrary units</i> / willkürliche Einheit in graphischer Darstellung
A β	Abeta-Peptid
A β 40	aus 40 Aminosäuren zusammengesetztes A β
A β 42	aus 42 Aminosäuren zusammengesetztes A β
A β pE3	Pyroglutamat Abeta (mit Pyroglutamat an Position 3 beginnendes A β)
A β pE3-42	= A β pE3
AD	<i>Alzheimer's Disease</i> / Alzheimer-Krankheit
ADRNA	<i>Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
AIREN	<i>Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences</i>
ApoE	Apolipoprotein E
ApoE2pos	mindestens ein ϵ 2-Allel liegt vor
ApoE3pos	mindestens ein ϵ 3-Allel liegt vor
ApoE4pos	mindestens ein ϵ 4-Allel liegt vor
APP	<i>Amyloid-Precursor-Protein</i> / Amyloid-Vorläuferprotein
AUC	<i>Area under curve</i> / Fläche unter der Kurve als Effektgröße bei ROC-Analysen
B-ADL	<i>Bayer activities of daily living</i>
BMI	<i>Body Mass Index</i>
CRF	<i>Case Report Form</i> / Prüfbogen
DAT	Demenz vom Alzheimer-Typ = Alzheimer-Krankheit
E-Cup	Eppendorf-Reaktionsgefäß
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
GC	<i>glutaminyl cyclase</i> / Glutaminyl-Zyklase
GD	gemischte Demenz
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
ICD-10	<i>International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems</i> / Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme – aktuelle Ausgabe: ICD-10, 2008
IDL	<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
KI	Konfidenzintervall
LDL-Rezeptor	<i>low density lipoprotein receptor</i>
LKB	leichte kognitive Beeinträchtigung = LKS
LKS	leichte kognitive Störung
MCI	<i>mild cognitive impairment</i> / = LKS
MD	<i>mixed dementia</i> / = GD

MSSE	<i>Mini-Mental State Examination</i>
NINDS	<i>National Institute of Neurological Disorders and Stroke</i>
OR	<i>Odds Ratio</i> / Quotenverhältnis
PCR	<i>poymerase chain reaction</i> / Polymerasekettenreaktion
PS-1	Präsenilin-1
PS-2	Präsenilin-2
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i> / Grenzwertoptimierungskurve
rpm	<i>rounds per minute</i> / Umdrehungen pro Minute
SD	<i>Standard deviation</i> / Standardabweichung
SMC	<i>Subjective Memory Complaints</i> / Subjektive kognitive Leistungsminderung
VD	vaskuläre Demenz
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
WHO	<i>World Health Organization</i> / Weltgesundheitsorganisation

1 EINLEITUNG

Zur Einführung in das Thema der Arbeit wird in Kapitel 1.1 die Demenz im Allgemeinen und in Kapitel 1.2 die Alzheimer-Krankheit im Speziellen vorgestellt. Anschließend werden alle für das Verständnis relevanten naturwissenschaftlichen Aspekte erklärt. Hierbei liegt, entsprechend der Zielsetzung der Arbeit, der Schwerpunkt auf der Bedeutung des Apolipoproteins E sowie der A β -Peptid-Varianten für die Alzheimer-Krankheit.

1.1 Die Demenz

„Demenzerkrankungen sind definiert durch den Abbau und Verlust kognitiver Funktionen und Alltagskompetenzen“ (Maier et al. 2010, S. 10). Das bedeutet für die Betroffenen, dass es neben Verschlechterung der Denk- und Gedächtnisleistung auch zu Beeinträchtigung der örtlichen und zeitlichen Orientierung, der Kommunikationsfähigkeit und zu Veränderung von Persönlichkeitsmerkmalen kommt. Im normalerweise progressiven Verlauf stehen am Anfang Gedächtnisstörungen im Vordergrund, die sich nach meist jahrelanger Verschlechterung hin zu einer vollständigen Hilflosigkeit und Abhängigkeit entwickeln. Mit zunehmender Morbidität steigen sowohl das Risiko für andere Krankheiten sowie das Mortalitätsrisiko kontinuierlich an. Die Symptome des Syndroms „Demenz“ sind definitionsgemäß Folge einer chronischen, mindestens sechs Monate anhaltenden Krankheit (Dilling et al. 2008).

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) kategorisiert verschiedene Demenzformen anhand ihres klinischen Phänotyps und nicht nach neuropathologischen Gesichtspunkten (Dilling et al. 2008). Diese sogenannten ICD-10-Kriterien werden, mit der Kodierung im deutschen Gesundheitssystem übereinstimmend, auch in dieser Arbeit zur Einteilung verwendet. Es wird hier zwischen vier Formen der Demenz unterschieden (ICD-10-Code; F00.0 - F03):

- F00 Demenz bei Alzheimer-Krankheit
- F01 Vaskuläre Demenz
- F02 Demenz bei anderenorts klassifizierten Krankheiten
- F03 Nicht näher bezeichnete Demenz.

Jede dieser vier Formen kann auch weiter unterteilt werden, wobei auch Mischformen, beispielsweise der Alzheimer-Krankheit und der vaskulären Demenz (F00.2), definiert sind. Nach der Alzheimer-Krankheit, die mit 50-70% der Demenzkranken die häufigste Form ist, kommt die vaskuläre Demenz mit 15–25% am zweithäufigsten vor (Qiu et al. 2007). Diese Demenzform wird durch eine vaskulär bedingte Schädigung des Gehirns definiert. Wie schwierig es jedoch ist, klinisch zwischen einer reinen Alzheimer-Krankheit und einer vaskulären Demenz zu unterscheiden, zeigt eine konsekutive Autopsiestudie des Jahres 2007 an 1.500 Demenzkranken, bei der 24% der Patienten mit der

klinischen Diagnose einer Alzheimer-Demenz in der Autopsie eine zusätzliche vaskuläre Pathologie, und 2% eine rein vaskuläre Pathologie aufwiesen (Jellinger und Attems 2007). Um in der klinischen Arbeit dennoch die Diagnose einer bestimmten Demenzform stellen zu können, wurden Kriterienkataloge zur Wahrscheinlichkeit ihres Vorliegens entwickelt. Das *National Institute of Neurological Disorders and Communicative Disorders and Stroke* (NINCDS) und die *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (ADRDA) definieren Diagnosekriterien zur Unterscheidung zwischen „wahrscheinlicher“ und „möglicher“ Alzheimer-Krankheit (McKhann et al. 1984; Anhang 6.7, S. 66). Für die Diagnose der vaskulären Demenz wird der Kriterienkatalog der NINCDS und der *Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences* (AIREN) angewandt (Roman et al. 1993).

Festzuhalten ist, dass die Alzheimer-Krankheit, die vaskuläre Demenz sowie ihre Mischformen den Großteil der weltweit etwa 24 Millionen Demenzkranker ausmachen (Qiu et al. 2007), und dass diese klinisch schwer voneinander zu unterscheiden sind. In Deutschland gibt es rund eine Million Betroffene (Ziegler und Doblhammer 2009). Vaskuläre beziehungsweise gemischte Pathologien nehmen dabei mit fortschreitendem Alter zu (Brayne et al. 2009).

Alle anderen Demenzformen fallen in die ICD-10-Gruppen F02 und F03 und werden zum Teil als sekundäre Demenzen abgegrenzt. Hierunter fallen insbesondere die frontotemporale Demenz (Pick-Krankheit), die Demenz bei Morbus Parkinson und die Lewy-Körperchen-Demenz. Die frontotemporale Demenz (F02.0) tritt von ihnen am häufigsten auf und unterscheidet sich von anderen Demenzformen vor allem durch ein früheres Erkrankungsalter sowie eine damit einhergehende Wesensveränderung. Es kann davon ausgegangen werden, dass etwa 20% der Demenzkranken vor dem 65. Lebensjahr an dieser Demenzform leiden (Weder et al. 2007).

Ein weiteres Syndrom, das in Zusammenhang mit der Demenz steht, von dieser aber abgegrenzt wird, ist die leichte kognitive Störung (engl. *mild cognitive impairment* / MCI; ICD-10: F06.7). „MCI ist definiert als subjektive und objektivierbare kognitive Einbuße bei erhaltener Alltagskompetenz“ (Maier et al. 2010, S. 69). Liegen also bei einem Betroffenen Gedächtnisstörungen vor, ohne dass Alltagsaktivitäten beeinträchtigt sind oder eine Demenz diagnostizierbar ist, kommt differentialdiagnostisch MCI in Betracht. Eine allgemeingültige Definition der MCI gibt es nicht (Matthews et al. 2008), und so kann dieses Syndrom sowohl als Prodromalstadium der Demenz als auch als eigenständiges Krankheitsbild angesehen werden (Maier et al. 2010). Während eine vollständige Remission bei MCI möglich ist, beträgt die jährliche Übergangswahrscheinlichkeit zu einer Demenz durchschnittlich 9,6% (Mitchell und Shiri-Feshki 2009).

Die Häufigkeit von Demenzen, vor allem im Alter, und die demographische Entwicklung der Weltbevölkerung führen zu der Annahme, nach der es zu einem Anstieg auf etwa 81 Millionen Patienten im Jahr 2040 kommen wird (Ferri et al. 2005). Neben der Tatsache, dass es für diese Betroffenen bis heute noch keine zufriedenstellende Diagnostik oder Therapie gibt, verdeutlichen alleine die epidemiologischen Zahlen die Bedeutung intensiver Demenzforschung.

1.2 Die Alzheimer-Krankheit

„Die Alzheimer-Krankheit ist eine primär degenerative zerebrale Krankheit mit unbekannter Ätiologie und charakteristischen neuropathologischen und neurochemischen Merkmalen. Sie beginnt meist schleichend und entwickelt sich langsam aber stetig über einen Zeitraum von mehreren Jahren“ (Dilling et al. 2008, S. 60). Bei dieser Demenzform handelt es sich also definitionsgemäß um einen fortschreitenden Untergang von Neuronen, der sich durch eine typische Neuropathologie und einen typischen Verlauf auszeichnet. Als charakteristisch gelten dabei die zentralnervösen Ablagerungen des Beta-Amyloid-Peptids, intrazelluläre Tau-Protein-Fibrillen und ein Neuronenuntergang, die bereits Jahre vor den ersten Symptomen bestehen können (Davies L. et al. 1988; Price und Morris 1999).

1.2.1 Klinik

Es werden drei Stadien der Alzheimer-Demenz unterschieden: Das Prä-Demenz-Stadium, das Früh-/Mittelstadium und die fortgeschrittene Demenz.

Das Prä-Demenz-Stadium beginnt zum Teil Jahre vor einer diagnostizierbaren Demenz und äußert sich nicht nur durch Gedächtnisstörungen, sondern auch durch unspezifische Symptome wie Depressionen oder Sprachverständnisstörungen (Linn et al. 1995).

Im Früh- und Mittelstadium kommt es bei den meisten Alzheimer-Patienten zur Diagnosestellung, da Lernprozesse und das Kurzzeitgedächtnis eingeschränkt sind. Kommunikation und emotionales Erleben sind hiervon nicht immer mitbetroffen (Carlesimo und Oscar-Berman 1992; Jelicic et al. 1995).

An das Früh- und Mittelstadium schließt sich die fortgeschrittene Demenz an, in der die Patienten nahestehende Personen nicht mehr wiedererkennen und alltägliche Fertigkeiten verlernen. Zu dieser neuropsychologischen Symptomatik kommen sekundär vegetative Probleme wie Muskulaturabbau, Inkontinenz und eine zunehmende Immobilität hinzu. In diesem Stadium sind die Patienten vollkommen auf fremde Hilfe angewiesen und sterben nach einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von sieben Jahren an den Komplikationen ihres reduzierten Allgemeinzustandes, wie etwa an einer Pneumonie nach Nahrungsmittelaspiration.

1.2.2 Diagnostik

Bis heute gibt es kein etabliertes Verfahren zur sicheren und frühen Diagnose der Alzheimer-Krankheit, geschweige denn eine kausale Therapie oder Heilung. Anhand der Anamnese, neuropsychologischer Testverfahren und des Ausschlusses anderer Grunderkrankungen (NINCDS-ADRD-Kriterien) wird die Alzheimer-Diagnose gestellt. Eine besondere Rolle spielt hierbei die klinische Erfahrung des Untersuchers. Labordiagnostisch können außerdem durch Liquorpunktion Parameter wie A β 42, Gesamt-Tau und Phospho-Tau hinzugezogen werden, wobei den Werten in der Diagnostik eher eine unterstützende Funktion zukommt (Maier et al. 2010). Wie in Kapitel 1.6

genauer dargestellt wird, existiert zurzeit noch kein verlässlicher Bluttest zur Diagnose der Alzheimer-Krankheit.

1.2.3 Therapie

Die Therapie der Patienten richtet sich nach Stadium, Ausprägung und vordergründigem Symptom ihrer Erkrankung. So reichen die Therapiemöglichkeiten von einer antidepressiven Therapie im Frühstadium bis hin zu einer primär palliativen Therapie im Spätstadium.

Von den zugelassenen Medikamenten haben nur Acetylcholinesterase-Hemmer und der nichtkompetitive NMDA-Antagonist Memantin eine nachweisliche Wirksamkeit (Maier et al. 2010). Der Ansatz beider Therapieformen basiert auf der Beeinflussung der zentralnervösen Neurotransmission und kann sich entsprechend positiv auf die kognitive Leistung auswirken. Ein krankheitsmodifizierender Effekt, etwa die Veränderung der Neuropathologie oder der Krankheitsprogression, besteht nicht (Maier et al. 2010). Andere zugelassene Therapeutika wie Ginkgo Biloba, Vitamin E oder nichtsteroidale Antiphlogistika werden in klinischen Leitlinien aufgrund mangelnder Evidenz ihrer Wirksamkeit nicht empfohlen (Maier et al. 2010). Ebenso wenig konnte ein signifikanter Vorteil durch eine Kupfer- (Kessler et al. 2008) oder Östrogentherapie (Henderson 2006) nachgewiesen werden. Der positive Effekt einer Statin-Therapie (HMG-CoA-Reduktase-Inhibitor) bleibt weiterhin umstritten. Während sich Statine in tierexperimentellen Studien als neuroprotektiv erwiesen (Simons et al. 1998), wurde dieser Effekt klinisch noch nicht eindeutig nachgewiesen. Erste Ergebnisse zeigten einen Nutzen der Therapie (Wolozin et al. 2000), der sich in neueren Studien nicht bestätigt (Hoglund und Blennow 2007; Sano et al. 2011).

Mit zunehmender Kenntnis über den Pathomechanismus der Alzheimer-Krankheit ergeben sich zudem Therapiestrategien mit krankheitsmodifizierendem Potential (Bayer und Wirths 2008a). Wie in Kapitel 1.3 ausführlicher beschrieben wird, gibt es zwei, für die Alzheimer-Pathologie charakteristische, Strukturen: A β -Peptide und hyperphosphorylierte Tau-Proteine. Hierauf liegt demzufolge der Fokus aktueller Therapieansätze. So wird beispielsweise versucht, die Sekretion (Chang et al. 2004), die Modifikation (Schilling et al. 2008), die Aggregation (Wirths et al. 2010c), den Abbau von (Iwata et al. 2005) und die Immunität (Brody und Holtzman 2008; Wirths et al. 2010c) gegenüber A β , sowie die Phosphorylierung von Tau (Muyllaert et al. 2008) zu beeinflussen. Eine Evaluation all dieser Verfahren in aussagekräftigen klinischen Studien steht noch aus.

1.3 Die Neuropathologie der Alzheimer-Krankheit

Makroskopisch kommt es im Verlauf der Alzheimer-Krankheit durch Nervenzell- und Synapsenverlust zu einer hippokampal und kortikal betonten Hirnatrophie (Ball 1977; Terry et al. 1981; Whitehouse et al. 1982; Coyle et al. 1983; Hyman et al. 1984; Davies C. A. et al. 1987; Gomez-Isla et al. 1996).

Als charakteristisch für die Alzheimer-Krankheit werden jedoch vielmehr zwei mikroskopische Strukturen angesehen: Extrazelluläre Amyloid-Plaques (Hardy und Allsop 1991; Hardy und Higgins 1992) und zelluläre Tau-Protein-Fibrillen (Braak und Braak 1991). Ob diese Strukturen Ursprung oder Folge eines beeinträchtigten Zellmetabolismus sind, wird noch immer diskutiert und soll nachfolgend erläutert werden.

1.3.1 Amyloid-Plaques

Bei den Amyloid-Plaques handelt es sich um zerebrale Ablagerungen des A β -Peptids, insbesondere der 40 und 42 Aminosäure langen Varianten A β 40 und A β 42. Diese Peptide entstehen nach proteolytischer Spaltung aus dem Membranprotein APP (Amyloid-Precursor-Protein).

Allgemein werden Plaques in senile (neuritische) und diffuse (nicht-neuritische) Plaques unterteilt. Im Gegensatz zu den diffusen enthalten senile Plaques einen Amyloid-Kern und kommen hauptsächlich in der grauen Hirnsubstanz vor. Darüber hinaus kommt es in der Umgebung seniler Plaques zu einer reaktiven Zunahme von Astrozyten und Mikroglia sowie zu dystrophen Neuriten, was eine größere pathogene Bedeutung im Vergleich zu diffusen Plaques anzeigt (Selkoe 2001). Senile Plaques sind extrazelluläre Ablagerungen, die wie auch ihre intrazellulären Vorläuferformen mit Neuronen- und Zelluntergang in Verbindung gebracht werden (Shankar et al. 2007; Walsh und Selkoe 2007; Shankar et al. 2008). Insbesondere in der aktuellen Forschung zeichnet sich ab, dass diese intrazellulären, zum Teil löslichen, A β -Peptide bedeutender für Zelluntergang und kognitive Einschränkung sind (siehe Kapitel 1.4.3, S. 14; Tseng et al. 2004; Wirths et al. 2004).

Der Mechanismus der Toxizität des β -Amyloids wird noch immer diskutiert: So werden beispielsweise eine Beeinträchtigung von Ionenkanälen sowie eine Membranschädigung aufgrund zahlreicher kleiner Defekte postuliert (Yankner et al. 1990; Green et al. 2004). Darüber hinaus ist bekannt, dass A β -Peptide zu zerebraler Angiopathie führen können, was den Zusammenhang zwischen vaskulärer und Alzheimer-Demenz, beziehungsweise gemischter Demenz, verdeutlicht (Thomas et al. 1996; Paris et al. 1999).

1.3.2 Tau-Protein-Fibrillen

Die physiologisch vorkommenden Tau-Proteine dienen als Stabilisator der Mikrotubuli, also des zytoskelettalen Systems, und somit der intrazellulären Transportvorgänge. Bei der Alzheimer-Krankheit kommt es zu einer abnormalen Phosphorylierung (Hyperphosphorylierung) dieser Tau-Proteine und damit zu einem behinderten axonalen Transport. Die hyperphosphorylierten Tau-Proteine aggregieren in der Folge zu fibrillären Bündeln. Ob die Phosphorylierung die Folge oder der Auslöser eines kompromittierten Zellmetabolismus ist, ist nicht eindeutig geklärt (Goedert und Jakes 2005; Blennow et al. 2006). Festzuhalten ist dennoch, dass die Tau-Protein-Fibrillen alleine, ohne

gleichzeitiges Vorkommen von A β -Plaques, keine spezifische Alzheimer-Pathologie induzieren (Hardy et al. 1998; Lewis et al. 2001).

1.4 Der Pathomechanismus der Alzheimer-Krankheit

Der Pathomechanismus, der zur Alzheimer-Krankheit führt, kann nach aktuellem Forschungsstand nicht auf eine Ursache beschränkt werden. Es zeigt sich, dass die Entstehung der Alzheimer-Krankheit in den meisten Fällen multifaktoriell bedingt ist und durch verschiedene Störfaktoren für Gehirnzellen begünstigt wird (Selkoe 2001; Blennow et al. 2006).

Fest steht, dass vor allem das β -Amyloid-Peptid und seine Bildung aus dem Amyloid-Precursor-Protein (APP) eine zentrale Rolle spielt, wie nachfolgend dargelegt wird.

1.4.1 Das Amyloid-Precursor-Protein (APP)

Das APP ist ein aus 753-770 Aminosäuren bestehendes Typ-I-Transmembranprotein, dessen größerer Teil samt Amino-Terminus außerhalb der Zelle liegt (Ektodomäne), während sich der Carboxyl-Terminus innerhalb der Zelle befindet (intrazelluläre Domäne). Der Anteil, der später das A β -Peptid bildet (A β -Domäne), liegt sowohl in der Ektodomäne als auch in der Zellmembran (Abbildung 1). Durch Sekretasen wird das APP proteolytisch gespalten, wodurch es zur Freisetzung des A β -Peptids kommen kann.

1.4.2 Die APP-Prozessierung

Die APP-Prozessierung kann auf zwei Wegen stattfinden: den Amyloidogenen und den Nicht-amyloidogenen. Bei beiden wird das APP in zwei Schritten durch Sekretasen gespalten, wobei sich nur der erste Schritt unterscheidet.

Bei der nicht-amyloidogenen APP-Prozessierung spaltet die α -Sekretase (ADAM 10, ADAM17/TACE) das APP innerhalb der A β -Domäne und somit außerhalb der Zellmembran. So entstehen ein extrazelluläres, lösliches APP-Fragment und ein weiterhin in der Membran verbleibendes Fragment, von denen keines die komplette A β -Domäne enthält. Im zweiten Schritt zerschneidet die γ -Sekretase (Präsenilin-1, Präsenilin-2, PEN-2, A β PH-1, Nicastrin) den in der Transmembranregion verbliebenen Anteil in das sezernierte Peptid P3 und eine intrazellulär zurückbleibende Domäne (Haass und Selkoe 1993).

Bei der amyloidogenen APP-Prozessierung hingegen wird das APP im ersten Schritt von der β -Sekretase (BACE1) gespalten, die das APP nicht innerhalb der A β -Domäne, sondern an ihrem extrazellulären Amino-Terminus schneidet. Eines der beiden entstandenen Fragmente enthält somit die vollständige A β -Domäne, die nach Spaltung im zweiten Schritt als A β -Peptid freigesetzt wird.

Abbildung 1: Die APP-Prozessierung.
 (Bayer und Wirths 2008a, S. 119)

Die Prozessierungswege spielen eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Alzheimer-Krankheit. Sie können aber auch in gesunden Nervenzellen, teilweise parallel, stattfinden (Haass et al. 1992). Bedeutend für die Entstehung der Alzheimer-Krankheit ist, ob durch die Prozessierung das 42-Aminosäuren-lange Aβ42 entsteht, da diese Variante eine höhere Tendenz zur Aggregation zu Oligomeren und Plaques aufweist (Suzuki et al. 1994; Hardy 1996) und resistenter gegenüber ihrem enzymatischen Abbau ist (Glabbe 2001). Entgegen ursprünglichen Vermutungen findet die APP-Prozessierung nicht ausschließlich an der äußeren Zellmembran, sondern auch im endoplasmatischen Retikulum, also intrazellulär, statt (Cook et al. 1997). Dies betrifft besonders die γ-Sekretase-Spaltung, und führt folglich zu einem Anstieg von intrazellulärem Aβ42, auf dessen Bedeutung nachfolgend eingegangen wird.

1.4.3 Die Amyloid-Kaskaden-Hypothese

Die ursprüngliche Amyloid-Kaskaden-Hypothese wurde 1991 Hardy und Allsop formuliert und besagt, dass das Aβ-Peptid Ursprung und Hauptfaktor der Neurodegeneration der Alzheimer-Krankheit darstelle, und Tau-Fibrillen sowie andere Veränderungen erst sekundär entstünden (Hardy und Allsop 1991). Es wurde postuliert, dass das krankheitsauslösende Ereignis die extrazelluläre Aggregation von Aβ-Peptiden sei, die über Dysfunktion und Verlust von Nervenzellen und Synapsen zu den typischen klinischen Symptomen führe (Abbildung 2). Mit dieser Hypothese ist beispielsweise

vereinbar, dass Tau-Pathologien allein nicht zu Alzheimer-spezifischen Symptomen führen (Kapitel 1.3.2, S. 12).

Allerdings führten aktuellere Forschungsergebnisse zu einer Überarbeitung der Amyloid-Hypothese (Wirths et al. 2004). Es hatte sich gezeigt, dass die Anzahl extrazellulärer A β -Plaques schlecht mit dem Neuronenuntergang (Casas et al. 2004) und dem Verlust kognitiver Fähigkeiten korrelieren (McLean et al. 1999). Nach neueren Erkenntnissen scheinen intrazelluläre A β -Peptide, vor allem A β 42, Ausgangspunkt der Alzheimer-Pathologie zu sein (Wirths et al. 2004; Christensen et al. 2008; Bayer und Wirths 2010). Diese intrazellulären A β -Peptide könnten, nachdem sie als lösliche Peptide in die Zelle aufgenommen beziehungsweise intrazellulär produziert wurden, akkumulieren und damit ursächlich für die Funktionseinschränkung des neuronalen Netzwerks sein (Wirths et al. 2004). Dieser Hypothese nach stehen nicht mehr A β -Peptide in Form seniler Plaques im Fokus, sondern lösliche A β -Peptide (Selkoe 2001; Klein 2002; Harmeier et al. 2009; Bayer und Wirths 2011) und A β -Oligomere, die auch schon in früheren Studien eine stärkere Korrelation mit der neurologischen Symptomatik aufwiesen (McLean et al. 1999; Naslund et al. 2000).

Auf die Rolle der verschiedenen A β -Varianten wird in Kapitel 1.7 genauer eingegangen.

Abbildung 2: Klassische und modifizierte Amyloid-Hypothese.
(Wirths und Bayer 2009, S. 78)

1.5 Risikofaktoren der Alzheimer-Krankheit

Neben dem Alter als wichtigstem Risikofaktor wurden andere Faktoren identifiziert, die meist statistisch, teilweise laborchemisch, mit der Alzheimer-Krankheit assoziiert werden. Risikofaktoren und genetische Prädispositionen können danach unterteilt werden, ob sie zur sporadischen Alzheimer-Form mit spätem Beginn (Beginn nach dem 65. Lebensjahr, 90% der Erkrankten) oder zur frühen Form (Beginn vor dem 65. Lebensjahr, 10% der Erkrankten) führen (Maier et al. 2010). Eine familiäre Variante, die zu Alzheimer mit frühem Beginn gezählt wird, macht nur etwa 1% der Alzheimer-Fälle aus (Hardy 1997b) und wird zusammen mit anderen genetischen Faktoren in Kapitel 1.5.1 besprochen. Die Histopathologie der verschiedenen Varianten ist nicht voneinander zu unterscheiden (Selkoe 2001).

Immer wieder wurden verschiedene Faktoren identifiziert, die statistisch mit einem erhöhten Alzheimer-Risiko einhergehen. Hierzu gehören beispielsweise ein niedriges Bildungsniveau (Launer et al. 1999; Anttila et al. 2002), ein geringer Kopfumfang (Mortimer et al. 2003), traumatische Kopfverletzungen (Jellinger 2004), Hypercholesterinämie, Bluthochdruck, Rauchen, Übergewicht, Atherosklerose und Diabetes (Mayeux 2003). Allerdings weist keiner dieser Faktoren eine ausreichend hohe Penetranz auf, um allein für die Erkrankung verantwortlich sein zu können.

1.5.1 Genetik

Bisher wurden drei autosomal dominante Genmutationen gefunden, die zur Alzheimer-Krankheit mit frühem Beginn führen (APP-Mutation, Präsenilin-1-Mutation und Präsenilin-2-Mutation) sowie ein Genpolymorphismus, der zur sporadischen Alzheimer-Krankheit beiträgt (Apolipoprotein E). Hervorzuheben ist, dass die häufigste Form, die sporadische Alzheimer-Krankheit, als ein multifaktoriell bedingtes Ereignis betrachtet wird, in der die Genetik eine wichtige, wenn auch nicht die einzige Rolle spielt (Selkoe 2001).

1.5.1.1 Die APP-Mutationen

Mutationen des auf Chromosom 21 liegenden APP-Gens konnten zwar weltweit nur bei etwa 20 Familien nachgewiesen werden, doch sind sie für das Verständnis des Alzheimer-Pathomechanismus von entscheidender Bedeutung (Goate et al. 1991). Wichtige Forschungsarbeiten bauen auf der Arbeit mit transgenen Tiermodellen auf, die mindestens ein APP-Transgen tragen (Bayer und Wirths 2008b). Die identifizierten Mutationen liegen entweder innerhalb der A β -Domäne oder an den Schnittstellen der Sekretasen. Dadurch wird die APP-Prozessierung und somit Struktur und Anzahl der A β -Peptide beeinflusst (Irie et al. 2005). Die Folge dieser Mutationen sind ein Anstieg der Menge an A β -Peptiden sowie ein relativer Anstieg des A β 42- gegenüber dem A β 40-Level (Citron et al. 1992; Suzuki et al. 1994; Selkoe 1996).

1.5.1.2 Präsenilin-1- und Präsenilin-2-Mutationen

Für das 1995 durch Sherrington et al. als Präsenilin-1 (PS-1) bekannt gewordene Gen auf Chromosom 14 wurden mittlerweile mehr als 100 Mutationen gefunden (Sherrington et al. 1995; Hardy 1997a; Tandon und Fraser 2002). Diese *Missense*-Mutationen führen zur frühesten und aggressivsten Form der Alzheimer-Krankheit, bei der Erkrankungsfälle im Alter von 30 Jahren beschrieben sind. Ebenso wurde ein homologes Gen auf Chromosom 1 gefunden, das als Präsenilin-2 bekannt (PS-2) ist, und bei dem sechs Mutationen identifiziert wurden (Tandon und Fraser 2002). Allerdings führen diese nicht zu einem derart frühen Erkrankungsalter wie die PS-1-Mutationen (Selkoe 2001).

Die Präseniline sind Transmembranproteine und zusammen mit Nicastrin, PEN-2 und APH-1 bedeutend für die Funktion des γ -Sekretase-Komplexes, der den letzten Schritt der proteolytischen Spaltung des APP ausführt (Bentahir et al. 2006). Auch die PS-1- und PS-2-Mutationen führen zu einer Anreicherung von A β -Peptiden mit einem erhöhten A β 42- gegenüber A β 40-Level (Borchelt et al. 1996; Scheuner et al. 1996).

1.5.1.3 Das Apolipoprotein E (ApoE)

ApoE ist, wie auch andere Lipoproteine, ein Transport-Baustein des Fettstoffwechsels. Als Eiweiß-Fett-Verbindung übernimmt es die Funktion des Lipid-Transports im Lymph- und Blutsystem sowie innerhalb der Zellen (Huang et al. 2004). Das aus 299 Aminosäuren zusammengesetzte Protein wird in Leberzellen, Milz, Nieren aber auch im Gehirn synthetisiert, wo es in der Regel von Mikroglia- und Astrogliazellen exprimiert wird (Boyles et al. 1985; Poirier et al. 1991). Bemerkenswerterweise wird ApoE vor allem unter pathologischen Bedingungen auch von zentralen Neuronen gebildet (Diedrich et al. 1991; Han et al. 1994; Bao et al. 1996; Metzger et al. 1996; Xu et al. 1998; Xu et al. 1999a; Xu et al. 1999b; Harris et al. 2004).

Für die Alzheimer-Krankheit ist von besonderer Bedeutung, dass es einen Polymorphismus auf dem Genlocus von ApoE auf Chromosom 19 gibt (Zannis et al. 1981), aus dem drei Allele mit unterschiedlichem Risikoprofil hervorgehen: ϵ 2, ϵ 3 und ϵ 4. Aus diesen drei Allelen ergeben sich drei homozygote (ApoE2/E2, ApoE3/E3 und ApoE4/E4) und drei heterozygote (ApoE2/3, ApoE2/4 und ApoE3/4) Phänotypen. Der Phänotyp ApoE3/E3 kommt mit 60% am häufigsten vor und wird deshalb als Normalvariante bezeichnet (Mahley und Rall 2000; Bertram und Tanzi 2008).

Die drei exprimierten ApoE-Isoformen unterscheiden sich voneinander nur an Position 112 und 158: ApoE4 besteht aus Arginin an beiden Positionen, ApoE2 aus Cystein an beiden Positionen und ApoE3 aus Cystein an Position 112 und Arginin an Position 158 (Huang et al. 2004). Dieser Unterschied hat entscheidenden Einfluss auf die Funktionalität des Proteins und seiner Bedeutung für verschiedenste Erkrankungen. ApoE2 gilt allgemein als protektiv. ApoE4 hingegen ist der einzige gesicherte genetische Risikofaktor für die *sporadische* Alzheimer-Krankheit (Corder et al. 1993; Saunders et al. 1993; Corder et al. 1994).

Bereits vor der Identifizierung von ApoE als Risikofaktor wurde das Protein in den charakteristischen A β -Plaques und Neurofibrillen nachgewiesen (Namba et al. 1991; Wisniewski und Frangione 1992; Tang et al. 1998; Romas et al. 2002). Auch die Region auf Chromosom 19q, in der das kodierende Gen liegt, war bereits in Zusammenhang mit der Alzheimer-Krankheit gebracht worden (Pericak-Vance et al. 1991), und so konnten Strittmatter et al. 1993 erstmals zeigen, dass das Allel ϵ 4 überdurchschnittlich häufig bei der sporadischen Alzheimer-Form vorkommt (Strittmatter et al. 1993a).

Während 22-27% der Bevölkerung mindestens ein ϵ 4-Allel tragen, sind Alzheimer-Kranke zu 45% heterozygote und zu 10-12% homozygote ϵ 4-Allel-Träger (Bertram und Tanzi 2008). Demzufolge erhöht sich das Lebenszeitrisiko an Alzheimer zu erkranken dreifach für ApoE3/E4-Träger, und zehnfach für ApoE4/E4-Träger, im Vergleich zu ApoE3/E3-Trägern (Maier et al. 2010). Auch das Erkrankungsalter sinkt bei Vorliegen des ϵ 4-Allels (Corder et al. 1993; Tsai et al. 1994; Locke et al. 1995). Zur Diagnostik der Alzheimer-Demenz wird die ApoE-Genotyp-Bestimmung mit einer Sensitivität von 65% und Spezifität von 68% (Mayeux et al. 1998) nicht empfohlen (Maier et al. 2010).

In welcher Weise ApoE4 Einfluss auf den Pathomechanismus der Alzheimer-Krankheit nimmt, lässt sich nicht exakt aufzeigen. Prinzipiell lässt sich sagen, dass ApoE4 für die Zellhomöostase funktionell ungünstiger ist als ApoE2 und ApoE3, und dementsprechend über mehrere Mechanismen die Pathologie der Alzheimer-Krankheit beeinflussen kann (Nathan et al. 1994; Huang et al. 2004). So kann ApoE4 zu Neurodegeneration (Marques et al. 1996; Tolar et al. 1997; Buttini et al. 1999; Tolar et al. 1999; Buttini et al. 2000; Huang et al. 2001; Buttini et al. 2002; Harris et al. 2003) sowie zu eingeschränkter neuronaler Regenerationsfähigkeit führen (Nathan et al. 1994; Bellosta et al. 1995). Die zellulären Effekte des E4-Phänotyps sind vor allem eine Einschränkung des antioxidativen Abwehrsystems (Miyata und Smith 1996; Lauderback et al. 2002; Mazur-Kolecka et al. 2002), eine Dysregulation neuronaler Signalwege (Herz und Beffert 2000) und eine Unterbrechung zytoskelettaler Struktur und Funktion (Nathan et al. 1994; Bellosta et al. 1995; Nathan et al. 1995).

Im Rahmen der Alzheimer-Pathologie wirkt sich ApoE4 negativ auf die Eliminationsfähigkeit von A β -Peptiden aus (Jiang et al. 2008) und führt dementsprechend zu einer zerebralen A β -Anreicherung (Bales et al. 1999; Holtzman et al. 2000a; Irizarry et al. 2000). Es kommt zu einer Erhöhung der Anzahl und Dichte der A β -Plaques (Rebeck et al. 1993; Schmechel et al. 1993; Strittmatter et al. 1993b; LaDu et al. 1994; Ma et al. 1994; Sanan et al. 1994; Wisniewski et al. 1994; Gearing et al. 1996; Martel et al. 1997; Bales et al. 1999; Holtzman et al. 2000a; Holtzman et al. 2000b; Irizarry et al. 2000; Shibata et al. 2000), aber auch der perivaskulären (Greenberg et al. 1995) und intrazellulären A β -Peptide (Christensen et al. 2010). Der toxische Effekt der A β -Peptide wird hierbei durch ApoE4 verstärkt (Ji et al. 2002). Ebenso begünstigt das ϵ 4-Allel die abnormale Phosphorylierung der Tau Proteine und die Fibrillenbildung (Strittmatter et al. 1994; Tesseur et al. 2000; Huang et al. 2001;

Ljungberg et al. 2002; Harris et al. 2003; Brecht et al. 2004). In Folge all dieser von ApoE4 begünstigter Mechanismen kommt es zur kognitiven Einschränkung (Raber et al. 1998; Raber et al. 2000). Jedoch ist der genaue Mechanismus nicht vollständig geklärt (Huang et al. 2004).

Der unspezifische Einfluss des ApoE-Genotyps auf die Zellhomöostase erklärt demnach seine mehr prädisponierende denn bestimmende Rolle für die Alzheimer-Krankheit. Außerdem erklärt sich dadurch auch seine Bedeutung für verschiedenartige Erkrankungen, wie etwa die Dyslipoproteinämie und Atherosklerose (Breslow et al. 1982; Civeira et al. 1996; Feussner et al. 1998) oder das Guillain-Barré-Syndrom (Zhang et al. 2010).

1.6 Bluttests

Bisher gibt es keine laborchemische Untersuchung zur sicheren Diagnose der Alzheimer-Krankheit. In die aktuellen klinischen Leitlinien wurde bisher lediglich die Liquorpunktion aufgenommen (siehe Kapitel 1.2.2, S. 10), deren Sensitivität mit 86% und Spezifität mit 89% angegeben wird (Engelborghs et al. 2008). Blutparameter hingegen werden nur zum Ausschluss sekundärer kognitiver Einschränkung, wie zum Beispiel der Schilddrüsenunterfunktion, herangezogen (Deuschl und Maier 2009). Die Tatsache, dass etwa 500ml Liquor am Tag in das Blutplasma abgegeben werden, lässt jedoch vermuten, dass analog zur Liquordiagnostik auch Biomarker im Blutplasma nachweisbar sein könnten (Hye et al. 2006). Wenn man zudem bedenkt, dass bis zu 20 Jahre vor Symptombeginn charakteristische biochemische Prozesse beginnen (Davies L. et al. 1988; Price und Morris 1999), wird das Potential möglicher Biomarker für die Frühdiagnostik deutlich. Der Nachweis des isolierten A β -Peptids im Blutplasma Alzheimer-Kranker hat bisher zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt (Kawarabayashi und Shoji 2008). Vor diesem Hintergrund werden zusätzlich Immunkomplexe (Nath et al. 2003; Gruden et al. 2004; Marcello et al. 2009) und, wie in dieser Arbeit, A β -Subvarianten als potentielle Biomarker im Blut untersucht (Kapitel 1.7)

1.7 Die Bedeutung von Abeta-Varianten für die Alzheimer-Krankheit

Neben A β 42 in voller Länge, das mit der Aminosäure Aspartat an Position 1 beginnt, wurden auch andere Varianten beschrieben, die aus A β 42 hervorgehen können. Bereits 1985 stellten Masters et al. am Aminoterminus gestutzte A β -Peptide vor, die mit Phenylalanin an Position 4 beginnen (Masters et al. 1985). Spätere Arbeiten zeigten, dass sich senile Plaques zu einem Großteil aus einer anderen A β -Peptid-Variante zusammensetzen: Pyroglutamat Abeta (Mori et al. 1992; Saido et al. 1995; Wirths et al. 2010a). Dieses A β -Peptid beginnt mit Pyroglutamat an Position 3 und konnte auch im Mausmodell als neurodegenerativ klassifiziert werden (Wirths et al. 2009).

1.7.1 Pyroglutamat Abeta (A β pE3)

Die A β pE3-Variante wurde mittlerweile in mehreren Studien als diagnostischer und therapeutischer Ansatzpunkt für die Alzheimer-Krankheit identifiziert (Cynis et al. 2008; Schilling et al. 2008; Marcello et al. 2009; Wirths et al. 2010a; Wirths et al. 2010c). Nachweis und Quantifizierung sind jedoch aufgrund der biochemischen Struktur schwierig. Deshalb kam es bislang zu unterschiedlichen Ergebnissen (Gorevic et al. 1986; Selkoe et al. 1986; Mori et al. 1992).

2010 stellten Wirths et al. den monoklonalen Antikörper 9D5 vor (IgG2b; Name der Zelllinie: PG3-38 9D5H6), der selektiv in humanen Hirnschnitten und Blutplasma an A β pE3 bindet und nach Färbung oder ELISA-Verfahren einen semiquantitativen Wert für sein Vorliegen liefert (Wirths et al. 2010c). Die Studie zeigte erstens, dass sich A β pE3-Oligomere bei Alzheimer-Pathologie intraneuronal und perivaskulär im Gehirn ablagern, und zweitens, dass der A β pE3-Spiegel im Blutplasma Alzheimer-Kranker signifikant niedriger ist als bei gesunden Kontrollen. Es wird postuliert, dass A β pE3-Oligomere, neben ihrer eigenen Neurotoxizität, die Entstehung von A β -Plaques begünstigen (Abbildung 4; Bayer und Wirths 2011). Der niedrigere Plasmaspiegel bei Alzheimer-Kranken wird mit einer zerebralen Amyloid-Angiopathie und einer daraus resultierenden gestörten Elimination begründet (Abbildung 3; Wirths et al. 2010c).

Abbildung 3: Hypothese zur Pathologie von A β pE3-Oligomeren im Gehirn Alzheimer-Kranker.

(A) Im gesunden Gehirn wird A β von den Neuronen ausgeschieden, ohne dass es zu intraneuronaler Akkumulation kommt. Die Elimination von A β läuft über die Blut-Hirn-Schranke und/oder A β -abbauende Enzyme. (B) bei Alzheimer-Krankheit sind A β pE3-Oligomere in Gehirn und Gefäßzellen aufgrund gestörter Elimination über die Blut-Hirn-Schranke erhöht. Darüber hinaus kommt es zu intraneuronaler Aggregation (nach Wirths et al. 2010b, S. 7).

Abbildung 4: Schematische Darstellung der Entstehung von AβpE3-Oligomeren und Aβ-Plaques.

AβpE3 entsteht aus dem Vorläufer Aβ₁₋₄₂ und aggregiert zu Oligomeren (A). Anschließend katalysieren AβpE3-Oligomere die Entstehung von Aβ-Plaques (B). (nach Bayer und Wirths 2011, S. 859)

Durch die Erkenntnisse über AβpE3 haben sich bisher zwei therapeutische Ansätze ergeben, die beide an seiner Entstehung ansetzen.

Zum einen ist bekannt, dass der enzymatische Schritt, der den Aminoterminal des Aβ-Peptids spaltet und aus dem AβpE3 hervorgeht, durch die Glutaminyl-Zyklase (engl. *glutaminyl cyclase* = GC) katalysiert wird (Cynis et al. 2008; Schilling et al. 2008; Jawhar et al. 2011). Die bei Alzheimer-Patienten hochregulierte GC konnte im Mausmodell inhibiert werden, was zu entsprechend niedrigerem AβpE3-Load und zu verbesserter kognitiver Leistung führte (Schilling et al. 2008).

Zum anderen konnte der Antikörper 9D5 im Mausmodell zur passiven Immunisierung bei Alzheimer-Pathologie eingesetzt werden, was zu signifikant niedrigerem Aβ-Plaque-Load, AβpE3-Blutplasmaspiegel und zu verbessertem neurologischen Verhalten führte (Wirths et al. 2010c).

Diese aktuellen Erkenntnisse verdeutlichen das diagnostische und therapeutische Potential in der Erforschung des AβpE3-Peptids anhand des 9D5-Antikörpers.

1.8 Zielsetzung und Fragestellung

Die Detektion von A β pE3-Oligomeren mithilfe des Antikörpers 9D5 wurde als ein vielversprechender Ansatzpunkt für Diagnostik und Therapie der Alzheimer-Krankheit beschrieben (Kapitel 1.7.1, S. 20). Ebenso konnte das Apolipoprotein E4 mit einer erhöhten Alzheimer-Inzidenz assoziiert werden (Kapitel 1.5.1.3, S. 17).

In dieser Arbeit sollen beide Faktoren in einem repräsentativen Kollektiv evaluiert werden. Zur Datengewinnung wird die Arbeit in zwei Schritte unterteilt:

1. Im ersten Schritt werden in einer klinischen Studie möglichst 300 Probanden (Alzheimer-Patienten sowie demente und gesunde Kontroll-Patienten) eigenständig rekrutiert. Die Probanden werden von mir klinisch untersucht, ihre demographischen Daten erfasst, und ihnen jeweils eine Blutprobe entnommen.
2. Im zweiten Schritt werden ApoE und A β pE3 von mir im Blutplasma der Patienten laborexperimentell bestimmt.

Anschließend werden die Patienten zur Auswertung in klinische Gruppen mit unterschiedlicher psychiatrischer Diagnose zugeordnet. Es werden demographische und klinische Daten ausgewertet und bestehende Forschungshypothesen überprüft:

- Haben Probanden mit einem bestimmten ApoE-Genotyp ein signifikant niedrigeres Alzheimer-Erkrankungsalter?
- Haben Probanden mit einem bestimmten ApoE-Genotyp signifikant häufiger eine positive Familienanamnese für die Alzheimer-Krankheit?

Der Fokus der Untersuchungen liegt auf der Bedeutung der Parameter ApoE und A β pE3. Zunächst soll die Hypothese evaluiert werden, nach der sich der A β pE3-Plasmaspiegel bei Alzheimer-Krankheit deshalb absenkt, weil es zu einer verminderten zerebralen A β -Eliminationsfähigkeit kommt (Kapitel 1.7.1, S. 20). Hierzu eignet sich die Untersuchung des Plasmaspiegels in Abhängigkeit von ApoE-Genotyp, da über das ϵ 4-Allel bekannt ist, dass es zu einer verminderten Eliminationsfähigkeit und entsprechender Anreicherung zerebraler A β -Peptide führt (Kapitel 1.5.1.3, S. 17).

- Senkt sich der A β pE3-Oligomer-Plasmaspiegel bei Vorliegen eines bestimmten ApoE-Genotyps signifikant ab?

Anschließend soll die diagnostische Wertigkeit der beiden Parameter für die Demenz-Diagnose geprüft werden:

- Ist der A β pE3-Oligomer-Plasmaspiegel bei kognitiv eingeschränkten Probanden signifikant niedriger als bei kognitiv Gesunden?
- Liegt ein bestimmter ApoE-Genotyp bei Demenzerkrankten signifikant häufiger vor als bei Nicht-Dementen?

Zuletzt soll geprüft werden, ob sich beide Faktoren in ihrer diagnostischen Wertigkeit für die Alzheimer-Krankheit addieren lassen:

- Wie sind die kognitiven Leistungen der Probanden bei Unterschreiten eines festgelegten A β pE3-Oligomer-Plasmaspiegels und gleichzeitigem Vorliegen eines bestimmten ApoE-Genotyps?

Abschließend soll die vorliegende Arbeit eine Aussage über die Möglichkeit eines Bluttests zur Alzheimer-Diagnose, anhand von Pyroglutamat Abeta und Apolipoprotein-E-Genotyp, treffen.

2 PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patienten

Die Patienten wurden an der „Privat-Nerven-Klinik Dr. med. Kurt Fontheim“ in Liebenburg/Niedersachsen für die Studie rekrutiert (Studiennummer UMG-PNK-DEM-01; Anhang 6.1, S. 57).

Neben einem Kollektiv mit Alzheimer-Krankheit wurden mehrere Kontrollgruppen definiert. Dementsprechend wurden alle Patienten mit einer der in Tabelle 1 aufgezählten psychiatrisch/neurologischen Diagnosen für die Studie eingeschlossen. Gesunde Probanden wurden über eine Pressemitteilung der Klinik auf die Studie aufmerksam gemacht, und konnten sich telefonisch zur Studie anmelden. Die Patienten der Klinik und ihre gesetzlichen Betreuer wurden von mir direkt kontaktiert. Einschlusskriterium war ein Alter zwischen 65 und 85 Jahren. Ausschlusskriterien waren eine bestehende Suchterkrankung, gegenwärtiger Medikamentenmissbrauch und mangelhafte Beherrschung der deutschen Sprache. Die Teilnahme erfolgte freiwillig und ohne materiellen Anreiz. Alle Probanden und/oder ihre gesetzlichen Betreuer wurden über die Ziele und Risiken der Studie von mir und ihrem betreuenden Arzt aufgeklärt. Von allen Probanden/Betreuern liegen schriftliche Einverständniserklärungen (siehe Anhang, S. 59) vor.

Insgesamt wurden 299 Studienteilnehmer im Zeitraum vom 28.07.2009 bis zum 8.10.2009 von mir untersucht.

2.2 Klinische Klassifizierung

Bei allen Patienten lag zum Untersuchungszeitpunkt bereits eine klinische Diagnose vor. Sie wurde von den Ärztinnen und Ärzten der Klinik Dr. Fontheim leitliniengerecht gestellt und gemäß ICD-10 kodiert. Alle Studienteilnehmer wurden unmittelbar vor meiner eigenen Untersuchung und Blutentnahme von den Klinikärzten hinsichtlich möglicher neuer psychiatrischer Auffälligkeiten überprüft, und dies schriftlich dokumentiert (siehe Kapitel 2.3).

Es ergaben sich insgesamt sechs Probandengruppen (Tabelle 1).

Der Zielsetzung der Arbeit entsprechend lag der Fokus auf der Alzheimer-Krankheit. Neben einer Alzheimer- und einer Kontrollgruppe („Gesund“) wurden vier weitere klinische Gruppen gebildet, um die Spezifität der untersuchten Faktoren zu beurteilen.

Anzumerken ist, dass keine Gruppe „vaskuläre Demenz“, sondern stattdessen die Gruppe „gemischte Demenz“ definiert wurde. Gemischte Pathologien sind in Post-mortem-Untersuchungen etwa doppelt so häufig wie rein vaskuläre Ursachen (Jellinger und Attems 2007). Eine sichere Abgrenzung dieser beiden pathologischen Entitäten ist klinisch kaum möglich. Aus diesem Grund wurde hier auf eine Unterscheidung verzichtet.

Tabelle 1: Klinische Gruppen.

Gruppenname	ICD-10 Code	Beschreibung
Gesund		<ul style="list-style-type: none"> • Gesunde Probanden • Ausschluss psychiatrischer/neurologischer Erkrankungen • Ausschluss einer mit kognitiver Einschränkung einhergehenden Erkrankung (z.B. Schilddrüsenunterfunktion)
Alzheimer	F00	<ul style="list-style-type: none"> • „Wahrscheinliche AD“ nach NINCDS-ADRDA (Anhang 6.7, S. 66) • Ausschluss einer vaskulären Ursache für kognitive Einschränkung (dann ggf. Klassifizierung als GD)
Depression	F32 & F33	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnose F32 & F33 nach ICD-10 bei Ausschluss kognitiver Einschränkung
MCI	F06.7	<ul style="list-style-type: none"> • Patienten mit leichter kognitiver Störung • Diagnose nach S3-Leitlinie (Deuschl und Maier 2009) unter Berücksichtigung aktueller Anamnese (vor allem Ausschluss nichtmedizinischer, leistungsmindernder Faktoren) • MMSE<30 • MMSE>20 • Ausschluss von GD • Ausschluss von Depressionen • Bei Einstufung in „Mögliche AD“ nach NINCDS-ADRDA (Anhang 6.7) - Einschluss in MCI-Gruppe möglich
GD	F00.2	<ul style="list-style-type: none"> • Patienten mit gemischter Demenz • Patienten mit nachgewiesener vaskulärer Demenz, bei denen eine Alzheimer-Pathologie nicht ausgeschlossen werden konnte
Rest	F02 & F03	<ul style="list-style-type: none"> • Kognitive Einschränkung bei Ausschluss von Alzheimer, Depression, MCI und GD

2.3 Datenerhebung

Die Studienteilnehmer wurden alleine oder in Anwesenheit ihrer Betreuer untersucht. Im Vorwege fand ein Aufklärungsgespräch mit einem Klinikarzt statt, bei dem die Einverständniserklärung eingeholt wurde. Die Untersuchung bestand aus einem offenen Gespräch, an das sich die Datenerhebung anhand eines Prüfbogens (CRF; siehe Anhang, S. 58) sowie die Blutentnahme anschlossen. Mit dem CRF wurden klinische und paraklinische Daten, wie zum Beispiel aktuelle psychiatrische Anamnese, demographische Daten und Medikamentenanamnese erfasst. Neuropsychologische Parameter wurden mittels einer im CRF integrierten Testbatterie (MMSE, SMC und B-ADL) erfasst.

2.3.1 Mini-Mental State Examination (MMSE)

Der MMSE-Score eignet sich als Screening-Verfahren zur Beurteilung kognitiver Beeinträchtigung und kann auch ihren Verlauf erfassen. Jeder Patient erreicht nach diesem circa 10-minütigen Test vom Untersucher einen Score von 0 bis 30 (ohne Einheit), wobei ein niedriger Score eine schwache

kognitive Leistung bedeutet. 1975 wurde die erste Version eines MMSE-Fragebogens veröffentlicht (Folstein et al. 1975). Für die vorliegende Arbeit wurde ein weiterentwickelter MMSE-Fragebogen verwendet. Erfasst wurden Parameter wie Orientierung zu Zeit und Raum, Aufmerksamkeit oder Fähigkeit zur Wiederholung von Gesprochenem.

2.3.2 Subjektive kognitive Leistungsminderung (Subjective Memory Complaints = SMC)

Um eine subjektive kognitive Leistungsminderung zu erfassen, wurde von jedem Patient ein SMC-Fragebogen ausgefüllt (nach Jorm et al. 1997; Geerlings et al. 1999; siehe Anhang, S. 60). Dieser kurze Fragebogen eignet sich zur Objektivierung und Abstufung einer SMC. Für die Auswertung wurden die Ergebnisse wie folgt vereinfacht:

- 1) Subjektive Leistungsminderung liegt vor = SMCpos
- 2) Subjektive Leistungsminderung liegt nicht vor = SMCneg
- 3) Subjektive Leistungsminderung bei dem Patienten nicht erfassbar (beispielsweise bei schwerer, fortgeschrittener Demenz)

2.3.3 Bayer Activities of Daily Living Scale (B-ADL)

Diese Skala eignet sich zur Erfassung der Beeinträchtigung Demenzkranker im alltäglichen Leben (Hindmarch et al. 1998). Anhand eines Fragebogens (siehe Anhang 6.5, S.61), der auch mit Hilfe Angehöriger ausgefüllt werden kann, wird ein Wert zwischen 1 (keine Beeinträchtigung) und 10 (massive Beeinträchtigung) errechnet.

2.4 Blutproben

Es erfolgte eine peripher-venöse Punktion, bei der eine 2,7ml-EDTA-Monovette Blut abgenommen wurde. Die Monovetten wurden innerhalb einer halben Stunde im Liebenburger Kliniklabor von mir weiter präpariert. Zunächst wurden die Proben bei 6000 rpm für eine Minuten zentrifugiert. Das Blutplasma wurde anschließend in je vier 0,2-ml-Eppendorf-Cups abpipettiert und getrennt von der Monovette eingefroren. Alle Proben sind bis zur Untersuchung im Göttinger Labor eingefroren geblieben und bei Transport auf Trockeneis gelagert worden.

2.5 Genotypisierung

2.5.1 Arbeitsgeräte und Verbrauchsmaterialien

Vortex	Janke und Kunkel Heitersheim / Deutschland
2 ml Eppendorf-Gefäße (E-Cups)	Eppendorf AG Hamburg / Deutschland
Pipetten, 200 µl	Eppendorf AG Hamburg / Deutschland
1,5 ml microcentrifuge tubes	Qiagen, Hilden/ Deutschland
QIAamp mini spin column	Qiagen, Hilden / Deutschland
Zentrifuge	Eppendorf AG Hamburg / Deutschland

2.5.2 Chemikalien, Puffer und Lösungen

Ethanol (100%)	
Proteinase K	Qiagen, Hilden / Deutschland
QIAamp DNA Blood Mini Kit™	Qiagen, Hilden / Deutschland
Puffer AW1	Qiagen, Hilden / Deutschland
Puffer AW2	Qiagen, Hilden / Deutschland
Puffer AL	Qiagen, Hilden / Deutschland
Puffer AE	Qiagen, Hilden / Deutschland

2.5.3 DNA-Isolierung

Um die in den Zellen enthaltene DNA der Blutproben zu isolieren wurde das QIAamp Blood Mini Kit™ (Qiagen, Hilden / Deutschland) nach dem Protokoll des Herstellers verwendet. Bei diesem Verfahren werden die Proteine durch Detergenzien denaturiert und die DNA dabei extrahiert und auf einem vernetzten Polymer eines Zentrifugenröhrchens gebunden. Mithilfe eines Eluationspuffers wird die gebundene DNA gelöst und kann bei -80 ° C gelagert werden. Die DNA-Isolierung wurde zur Hälfte von einer medizinisch-technischen Assistentin, und zur anderen Hälfte von mir durchgeführt.

Durchführung:

- 20 µl Proteinase K auf Boden eines 1,5 ml microcentrifuge tubes pipettieren
- 200 µl der Blutprobe in das 1,5 ml microcentrifuge tube hinzupipettieren
- 200 µl AL-Puffer zur Probe zupipettieren
- 15 sek. vortexen
- 10 min. Inkubation bei 56 ° C
- 10 sek. bei 3000 rpm zentrifugieren
- 200 µl Ethanol zupipettieren
- 15 sek. vortexen
- 10 sek. bei 3000 rpm zentrifugieren
- Eine QIAamp mini spin column in ein 2 ml E-Cup stecken
- Gemisch in die QIAamp mini spin column pipettieren
- 1 min. bei 8000 rpm zentrifugieren
- Filtrat verwerfen und QIAamp mini spin column in ein neues E-Cup stecken
- 500 µl AW1-Puffer zupipettieren
- 1 min. bei 8000 rpm zentrifugieren
- Filtrat verwerfen und QIAamp mini spin column in ein neues E-Cup stecken
- 500 µl AW2-Puffer zupipettieren
- 3 min. bei 14000 rpm zentrifugieren
- Filtrat verwerfen und QIAamp mini spin column in ein neues E-Cup stecken
- 1 min. bei 14000 rpm zentrifugieren
- Filtrat verwerfen und QIAamp mini spin column in ein neues 1,5 ml microcentrifuge tube stecken
- 200 µl AE-Puffer zupipettieren
- 1 min. Inkubation bei Raumtemperatur
- 1 min. bei 8000 rpm zentrifugieren
- QIAamp mini spin column verwerfen.

2.5.4 PCR und Bestimmung des ApoE-Genotyps

Zur Bestimmung des ApoE-Genotyps der Patienten wurden die aus dem Vollblut gewonnenen DNA-Filtrate an die Arbeitsgruppe für Molekulare Diagnostik und Genregulation in der Abteilung für Klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen weitergegeben. Die durchgeführte PCR ist eine Methode zur enzymatischen Synthese der zu untersuchenden DNA-Sequenz. In diesem Fall wurde der Bereich des ApoE-Gens synthetisiert, der die Codons für die Aminosäuren 112 und 158 umfasst.

Nach elektrophoretischer Auftrennung der gewonnenen Fragmente konnten diese mit einem Farbsubstrat visualisiert und photometrisch gemessen werden.

2.6 Bestimmung des A β pE3-Plasmaspiegels

Die Bestimmung des A β pE3-Plasmaspiegels wurde in der Abteilung für molekulare Psychiatrie, Göttingen, durchgeführt. Das Blutplasma wurde in einem zuvor etablierten Sandwich-ELISA-Verfahren untersucht (Wirh's et al. 2010c). Hierbei wurde 9D5 als Capture-Antikörper aufgetragen und mit 5% skimmed milk und 0,05% Tween in PBS geblockt. Als Detektionsantikörper wurde biotinylierter 2-48 Antikörper gegen pE-A β in Kombination mit Streptavidin-HRP und dem Chromogen TMB (Pierce) verwendet. Das Verfahren konnte labortechnisch nicht bei allen Blutproben erfolgreich durchgeführt werden. Bei Blutproben mit erfolgreichem ersten Durchlauf wurde das Verfahren wiederholt, und der Durchschnittswert beider Messungen zur Auswertung verwendet. Die ermittelten Werte wurden vor einer weiteren Auswertung anhand der ROUT-Methode auf Ausreißer überprüft (Motulsky und Brown 2006). Dabei wurde ein Ausreißer eliminiert.

2.7 Statistik

Alle Ergebnisse wurden zunächst mit der Software Excel 2008 ® (Microsoft Corp. / USA) erfasst und anschließend mit Stata/IC 10.0 ® (Stata Corp. / USA) und Prism 5.0 a ® (GraphPad Software, Inc. / USA) ausgewertet und dargestellt.

Zum Vergleich zweier unabhängiger Gruppen kontinuierlicher Variablen wurde der ungepaarte t-Test angewandt. Bei binären oder kategorischen, unabhängigen Variablen in zwei oder mehr Gruppen wurde der Chi-Square-Test, beziehungsweise in kleineren Kollektiven der Fisher's Exact Test, durchgeführt.

Die Signifikanzniveaus wurden wie folgt angesetzt: ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05.

3 ERGEBNISSE

Von den untersuchten 299 Patienten gelangen bei 32 sowohl die ApoE-Genotyp-Bestimmung als auch die des Plasmaspiegels der A β pE3-Oligomere. Bei vier Patienten konnte nur A β pE3 und bei 224 Patienten nur der ApoE-Genotyp bestimmt werden. Bei 30 Patienten gelang weder die Bestimmung des Genotyps, noch der des A β pE3-Spiegels. Hieraus wurden drei Patientengruppen gebildet, die aus statistischen Gründen unabhängig voneinander untersucht wurden:

- 1) 256 Patienten mit bekanntem ApoE-Genotyp
(Kapitel 3.1)
- 2) 36 Patienten mit bekanntem A β pE3-Plasmaspiegel
(Kapitel 3.2)
- 3) 32 Patienten mit bekanntem ApoE-Genotyp und bekanntem A β pE3-Plasmaspiegel
(Kapitel 3.3).

3.1 ApoE-Genotyp

3.1.1 Charakterisierung der Patienten

Insgesamt setzten sich die 256 Patienten mit ermitteltem Genotyp aus 103 Männern (40,23%) und 153 Frauen (59,77%) zusammen, wobei der Alterdurchschnitt bei 71,96 Jahren (SD = 7,60 Jahre) lag. Alle Probanden waren darüber hinaus hellhäutig. Tabelle 2 und Abbildung 5 zeigen eine differenziertere Beschreibung des Kollektivs nach klinischer Klassifikation.

Die gesunde Kontrollgruppe wies, wie zu erwarten, den höchsten MMSE-Wert (28,94, SD = 2,54) und niedrigsten den B-ADL-Wert (0,20, SD = 0,98) auf.

Die Kontrollgruppe lag mit einem Altersdurchschnitt von 69,61 Jahren unter dem Gesamtdurchschnitt (71,96 Jahre) und setzte sich aus mehr Männern als Frauen zusammen (52,42% Männer, 47,58% Frauen).

Auffällig war, dass die durchschnittliche Ausbildungszeit bei allen psychiatrisch erkrankten Patientengruppen unter der der gesunden Kontrollgruppe lag. Dieser Unterschied war im ungepaarten t-Test jeweils signifikant.

Die Alzheimer-Familienanamnese hingegen konnte in diesem Kollektiv nicht als Risikofaktor bestätigt werden. Dieser Parameter konnte bei vielen Patienten nicht erfragt werden, und kam in der gesunden Kontrollgruppe am häufigsten vor.

Ebensowenig lag bei einer der klinischen Gruppen ein signifikant erhöhter BMI als in der Kontrollgruppe vor.

Tabelle 2: Charakterisierung des Kollektivs mit ermitteltem ApoE-Genotyp.*Ausbildungsjahre: in Schule/Ausbildung/Studium etc. verbrachte Zeit**Alzheimer-Familienanamnese: Vorliegen eines Verwandten ersten Grades mit Alzheimer-Krankheit**Erkrankungsalter: Alter bei ersten Symptomen*

	Gesund	Alzheimer	Depression	MCI	GD	Rest
n	124	40	27	25	19	21
Geschlecht						
männlich (%)	65 (52,42)	12 (30,00)	6 (22,22)	10 (40,00)	4 (21,05)	6 (28,57)
weiblich (%)	59 (47,58)	28 (70,00)	21 (77,78)	15 (60,00)	15 (78,95)	15 (71,43)
Alter						
Durchschnitt	69,6	76,9	73,1	72,32	79,53	67,57
(SD)	(4,66)	(6,72)	(5,32)	(7,53)	(7,02)	(14,33)
MMSE						
Durchschnitt (SD)	28,94 (2,54)	10,18(9,10)	27,74 (2,92)	25,60 (1,87)	6,42 (9,01)	5,52 (10,78)
Ausbildungsjahre						
nicht erfasst (%)	1 (0,81)	7 (17,50)	0 (0,00)	0 (0,00)	8 (42,11)	8 (38,10)
Durchschnitt (SD)	12,89 (2,60)	11,00(2,44)	11,74 (2,54)	11,48 (3,03)	10,36 (1,96)	9,31 (4,87)
Medikamentenanamnese						
Antidementivum(%)	8 (6,45)	23 (57,50)	0 (0,00)	6 (24,00)	5 (26,32)	3 (14,29)
Statin (%)	6 (4,84)	4 (10,00)	6 (22,22)	3 (12,00)	0 (0,00)	19 (7,42)
Alzheimer-Familienanamnese						
nicht erfasst (%)	53 (20,70)	18 (45,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	14 (73,68)	19 (90,48)
positiv (%)	40 (32,79)	6 (27,27)	7 (25,93)	8 (32,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Erkrankungsalter						
nicht erfasst (%)		3 (7,50)	0 (0)	9 (36,00)	2 (10,53)	0 (0)
Durchschnitt		71,95	59,41	65,25	71,53	53,19
(SD)		(12,87)	(18,91)	(20,12)	(12,76)	(24,90)
BMI						
nicht erfasst (%)	4 (3,23)	1 (2,50)	1 (3,70)	0 (0,00)	0 (0)	0 (0)
Durchschnitt (SD)	26,36 (3,73)	25,25(4,17)	26,18 (4,54)	26,50 (4,53)	23,85 (4,26)	24,78 (4,97)
SMC (subjective memory complaints)						
nicht erfasst (%)	1 (0,81)	21 (52,50)	0 (0,00)	0 (0,00)	13 (68,42)	18 (85,71)
SMC-positiv (%)	70 (56,91)	17 (89,47)	20 (74,07)	22 (88,00)	5 (83,33)	1 (33,33)
B-ADL (Bristol activities of daily living)						
Durchschnitt (SD)	0,20 (0,98)	7,04 (2,63)	2,60 (1,77)	1,96 (1,65)	8,24 (2,23)	8,90 (2,20)

Abbildung 5: Geschlechts- und Altersverteilung des Kollektivs mit ermitteltem ApoE-Genotyp.

Die weißen und schwarzen Balken stellen die prozentuale Geschlechtsverteilung in den klinischen Gruppen dar (gegen linke y-Achse aufgetragen). Die grauen Balken stellen das Durchschnittsalter in Jahren der Patienten einer Gruppe dar (gegen rechte y-Achse aufgetragen)

3.1.2 Untersuchung des ApoE-Profiles

In dem untersuchten Patientenkollektiv kamen alle sechs homo- und heterozygoten Varianten des ApoE-Genotyps vor. Wie Tabelle 3 zeigt, kam die Allelkombination $\epsilon 3/\epsilon 3$ am häufigsten vor (50,00%). In der gesunden Kontrollgruppe wiesen 57,26% diese Allelkombination auf, 22,26% mehr als in der Gruppe der Alzheimerpatienten.

Tabelle 3: ApoE-Genotyp-Verteilung in den klinischen Gruppen.

	Gesund	Alzheimer	Depression	MCI	GD	Rest	GESAMT
n	124	40	27	25	19	21	256
Genotyp							
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0	1	0	0	0	0	1
(%)	(0,00)	(2,50)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,39)
$\epsilon 2/\epsilon 3$	15	1	2	2	1	3	24
(%)	(12,10)	(2,50)	(7,41)	(8,00)	(5,26)	(14,29)	(9,38)
$\epsilon 2/\epsilon 4$	4	1	0	0	2	2	9
(%)	(3,32)	(2,50)	(0,00)	(0,00)	(10,53)	(9,52)	(3,52)
$\epsilon 3/\epsilon 3$	71	14	15	11	10	7	128
(%)	(57,26)	(35,00)	(55,56)	(44,00)	(52,63)	(33,33)	(50,00)
$\epsilon 3/\epsilon 4$	32	19	7	9	6	7	80
(%)	(25,81)	(47,50)	(25,93)	(36,00)	(31,58)	(33,33)	(31,25)
$\epsilon 4/\epsilon 4$	2	4	3	3	0	2	14
(%)	(1,61)	(10,00)	(11,11)	(12,00)	(0,00)	(9,52)	(5,47)

Zur weiteren Untersuchung wurde, wie in Tabelle 4 und Abbildung 6 dargestellt, nicht zwischen hetero- und homozygoten Allelträgern unterschieden. Träger mindestens eines $\epsilon 2$ -Allels ($\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$ und $\epsilon 2/\epsilon 4$) wurden unter der Bezeichnung ApoE2pos, die eines $\epsilon 3$ -Allels ($\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$ und $\epsilon 3/\epsilon 4$) unter ApoE3pos und die eines $\epsilon 4$ -Allels ($\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ und $\epsilon 4/\epsilon 4$) unter ApoE4pos zusammengefasst, sodass Patienten auch zwei der drei Genotypgruppen zugehören konnten. Der mögliche additive Effekt einer Homozygotie des $\epsilon 4$ -Allels als Risikofaktor sowie des $\epsilon 2$ -Allels als protektivem Faktor in der Alzheimer-Pathogenese wurde hier aufgrund der niedrigen Fallzahlen ($\epsilon 2/\epsilon 2$ insgesamt: 0,39%; $\epsilon 4/\epsilon 4$ insgesamt: 5,47%) nur oberflächlich untersucht. Statistisch signifikant war allerdings der Unterschied zwischen dem geringen Anteil homozygoter $\epsilon 4$ -Allelträger in der Kontrollgruppe und dem jeweils hohen Anteil in den Gruppen Alzheimer, Depression, MCI, und Rest (Abbildung 6).

Abbildung 6: Vorkommen der Allelkombination $\epsilon 4/\epsilon 4$.

Anteil (%) der Allelkombination $\epsilon 4/\epsilon 4$ (ApoE4pos) in den klinischen Gruppen

* p (zweiseitig) $< 0,05$ im Chi-Square-Test

** p (zweiseitig) $< 0,01$ im Chi-Square-Test

Tabelle 4 zeigt, dass sich vor allem die $\epsilon 2$ - und $\epsilon 4$ -Allelfrequenz zwischen psychiatrisch Erkrankten und der Kontrollgruppe unterschied. Diese beiden Allele werden in den nachfolgenden Abschnitten genauer untersucht.

Tabelle 4: Vereinfachte ApoE-Genotyp-Verteilung.

	Gesund	Alzheimer	Depression	MCI	GD	Rest	GESAMT
n	124	40	27	25	19	21	256
Genotyp							
ApoE2pos	19	3	2	2	3	5	34
(%)	(15,32)	(7,50)	(7,41)	(8,00)	(15,79)	(23,81)	(13,28)
ApoE3pos	118	34	24	22	17	17	232
(%)	(95,16)	(85,00)	(88,89)	(88,00)	(89,47)	(80,95)	(90,62)
ApoE4pos	38	24	10	12	8	11	103
(%)	(30,65)	(60,00)	(37,04)	(48,00)	(42,11)	(52,38)	(40,23)

3.1.3 Häufigkeit von ApoE2 und ApoE4

Der Chi-Square-Test zur Untersuchung der Häufigkeit der Allele $\epsilon 2$ und $\epsilon 4$ in den klinischen Gruppen ergab, dass das Allel $\epsilon 2$ in keiner der Gruppen mit psychiatrischer Krankheit gegenüber der gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht war (Tabelle 5 und Abbildung 7). Das Allel $\epsilon 4$ hingegen war in der Gruppe der Alzheimer-Kranken mit einer Signifikanz von p (zweiseitig) = 0,0009 (***) gegenüber der gesunden Kontrollgruppe erhöht. Der Vergleich von $\epsilon 4$ -Allelträgern und nicht- $\epsilon 4$ -Allelträgern ergab eine Odds Ratio von 3,40 (95% KI = 1,62 – 7,11), in diesem Kollektiv an Alzheimer erkrankt, anstatt gesund zu sein.

Tabelle 5: ApoE2 und ApoE4: Chi-Square-Test und Berechnung der Odds Ratio.

	Gesund vs. Alzheimer	Gesund vs. Depression	Gesund vs. MCI	Gesund vs. GD	Gesund vs. Rest
ApoE2pos vs. ApoE2neg					
df	1,59	1,16	0,92	0,00	0,94
p (zweiseitig)	0,21	0,28	0,34	0,96	0,33
n	164	151	149	143	145
ApoE4pos vs. ApoE4neg					
df	11,08	0,42	2,81	0,99	3,79
p (zweiseitig)	0,0009	0,52	0,09	0,32	0,05
n	164	151	149	143	145
Odds Ratio	3,40				
(95% KI)	(1,62 – 7,11)				
Sensitivität	0,69				
(95% KI)	(0,60 – 0,77)				
Spezifität	0,60				
(95% KI)	(0,43 – 0,75)

Abbildung 7: ApoE-Genotyp-Verteilung.

Vorkommen des Allels E4 mit p (zweiseitig) = 0,0009 (***) im Chi-Square-Test signifikant erhöht in der Alzheimer-Gruppe gegenüber der gesunden Kontrollgruppe.

3.1.4 Alzheimer-Erkrankungsalter, abhängig vom ApoE-Genotyp

Für diese Untersuchung wurden nur die Patienten der Alzheimer-Gruppe betrachtet und geprüft, inwiefern sich das Erkrankungsalter bei Vorliegen von ApoE2 und ApoE4 unterschied. Bei drei Patienten konnte das Erkrankungsalter nicht bestimmt werden.

Es zeigte sich zunächst, dass das Erkrankungsalter bei keinem der drei ApoE-Allele einen signifikanten Unterschied bei Allelträgern gegenüber Nicht-Allelträgern aufwies. Bemerkenswerterweise hatten Patienten mit $\epsilon 4$ -Allel (ApoE4pos) einen im Schnitt 3,63 Jahre späteren Krankheitsbeginn, was allerdings nicht signifikant war.

Tabelle 6: Durchschnittliches Erkrankungsalter, abhängig vom ApoE-Genotyp.
Ungepaarter t-Test jeweils zwischen Allelträgern (pos) und nicht Allelträgern (neg)

	ApoE2pos	ApoE2neg	ApoE4pos	ApoE4neg
n	3	34	22	15
Erkrankungsalter				
Durchschnitt	72,00	71,94	73,09	70,27
(SD)	(12,12)	(13,10)	(15,17)	(8,70)
p (zweiseitig)	0,99		0,52

Abbildung 8: Durchschnittliches Erkrankungsalter, abhängig vom ApoE-Genotyp.

In einem zweiten Schritt wurde geprüft, ob es einen signifikanten Unterschied im Erkrankungsalter bei Vorliegen einer ϵ 4-Homozygotie gegenüber einer ϵ 4-Heterozygotie, beziehungsweise Probanden ohne das ϵ 4-Allel (ApoE4neg) gab (Tabelle 7 und Abbildung 9). Es zeigte sich, dass homozygote ϵ 4-Allelträger dieses Kollektivs zwar im Durchschnitt 4,69 Jahre früher als heterozygote ϵ 4-Allelträger, beziehungsweise 1,02 Jahre als nicht- ϵ 4-Allelträger an Alzheimer erkrankt waren. Dieser Unterschied ist dennoch nicht signifikant.

Tabelle 7: Durchschnittliches Alzheimer-Erkrankungsalter bei homozygoten und heterozygoten ApoE4-Allelträgern.

p (zweiseitig) im ungepaarten t-Test

	ApoE4 homozygot	ApoE4 negativ	ApoE4 homozygot	ApoE4 heterozygot
n	4	15	4	18
Erkrankungsalter				
Durchschnitt (SD)	69,25 (2,25)	70,27 (2,25)	69,25 (4,50)	73,94 (16,62)
p (zweiseitig)	0,30		0,59

Abbildung 9: Durchschnittliches Erkrankungsalter, abhängig vom ϵ 4-Allel.

3.1.5 Häufigkeit einer Alzheimer-Familienanamnese bei Vorliegen des $\epsilon 4$ -Allels

Für diese Untersuchung wurden die Patienten nicht nach Klinik sondern nach Vorliegen des $\epsilon 4$ -Allels unterteilt, und deshalb neu charakterisiert. Dabei wurden die 53 Patienten ohne bekannte Alzheimer-Familienanamnese ausgeschlossen. Die Patientengruppen sind in Tabelle 8 beschrieben.

Tabelle 8: Charakterisierung der Patienten mit ermittelter Familienanamnese und ApoE-Genotyp.

	ApoE4pos	ApoE4neg
n	75	128
Geschlecht		
männlich (%)	34 (45,33)	60 (46,88)
weiblich (%)	41 (54,67)	58 (53,12)
Alter		
Durchschnitt (SD)	72,39 (6,36)	70,65 (5,96)

Wie in Tabelle 9 und Abbildung 10 zu sehen, betrug der Anteil derer, die einen Verwandten ersten Grades mit Alzheimer-Erkrankung aufweisen, in der Gruppe der $\epsilon 4$ -Allelträger 15,78% mehr als in der Gruppe ohne dieses Allel. Dieser Unterschied ist im Chi-Square-Test mit p (zweiseitig) = 0,02 (*) signifikant. Die Odds Ratio für $\epsilon 4$ -Allel-Träger, in dieser Population einen Verwandten ersten Grades mit Alzheimer aufzuweisen, betrug 2,07 (95% KI = 1,13 – 3,86).

Tabelle 9: Vierfeldertabelle zur Untersuchung der Alzheimer-Familienanamnese.

ApoE4pos = E4 Allel liegt vor; ApoE4neg = E4 Allel liegt nicht vor

	ApoE4pos	ApoE4neg
n	75	128
Genotyp		
Alzheimer-Familienanamnese-positiv (%)	30 (40,00)	31 (24,22)
Alzheimer-Familienanamnese-negativ (%)	45 (60,00)	97 (75,78)

Abbildung 10: Vorliegen einer Alzheimer-Familienanamnese, abhängig vom $\epsilon 4$ -Allel.

Positive Alzheimer-Familienanamnese = Verwandter 1. Grades mit Alzheimer-Erkrankung liegt vor

Negative Alzheimer-Familienanamnese = kein Verwandter 1. Grades mit Alzheimer-Erkrankung

* p (zweiseitig) = 0,02 im Chi-Square-Test

3.1.6 MMSE-Score bei Patienten unter Statin-Therapie

Auch für diese Untersuchung wurden die Patienten unabhängig von ihrer psychiatrischen Diagnose untersucht und neu charakterisiert. Als Gruppierungsmerkmal wurde hierbei die Statin-Therapie gewählt. Die Charakterisierung ist in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Charakterisierung der Patienten, abhängig von Statin-Therapie

	Patienten unter Statin-Therapie	Patienten ohne Statin-Therapie
n	19	237
Alter		
Durchschnitt (SD)	71,52 (5,78)	72,00 (7,73)
Geschlecht		
männlich (%)	7 (36,84)	96 (40,51)
weiblich (%)	12 (63,16)	141 (59,49)

Im ersten Schritt wurde das gesamte Kollektiv betrachtet und überprüft ob Patienten unter Statin-Therapie einen signifikant höheren MMSE-Score aufwiesen als Patienten ohne diese Therapie (Tabelle 11 und Abbildung 11). Es zeigte sich, dass zwar eine Differenz von 2,66 vorlag, dieser Unterschied aber im ungepaarten t-Test mit p (zweiseitig) $> 0,05$ nicht signifikant war.

Tabelle 11: Vergleich des durchschnittlichen MMSE-Scores, abhängig von Statin-Einnahme.

	Statin-Therapie	keine Statin-Therapie
n	19	236
MMSE-Score		
Durchschnitt (SD)	24,53 (1,95)	21,87 (0,73)
p (zweiseitig)	0,3131

Abbildung 11: Durchschnittlicher MMSE-Score, abhängig von Statin-Einnahme.

In einem zweiten Schritt wurde nicht die Gesamtpopulation sondern nur die Alzheimer-Gruppe untersucht (Tabelle 12 und Abbildung 12). Auch in diesem Vergleich zeigte sich eine, ebenfalls nicht signifikante, Differenz.

Tabelle 12: Vergleich des durchschnittlichen MMSE-Scores bei Alzheimer-Patienten, abhängig von Statin-Einnahme.

	Statin-Therapie	keine Statin-Therapie
n	4	35
MMSE-Score		
Durchschnitt (SD)	11,75 (5,72)	10,29 (1,51)
p (zweiseitig)	0,7638

Abbildung 12: Durchschnittlicher MMSE-Score der Alzheimer-Patienten, abhängig von Statin-Einnahme.

3.2 AβpE3-Oligomer Spiegel

3.2.1 Charakterisierung der Patienten

Für diese Untersuchung wurde die klinische Diagnose vernachlässigt, um die Patienten ausschließlich nach MMSE-Score zu betrachten. Ein Ausreißer wurde dabei nach der ROUT-Methode eliminiert (Motulsky und Brown 2006). Die übrigen 35 Patienten setzten sich aus 12 Männern (34,29%) und 23 Frauen (65,71%) zusammen. Der Altersdurchschnitt lag bei 73,60 Jahren (SD = 7,60). Die Charakterisierung der gebildeten Gruppen ist in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Charakterisierung der Patienten mit ermitteltem AβpE3-Oligomer-Plasmaspiegel.

	nicht kognitiv eingeschränkt (KONTROLLE)	kognitiv eingeschränkt (DEMENT)
n	10	25
MMSE	≥29	<29
Alter		
Durchschnitt (SD)	75,40 (8,08)	69,10 (4,82)
Geschlecht		
männlich (%)	4 (40,00)	8 (32,00)
weiblich (%)	6 (60,00)	17 (68,00)
Diagnose		
Gesund (%)	8 (80,00)	2 (8,00)
Alzheimer (%)	0 (0,00)	8 (32,00)
Depression (%)	2 (20,00)	2 (8,00)
MCI (%)	0 (0,00)	1 (4,00)
GD (%)	0 (0,00)	7 (28,00)
Rest (%)	0 (0,00)	5 (20,00)

3.2.2 AβpE3-Spiegel bei kognitiv eingeschränkten Patienten

Bei den Patienten mit erfolgreichem ersten Durchlauf wurde das Sandwich-ELISA-Verfahren wiederholt. Zur Untersuchung wurden die Mittelwerte beider Messungen verwendet. Der Durchschnittswert der Kontrollgruppe betrug 373,20 a.u. und der der Demenzgruppe 191,60 a.u. (Tabelle 14 und Abbildung 13). Dieser Unterschied von 161,60 a.u. ist im ungepaarten t-Test mit p (zweiseitig) = 0,0047 (**) signifikant.

Tabelle 14: A β E3-Oligomer-Plasmaspiegel, abhängig von kognitiver Leistung.

	Dement	Kontrolle
n	25	10
AβE3-Spiegel (in arbitrary units)		
Minimum	93,00	86,00
Median	131,80	272,80
Maximum	402,00	913,50
Durchschnitt (SD)	191,60 (84,30)	373,20 (273,40)

Abbildung 13: A β E3-Plasmaspiegel in der Demenz- und Kontrollgruppe.

Demenzgruppe: MMSE < 29

Kontrollgruppe: MMSE $\geq$ 29

Die Boxplots stellen das obere und untere Quartil, die horizontale Linie den Median, und das „+“ den Durchschnittswert dar.

** p (zweiseitig) = 0,0047 im ungepaarten t-Test

Anhand dieser Ergebnisse wurde für die untersuchte Population ein A β E3-Plasmaspiegel festgelegt, dessen Unterschreiten mit einer möglichst hohen Sensitivität und Spezifität die kognitiv eingeschränkten Patienten detektiert. Mit einer *Area under Curve (AUC)* von 0,70 (SD 0,08) wurde 450 a.u. als Wert festgelegt. Tabelle 15 zeigt, dass alle 25 Patienten der Demenzgruppe diesen Wert unterschreiten (im Fisher's Exact Test signifikant mit p (zweiseitig) = 0,004 (**)). Bei Unterschreiten eines Plasmaspiegels von 450 a.u. liegt in dieser Population die OR, eine kognitive Beeinträchtigung aufzuweisen anstatt gesund zu sein, bei 35,31 (KI = 1,68 – 743,1) (Tabelle 18).

Tabelle 15: Vierfeldertabelle zur Untersuchung der Häufigkeit eines niedrigen A β pE3-Plasmaspiegels in der Demenz- und Kontrollgruppe

	Dement	Kontrolle
n	25	10
AβpE3-Spiegel (a.u.)		
A β pE3<450 (%)	25 (100,00)	6 (60,00)
A β pE3 $\geq$ 450 (%)	0 (0,00)	4 (40,00)
AβpE3<450 vs. Demenz		
Odds Ratio (95% KI)	35,31 (1,68 – 743,1)	
Sensitivität (95% KI)	1,00 (0,86 – 1,00)	
Spezifität (95% KI)	0,40 (0,12 – 0,74)	

3.3 AβpE3-Spiegel und ApoE-Genotyp

3.3.1 Charakterisierung der Patienten

Tabelle 16 beschreibt die Patienten, bei denen sowohl ApoE-Genotyp, als auch AβpE3-Spiegel bestimmt werden konnte. Für diese Untersuchung wurden die Patienten ausgewählt, die entweder ein ε2-Allel (ApoE2pos) oder ein ε4-Allel (ApoE4pos) aufwiesen, und entsprechend gruppiert (Tabelle 17).

Tabelle 16: Charakterisierung des AβpE3/ApoE4-Kollektivs.

	ApoE2pos	ApoE4pos	GESAMT
n	5	15	31
Diagnose			
Gesund (%)	1 (20,00)	4 (26,67)	8 (25,81)
Alzheimer (%)	0 (0,00)	5 (33,33)	7 (22,58)
Depression (%)	1 (20,00)	1 (6,67)	3 (9,68)
MCI (%)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (3,23)
GD (%)	2 (40,00)	4 (26,67)	7 (22,58)
Rest (%)	1 (20,00)	1 (6,67)	5 (16,13)
Alter			
Durchschnitt (SD)	68,80 (10,99)	77,13 (6,39)	74,29 (7,75)
Geschlecht			
männlich (%)	3 (60,00)	5 (33,33)	11 (35,48)
weiblich (%)	2 (40,00)	10 (66,67)	20 (64,52)

3.3.2 Verhältnis von AβpE3-Spiegel zu ApoE2 und ApoE4

Tabelle 17 zeigt, dass der AβpE3-Plasmaspiegel bei Fehlen des ε2-Allels sowie bei Vorliegen des ε4-Allels im Durchschnitt niedriger ausfiel. Bei Patienten mit ε4-Allel war der Plasmaspiegel im Schnitt 34,09 a.u. niedriger als bei Patienten ohne das ε4-Allel (Abbildung 14). Dennoch war dieses Ergebnis im ungepaarten t-Test (zweiseitig) mit $p = 0,51$ nicht signifikant. Auch der niedrigere Plasmaspiegel bei Patienten ohne das Allel ApoE2 (Abbildung 14) war im ungepaarten t-Test (zweiseitig) mit $p = 0,79$ nicht signifikant.

Tabelle 17: AβpE3-Plasmaspiegel (in a.u.) bei Vorliegen der Allele ApoE2 und ApoE4.

	ApoE2pos	ApoE2neg	ApoE4pos	ApoE4neg	GESAMT
n	5	26	15	16	31
AβpE3					
Durchschnitt (SD)	194,90 (118,39)	240,56 (143,92)	215,60 (145,22)	249,69 (136,23)	233,19 (139,36)
p (zweiseitig)	0,79		0,51

Abbildung 14: AβpE3-Plasmaspiegel, abhängig vom ε4-Allel.

Die Boxplots stellen das obere und untere Quartil, die horizontale Linie den Median, und das „+“ den Durchschnittswert dar.

Abbildung 15: AβpE3-Plasmaspiegel, abhängig vom ε2-Allel.

Die Boxplots stellen das obere und untere Quartil, die horizontale Linie den Median, und das „+“ den Durchschnittswert dar.

3.3.3 Gemeinsames Verhältnis von ApoE4- und AβpE3-Spiegel zu MMSE-Score

Tabelle 18 zeigt, dass die Patienten des untersuchten Kollektivs einen durchschnittlichen MMSE-Score von 13,94 aufwiesen. Bei Unterschreiten eines AβpE3-Spiegels von 450 a.u. lag der

durchschnittliche Score 1,73 darunter. Bei gleichzeitigem Vorliegen des $\epsilon 4$ -Allels sank der Score weiter um 0,57 beziehungsweise erhöhte sich bei Fehlen von $\epsilon 4$ um 0,58 (Tabelle 18 und Abbildung 16). Diese Unterschiede waren im ungepaarten t-Test (zweiseitig) mit $p = 0,82$ nicht signifikant.

Tabelle 18: Durchschnittlicher MMSE-Score bei Vorliegen und Fehlen des ApoE4-Allels.

Plasmaspiegel hoch = A β pE3-Spiegel ≥ 450 a.u.

Plasmaspiegel niedrig = A β pE3-Spiegel < 450 a.u.

	Plasmaspiegel niedrig	Plasmaspiegel hoch	GESAMT
n	28	3	31
MMSE			
Durchschnitt (SD)	12,21 (12,70)	30 (0,00)	13,94 (13,18)
MMSE bei Vorliegen eines ApoE4-Allels			
n	14	1	
Durchschnitt (SD)	11,64 (12,95)	30 (0,00)	12,87 (13,35)
MMSE bei Fehlen eines ApoE4-Allels			
n	14	2	
Durchschnitt (SD)	12,79 (12,91)	30 (0,00)	14,94 (13,38)

3.3.4 Gemeinsames Verhältnis von ApoE2- und A β pE3-Spiegel zu MMSE-Score

Wie bei Vorliegen des $\epsilon 4$ -Allels (Kapitel 3.3.3) konnte auch bei Fehlen des $\epsilon 2$ -Allels und gleichzeitig niedrigem A β pE3-Spiegel eine Abnahme des MMSE-Scores festgestellt werden (Tabelle 19 und Abbildung 16). Trotzdem war auch dieser Unterschied von 1,97 im ungepaarten t-Test (zweiseitig) mit $p = 0,76$ nicht statistisch signifikant.

Tabelle 19: Durchschnittlicher MMSE-Score bei Vorliegen und Fehlen des ApoE2-Allels.

Plasmaspiegel hoch = A β pE3-Spiegel ≥ 450 a.u.

Plasmaspiegel niedrig = A β pE3-Spiegel < 450 a.u.

	Plasmaspiegel niedrig	Plasmaspiegel hoch	GESAMT
MMSE			
n	28	3	31
Durchschnitt (SD)	12,21 (12,70)	30 (0,00)	13,94 (13,18)
MMSE bei Vorliegen eines ApoE2-Allels			
n	5	0	5
Durchschnitt (SD)	10,60 (14,62)		10,06 (14,62)
MMSE bei Fehlen eines ApoE2-Allels			
n	23	3	26
Durchschnitt (SD)	12,57 (12,59)	30 (0,00)	14,58 (13,10)

Abbildung 16: Durchschnittlicher MMSE-Score, abhängig vom AβpE3-Spiegel und ApoE-Genotyp.

Plasmaspiegel hoch = AβpE3-Plasmaspiegel ≥ 450 a.u.

Plasmaspiegel niedrig = AβpE3-Plasmaspiegel < 450 a.u.

4 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit sollte die Bedeutung von ApoE-Genotyp und A β pE3 für die Alzheimer-Demenz untersucht werden. Hierzu wurde in einem ersten Schritt eine klinische Studie mit 299 gesunden und psychiatrisch erkrankten Probanden durchgeführt. Es wurden eigenständig die Rekrutierung und ausführliche Untersuchung aller Patienten vorgenommen. Es wurde jeweils eine Blutprobe entnommen sowie demographische und andere paraklinische Daten erfasst. Im zweiten Schritt wurden ApoE und A β pE3 im Blutplasma der Patienten laborexperimentell nachgewiesen. Um eine Aussage darüber zu treffen, ob sich diese Faktoren zur Etablierung eines Alzheimer-Bluttests eignen, wurde das Vorkommen beider Parameter in verschiedenen klinischen Gruppen ausgewertet.

4.1 Bewertung der Methoden

Die A β pE3- und ApoE-Genotyp-Bestimmung gelang nicht bei allen Probanden. Die laborexperimentellen Schwierigkeiten waren dabei unterschiedlich: Während das Verfahren zur Bestimmung des ApoE-Genotyps bereits etabliert ist (Hixson und Vernier 1990; Main et al. 1991; Ingelsson et al. 2003), wurde der monoklonale Antikörper 9D5 bislang erst in einer Arbeit zur Identifizierung von A β pE3-Peptiden verwendet (Wirths et al. 2010c). Die Bestimmung der A β pE3-Oligomere ist noch nicht etabliert, was durch den Nachweis der Peptide in nur 36 der 299 Proben belegt wird. Das angewandte Sandwich-ELISA-Verfahren ist aufwendig und sollte möglichst in einer weiteren Arbeit an den restlichen Plasmaproben wiederholt und ausgereift werden.

Der Grund für die unvollständige ApoE-Bestimmung hingegen ist in einer fehlerhaften DNA-Isolierung zu vermuten, da PCR und Genotyp-Bestimmung in einem etablierten Verfahren durchgeführt wurden.

Außerdem ist die Selektion der Probanden kritisch zu betrachten. Die Studie wurde monozentrisch durchgeführt. Das Patientengut kam fast ausschließlich aus der Region Liebenburg/Niedersachsen. Dies kann bei genetischen Untersuchungen problematisch sein, weil für eine repräsentative Statistik eine gleichmäßige Durchmischung des Genpools angestrebt wird. Außerdem wurde bei der Auswahl der Patienten eine automatische Selektion vorgenommen, bei der vor allem Patienten der Klinik Dr. Fontheim als Probanden aufgenommen wurden, und diese somit nicht eine willkürliche Stichprobe darstellen.

Trotz dieser im Forschungszusammenhang gegebenen Einschränkungen ist die Aussagekraft der Ergebnisse als hochwertig einzuschätzen. Es wurde eine sorgfältige klinische Klassifizierung vorgenommen und dabei eine statistisch repräsentative Populationsgröße erfasst. Außerdem wurden sowohl bei den klinischen als auch bei den laborexperimentell gewonnenen Daten nicht verlässliche Werte außer Acht gelassen.

4.2 Klinische Faktoren

Wie bereits in großen Metaanalysen festgestellt wurde (Launer et al. 1999), konnte auch in dieser Population ein niedrigeres Bildungsniveau mit psychiatrischen Erkrankungen assoziiert werden.

Andere Parameter hingegen, die als Risikofaktoren für die Alzheimer-Krankheit angesehen werden, wurden nicht bestätigt.

Die Aussage in manchen Lehrbüchern, das Risiko einer Alzheimer-Erkrankung verdopple sich bei Vorliegen eines betroffenen Verwandten ersten Grades (Grehl 2005, S. 452), konnte weder in der Literatur (Launer et al. 1999; Lindsay et al. 2002; Hayden et al. 2009), noch in dieser Arbeit bestätigt werden. Dies mag auch daran liegen, dass in dieser Arbeit, wie auch 2009 bei Hayden et al., nur geprüft wurde, ob mindestens ein Verwandter ersten Grades mit Alzheimer-Krankheit vorliegt. 1999 haben Launer et al. gezeigt, dass ein erhöhtes Risiko erst dann gegeben ist, wenn mehr als ein Verwandter ersten Grades eine Erkrankung aufweist (Launer et al. 1999). Außerdem legen die Ergebnisse nahe, dass bei der Evaluation eines individuellen Risikos nicht die Familienanamnese isoliert betrachtet werden sollte, sondern in Kombination mit einer genetischen Untersuchung. Wie diese Arbeit zeigt, bietet sich eine Kombination aus Familienanamnese und ApoE-Genotypisierung an. Ebenso wenig wie die Familienanamnese, wurde der BMI als isolierter Risikofaktor bestätigt. Dieser Parameter sollte anders interpretiert werden: Ein erhöhter BMI weist vor allem auf andere Faktoren des metabolischen Syndroms hin, die wiederum für Demenz prädisponieren (Launer et al. 1999; Mayeux 2003).

Als letztes wurde noch der mögliche Einfluss einer Statin-Therapie auf die kognitive Leistung der Alzheimer-Patienten überprüft. Anders als in früheren Studien (Wolozin et al. 2000) gab es in der untersuchten Population keinen signifikanten Unterschied in der kognitiven Leistung unter Statin-Therapie. Hierbei ist kritisch anzumerken, dass zur Feststellung eines möglichen *benefit* eine randomisierte, doppel-blinde und Placebo-Kontrollierte Studie besser geeignet ist. Mit diesem Studiendesign wurde 2011 auch von Sano et al. der Effekt einer Statin-Therapie auf die Kognition untersucht (Sano et al. 2011). Ein signifikanter *benefit* wurde auch in der genannten Studie nicht festgestellt.

4.3 Die Bedeutung von Pyroglutamat-Abeta-Oligomeren im Blutplasma

In dem untersuchten Kollektiv konnte gezeigt werden, dass sich die Bestimmung des A β pE3-Oligomer-Plasmaspiegels als laborchemischer Marker der Demenz einsetzen lässt. Wirths et al. hatten 2010 bereits auf einen niedrigeren Plasmaspiegel bei Alzheimer-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen hingewiesen (Wirths et al. 2010c). In dieser Arbeit wurde hingegen die psychiatrische Diagnose wegen der niedrigen Fallzahl außer Acht gelassen; und stattdessen erfolgte die Aufteilung ausschließlich nach MMSE-Score. Der Plasmaspiegel war auch hier bei kognitiv eingeschränkten Patienten hochsignifikant niedriger als bei gesunden Kontrollen. Dabei ist kritisch anzumerken, dass

die Demenz-Gruppe aus lediglich acht (32,00%) Alzheimer-Patienten, und weitere acht Patienten mit den verwandten Krankheitsentitäten MCI und GD besteht. Die anderen neun Probanden dieser Gruppe wurden klinisch zum Teil als gesund oder depressiv klassifiziert. Die Tatsache, dass diese heterogen zusammengesetzte Gruppe trotzdem einen niedrigen Plasmaspiegel aufweist, lässt sich auf verschiedene Weise deuten:

Zum einen muss die Möglichkeit bedacht werden, dass einige Patienten klinisch fehldiagnostiziert wurden, was durch ihr schlechtes Abschneiden im Mini-Mental-Test nahegelegt wird (Score <29). Auch kann, im Hinblick auf die Fragestellung, die vordergründige Diagnose übersehen worden sein (zum Beispiel: Depressive Patienten mit einem zusätzlichen MCI oder beginnender Alzheimer-Krankheit).

Die zweite Möglichkeit ist, dass sich der Plasmaspiegel bereits vor einer klinisch manifesten Demenz absenkt und somit einen Frühmarker pathologischer Veränderungen darstellt. Diese Erklärung ist plausibel vor dem Hintergrund, dass der Pathomechanismus der Alzheimer-Krankheit zum Teil Jahre vor den ersten Symptomen beginnt (Davies L. et al. 1988) und ein niedriger A β pE3-Blutplasmaspiegel ein Korrelat dieses Pathomechanismus darstellen soll (Wirhns et al. 2010c). Die daraus abgeleitete Hypothese, dass A β pE3 einen Biomarker zur Früherkennung der Alzheimer-Demenz darstellt, könnte in einer *Follow-Up*-Untersuchung überprüft werden. Hierbei sollte der Fokus auf den Patienten ohne Demenz-Diagnose bei dennoch niedrigem Plasmaspiegel liegen. Die Hypothese würde gestützt, wenn sich die kognitive Leistung dieser bisher unauffälligen Patienten mit niedrigem Plasmaspiegel signifikant verschlechtert.

In jedem Fall sind die Ergebnisse sehr vielversprechend. Sie deuten darauf hin, dass A β pE3 geeignet ist, als sensitives diagnostisches Tool in der Alzheimer-Diagnostik eingesetzt zu werden, worauf in Kapitel 4.7 genauer eingegangen wird.

4.4 Die Bedeutung des ApoE-Genotyps

4.4.1 Der Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und psychiatrischer Diagnose

Die ApoE-Genotyp-Verteilung in den klinischen Gruppen bestätigt, dass das Allel ϵ 4 signifikant häufiger bei Demenzerkrankten vorkommt als bei gesunden Kontrollen. Die Häufigkeiten der Kontroll- und Alzheimer-Gruppe stimmen mit den angegebenen Werten aus einer Meta-Analyse mit 2.866 Probanden überein (Bertram et al. 2007).

Nicht nur bei Alzheimer, sondern auch bei allen anderen Patienten mit psychiatrischer Erkrankung kommt das Allel ϵ 4 häufiger vor als in der gesunden Kontrollgruppe, allerdings nur in der Alzheimer-Gruppe oberhalb des Signifikanzniveaus. Somit kann das höhere Vorkommen des ϵ 4-Allels in allen

erkrankten Gruppen als Bestätigung seines unspezifischen, pathologischen Einflusses gedeutet werden. Statistisch validiert ist diese Interpretation trotzdem nur in Bezug auf die Alzheimer-Pathologie. In dieser Population erhöht sich das Risiko, an einer Alzheimer-Demenz zu leiden, bei Vorliegen eines $\epsilon 4$ -Allels um den Faktor 3,4 gegenüber nicht Allelträgern. Die OR wurde hierbei anders errechnet als bei bisherigen Arbeiten. Während bisher $\epsilon 4$ -Allelträger (hier: ApoE4pos) oder $\epsilon 2$ -Allelträger (hier: ApoE2pos) homozygoten $\epsilon 3$ -Allelträgern gegenübergestellt wurden (Farrer et al. 1997; Bertram et al. 2007), wurde hier das Vorliegen eines Allels seinem Fehlen gegenübergestellt (z.B. ApoE4pos vs. ApoE4neg). Diese neue Herangehensweise hat den Vorteil, dass das Allel allen anderen möglichen Allelen, und nicht nur einem statistisch festgelegten *Wildtyp* ($\epsilon 3/\epsilon 3$) gegenübergestellt wird. Nichtsdestotrotz ist die errechnete OR (3,4) mit dem Wert bisheriger Arbeiten (3,2) (Bertram et al. 2007) vergleichbar.

Interessanterweise zeigte die $\epsilon 4$ -Homozygotie ein besonderes pathologisches Potential. Dieser Genotyp ist nämlich im Vergleich zu gesunden Kontrollen nicht nur signifikant häufiger bei Alzheimer-Patienten (*), sondern auch bei Patienten mit MCI (**), anderen Demenzerkrankungen/Rest (*) und Depression (*). Während die klinischen und pathophysiologischen Gemeinsamkeiten der MCI und anderen Demenzerkrankungen mit der Alzheimer-Krankheit eine häufige Prävalenz des $\epsilon 4$ -Allels erwarten lassen, ist die hohe Prävalenz bei depressiven Patienten eine Neuheit. Die Depression kann sich familiär häufen (McGuffin et al. 1996) und so sind auch genetische Risikofaktoren bereits beschrieben (Pezawas et al. 2005). Bisher wurde die Depression nur bei gleichzeitigem Vorliegen einer kognitiven Einbuße mit dem $\epsilon 4$ -Allel assoziiert (Fritze et al. 2011). Das $\epsilon 4$ -Allel, oder wie in diesem Fall die $\epsilon 4$ -Homozygotie, ist bisher nicht als ein von Kognition unabhängiger Risikofaktor für die Depression beschrieben. Der Einfluss des $\epsilon 4$ -Allels auf die Depression sollte in einer zukünftigen Studie mit dem Fokus auf dieser Erkrankung weiter untersucht werden.

In dieser Arbeit konnte die Pathogenität des ApoE4 Allels bestätigt werden. Zusätzlich wurde durch die erhöhte E4-Allelfrequenz bei verschiedenartigen Erkrankungen verdeutlicht, wie unspezifisch dieses Allel für psychiatrische Krankheiten prädisponiert.

4.4.2 Der Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und Erkrankungsalter

Der in der Literatur beschriebene Einfluss des $\epsilon 4$ -Allels auf das Erkrankungsalter konnte in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Es wurde postuliert, ApoE beeinflusse nicht ob, sondern wann die Alzheimer-Krankheit ausbricht (Meyer et al. 1998), und dass jede Kopie des $\epsilon 4$ -Allels das Manifestationsalter um 10 Jahre senken könne (Corder et al. 1993). Diese Arbeit zeigt aber keine signifikanten Unterschiede, sondern sogar ein höheres Erkrankungsalter bei $\epsilon 4$ -Allelträgern. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Ursache hierfür in der Selektion der Probanden liegt. Bisherige Arbeiten schlossen als Longitudinalstudien sowohl Alzheimer-Patienten als auch gesunde Kontrollen

ein, und dokumentierten über Jahrzehnte die Demenz-Inzidenzrate. Ein sinnvoller Vergleich lässt sich also nicht durchführen, da diese Arbeit eine Momentaufnahme eines spezifischen Alzheimer-Kollektivs darstellt. Das Durchschnittsalter der untersuchten Alzheimer-Gruppe beträgt 76,93 Jahre. Patienten mit besonders frühem Krankheitsbeginn sind unter Umständen bereits verstorben und deshalb in den Ergebnissen nicht abgebildet. Nichtsdestotrotz zeigen die Ergebnisse, dass der Effekt des $\epsilon 4$ -Allels auf das Erkrankungsalter der Alzheimer-Krankheit neu evaluiert werden sollte.

4.4.3 Der Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und Alzheimer-Familienanamnese

ApoE wird prinzipiell als Risikofaktor für die sporadische, nicht aber für die familiäre Alzheimer-Krankheit angeführt (Selkoe 2001). Von letzteren wird nur dann gesprochen, wenn eine der autosomal dominanten Genmutationen zu der Erkrankung geführt hat. Inwieweit sind aber die Begriffe „sporadisch“ und „familiär“ zutreffend? Wie häufig muss eine Demenz innerhalb einer Familie vorkommen, damit man von „familiär“ oder - relativ ausgedrückt - „familiär gehäuft“ spricht?

Diese Arbeit zeigt, dass die $\epsilon 4$ -Allelfrequenz bei Patienten mit familiären Alzheimerfällen signifikant höher ist als bei Patienten ohne positive Anamnese. Ob alle familiären Fälle auf das Vorliegen des $\epsilon 4$ -Allels zurückzuführen sind, kann nur eine systematische Familienuntersuchung belegen. Gesicherte Erkenntnisse über Vererbungsmuster und Risikoprofil des $\epsilon 4$ -Allels, sowie die hier vorgelegten Ergebnisse, deuten aber darauf hin, dass das $\epsilon 4$ -Allel eine bedeutende Rolle bei familiär gehäuften Alzheimer-Fällen spielt. Wie viele der hier untersuchten Patienten die „familiäre“ Krankheitsvariante aufweisen, kann nur durch eine Untersuchung des APP-, PS-1- und PS-2-Gens gezeigt werden. Da aber das durchschnittliche Erkrankungsalter dieser Gruppe bei etwa 70 Jahren liegt, kann davon ausgegangen werden, dass die Mehrzahl dieser Patienten als „sporadische“ Alzheimer-Form klassifiziert werden muss.

In dieser und auch in anderen Arbeiten (Frisoni et al. 1994) korreliert die $\epsilon 4$ -Allelfrequenz bei „sporadischen“ Alzheimer-Fällen mit der Familienanamnese. Inwieweit ist der Begriff „sporadisch“ (syn. vereinzelt) dann aber noch zutreffend?

Diese Arbeit zeigt einen signifikanten Zusammenhang zwischen $\epsilon 4$ -Allelfrequenz und familiär gehäuften Alzheimerfällen, die bisher als „sporadisch“ klassifiziert wurden. Die gängige Unterteilung in „sporadisch“ und „familiär“ sollte demnach überarbeitet werden. Eine dritte Kategorie - „familiär gehäuft“ – könnte mit ApoE als erstem Risikofaktor definiert werden.

4.5 Der Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und Pyroglutamat Abeta

In dieser Arbeit konnte wie zuvor von Wirths et al. gezeigt werden, dass der A β pE3-Spiegel bei kognitiver Einschränkung gesenkt ist (Wirths et al. 2010c). Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass der niedrige Plasmaspiegel aufgrund einer Amyloid-Angiopathie zustande kommt. Gestörte A β pE3-Elimination führe demnach zu Anreicherung im Gehirn und Absinken im Blutplasma. Diese Arbeit bestätigt darüber hinaus, dass es, unabhängig von der klinischen Diagnose, bei Vorliegen des ϵ 4-Allels zum Absinken des A β pE3-Spiegels kommt. Die Größe der untersuchten Population ist mit 31 Probanden allerdings gering und das Ergebnis nicht signifikant. Tendenziell stützen die Ergebnisse aber die aufgestellte Hypothese: Da das ϵ 4-Allel mit einer gestörten A β -Elimination einhergeht (Bales et al. 1999; Holtzman et al. 2000a; Irizarry et al. 2000; Jiang et al. 2008), sollte es auch mit einem niedrigen Plasmaspiegel korrelieren. Bemerkenswert ist ein niedriger Plasmaspiegel bei Vorliegen des ϵ 4-Allels unabhängig vom neurologischen Phänotyp. 40% der Patienten dieser Gruppe hatten keine mit Demenz assoziierte Diagnose.

Um aber eine bessere Aussage über die Ätiologie von A β pE3-Oligomeren im Blutplasma treffen zu können, sollte diese Untersuchung an einem größeren Kollektiv wiederholt werden. Auf die Bewertung des ϵ 2-Allels wird bei einer Fallzahl von 5 Patienten verzichtet.

4.6 Die gemeinsame Bedeutung von Pyroglutamat Abeta und ApoE-Genotyp

Ob sich A β pE3 und ApoE in ihrer diagnostischen Wertigkeit addieren, lässt sich hier wegen der geringen Fallzahl und somit nichtsignifikanter Ergebnissen nur abschätzen. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass sich bei Unterschreiten eines festgelegten Plasmaspiegels und gleichzeitigem Vorliegen des ϵ 4-Allels sich der MMSE-Score weiter absenkte.

Es wurden beide Parameter in Kombination untersucht, weil sie sich für einen Score eignen könnten, in dem anhand Blutparameter die Alzheimer-Diagnose gestellt wird. Dieses Potential wird durch die vorliegenden Ergebnisse nicht widerlegt und sollte weiterhin erforscht werden.

4.7 Ausblick - Etablierung eines Alzheimer-Bluttests

Seit Entdeckung der Alzheimer-Krankheit stehen Kliniker vor denselben Fragen:

- Wie kann ich sicher sein, ob mein Patient an dieser Krankheit leidet?
- Oder wichtiger: Wie kann ich wissen, ob mein Patient an dieser Krankheit leiden wird?

Für eine derart schwere Erkrankung mit einer derart hohen und steigenden Zahl an Betroffenen sind diese Fragen von grundlegender Bedeutung. Die klinische Diagnostik hat sich über die Zeit weiterentwickelt, eine definitive Diagnose stellt sie aber nicht. Laborparameter können mittlerweile im Liquor Demenzkranker nachgewiesen werden, aber sie sind invasiv, unpraktikabel und können eine Diagnose nur stützen, nicht stellen.

Lässt sich die Alzheimer-Diagnose nun anhand einer Blutuntersuchung stellen? Mit dieser Frage beschäftigt sich die Forschung seit Jahren, und auch in dieser Arbeit wurde ihr nachgegangen. Eine Blutentnahme ist verhältnismäßig praktikabel und könnte bei einer Krankheit mit derart langer Vorlaufzeit sogar als Screeningverfahren eingesetzt werden. Wie realistisch ist diese Vorstellung?

Diese Arbeit untersucht zwei Parameter, die im Blut jedes Menschen erfasst werden können:

- Pyroglutamat A β und Apolipoprotein-E-Genotyp.

Kann einer dieser Parameter, beziehungsweise die Kombination beider, eine zuverlässige Alzheimer-Diagnose stellen? Womöglich sogar eine bevorstehende Erkrankung anzeigen?

Wie diese Arbeit zeigt, eignen sich beide Parameter zur Etablierung eines Alzheimer-Bluttests. Ein ApoE4 Allel, wie auch schon in vorherigen Studien gezeigt, geht mit einem mehr als dreifach erhöhten Risiko einer Alzheimer-Erkrankung einher. Somit ist es isoliert zwar nicht zur Diagnose geeignet, wohl aber, um die diagnostische Sicherheit anderer Biomarker zu erhöhen. Ebenso konnte auch der A β pE3-Spiegel mit der Demenz assoziiert werden. Die Ergebnisse hierzu sind vielversprechend, sollten aber auch nicht überinterpretiert werden.

Aufgrund der technischen Schwierigkeit des Nachweisverfahrens ist das untersuchte Kollektiv noch zu klein, um verlässliche Werte für Sensitivität und Spezifität zu produzieren. Diese Arbeit ist nach Wirths et al. (2010) erst die zweite, in der dieser Parameter anhand des Antikörper 9D5 gemessen wurde (Wirths et al. 2010c). In beiden Arbeiten waren die untersuchten Kollektive kleiner als 50 Probanden. Trotzdem wurde jeweils ein signifikant niedrigerer Plasmaspiegel bei Demenzkranken nachgewiesen. A β pE3 ist, anders als ApoE, ein Parameter der unmittelbar mit einer möglichen Alzheimer-Pathologie zusammenhängt. A β pE3 ist also kein Risikofaktor, sondern ein Biomarker.

Es ist davon auszugehen, dass A β pE3 sehr spezifisch für die Alzheimer-Demenz ist. Allerdings muss sein Vorkommen als Oligomer im Blut weiter erforscht werden um besser interpretiert werden zu können. Sollte sich diese Annahme bestätigen, gäbe es womöglich zum ersten Mal nicht nur einen spezifischen, sondern vor allem einen hochsensiblen Laborparameter zur Alzheimer-Diagnose. Während der langen Latenzzeit bis zu den ersten Symptomen finden offensichtlich - analog zur zentralnervösen Krankheits-Kaskade - im Blut biochemische Veränderungen statt. Wahrscheinlich zeigt der A β pE3-Spiegel diese Veränderungen an.

In einer *Follow-Up*-Studie der untersuchten Patienten könnte diese Sensitivität und Spezifität überprüft werden. Interessant wäre dabei zu beobachten, ob die als gesund eingestuften Probanden mit niedrigem Plasmaspiegel zu einem späteren Zeitpunkt eine Alzheimer-Symptomatik aufweisen.

In jedem Fall zeigen die Ergebnisse, dass sich Pyroglutamat Abeta zur Etablierung eines Bluttests anbietet und somit in weiteren Studien umfassend erforscht werden sollte.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Alzheimer-Krankheit ist ein schweres neurodegeneratives Krankheitsbild und die häufigste Variante der weltweit 24 Millionen Demenzerkrankungen. Charakteristisch sind, neben dem klinischen Bild, neuropathologische Merkmale wie Ablagerungen des β -Amyloid-Peptids, intrazelluläre Tau-Protein-Fibrillen und Neuronenuntergang. Bis heute gibt es weder eine kurative Therapie noch ein sicheres Verfahren zur Diagnosestellung. Vor allem fehlt es an biochemischen Laborparametern, die helfen eine frühe Diagnose zu stellen und eine Therapie einzuleiten.

Es ist zu vermuten, dass - analog zu bisher erforschten Liquorparametern - auch Biomarker im Blut der Patienten nachweisbar sind. In dieser Arbeit wurde deshalb eine Variante des β -Amyloid-Peptids als möglicher Biomarker untersucht und seine diagnostische Wertigkeit überprüft: Pyroglutamat Abeta ($A\beta pE3$). Die Detektion dieses Proteins wurde mithilfe des Antikörpers 9D5 durchgeführt und erstmals in einem repräsentativen klinischen Kollektiv untersucht.

Um dabei den pathophysiologischen Zusammenhang, unter dem sich $A\beta pE3$ im Blutplasma anreichert, besser zu verstehen, und um die diagnostische Sicherheit eines möglichen Bluttests zu erhöhen, wurde ein weiterer im Blut nachweisbarer Parameter untersucht: Der Apolipoprotein-E (ApoE)-Genotyp, dessen ApoE4-Allel bereits als gesicherter Risikofaktor für die Alzheimer-Krankheit gilt.

Die Arbeit wurde dabei in zwei Schritten durchgeführt:

Als erstes wurde 2009 eine klinische Studie zur Gewinnung von Blutproben verschiedener Demenz- und Kontroll-Gruppen in Liebenburg (Niedersachsen) durchgeführt. Es wurde eigenständig die Rekrutierung und neurologische Untersuchung aller 299 Probanden vorgenommen.

Im zweiten Schritt wurden ApoE und $A\beta pE3$ im Blutplasma der Patienten im Labor der Abteilung für Molekulare Psychiatrie (Göttingen) experimentell nachgewiesen, und zusammen mit den klinischen Daten der Probanden ausgewertet.

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen, dass sich beide Parameter zur Etablierung eines Alzheimer-Bluttests eignen. Kognitiv eingeschränkte Patienten wiesen einen signifikant niedrigeren $A\beta pE3$ -Oligomer-Blutplasmaspiegel auf als gesunde Kontrollen. Die ApoE4-Allelfrequenz korrelierte interessanterweise nicht nur signifikant mit der Häufigkeit der Alzheimer-Krankheit, sondern auch mit der von anderen untersuchten Erkrankungen, wie zum Beispiel der Depression und dem *Mild Cognitive Impairment* (MCI).

Die Ergebnisse zeigen zum einen den unspezifischen und dennoch signifikanten Einfluss des ApoE-Genotyps auf die Demenz und andere neurologische Erkrankungen, und zum anderen die vielversprechende Bedeutung von Pyroglutamat Abeta für die Entwicklung eines Alzheimer-Bluttests.

6 ANHANG

6.1 Deckblatt des Studienprotokolls

Bestimmung von Biomarkern zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit bei Alzheimer Demenz

GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT
GÖTTINGEN

Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Göttingen (Dir.: Prof. Dr. P. Falkai)
Abteilung für Molekulare Psychiatrie (Leiter: Prof. Dr. T. A. Bayer)
Privat-Nerven-Klinik Dr. med. Kurt Fontheim, Liebenburg (Ärztl. Leiter: Prof. Dr. F.-G. B. Pajonk)

STUDIENPROTOKOLL

Vorläufige Version vom:	06.06.2009	Substanz	keine
Studien-Nr.:	UMG-PNK-DEM-01	Phase der Studie:	keine
Titel: Bestimmung von Biomarkern zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit bei Alzheimer Demenz			
Zusammenfassung:	Die Alzheimer Demenz (AD) ist die häufigste Form der senilen Demenzen. Sie ist charakterisiert durch extrazelluläre Plaques, intrazelluläre Neurofibrillen, Synapsen- und Nervenzellverlust, Hippokampusatrophie und Gedächtnisverlust. Einen sicheren diagnostischen Test gibt es bislang nicht. Pyro-Glutamat Abeta eignet sich gut als Kandidat für die Suche nach einem Biomarker der AD. Es sollen ca. 300 Probanden mit unterschiedlichen Schweregraden einer Demenz einer Blutentnahme und einer neuro-psychologischen Testung unterzogen werden, um zu prüfen, ob dieser Biomarker hinreichend sensitiv und spezifisch für die Diagnostik einer AD ist.		
Prüfleiter:	Prof. Dr. med. Frank-Gerald Pajonk		
Studienort:	Liebenburg		
Sponsor:	keine		
Studienkoordination:	Prof. Dr. T. A. Bayer		
Studienteam:	Dr. B. Ahl, Dr. O. Wirths, G. v. Waldenfels		
Genehmigung Prüfleiter:			
		Prof. Dr. F.-G. Pajonk	(Datum)
Dieses Protokoll enthält vertrauliche Informationen, die unter Wahrung absoluter Vertraulichkeit nur den Personen zugänglich gemacht werden dürfen, die für die Durchführung und Organisation der Studie verantwortlich sind.			

6.2 Deckblatt des Prüfbogens (CRF)

Patientendokumentationsbogen – Case Report Form

Bestimmung von Biomarkern zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit bei Alzheimer Demenz

Med. Code:

Patienteninitialen:

erster und zweiter Buchstabe des
Vornamens und erster Buchstabe
des Nachnamens

Geburtsdatum:

Geschlecht:

☐ weiblich

☐ männlich

6.3 Einverständniserklärung

6

Information und Einwilligungserklärung für Patienten, Angehörige und Betreuer

„Bestimmung von Biomarkern zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit bei Alzheimer Demenz“

Prof. Dr. med. Frank-Gerald Pajonk

Privat-Nerven-Klinik Dr. med. Kurt Fontheim, Lindenstraße 15, 38704 Liebenburg
Telefon: 05346 / 81-1150; Fax: 05346 / 81-1152; email: pajonk@klinik-dr-fontheim.de

Prof. Dr. rer. nat. Thomas Bayer

Georg-August-Universität Göttingen, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie,
Von-Siebold-Straße 5, 37075 Göttingen

Schriftliche Einverständniserklärung des Probanden

Name: _____ Geburtsdatum: _____

Anschrift: _____

Ich wurde von meinem Arzt über die Verwertung persönlicher Daten und über die Abnahme von 10 ml Blut und ggf. zusätzlich ca. 3 ml Nervenwasser zu wissenschaftlichen Zwecken aufgeklärt und habe zudem den Aufklärungstext gelesen und verstanden. Ich hatte die Möglichkeit, weitergehende Fragen zu stellen, die mir zufriedenstellend beantwortet wurden.

Ich hatte ausreichend Zeit mich zu entscheiden und erkläre hiermit, dass ich einer Blutentnahme sowie gegebenenfalls einer zusätzlichen Nervenwasserentnahme und der Verwertung meiner krankheitsbezogenen Daten unter Wahrung der Anonymität, der Einhaltung der Datenschutzvorschriften und der Befolgung der ärztlichen Schweigepflicht für wissenschaftliche Zwecke zustimme.

Ich verstehe, dass ich mein Einverständnis jederzeit ohne Angabe von Gründen zurückziehen kann, ohne dass sich dieser Entschluss irgendwie nachteilig auf mich auswirken wird. Ich habe ein Exemplar der Informationsschrift und der Einverständniserklärung erhalten.

Ort

Datum

Unterschrift Patient/Patientin

ggfs. Unterschrift des Betreuers
oder eines Vorsorgebevollmächtigten

Unterschrift Arzt/Ärztin

6

6.4 Subjective memory complaints (SMC)

13

Studie Alzheimermarker	Datum <input type="text"/>
Pat. ID <input type="text"/>	Untersucher-ID <input type="text"/>

Subjektive kognitive Leistungsminderung

(Subjective Memory Complaints, Geerling et al., 1999)

Subjective Memory Decline Scale, SMDS, Jorm et al., 1997)

		Bewert.
Haben Sie das Gefühl, Ihr Gedächtnis ist schlechter als früher?	0 = nein 1 = manchmal, aber das macht mir keine Sorge 2 = ja, das macht mir Sorge 3 = ja, das macht mir große Sorge 9 = weiß nicht, keine Angabe	

		Bewert.
Ist es schwieriger für Sie als früher, sich an kürzliche Ereignisse zu erinnern?	0 = nein, nicht viel schwieriger 1 = ja, ein bisschen schwieriger 2 = ja, viel schwieriger 9 = weiß nicht, keine Angabe	
Ist es schwieriger für Sie als früher, sich daran zu erinnern, wo Sie bestimmte Gegenstände aufbewahren?	0 = nein, nicht viel schwieriger 1 = ja, ein bisschen schwieriger 2 = ja, viel schwieriger 9 = weiß nicht, keine Angabe	
Ist es schwieriger für Sie als früher, sich nach einigen Tagen noch an den Inhalt eines Gesprächs zu erinnern?	0 = nein, nicht viel schwieriger 1 = ja, ein bisschen schwieriger 2 = ja, viel schwieriger 9 = weiß nicht, keine Angabe	
Ist es schwieriger für Sie, sich an Verabredungen oder an andere Termine zu erinnern?	0 = nein, nicht viel schwieriger 1 = ja, ein bisschen schwieriger 2 = ja, viel schwieriger 9 = weiß nicht, keine Angabe	

Ist bei Ihnen eine Demenz diagnostiziert worden? ☐ ja ☐ nein

wenn ja: Datum Erstdiagnose: _____

welche Demenzart: _____ ☐ unbekannt

Liegt bei Verwandten eine Demenz vor? ☐ ja ☐ nein

wenn ja: bei wem, wenn bekannt: welche?

6.5 Bayer Activities of Daily Living Scale (B-ADL)

23

Studie Alzheimermarker	Datum <input type="text"/>
Pat. ID <input type="text"/>	Untersucher-ID <input type="text"/>

BAYER Activities of Daily Living Scale (B-ADL, Hindmarch et al., 1993)

Bitte mit Hilfe der Bezugsperson beantworten.

Hat die Patientin / der Patient Schwierigkeiten ...

1. ... mit ihren Alltagsaktivitäten zurecht-zukommen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
2. ... für sich selbst zu sorgen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
3. ... selbst und ohne Aufsicht ihre / seine Medikamente zu nehmen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
4. ... mit der Körperpflege?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
5. ... wichtige Verabredungen einzuhalten oder Termine zu beachten?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
6. ... sich aufs Lesen zu konzentrieren?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
7. ... zu beschreiben, was sie / er gerade gesehen oder gehört hat?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
8. ... sich an einer Unterhaltung zu beteiligen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
9. ... ein Telefon zu benutzen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
10. ... eine Nachricht für jemand entgegenzunehmen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
11. ... spazierenzugehen, ohne sich zu verlaufen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
12. ... Einkäufe zu machen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
13. ... Essen zuzubereiten?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
14. ... Geld richtig abzuzählen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
15. ... ihre finanziellen Angelegenheiten selbst zu regeln?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
16. ... jemandem, der nach dem Weg fragt, Auskunft zu geben?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
17. ... Haushaltgeräte zu benutzen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
18. ... sich an einem unbekannten Ort zurechtzufinden?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
19. ... Verkehrsmittel selbstständig zu benutzen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
20. ... ihre / seine Freizeitaktivitäten auszuüben?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
21. ... eine angefangene Tätigkeit nach kurzer Unterbrechung fortzusetzen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
22. ... zwei Dinge gleichzeitig zu tun?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
23. ... mit ungewohnten Situationen fertigzuwerden?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
24. ... ihren / seinen täglichen Aktivitäten nachzugehen, ohne dass größere Missgeschicke passieren?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht
25. ... eine Aufgabe unter Druck auszuführen?	nie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	immer	entfällt	weiß nicht

Auswertung: Berücksichtigen Sie nur die Items, die mit 1 bis 10 bewertet worden sind. Teilen Sie die Summe dieser Items durch die Anzahl der gültig bewerteten Items.

B-ADL Summenwert (1 bis 10)

 ,

6.6 Mini-Mental State Examination (MMSE)

Studie Alzheimermarker	Datum <input type="text"/>
Pat. ID <input type="text"/>	Untersucher-ID <input type="text"/>

3. Mini-Mental Status

Fehler	Richtig	Nicht beurteilbar	
0	1	9	1) „Welches Jahr haben wir?“ _____
0	1	9	2) „Welche Jahreszeit?“ _____
0	1	9	3) „Den wievielten des Monats?“ _____
0	1	9	4) „Welcher Wochentag ist heute?“ _____
0	1	9	5) „Welcher Monat?“ _____
0	1	9	6) „In welchem Land sind wir?“ _____
0	1	9	7) „In welchem Bundesland?“ _____
0	1	9	8) „In welcher Ortschaft?“ _____
0	1	9	9) „Auf welchem Stockwerk?“ _____
0	1	9	10) „An welchem Ort (Name oder Adresse) befinden wir uns hier?“ _____
0	1	9	11) „Ich werde Ihnen nun drei Wörter nennen. Nachdem ich Ihnen diese gesagt habe, möchte ich Sie bitten, sie zu wiederholen. Versuchen Sie sich diese Wörter zu merken; in einigen Minuten werde ich Sie bitten, sich wieder an diese Wörter zu erinnern.“
0	1	9	„Zitrone“
0	1	9	„Schlüssel“
0	1	9	„Ball“
			Bitte wiederholen Sie diese Wörter! (Die erste Wiederholung ergibt die Punktzahl [1 Punkt pro genanntes Wort]. Werden nicht alle drei Wörter im ersten Versuch nachgesprochen, wiederholen Sie die drei Begriffe bis zu 3 Mal, bis alle Wörter gelernt sind.)
			12) „Nun werde ich Ihnen ein Wort nennen und bitte Sie dieses vorwärts und rückwärts zu buchstabieren. Das Wort ist „PREIS“. Können Sie es vorwärts buchstabieren? Bitte buchstabieren Sie es jetzt rückwärts!“
			(Wiederholen Sie das Wort, wenn nötig, und helfen Sie, wenn nötig, beim Vorwärtsbuchstabieren.)
			Bewertung: Anzahl richtige Buchstaben in der korrekten Reihenfolge:

			S I E R P (0 bis 5; 9 = nicht durchführbar)

21

Studie Alzheimermarker	Datum <input type="text"/>
Pat. ID <input type="text"/>	Untersucher-ID <input type="text"/>

CERAD-NP (Fortsetzung)

Bitte nehmen Sie diese Seite aus dem Ordner und zeigen Sie der Patientin/dem Patienten die Rückseite.

Schließen Sie Ihre Augen

21

22

Studie Alzheimermarker	Datum <input type="text"/>
Pat. ID <input type="text"/>	Untersucher-ID <input type="text"/>

CERAD-NP (Fortsetzung)

Bitte nehmen Sie diese Seite aus dem Ordner und geben Sie der Patientin/dem Patienten die Aufgabe auf der Rückseite zur Bearbeitung.

Studie Alzheimermarker	Datum <input type="text"/>
Pat. ID <input type="text"/>	Untersucher-ID <input type="text"/>

CERAD-NP (Fortsetzung)

Fehler	Richtig	Nicht beurteilbar	„Welches sind die drei Wörter, die Sie sich merken sollten?“
0	1	9	13) „Zitrone“ _____
0	1	9	14) „Schlüssel“ _____
0	1	9	15) „Ball“ _____
0	1	9	16) (Zeigen Sie der TP Ihre <u>Armbanduhr</u>) „Was ist das?“ _____
0	1	9	17) (Zeigen Sie der TP einen <u>Bleistift</u>) „Was ist das?“ _____
0	1	9	18) „Sprechen Sie mir nach: (Der Satz lautet:) ‘BITTE KEINE WENN UND ABER’. “ Es ist nur ein Versuch erlaubt!
0	1	9	19) „Lesen Sie bitte was auf diesem Blatt steht und führen Sie es aus!“ (Auf dem Blatt steht:) „SCHLIESSEN SIE IHRE AUGEN“ (siehe Seite S11) Richtig ist , wenn die TP die Augen schließt !
0	1	9	20) „Ich werde Ihnen ein Blatt Papier geben. Wenn ich es Ihnen gebe, nehmen Sie es bitte mit der rechten Hand, falten Sie es mit bei- den Händen und legen es dann auf Ihren Schoß!“
0	1	9	Rechte Hand
0	1	9	Falten
0	1	9	Auf Schoß Lesen Sie zuerst die vollständige Instruktion und reichen Sie erst dann der TP das Blatt mit <u>beiden</u> Händen. Wiederholen Sie weder die In- struktion, noch leiten Sie die TP an.
0	1	9	21) „Schreiben Sie bitte irgendeinen vollständigen Satz auf dieses Blatt Papier!“
0	1	9	22) „Hier ist eine Figur. Bitte zeichnen Sie diese Figur auf dem gleichen Blatt Papier ab!“ (siehe Seite S12) Richtig ist, wenn die zwei sich überlappenden Fünfecke ein Viereck bil- den und alle Ecken der Fünfecke vorhanden sind.

--	--

Total

(Summe aller Punkte der 22 Fragen, ausgeschlossen sind Scores von '9'.)

6.7 NINCDS-ADRDA

Table 1. Criteria for clinical diagnosis of Alzheimer's disease

<p>I. The criteria for the clinical diagnosis of PROBABLE Alzheimer's disease include:</p> <ul style="list-style-type: none"> dementia established by clinical examination and documented by the Mini-Mental Test,¹ Blessed Dementia Scale,² or some similar examination, and confirmed by neuropsychological tests; deficits in two or more areas of cognition; progressive worsening of memory and other cognitive functions; no disturbance of consciousness; onset between ages 40 and 90, most often after age 65; and absence of systemic disorders or other brain diseases that in and of themselves could account for the progressive deficits in memory and cognition. <p>II. The diagnosis of PROBABLE Alzheimer's disease is supported by:</p> <ul style="list-style-type: none"> progressive deterioration of specific cognitive functions such as language (aphasia), motor skills (apraxia), and perception (agnosia); impaired activities of daily living and altered patterns of behavior; family history of similar disorders, particularly if confirmed neuropathologically; and laboratory results of: <ul style="list-style-type: none"> normal lumbar puncture as evaluated by standard techniques, normal pattern or nonspecific changes in EEG, such as increased slow-wave activity, and evidence of cerebral atrophy on CT with progression documented by serial observation. <p>III. Other clinical features consistent with the diagnosis of PROBABLE Alzheimer's disease, after exclusion of causes of dementia other than Alzheimer's disease, include:</p> <ul style="list-style-type: none"> plateaus in the course of progression of the illness; associated symptoms of depression, insomnia, incontinence, delusions, illusions, hallucinations, catastrophic verbal, emotional, or physical outbursts, sexual disorders, and weight loss; 	<ul style="list-style-type: none"> other neurologic abnormalities in some patients, especially with more advanced disease and including motor signs such as increased muscle tone, myoclonus, or gait disorder; seizures in advanced disease; and CT normal for age. <p>IV. Features that make the diagnosis of PROBABLE Alzheimer's disease uncertain or unlikely include:</p> <ul style="list-style-type: none"> sudden, apoplectic onset; focal neurologic findings such as hemiparesis, sensory loss, visual field deficits, and incoordination early in the course of the illness; and seizures or gait disturbances at the onset or very early in the course of the illness. <p>V. Clinical diagnosis of POSSIBLE Alzheimer's disease:</p> <ul style="list-style-type: none"> may be made on the basis of the dementia syndrome, in the absence of other neurologic, psychiatric, or systemic disorders sufficient to cause dementia, and in the presence of variations in the onset, in the presentation, or in the clinical course; may be made in the presence of a second systemic or brain disorder sufficient to produce dementia, which is not considered to be the cause of the dementia; and should be used in research studies when a single, gradually progressive severe cognitive deficit is identified in the absence of other identifiable cause. <p>VI. Criteria for diagnosis of DEFINITE Alzheimer's disease are:</p> <ul style="list-style-type: none"> the clinical criteria for probable Alzheimer's disease and histopathologic evidence obtained from a biopsy or autopsy. <p>VII. Classification of Alzheimer's disease for research purposes should specify features that may differentiate subtypes of the disorder, such as:</p> <ul style="list-style-type: none"> familial occurrence; onset before age of 65; presence of trisomy-21; and coexistence of other relevant conditions such as Parkinson's disease.
--	--

Abbildung 17: Klinische Diagnosekriterien für die „wahrscheinliche“ (engl. „probable“) und mögliche (engl. „possible“) Alzheimer-Krankheit.
(McKhann et al. 1984, S. 940)

7 LITERATURVERZEICHNIS

- Anttila T, Helkala EL, Kivipelto M, Hallikainen M, Alhainen K, Heinonen H, Mannermaa A, Tuomilehto J, Soininen H, Nissinen A (2002): Midlife income, occupation, APOE status, and dementia: a population-based study. *Neurology* 59, 887-893.
- Bales KR, Verina T, Cummins DJ, Du Y, Dodel RC, Saura J, Fishman CE, DeLong CA, Piccardo P, Petegnief V, et al. (1999): Apolipoprotein E is essential for amyloid deposition in the APP(V717F) transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 15233-15238.
- Ball MJ (1977): Neuronal loss, neurofibrillary tangles and granulovacuolar degeneration in the hippocampus with ageing and dementia. A quantitative study. *Acta Neuropathol* 37, 111-118.
- Bao F, Arai H, Matsushita S, Higuchi S, Sasaki H (1996): Expression of apolipoprotein E in normal and diverse neurodegenerative disease brain. *Neuroreport* 7, 1733-1739.
- Bayer TA, Wirths O (2008a): Alzheimer-Demenz. Molekulare Pathologie, Tiermodelle und Therapiestrategien. *Nervenarzt* 79 Suppl 3, 117-125.
- Bayer TA, Wirths O (2008b): Review on the APP/PS1KI mouse model: intraneuronal Abeta accumulation triggers axonopathy, neuron loss and working memory impairment. *Genes Brain Behav* 7 Suppl 1, 6-11.
- Bayer TA, Wirths O (2010): Intracellular accumulation of amyloid-Beta - a predictor for synaptic dysfunction and neuron loss in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 2, 8.
- Bayer TA, Wirths O (2011): Intraneuronal Abeta as a trigger for neuron loss: can this be translated into human pathology? *Biochem Soc Trans* 39, 857-861.
- Bellosta S, Nathan BP, Orth M, Dong LM, Mahley RW, Pitas RE (1995): Stable expression and secretion of apolipoproteins E3 and E4 in mouse neuroblastoma cells produces differential effects on neurite outgrowth. *J Biol Chem* 270, 27063-27071.
- Bentahir M, Nyabi O, Verhamme J, Tolia A, Horre K, Wiltfang J, Esselmann H, De Strooper B (2006): Presenilin clinical mutations can affect gamma-secretase activity by different mechanisms. *J Neurochem* 96, 732-742.

- Bertram L, Tanzi RE (2008): Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci* 9, 768-778.
- Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE (2007): Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet* 39, 17-23.
- Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H (2006): Alzheimer's disease. *Lancet* 368, 387-403.
- Borchelt DR, Thinakaran G, Eckman CB, Lee MK, Davenport F, Ratovitsky T, Prada CM, Kim G, Seekins S, Yager D, et al. (1996): Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate A β 1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. *Neuron* 17, 1005-1013.
- Boyles JK, Pitas RE, Wilson E, Mahley RW, Taylor JM (1985): Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. *J Clin Invest* 76, 1501-1513.
- Braak H, Braak E (1991): Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82, 239-259.
- Brayne C, Richardson K, Matthews FE, Fleming J, Hunter S, Xuereb JH, Paykel E, Mukaetova-Ladinska EB, Huppert FA, O'Sullivan A, et al. (2009): Neuropathological correlates of dementia in over-80-year-old brain donors from the population-based Cambridge city over-75s cohort (CC75C) study. *J Alzheimers Dis* 18, 645-658.
- Brecht WJ, Harris FM, Chang S, Tesseur I, Yu GQ, Xu Q, Dee Fish J, Wyss-Coray T, Buttini M, Mucke L, et al. (2004): Neuron-specific apolipoprotein e4 proteolysis is associated with increased tau phosphorylation in brains of transgenic mice. *J Neurosci* 24, 2527-2534.
- Breslow JL, Zannis VI, SanGiacomo TR, Third JL, Tracy T, Glueck CJ (1982): Studies of familial type III hyperlipoproteinemia using as a genetic marker the apoE phenotype E2/2. *J Lipid Res* 23, 1224-1235.
- Brody DL, Holtzman DM (2008): Active and passive immunotherapy for neurodegenerative disorders. *Annu Rev Neurosci* 31, 175-193.

- Buttini M, Orth M, Bellosta S, Akeefe H, Pitas RE, Wyss-Coray T, Mucke L, Mahley RW (1999): Expression of human apolipoprotein E3 or E4 in the brains of Apoe^{-/-} mice: isoform-specific effects on neurodegeneration. *J Neurosci* 19, 4867-4880.
- Buttini M, Akeefe H, Lin C, Mahley RW, Pitas RE, Wyss-Coray T, Mucke L (2000): Dominant negative effects of apolipoprotein E4 revealed in transgenic models of neurodegenerative disease. *Neuroscience* 97, 207-210.
- Buttini M, Yu GQ, Shockley K, Huang Y, Jones B, Masliah E, Mallory M, Yeo T, Longo FM, Mucke L (2002): Modulation of Alzheimer-like synaptic and cholinergic deficits in transgenic mice by human apolipoprotein E depends on isoform, aging, and overexpression of amyloid beta peptides but not on plaque formation. *J Neurosci* 22, 10539-10548.
- Carlesimo GA, Oscar-Berman M (1992): Memory deficits in Alzheimer's patients: a comprehensive review. *Neuropsychol Rev* 3, 119-169.
- Casas C, Sergeant N, Itier JM, Blanchard V, Wirths O, van der Kolk N, Vingtdeux V, van de Steeg E, Ret G, Canton T, et al. (2004): Massive CA1/2 neuronal loss with intraneuronal and N-terminal truncated Abeta42 accumulation in a novel Alzheimer transgenic model. *Am J Pathol* 165, 1289-1300.
- Chang WP, Koelsch G, Wong S, Downs D, Da H, Weerasena V, Gordon B, Devasamudram T, Bilcer G, Ghosh AK, et al. (2004): In vivo inhibition of Abeta production by memapsin 2 (beta-secretase) inhibitors. *J Neurochem* 89, 1409-1416.
- Christensen DZ, Kraus SL, Flohr A, Cotel MC, Wirths O, Bayer TA (2008): Transient intraneuronal A beta rather than extracellular plaque pathology correlates with neuron loss in the frontal cortex of APP/PS1KI mice. *Acta Neuropathol* 116, 647-655.
- Christensen DZ, Schneider-Axmann T, Lucassen PJ, Bayer TA, Wirths O (2010): Accumulation of intraneuronal Abeta correlates with ApoE4 genotype. *Acta Neuropathol* 119, 555-566.
- Citron M, Oltersdorf T, Haass C, McConlogue L, Hung AY, Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Lieberburg I, Selkoe DJ (1992): Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production. *Nature* 360, 672-674.

- Civeira F, Pocovi M, Cenarro A, Casao E, Vilella E, Joven J, Gonzalez J, Garcia-Otin AL, Ordovas JM (1996): Apo E variants in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 127, 273-282.
- Cook DG, Forman MS, Sung JC, Leight S, Kolson DL, Iwatsubo T, Lee VM, Doms RW (1997): Alzheimer's A beta(1-42) is generated in the endoplasmic reticulum/intermediate compartment of NT2N cells. *Nat Med* 3, 1021-1023.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA (1993): Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261, 921-923.
- Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Jr., Rimmler JB, Locke PA, Conneally PM, Schmechel KE, et al. (1994): Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet* 7, 180-184.
- Coyle JT, Price DL, DeLong MR (1983): Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 219, 1184-1190.
- Cynis H, Scheel E, Saido TC, Schilling S, Demuth HU (2008): Amyloidogenic processing of amyloid precursor protein: evidence of a pivotal role of glutamyl cyclase in generation of pyroglutamate-modified amyloid-beta. *Biochemistry* 47, 7405-7413.
- Davies CA, Mann DM, Sumpter PQ, Yates PO (1987): A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 78, 151-164.
- Davies L, Wolska B, Hilbich C, Multhaup G, Martins R, Simms G, Beyreuther K, Masters CL (1988): A4 amyloid protein deposition and the diagnosis of Alzheimer's disease: prevalence in aged brains determined by immunocytochemistry compared with conventional neuropathologic techniques. *Neurology* 38, 1688-1693.
- Deuschl G, Maier W: S3-Leitlinie "Demenzen" (Langversion), 1. Auflage; Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde; Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Bonn 2009

- Diedrich JF, Minnigan H, Carp RI, Whitaker JN, Race R, Frey W, 2nd, Haase AT (1991): Neuropathological changes in scrapie and Alzheimer's disease are associated with increased expression of apolipoprotein E and cathepsin D in astrocytes. *J Virol* 65, 4759-4768.
- Dilling H, Mombour W, Schmidt M, WHO: Internationale Klassifikation psychischer Störungen : ICD-10, Kapitel V (F) ; klinisch-diagnostische Leitlinien, 7. Auflage; Huber, Bern 2008
- Engelborghs S, De Vreese K, Van de Castele T, Vanderstichele H, Van Everbroeck B, Cras P, Martin JJ, Vanmechelen E, De Deyn PP (2008): Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. *Neurobiol Aging* 29, 1143-1159.
- Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM (1997): Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 278, 1349-1356.
- 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.
- Feussner G, Feussner V, Hoffmann MM, Lohrmann J, Wieland H, Marz W (1998): Molecular basis of type III hyperlipoproteinemia in Germany. *Hum Mutat* 11, 417-423.
- 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.
- Frisoni GB, Calabresi L, Geroldi C, Bianchetti A, D'Acquarica AL, Govoni S, Sirtori CR, Trabucchi M, Franceschini G (1994): Apolipoprotein E epsilon 4 allele in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Dementia* 5, 240-242.
- Fritze F, Ehrt U, Sonnesyn H, Kurz M, Hortobagyi T, Nore SP, Ballard C, Aarsland D (2011): Depression in mild dementia: associations with diagnosis, APOE genotype and clinical features. *Int J Geriatr Psychiatry* 26, 1054-1061.
- Gearing M, Mori H, Mirra SS (1996): Abeta-peptide length and apolipoprotein E genotype in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 39, 395-399.

- Geerlings MI, Jonker C, Bouter LM, Ader HJ, Schmand B (1999): Association between memory complaints and incident Alzheimer's disease in elderly people with normal baseline cognition. *Am J Psychiatry* 156, 531-537.
- Glabe C (2001): Intracellular mechanisms of amyloid accumulation and pathogenesis in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* 17, 137-145.
- 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, Jakes R (2005): Mutations causing neurodegenerative tauopathies. *Biochim Biophys Acta* 1739, 240-250.
- Gomez-Isla T, Price JL, McKeel DW, Jr., Morris JC, Growdon JH, Hyman BT (1996): Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci* 16, 4491-4500.
- Gorevic PD, Goni F, Pons-Estel B, Alvarez F, Peress NS, Frangione B (1986): Isolation and partial characterization of neurofibrillary tangles and amyloid plaque core in Alzheimer's disease: immunohistological studies. *J Neuropathol Exp Neurol* 45, 647-664.
- Green JD, Kreplak L, Goldsbury C, Li Blatter X, Stolz M, Cooper GS, Seelig A, Kistler J, Aepli U (2004): Atomic force microscopy reveals defects within mica supported lipid bilayers induced by the amyloidogenic human amylin peptide. *J Mol Biol* 342, 877-887.
- Greenberg SM, Rebeck GW, Vonsattel JP, Gomez-Isla T, Hyman BT (1995): Apolipoprotein E epsilon 4 and cerebral hemorrhage associated with amyloid angiopathy. *Ann Neurol* 38, 254-259.
- Grehl H: Checkliste Neurologie; Thieme, Stuttgart 2005
- Gruden MA, Davudova TB, Malisauskas M, Zamotin VV, Sewell RD, Voskresenskaya NI, Kostanyan IA, Sherstnev VV, Morozova-Roche LA (2004): Autoimmune responses to amyloid structures of A β (25-35) peptide and human lysozyme in the serum of patients with progressive Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 18, 165-171.

- Haass C, Selkoe DJ (1993): Cellular processing of beta-amyloid precursor protein and the genesis of amyloid beta-peptide. *Cell* 75, 1039-1042.
- Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL, Lieberburg I, Koo EH, Schenk D, Teplow DB, et al. (1992): Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* 359, 322-325.
- Han SH, Einstein G, Weisgraber KH, Strittmatter WJ, Saunders AM, Pericak-Vance M, Roses AD, Schmechel DE (1994): Apolipoprotein E is localized to the cytoplasm of human cortical neurons: a light and electron microscopic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 53, 535-544.
- Hardy J (1996): Molecular genetics of Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 165, 13-17.
- Hardy J (1997a): The Alzheimer family of diseases: many etiologies, one pathogenesis? *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 2095-2097.
- Hardy J (1997b): Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 20, 154-159.
- Hardy J, Allsop D (1991): Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 12, 383-388.
- Hardy J, Higgins GA (1992): Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256, 184-185.
- Hardy J, Duff K, Hardy KG, Perez-Tur J, Hutton M (1998): Genetic dissection of Alzheimer's disease and related dementias: amyloid and its relationship to tau. *Nat Neurosci* 1, 355-358.
- Harmeier A, Wozny C, Rost BR, Munter LM, Hua H, Georgiev O, Beyermann M, Hildebrand PW, Weise C, Schaffner W, et al. (2009): Role of amyloid-beta glycine 33 in oligomerization, toxicity, and neuronal plasticity. *J Neurosci* 29, 7582-7590.
- Harris FM, Brecht WJ, Xu Q, Tesseur I, Kekoni L, Wyss-Coray T, Fish JD, Masliah E, Hopkins PC, Scearce-Levie K, et al. (2003): Carboxyl-terminal-truncated apolipoprotein E4 causes Alzheimer's disease-like neurodegeneration and behavioral deficits in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 10966-10971.

- Harris FM, Tesseur I, Brecht WJ, Xu Q, Mullendorff K, Chang S, Wyss-Coray T, Mahley RW, Huang Y (2004): Astroglial regulation of apolipoprotein E expression in neuronal cells. Implications for Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 279, 3862-3868.
- Hayden KM, Zandi PP, West NA, Tschanz JT, Norton MC, Corcoran C, Breitner JC, Welsh-Bohmer KA (2009): Effects of family history and apolipoprotein E epsilon4 status on cognitive decline in the absence of Alzheimer dementia: the Cache County Study. *Arch Neurol* 66, 1378-1383.
- Henderson VW (2006): Estrogen-containing hormone therapy and Alzheimer's disease risk: understanding discrepant inferences from observational and experimental research. *Neuroscience* 138, 1031-1039.
- Herz J, Beffert U (2000): Apolipoprotein E receptors: linking brain development and Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 1, 51-58.
- Hindmarch I, Lehfeld H, de Jongh P, Erzigkeit H (1998): The Bayer Activities of Daily Living Scale (B-ADL). *Dement Geriatr Cogn Disord* 9 Suppl 2, 20-26.
- Hixson JE, Vernier DT (1990): Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 31, 545-548.
- Hoglund K, Blennow K (2007): Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on beta-amyloid peptide levels: implications for Alzheimer's disease. *CNS Drugs* 21, 449-462.
- Holtzman DM, Bales KR, Tenkova T, Fagan AM, Parsadanian M, Sartorius LJ, Mackey B, Olney J, McKeel D, Wozniak D, et al. (2000a): Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 2892-2897.
- Holtzman DM, Fagan AM, Mackey B, Tenkova T, Sartorius L, Paul SM, Bales K, Ashe KH, Irizarry MC, Hyman BT (2000b): Apolipoprotein E facilitates neuritic and cerebrovascular plaque formation in an Alzheimer's disease model. *Ann Neurol* 47, 739-747.
- Huang Y, Liu XQ, Wyss-Coray T, Brecht WJ, Sanan DA, Mahley RW (2001): Apolipoprotein E fragments present in Alzheimer's disease brains induce neurofibrillary tangle-like intracellular inclusions in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 8838-8843.

- Huang Y, Weisgraber KH, Mucke L, Mahley RW (2004): Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* 23, 189-204.
- Hye A, Lynham S, Thambisetty M, Causevic M, Campbell J, Byers HL, Hooper C, Rijdsdijk F, Tabrizi SJ, Banner S, et al. (2006): Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer's disease. *Brain* 129, 3042-3050.
- Hyman BT, Van Hoesen GW, Damasio AR, Barnes CL (1984): Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science* 225, 1168-1170.
- Ingelsson M, Shin Y, Irizarry MC, Hyman BT, Lilius L, Forsell C, Graff C (2003): Genotyping of apolipoprotein E: comparative evaluation of different protocols, Suppl. 38. *Curr Protoc Hum Genet* 9, 1-13.
- Irie K, Murakami K, Masuda Y, Morimoto A, Ohigashi H, Ohashi R, Takegoshi K, Nagao M, Shimizu T, Shirasawa T (2005): Structure of beta-amyloid fibrils and its relevance to their neurotoxicity: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Biosci Bioeng* 99, 437-447.
- Irizarry MC, Cheung BS, Rebeck GW, Paul SM, Bales KR, Hyman BT (2000): Apolipoprotein E affects the amount, form, and anatomical distribution of amyloid beta-peptide deposition in homozygous APP(V717F) transgenic mice. *Acta Neuropathol* 100, 451-458.
- Iwata N, Higuchi M, Saido TC (2005): Metabolism of amyloid-beta peptide and Alzheimer's disease. *Pharmacol Ther* 108, 129-148.
- Jawhar S, Wirths O, Schilling S, Graubner S, Demuth HU, Bayer TA (2011): Overexpression of glutamyl cyclase, the enzyme responsible for pyroglutamate A β formation, induces behavioral deficits, and glutamyl cyclase knock-out rescues the behavioral phenotype in 5XFAD mice. *J Biol Chem* 286, 4454-4460.
- Jelicic M, Bonebakker AE, Bonke B (1995): Implicit memory performance of patients with Alzheimer's disease: a brief review. *Int Psychogeriatr* 7, 385-392.
- Jellinger KA (2004): Head injury and dementia. *Curr Opin Neurol* 17, 719-723.

- Jellinger KA, Attems J (2007): Neuropathological evaluation of mixed dementia. *J Neurol Sci* 257, 80-87.
- Ji ZS, Miranda RD, Newhouse YM, Weisgraber KH, Huang Y, Mahley RW (2002): Apolipoprotein E4 potentiates amyloid beta peptide-induced lysosomal leakage and apoptosis in neuronal cells. *J Biol Chem* 277, 21821-21828.
- Jiang Q, Lee CY, Mandrekar S, Wilkinson B, Cramer P, Zelcer N, Mann K, Lamb B, Willson TM, Collins JL, et al. (2008): ApoE promotes the proteolytic degradation of Abeta. *Neuron* 58, 681-693.
- Jorm AF, Christensen H, Korten AE, Henderson AS, Jacomb PA, Mackinnon A (1997): Do cognitive complaints either predict future cognitive decline or reflect past cognitive decline? A longitudinal study of an elderly community sample. *Psychol Med* 27, 91-98.
- Kawarabayashi T, Shoji M (2008): Plasma biomarkers of Alzheimer's disease. *Curr Opin Psychiatry* 21, 260-267.
- Kessler H, Bayer TA, Bach D, Schneider-Axmann T, Supprian T, Herrmann W, Haber M, Multhaup G, Falkai P, Pajonk FG (2008): Intake of copper has no effect on cognition in patients with mild Alzheimer's disease: a pilot phase 2 clinical trial. *J Neural Transm* 115, 1181-1187.
- Klein WL (2002): Abeta toxicity in Alzheimer's disease: globular oligomers (ADDLs) as new vaccine and drug targets. *Neurochem Int* 41, 345-352.
- LaDu MJ, Falduto MT, Manelli AM, Reardon CA, Getz GS, Frail DE (1994): Isoform-specific binding of apolipoprotein E to beta-amyloid. *J Biol Chem* 269, 23403-23406.
- Lauderback CM, Kanski J, Hackett JM, Maeda N, Kindy MS, Butterfield DA (2002): Apolipoprotein E modulates Alzheimer's Abeta(1-42)-induced oxidative damage to synaptosomes in an allele-specific manner. *Brain Res* 924, 90-97.
- Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Letenneur L, Ott A, Amaducci LA, Brayne C, Copeland JR, Dartigues JF, Kragh-Sorensen P, et al. (1999): Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: results from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. European Studies of Dementia. *Neurology* 52, 78-84.

- Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, Jones G, Yen SH, Sahara N, Skipper L, Yager D, et al. (2001): Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 293, 1487-1491.
- Lindsay J, Laurin D, Verreault R, Hebert R, Helliwell B, Hill GB, McDowell I (2002): Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. *Am J Epidemiol* 156, 445-453.
- Linn RT, Wolf PA, Bachman DL, Knoefel JE, Cobb JL, Belanger AJ, Kaplan EF, D'Agostino RB (1995): The 'preclinical phase' of probable Alzheimer's disease. A 13-year prospective study of the Framingham cohort. *Arch Neurol* 52, 485-490.
- Ljungberg MC, Dayanandan R, Asuni A, Rupniak TH, Anderton BH, Lovestone S (2002): Truncated apoE forms tangle-like structures in a neuronal cell line. *Neuroreport* 13, 867-870.
- Locke PA, Conneally PM, Tanzi RE, Gusella JF, Haines JL (1995): Apolipoprotein E4 allele and Alzheimer disease: examination of allelic association and effect on age at onset in both early- and late-onset cases. *Genet Epidemiol* 12, 83-92.
- Ma J, Yee A, Brewer HB, Jr., Das S, Potter H (1994): Amyloid-associated proteins alpha 1-antichymotrypsin and apolipoprotein E promote assembly of Alzheimer beta-protein into filaments. *Nature* 372, 92-94.
- Mahley RW, Rall SC, Jr. (2000): Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 1, 507-537.
- Maier W, Jessen F, Schneider, F., Spottke A, Reichmann H: Diagnose- Und Behandlungsleitlinie Demenz, 1. Auflage; Springer, Heidelberg 2010
- Main BF, Jones PJ, MacGillivray RT, Banfield DK (1991): Apolipoprotein E genotyping using the polymerase chain reaction and allele-specific oligonucleotide primers. *J Lipid Res* 32, 183-187.
- Marcello A, Wirths O, Schneider-Axmann T, Degerman-Gunnarsson M, Lannfelt L, Bayer TA (2009): Reduced levels of IgM autoantibodies against N-truncated pyroglutamate Aβ in plasma of patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 32, 1379-1387.

- Marques MA, Tolar M, Harmony JA, Crutcher KA (1996): A thrombin cleavage fragment of apolipoprotein E exhibits isoform-specific neurotoxicity. *Neuroreport* 7, 2529-2532.
- Martel CL, Mackic JB, Matsubara E, Governale S, Miguel C, Miao W, McComb JG, Frangione B, Ghiso J, Zlokovic BV (1997): Isoform-specific effects of apolipoproteins E2, E3, and E4 on cerebral capillary sequestration and blood-brain barrier transport of circulating Alzheimer's amyloid beta. *J Neurochem* 69, 1995-2004.
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K (1985): Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82, 4245-4249.
- Matthews FE, Stephan BC, McKeith IG, Bond J, Brayne C (2008): Two-year progression from mild cognitive impairment to dementia: to what extent do different definitions agree? *J Am Geriatr Soc* 56, 1424-1433.
- Mayeux R (2003): Epidemiology of neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* 26, 81-104.
- Mayeux R, Saunders AM, Shea S, Mirra S, Evans D, Roses AD, Hyman BT, Crain B, Tang MX, Phelps CH (1998): Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease. Alzheimer's Disease Centers Consortium on Apolipoprotein E and Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* 338, 506-511.
- Mazur-Kolecka B, Frackowiak J, Kowal D, Krzeslowska J, Dickson D (2002): Oxidative protein damage in cells engaged in beta-amyloidosis is related to apoE genotype. *Neuroreport* 13, 465-468.
- McGuffin P, Katz R, Watkins S, Rutherford J (1996): A hospital-based twin register of the heritability of DSM-IV unipolar depression. *Arch Gen Psychiatry* 53, 129-136.
- 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, 939-944.

- McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, Fuller SJ, Smith MJ, Beyreuther K, Bush AI, Masters CL (1999): Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 46, 860-866.
- Metzger RE, LaDu MJ, Pan JB, Getz GS, Frail DE, Falduto MT (1996): Neurons of the human frontal cortex display apolipoprotein E immunoreactivity: implications for Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 55, 372-380.
- Meyer MR, Tschanz JT, Norton MC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Wyse BW, Breitner JC (1998): APOE genotype predicts when--not whether--one is predisposed to develop Alzheimer disease. *Nat Genet* 19, 321-322.
- Mitchell AJ, Shiri-Feshki M (2009): Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia--meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatr Scand* 119, 252-265.
- Miyata M, Smith JD (1996): Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* 14, 55-61.
- Mori H, Takio K, Ogawara M, Selkoe DJ (1992): Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 267, 17082-17086.
- Mortimer JA, Snowden DA, Markesbery WR (2003): Head circumference, education and risk of dementia: findings from the Nun Study. *J Clin Exp Neuropsychol* 25, 671-679.
- Motulsky HJ, Brown RE (2006): Detecting outliers when fitting data with nonlinear regression - a new method based on robust nonlinear regression and the false discovery rate. *BMC Bioinformatics* 7, 123.
- Muyllaert D, Kremer A, Jaworski T, Borghgraef P, Devijver H, Croes S, Dewachter I, Van Leuven F (2008): Glycogen synthase kinase-3beta, or a link between amyloid and tau pathology? *Genes Brain Behav* 7 Suppl 1, 57-66.
- Namba Y, Tomonaga M, Kawasaki H, Otomo E, Ikeda K (1991): Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res* 541, 163-166.

- Naslund J, Haroutunian V, Mohs R, Davis KL, Davies P, Greengard P, Buxbaum JD (2000): Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. *JAMA* 283, 1571-1577.
- Nath A, Hall E, Tuzova M, Dobbs M, Jons M, Anderson C, Woodward J, Guo Z, Fu W, Kryscio R, et al. (2003): Autoantibodies to amyloid beta-peptide (Abeta) are increased in Alzheimer's disease patients and Abeta antibodies can enhance Abeta neurotoxicity: implications for disease pathogenesis and vaccine development. *Neuromolecular Med* 3, 29-39.
- Nathan BP, Bellosta S, Sanan DA, Weisgraber KH, Mahley RW, Pitas RE (1994): Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth in vitro. *Science* 264, 850-852.
- Nathan BP, Chang KC, Bellosta S, Brisch E, Ge N, Mahley RW, Pitas RE (1995): The inhibitory effect of apolipoprotein E4 on neurite outgrowth is associated with microtubule depolymerization. *J Biol Chem* 270, 19791-19799.
- Paris D, Town T, Parker TA, Tan J, Humphrey J, Crawford F, Mullan M (1999): Inhibition of Alzheimer's beta-amyloid induced vasoactivity and proinflammatory response in microglia by a cGMP-dependent mechanism. *Exp Neurol* 157, 211-221.
- Pericak-Vance MA, Bebout JL, Gaskell PC, Jr., Yamaoka LH, Hung WY, Alberts MJ, Walker AP, Bartlett RJ, Haynes CA, Welsh KA, et al. (1991): Linkage studies in familial Alzheimer disease: evidence for chromosome 19 linkage. *Am J Hum Genet* 48, 1034-1050.
- Pezawas L, Meyer-Lindenberg A, Drabant EM, Verchinski BA, Munoz KE, Kolachana BS, Egan MF, Mattay VS, Hariri AR, Weinberger DR (2005): 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nat Neurosci* 8, 828-834.
- Poirier J, Hess M, May PC, Finch CE (1991): Astrocytic apolipoprotein E mRNA and GFAP mRNA in hippocampus after entorhinal cortex lesioning. *Brain Res Mol Brain Res* 11, 97-106.
- Price JL, Morris JC (1999): Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 45, 358-368.
- Qiu C, De Ronchi D, Fratiglioni L (2007): The epidemiology of the dementias: an update. *Curr Opin Psychiatry* 20, 380-385.

- Raber J, Wong D, Buttini M, Orth M, Bellosta S, Pitas RE, Mahley RW, Mucke L (1998): Isoform-specific effects of human apolipoprotein E on brain function revealed in ApoE knockout mice: increased susceptibility of females. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 10914-10919.
- Raber J, Wong D, Yu GQ, Buttini M, Mahley RW, Pitas RE, Mucke L (2000): Apolipoprotein E and cognitive performance. *Nature* 404, 352-354.
- Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT (1993): Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron* 11, 575-580.
- Roman GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T, Cummings JL, Masdeu JC, Garcia JH, Amaducci L, Orgogozo JM, Brun A, Hofman A, et al. (1993): Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology* 43, 250-260.
- Romas SN, Santana V, Williamson J, Ciappa A, Lee JH, Rondon HZ, Estevez P, Lantigua R, Medrano M, Torres M, et al. (2002): Familial Alzheimer disease among Caribbean Hispanics: a reexamination of its association with APOE. *Arch Neurol* 59, 87-91.
- Saido TC, Iwatsubo T, Mann DM, Shimada H, Ihara Y, Kawashima S (1995): Dominant and differential deposition of distinct beta-amyloid peptide species, A beta N3(pE), in senile plaques. *Neuron* 14, 457-466.
- Sanan DA, Weisgraber KH, Russell SJ, Mahley RW, Huang D, Saunders A, Schmechel D, Wisniewski T, Frangione B, Roses AD, et al. (1994): Apolipoprotein E associates with beta amyloid peptide of Alzheimer's disease to form novel monofibrils. Isoform apoE4 associates more efficiently than apoE3. *J Clin Invest* 94, 860-869.
- Sano M, Bell KL, Galasko D, Galvin JE, Thomas RG, van Dyck CH, Aisen PS (2011): A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of simvastatin to treat Alzheimer disease. *Neurology* 77, 556-563.
- Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper-MacLachlan DR, Alberts MJ, et al. (1993): Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 43, 1467-1472.

- 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 beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med* 2, 864-870.
- Schilling S, Zeitschel U, Hoffmann T, Heiser U, Francke M, Kehlen A, Holzer M, Hutter-Paier B, Prokesch M, Windisch M, et al. (2008): Glutaminyl cyclase inhibition attenuates pyroglutamate A β and Alzheimer's disease-like pathology. *Nat Med* 14, 1106-1111.
- Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, Pericak-Vance MA, Goldgaber D, Roses AD (1993): Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 9649-9653.
- Selkoe DJ (1996): Amyloid beta-protein and the genetics of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 271, 18295-18298.
- Selkoe DJ (2001): Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81, 741-766.
- Selkoe DJ, Abraham CR, Podlisny MB, Duffy LK (1986): Isolation of low-molecular-weight proteins from amyloid plaque fibers in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 46, 1820-1834.
- Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, Walsh DM, Selkoe DJ, Sabatini BL (2007): Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *J Neurosci* 27, 2866-2875.
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, et al. (2008): Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 14, 837-842.
- Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Lin C, Li G, Holman K, et al. (1995): Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 375, 754-760.

- Shibata M, Yamada S, Kumar SR, Calero M, Bading J, Frangione B, Holtzman DM, Miller CA, Strickland DK, Ghiso J, et al. (2000): Clearance of Alzheimer's amyloid-ss(1-40) peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest* 106, 1489-1499.
- Simons M, Keller P, De Strooper B, Beyreuther K, Dotti CG, Simons K (1998): Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 6460-6464.
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD (1993a): 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 U S A* 90, 1977-1981.
- Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, Dong LM, Salvesen GS, Pericak-Vance M, Schmechel D, Saunders AM, Goldgaber D, Roses AD (1993b): Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 8098-8102.
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Goedert M, Weisgraber KH, Dong LM, Jakes R, Huang DY, Pericak-Vance M, Schmechel D, Roses AD (1994): Isoform-specific interactions of apolipoprotein E with microtubule-associated protein tau: implications for Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 11183-11186.
- Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, Odaka A, Otvos L, Jr., Eckman C, Golde TE, Younkin SG (1994): An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science* 264, 1336-1340.
- Tandon A, Fraser P (2002): The presenilins. *Genome Biol* 3, reviews3014.
- Tang MX, Stern Y, Marder K, Bell K, Gurland B, Lantigua R, Andrews H, Feng L, Tycko B, Mayeux R (1998): The APOE-epsilon4 allele and the risk of Alzheimer disease among African Americans, whites, and Hispanics. *JAMA* 279, 751-755.
- Terry RD, Peck A, DeTeresa R, Schechter R, Horoupian DS (1981): Some morphometric aspects of the brain in senile dementia of the Alzheimer type. *Ann Neurol* 10, 184-192.

- Tesseur I, Van Dorpe J, Bruynseels K, Bronfman F, Sciôt R, Van Lommel A, Van Leuven F (2000): Prominent axonopathy and disruption of axonal transport in transgenic mice expressing human apolipoprotein E4 in neurons of brain and spinal cord. *Am J Pathol* 157, 1495-1510.
- Thomas T, Thomas G, McLendon C, Sutton T, Mullan M (1996): beta-Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature* 380, 168-171.
- Tolar M, Marques MA, Harmony JA, Crutcher KA (1997): Neurotoxicity of the 22 kDa thrombin-cleavage fragment of apolipoprotein E and related synthetic peptides is receptor-mediated. *J Neurosci* 17, 5678-5686.
- Tolar M, Keller JN, Chan S, Mattson MP, Marques MA, Crutcher KA (1999): Truncated apolipoprotein E (ApoE) causes increased intracellular calcium and may mediate ApoE neurotoxicity. *J Neurosci* 19, 7100-7110.
- Tsai MS, Tangalos EG, Petersen RC, Smith GE, Schaid DJ, Kokmen E, Ivnik RJ, Thibodeau SN (1994): Apolipoprotein E: risk factor for Alzheimer disease. *Am J Hum Genet* 54, 643-649.
- Tseng BP, Kitazawa M, LaFerla FM (2004): Amyloid beta-peptide: the inside story. *Curr Alzheimer Res* 1, 231-239.
- Walsh DM, Selkoe DJ (2007): A beta oligomers - a decade of discovery. *J Neurochem* 101, 1172-1184.
- Weder ND, Aziz R, Wilkins K, Tampi RR (2007): Frontotemporal dementias: a review. *Ann Gen Psychiatry* 6, 15.
- Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR (1982): Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 215, 1237-1239.
- Wirths O, Bayer TA (2009): Die modifizierte Amyloid-Hypothese der Alzheimer-Demenz - intraneuronales Abeta induziert Neurodegeneration. *Perspektiven der Hirnforschung, NeuroForum* 3, 76-82.
- Wirths O, Multhaup G, Bayer TA (2004): A modified beta-amyloid hypothesis: intraneuronal accumulation of the beta-amyloid peptide--the first step of a fatal cascade. *J Neurochem* 91, 513-520.

- Wirths O, Breyhan H, Cynis H, Schilling S, Demuth HU, Bayer TA (2009): Intraneuronal pyroglutamate-A β 3-42 triggers neurodegeneration and lethal neurological deficits in a transgenic mouse model. *Acta Neuropathol* 118, 487-496.
- Wirths O, Bethge T, Marcello A, Harmeier A, Jawhar S, Lucassen PJ, Multhaup G, Brody DL, Esparza T, Ingelsson M, et al. (2010a): Pyroglutamate A β pathology in APP/PS1KI mice, sporadic and familial Alzheimer's disease cases. *J Neural Transm* 117, 85-96.
- Wirths O, Erck C, Martens H, Harmeier A, Geumann C, Jawhar S, Kumar S, Multhaup G, Walter J, Ingelsson M, et al. (2010b): Identification of low molecular weight pyroglutamate A β oligomers in Alzheimer disease: a novel tool for therapy and diagnosis. *J Biol Chem, Suppl.* 285, 1 - 7.
- Wirths O, Erck C, Martens H, Harmeier A, Geumann C, Jawhar S, Kumar S, Multhaup G, Walter J, Ingelsson M, et al. (2010c): Identification of low molecular weight pyroglutamate A β oligomers in Alzheimer disease: a novel tool for therapy and diagnosis. *J Biol Chem* 285, 41517-41524.
- Wisniewski T, Frangione B (1992): Apolipoprotein E: a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neurosci Lett* 135, 235-238.
- Wisniewski T, Castano EM, Golabek A, Vogel T, Frangione B (1994): Acceleration of Alzheimer's fibril formation by apolipoprotein E in vitro. *Am J Pathol* 145, 1030-1035.
- Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G (2000): Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol* 57, 1439-1443.
- Xu PT, Gilbert JR, Qiu HL, Rothrock-Christian T, Settles DL, Roses AD, Schmechel DE (1998): Regionally specific neuronal expression of human APOE gene in transgenic mice. *Neurosci Lett* 246, 65-68.
- Xu PT, Gilbert JR, Qiu HL, Ervin J, Rothrock-Christian TR, Hulette C, Schmechel DE (1999a): Specific regional transcription of apolipoprotein E in human brain neurons. *Am J Pathol* 154, 601-611.

- Xu PT, Schmechel D, Qiu HL, Herbstreith M, Rothrock-Christian T, Eyster M, Roses AD, Gilbert JR (1999b): Sialylated human apolipoprotein E (apoEs) is preferentially associated with neuron-enriched cultures from APOE transgenic mice. *Neurobiol Dis* 6, 63-75.
- Yankner BA, Duffy LK, Kirschner DA (1990): Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid beta protein: reversal by tachykinin neuropeptides. *Science* 250, 279-282.
- Zannis VI, Just PW, Breslow JL (1981): Human apolipoprotein E isoprotein subclasses are genetically determined. *Am J Hum Genet* 33, 11-24.
- Zhang HL, Wu J, Zhu J (2010): The role of apolipoprotein E in Guillain-Barre syndrome and experimental autoimmune neuritis. *J Biomed Biotechnol* 2010, 357412.
- Ziegler U, Doblhammer G (2009): Prevalence and incidence of dementia in Germany--a study based on data from the public sick funds in 2002. *Gesundheitswesen* 71, 281-290.

DANKSAGUNG

Ich danke Herrn Prof. Dr. Thomas A. Bayer für das Promotionsangebot und die Vergabe der interessanten Fragestellung, sowie besonders für die freundliche Betreuung während der gesamten Zeit dieser Promotion.

Herrn Prof. Dr. Frank-Gerald Pajonk und der Geschäftsführung der Privat-Nerven-Klinik Dr. med. Kurt Fontheim danke ich für die Unterstützung meiner klinischen Arbeit in Liebenburg. Für die Hilfe bei den Aufklärungsgesprächen der zahlreichen Patienten danke ich Herrn Dr. Gremse, Herrn Dr. Roscher, Herrn Dr. Ahl, Herrn Dr. Wagner, Frau Clodius, Herrn Balshüsemann, Frau Neubert und Herrn Dr. Hädrich. Für die Hilfe bei der Organisation der Untersuchungstermine danke ich außerdem Frau Pöhlig und Frau Börner.

Der gesamten Arbeitsgruppe für Molekulare Psychiatrie, insbesondere Herrn Dr. Oliver Wirths, Frau Petra Tucholla und Frau Antje Hillmann danke ich für die fachliche Hilfe bei meiner Laborarbeit.