

Aus der Abteilung Neurologie  
(Prof. Dr. med. M. Bähr)  
Im Zentrum Neurologische Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Das zelluläre Prionprotein im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit  
verschiedenen neurologischen Erkrankungen

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

vorgelegt von

Felix Meyne

aus

Wolfenbüttel

Göttingen 2008

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. I. Zerr

II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. W. Brück

III. Berichterstatter/in:

Tag der mündlichen Prüfung: 05.10.2010

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>IV</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Struktur des Prionproteins.....	1
1.2 Zur Prionhypothese und Infektiosität des Prions .....	2
1.3 Funktion des zellulären Prionproteins .....	3
1.4 Genetischer Polymorphismus des Prionproteingens (prnp).....	5
1.5 Neurodegenerative Erkrankungen .....	6
1.5.1 Creutzfeldt-Jakob-Krankheit.....	6
1.5.2 Alzheimer-Demenz.....	8
1.5.3 Demenz mit Lewy-Körperchen .....	9
1.5.4 Normaldruckhydrozephalus.....	10
1.5.5 Morbus Parkinson .....	11
1.6 Liquormarker .....	12
1.6.1 $\beta$ -Amyloid <sub>1-42</sub> im Liquor cerebrospinalis.....	12
1.6.2 Tau-Protein im Liquor cerebrospinalis.....	12
1.6.3 PrP <sup>c</sup> im Liquor cerebrospinalis .....	12
1.7 Aufgabenstellung und Zielsetzung der Arbeit.....	14
<b>2 Material und Methoden</b> .....	<b>15</b>
2.1 Patienten .....	15
2.1.1 Kontrollen .....	15
2.1.2 Creutzfeldt-Jakob-Krankheit.....	16
2.1.3 Alzheimer-Demenz .....	16
2.1.4 Demenz mit Lewy-Körperchen.....	17
2.1.5 Normaldruckhydrozephalus .....	17
2.1.6 Morbus Parkinson .....	17
2.1.7 Generalisierte epileptische Anfälle.....	18
2.1.8 Encephalomyelitis disseminata .....	18
2.1.9 Meningitis und Enzephalitis.....	18
2.1.10 Ischämische Hirninsulte .....	18
2.2 Gewinnung und Aufarbeitung des Liquor cerebrospinalis .....	19
2.3 Geräte .....	19
2.4 Verbrauchsmaterialien und Chemikalien.....	19
2.5 ELISA.....	20

2.5.1	Bestimmung von PrP <sup>c</sup> im Liquor cerebrospinalis .....	20
2.5.2	Bestimmung von $\beta$ -Amyloid <sub>1-42</sub> im Liquor cerebrospinalis.....	21
2.5.3	Bestimmung von Tau-Protein im Liquor cerebrospinalis.....	22
2.6	Genetische Untersuchungen .....	22
2.7	Statistische Auswertungen.....	22
2.7.1	Boxplots.....	22
2.7.2	Diagnostische Wertigkeit und Youden-Index.....	23
2.8	Einteilung der neurodegenerativen Erkrankungen nach Schweregrad .....	24
2.8.1	Schweregradklassifizierung von AD- und DLB-Patienten.....	24
2.8.2	Schweregradklassifizierung von NPH-Patienten .....	26
2.8.3	Schweregradklassifizierung von CJK-Patienten .....	26
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>27</b>
3.1	Charakterisierung der Patienten- und Kontrollgruppen .....	27
3.1.1	Vergleich der Alters- und Geschlechtsverteilungen innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppen.....	28
3.1.2	Vergleich der Schweregradverteilung innerhalb der Gruppe neurodegenerativer Erkrankungen .....	29
3.2	PrP <sup>c</sup> -Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis .....	30
3.2.1	Kontrollkollektiv .....	31
3.2.2	Neurodegenerative Erkrankungen .....	33
3.2.2.1	Einteilung der neurodegenerativen Erkrankungen nach Schweregrad .....	35
3.2.2.2	Diagnostische Wertigkeit von PrP <sup>c</sup> im Liquor cerebrospinalis .....	41
3.2.2.3	Einfluss des Genotyps am Codon 129 auf PrP <sup>c</sup> -Konzentrationen .....	41
3.2.3	PrP <sup>c</sup> -Konzentrationen bei nicht- neurodegenerativen Erkrankungen.....	44
3.3	Ergebnis der $\beta$ -Amyloid <sub>1-42</sub> -Messungen .....	46
3.4	Ergebnis der Tau-Protein-Messungen .....	47
3.5	Zusammenhang zwischen PrP <sup>c</sup> und $\beta$ -Amyloid <sub>1-42</sub> .....	48
3.6	Zusammenhang zwischen PrP <sup>c</sup> und Tau-Protein.....	49

<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>51</b>
4.1	PrP <sup>c</sup> -Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen.....	51
4.2	Einfluss des Genotyps am Codon 129 auf PrP <sup>c</sup> -Konzentrationen bei CJK.....	53
4.3	PrP <sup>c</sup> -Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit nicht-neurodegenerativen Erkrankungen.....	55
4.4	Biologische Einflussfaktoren.....	57
4.5	Beziehungen von PrP <sup>c</sup> zu $\beta$ -Amyloid <sub>1-42</sub> und Tau-Protein.....	59
4.6	PrP <sup>c</sup> als Biomarker .....	60
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>61</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>64</b>

## Abkürzungsverzeichnis

A $\beta$ <sub>40/42</sub>	$\beta$ -Amyloid <sub>1-40/1-42</sub>
AD	Alzheimer-Demenz
ANOVA	Analysis of Variances
AP	alkalische Phosphatase
APP	Amyloid Precursor Protein
APPs	lösliches (Syn.: nicht-plaquebildendes) APP
AS	Aminosäure/n
$\beta$	Regressionskoeffizient
BACE1	Beta-site APP-Cleaving Enzyme 1
BAX	Bcl-2 associated protein X
Bcl-2	B-cell lymphoma / leukemia-2 gene
BSE	bovine spongiforme Enzephalopathie
°C	°Celsius
CJK	Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
fCJK	familiäre Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
iCJK	iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
nvCJK	neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
sCJK	sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
CSF	cerebrospinal fluid (Syn.: Liquor cerebrospinalis)
Cu	Kupfer
DLB	Demenz mit Lewy-Körperchen
DANN	Desoxyribonukleinsäure
ED	Enzephalomyelitis disseminata (Syn.: Multiple Sklerose)
EEG	Elektroenzephalogramm
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FFI	fatale familiäre Insomnie
G	Glycin
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GPI-(Anker)	Glykosylphosphatidylinositol-(Anker)
GSS	Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom
H	Histidin
HRP	Horseradish peroxidase (Meerrettichperoxidase)
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and related Health Problems 10th Revision
kDa	Kilodalton

L-DOPA	Lävo-3,4-Dihydroxyphenylalanin
M	Methionin
MAP-(Kinase)	mitogen-activated protein-(Kinase)
min	Minuten
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
µM	Mikromol
MMST	mini-mental state test
MRT	Magnetresonanztomografie
n	Gesamtmenge
NaCl	Natriumchlorid
ng	Nanogramm
NINCDS- ADRDA	National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke; Alzheimer`s Disease and Related Disorders Association
NPH	Normaldruckhydrozephalus
NSE	Neuronen-spezifische Enolase
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P	Prolin
PD	Morbus Parkinson (Syn.: idopathisches Parkinson Syndrom)
pg	Pikogramm
pH	negativer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentrion
PK	Proteinkinase
Prnp	Prionproteingen
PrP	Prionprotein
PrP <sup>c</sup>	zelluläres Prionprotein (Syn.: physiologisches Prionprotein)
PrP <sup>Sc</sup>	Scrapie-assoziiertes Prionprotein (Syn.: pathologisches Prionptotein)
Q	Glutamin
REM	rapid eye movement
SD	Standardabweichung
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
TSE	transmissible spongiforme Enzephalopathie
V	Valin
W	Tryptophan
WHO	Weltgesundheitsbehörde
Zn	Zink
ZNS	Zentralnervensystem

# 1 Einleitung

PrP<sup>Sc</sup> bezeichnet die pathologische, Scrapie-assoziierte Isoform des physiologischen Prionproteins; die Konformationsänderung von PrP<sup>c</sup> zu PrP<sup>Sc</sup> gilt als zentrales Ereignis in der Entstehung von Prionerkrankungen wie der bovinen spongiformen Enzephalopathie beim Rind und der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit beim Menschen. Welche Rolle hingegen die physiologische, sogenannte zelluläre Isoform (PrP<sup>c</sup>) des Prionproteins bei CJK und anderen neurologischen Erkrankungen des Menschen spielt, ist weitgehend unbekannt.

## 1.1 Struktur des Prionproteins

Beim Prionprotein handelt es sich um ein 33-35 kDa schweres hochkonserviertes Protein (Schätzl et al. 1995; Krakauer et al. 1998), welches bei allen bisher untersuchten Säugetieren und darüber hinaus auch bei einigen Vogelarten gefunden wurde und welches in seiner zellulären Isoform (PrP<sup>c</sup>) als Sialoglykoprotein an die Plasmazellmembran gebunden exprimiert wird.

Das Prionprotein wird vorwiegend in neuronalen Geweben exprimiert, es ist allerdings auch in zahlreichen anderen Geweben (Bendheim et al. 1992) und im Blut vor allem im Plasma und auf Thrombozyten nachzuweisen (MacGregor et al. 1999).

Das menschliche Gen für das Prionprotein liegt auf dem kurzen Arm des Chromosoms 20 und besteht aus nur zwei Exons (Kretzschmar et al. 1986; Puckett et al. 1991). Es codiert für 253 Aminosäuren, wobei das reife Prionprotein aus den Aminosäuren 23-231 gebildet wird. Nach der Synthese wird das primäre Translationsprodukt mittels eines Signalpeptids in das endoplasmatische Retikulum eingeschleust, wo am Amino-Terminus die 22 Aminosäuren lange Signalsequenz abgetrennt wird. Später wird am Carboxy-Terminus eine weitere AS-Sequenz abgespalten und ein GPI-Anker (Glykosylphosphatidylinositol-Anker) an die AS Serin 231 angehängt, wodurch die Bindung an die Plasmamembran vermittelt wird (Stahl et al. 1987).

Weitere posttranslationale Modifikationen umfassen die Ausbildung von Disulfidbrücken sowie Glykosylierungen, welche an zwei Stellen im Protein möglich sind (Stahl et al. 1987; Caughey et al. 1989). Auf diese Weise können eine unglykosylierte Form, eine einfach glykosylierte Form sowie eine doppelt glykosylierte Form vorkommen. Die Halbwertszeit von PrP<sup>c</sup> an der Zelloberfläche beträgt etwa 3-6 Stunden, bevor es über Endosomen internalisiert und abgebaut wird (Caughey et al. 1989).

Eine in der N-terminalen Hälfte des Proteins gelegene Octarepeat-Region [(PHGGGWGQ)<sub>x4</sub>] geht eine kooperative Bindung mit Kupfer-(II)-Ionen ein (Brown et al.

1997b; Kramer et al. 2001; Miura et al. 1999; Viles et al. 1999) und trägt auf diese Weise entscheidend zur Strukturbildung des Protein-Komplexes bei (Viles et al. 1999).

Die pathologische Isoform PrP<sup>Sc</sup> unterscheidet sich von der physiologischen zellulären Form des Proteins durch eine veränderte Sekundär- und Tertiärstruktur, die Primärstruktur der beiden Isoformen ist jedoch identisch. Während die zelluläre Isoform eher  $\alpha$ -helikale Anteile aufweist, hingegen weniger  $\beta$ -Faltblattanteile (42%  $\alpha$ -helikal, 3%  $\beta$ -Faltblatt), ist das Verhältnis dieser beiden Anteile bei der pathologischen Isoform deutlich zu Gunsten eines erhöhten Anteils an  $\beta$ -Faltblattstrukturen verschoben (30%  $\alpha$ -helikal, 45%  $\beta$ -Faltblatt) (Pan et al. 1993). Bedingt durch die veränderte Tertiärstruktur unterscheiden sich die beiden Isoformen hinsichtlich biophysikalischer und –chemischer Eigenschaften wie der Löslichkeit in wässrigen Lösungsmitteln. Während das physiologische Prionprotein gut wasserlöslich ist, ist die pathologische Isoform durch hydrophobe Eigenschaften charakterisiert.

Auch hinsichtlich der Resistenz gegenüber Proteasen unterscheiden sich die beiden Isoformen. So lässt sich das zelluläre Prionprotein mittels Proteinase K vollständig degradieren, während die pathologische Isoform partiell resistent ist und zu einem 27-30 kDa schweren Teilstück degradiert wird.

## 1.2 Zur Prionhypothese und Infektiosität des Prions

In den Anfangszeiten der Prionenforschung war die Art des Erregers noch unbekannt. Zunächst ging man von einem unkonventionellen oder „langsamen“ Virus aus, so dass der Begriff des „slow virus“ geprägt wurde (Gajdusek 1967). Ein Virus oder Viroid konnte jedoch nie isoliert werden. Ein Befund, der ebenso gegen die Hypothese spricht, es handele sich um ein Virus, ist die ungewöhnlich hohe Resistenz gegenüber jeglicher Art physikalischer und chemischer Verfahren, die Nukleinsäuren modifizieren oder zerstören würden (Alper et al. 1967).

Inzwischen ist die sogenannte „Virus- und/oder Virino“-Hypothese weitestgehend zu Gunsten der „protein-only“- oder auch Heterodimer-Hypothese verlassen worden. Stanley Prusiner postulierte sie erstmals und führte daraufhin den Begriff „Prion“ ein, als Kurzform für ein proteinartiges infektiöses Partikel (engl. proteinaceous infectious particle) (Prusiner 1982).

Weitergehende Arbeiten konnten schließlich zeigen, dass das pathologische Protein ein physiologisches Homolog besitzt. Arbeiten an Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen konnten eine Resistenz dieser Tiere gegenüber Scrapie-infiziertem Material nachweisen (Büeler et al. 1993), was verdeutlichte, dass die Anwesenheit von PrP<sup>C</sup> für die Entstehung von Scrapie und damit PrP<sup>Sc</sup> essentiell ist.

Prusiners Heterodimer-Hypothese geht davon aus, dass PrP<sup>c</sup> nur sehr langsam und nur unter einer hohen Aktivierungsenergie in die pathologische Isoform konvertiert werden kann. Die Reaktion ist dadurch thermodynamisch kontrolliert. Möglicherweise wird dieser Prozess unter dem Einfluss anderer, bislang unbekannter Faktoren, durch PrP Mutationen im Rahmen familiärer Prionerkrankungen oder durch exogene Applikation von PrP<sup>Sc</sup> begünstigt (Prusiner 1998). PrP<sup>Sc</sup> bildet daraufhin zusammen mit PrP<sup>c</sup> einen homodimeren Komplex, der sich dann jedoch unter Einflussnahme des PrP<sup>Sc</sup> schnell in einen PrP<sup>Sc</sup>-Homodimer umwandelt (Prusiner 1991). In einem autokatalytischen Zyklus kann das neu entstandene PrP<sup>Sc</sup> wiederum weitere PrP<sup>c</sup>-Moleküle konvertieren.

Eine zweite Theorie wird als Nukleationsmodell bezeichnet. Grundlage dieses Modells ist ein kinetisch kontrollierter und reversibler Prozess.

Es geht von einer kristallähnlichen Anlagerung von PrP<sup>c</sup> an PrP<sup>Sc</sup> aus. Dabei wandelt sich das angelagerte PrP<sup>c</sup> ähnlich einer Polymerisation in PrP<sup>Sc</sup> um, der PrP<sup>Sc</sup>-Komplex wächst damit und nach Zerfall in kleinere Untereinheiten können erneut PrP<sup>c</sup> Moleküle angelagert werden. Die starke Anhäufung von Prionprotein führt schließlich zur Ablagerung im Gehirn und damit zum Nervenzelluntergang und dem typischen Bild der spongiformen Enzephalopathie (Prusiner 1982).

### 1.3 Funktion des zellulären Prionproteins

Trotz intensiver Forschung gibt die physiologische Funktion des Prionproteins nach wie vor Rätsel auf. Um die Funktion von PrP<sup>c</sup> besser verstehen zu können, wurden erstmals 1992 von Büeler et al. Prnp-knockout-Mäuse (Prnp<sup>0/0</sup>) generiert. Überraschenderweise zeigten diese Tiere keinerlei Entwicklungsstörungen oder Verhaltensauffälligkeiten. 1996 führten Tobler et al. Studien an Prnp-knockout-Mäusen durch, die gering ausgeprägte Veränderungen im Sinne von Schlafstörungen und einem veränderten Tag-Nacht-Rhythmus zeigten. Diese verhältnismäßig gering ausgeprägten Veränderungen standen im scheinbaren Widerspruch dazu, dass das Prionprotein extrem hochkonserviert bei allen bisher untersuchten Säugetierarten vorkommt. In den Folgejahren konnten allerdings ebenfalls an Prnp-Knockoutmäusen einige interessante Entdeckungen gemacht werden, die dem Prionprotein vor allem neuroprotektive Eigenschaften zuwiesen. Die molekularen Grundlagen hierfür sind jedoch sehr komplex und noch weitestgehend unbekannt (Roucou et al. 2004).

In zahlreichen Studien konnte nachgewiesen werden, dass ein Verlust der Funktion von PrP<sup>c</sup> zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber neuronalen Schädigungen führt (Kuwahara et al. 1999; Bounhar et al. 2001; McLennan et al. 2004; Weise et al. 2004). Es konnte dargestellt werden, dass hippokampale Nervenzellen von Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen einer erhöhten Anfälligkeit

gegenüber apoptose-vermitteltem Zelltod unterliegen, eine experimentell erzeugte Überexpression von PrP<sup>c</sup> in diesen Zellen hingegen nicht zur Apoptose führt (Kuwahara et al. 1999). 2001 konnte gezeigt werden, dass PrP<sup>c</sup> eine wirksame Schutzfunktion gegenüber BAX-vermitteltem neuronalen Zelltod übernimmt (Bounhar et al. 2001).

Darüber hinaus sind mittlerweile Interaktionen von PrP<sup>c</sup> mit weiteren neuronalen Rezeptoren bekannt, die zum einen zu einem apoptosehemmenden und damit neuroprotektiven Signal führen können, wie etwa die Interaktion von PrP<sup>c</sup> mit dem „stress-inducible protein 1“ (Zanata et al. 2002), oder die eine wichtige Rolle für die Zell-Zell-Adhäsion spielen, zum Beispiel die Interaktion von PrP<sup>c</sup> mit N-CAMs (nerve cell adhesion molecules) (Schmitt-Ulms et al. 2001). Mit dem 37-kDa-Laminin-Rezeptor-Präcursor ist ein weiterer bedeutsamer Interaktionspartner von PrP<sup>c</sup> identifiziert worden (Rieger et al. 1997; Gauczynski et al. 2001). Wechselwirkungen von im Cytosol lokalisiertem PrP<sup>c</sup> bestehen auch mit Proteinen der Bcl-2-Familie, die ebenfalls bei der Regulation der Apoptose eine wichtige Rolle spielen (Kurschner und Morgan 1996).

Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass PrP<sup>c</sup> die Aktivierung verschiedener Signalübertragungswege induzieren kann, die ihrerseits für zelluläres Überleben und zelluläre Proliferation essentiell wichtig sind, unter anderem unter Beteiligung der Proteinkinase A, der Phosphatidylinositol-3-Kinase, der MAP-Kinasen/ERK („extracellular related signal-related kinases“) und der Fyn-Tyrosinkinase (Mouillet-Richard et al. 2000; Chiarini et al. 2002; Chen et al. 2003; Vassallo et al. 2005).

Kürzlich konnte ein regulativer Effekt von PrP<sup>c</sup> auf die Bildung von A $\beta$ -Plaques nachgewiesen werden, der durch eine Interaktion von PrP<sup>c</sup> mit dem als  $\beta$ -Sekretase identifizierten Enzym BACE1 via Glykosaminoglykanen im N-terminalen Bereich vermittelt wird (Parkin et al. 2007). In der Studie konnte dargestellt werden, dass PrP<sup>c</sup> die  $\beta$ -Sekretasen-vermittelte Spaltung des Amyloidvorläuferproteins hemmt und auf diese Weise die Entstehung weiterer plaquebildender Spaltprodukte verhindert.

Die neuroprotektiven Eigenschaften basieren zusätzlich auf einer antioxidativen Funktion von PrP<sup>c</sup>, deren genaue Mechanismen jedoch noch nicht endgültig geklärt sind. Vermutet wird ein Zusammenhang mit einer Cu/Zn-Superoxiddismutasen-Aktivität, die rekombinantes Prionprotein mittels Kupferbindung zeigt (Brown et al. 1999). Möglicherweise kann auf diese Weise oxidativer Stress, der durch Kupfer und andere freie Radikale wie H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> entsteht, reduziert werden (Vassallo und Herms 2003).

Kulturen zerebellärer und kortikaler Nervenellen von Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen zeigten eine höhere Anfälligkeit gegenüber oxidativem Stress als Zellen von Prnp<sup>+/+</sup>-Tieren (Brown et al. 1997a; White et al. 1999; Brown et al. 2002). Die Anlagerung von Cu(II)-Ionen in der Octarepeatregion scheint auch für die Homöostase des Kupferhaushaltes insgesamt eine wichtige Rolle zu spielen (Brown et al. 1997b; Kramer et al. 2001; Miura et al. 1999).

Insbesondere am Transport von Kupferionen vom synaptischen Spalt in die Präsynapse scheint PrP<sup>c</sup> beteiligt zu sein, Herms et al. (1999) fanden in isolierten Synaptosomen von Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen eine im Vergleich zu Wildtypmäusen um die Hälfte verminderte Kupferionenkonzentration.

Die Eigenschaft von PrP<sup>c</sup>, den Kupfergehalt in der Präsynapse und im synaptischen Spalt zu regulieren, nimmt auch entscheidenden Einfluss auf die Signalübertragung an der Synapse. Eine unphysiologische Kupferionenkonzentration im Bereich von 1µM führt zu einer Beeinträchtigung der Funktion des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors (Sharonova et al. 1998). Während eine Kupferionenkonzentration von 2 µM in Purkinjenzellen von Wildtypmäusen keine elektrophysiologischen Veränderungen bedingte, führte diese Kupferionenkonzentration in Zellen von Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen zu einer signifikanten Reduktion der durch GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren vermittelten hemmenden postsynaptischen Potentiale. Die Veränderungen zwischen Wildtyp- und Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen könnten durch das Fehlen der kupferbindenden Funktion von PrP<sup>c</sup> an der Synapse begründet sein (Kretzschmar et al. 2000).

In jüngerer Zeit konnten Zhang et al. (2006) ebenfalls mit Hilfe von Knockout-Mäusen zeigen, dass das Prionprotein eine wesentliche Rolle für die Regeneration hämatopoetischer Stammzellen spielt. Inwiefern dies auch für andere Stammzellen zutrifft, ist bislang noch nicht geklärt.

#### **1.4 Genetischer Polymorphismus des Prionproteingens (prnp)**

Am Codon 129 des Prionproteingens liegt ein Polymorphismus (Methionin [ATG]-Valin [GTG]) vor, der Einfluss auf den klinischen Verlauf einer Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung nimmt und darüber hinaus mit unterschiedlichen neuropathologischen Profilen assoziiert ist. Zusätzlich konnten 2 verschiedene Typen von Prionproteinen identifiziert werden, da die aus ihnen nach Deglykosylierung und Proteinase-K-Verdau entstehenden sogenannten PK-resistenten Fragmente in der Gelelektrophorese 2 verschiedene Wanderungsgeschwindigkeiten zeigen und somit ein unterschiedliches molekulares Gewicht aufweisen (Typ 1 20,5 kDa und Typ 2 18,7 kDa) (Parchi et al. 1996). Aus der Kombination der 3 Genotypen und 2 Prionproteintypen resultieren 6 klinisch und neuropathologisch abgrenzbare Phänotypen einer sporadischen CJK.

Mehrere Studien konnten zusammenfassend zeigen, dass in durchschnittlich 71% der sporadischen CJK-Fälle eine Homozygotie für Methionin vorliegt, die in der weißen Normalbevölkerung lediglich in 39% zu finden ist (Alperovitch et al. 1999). Damit gilt dieser Genotyp als Risikofaktor für die Entwicklung einer sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit. Fälle junger sCJK-Patienten (bis 49 Jahre) sind demgegenüber durch eine hohe Zahl an Valin-homozygoten Genotypen charakterisiert (41% der Fälle).

Untersuchungen zum Einfluss der Verteilung vom Genotyp am Codon 129 des Prionproteingens bei Alzheimer-Fällen konnten zeigen, dass es bei Trägern des VV-Genotyps schneller zu einem Verlust geistiger Fähigkeiten kommt als bei M<sup>+</sup>-Trägern (Del Bo et al. 2006), und dass der VV-Genotyp mit einem verstärkten Risiko für die Entwicklung einer im frühen Lebensalter beginnenden Alzheimer-Demenz einhergeht (Dermaut et al. 2003). Zusätzlich konnte durch Untersuchungen der älteren, nicht an einer Demenz erkrankten Bevölkerung nachgewiesen werden, dass Träger des MV-Genotyps und in besonderem Maße Träger des VV-Genotyps bei neuropsychologischen Testungen signifikant schlechtere Ergebnisse aufwiesen als Träger des MM-Genotyps (Berr et al. 1998), und dass A $\beta$ -Plaques in Gehirnen von nicht-dementen V<sup>+</sup>-Trägern im Vergleich zu Trägern des MM-Genotyps deutlich stärker ausgeprägt waren (Berr et al. 2003).

## **1.5 Neurodegenerative Erkrankungen**

### **1.5.1 Creutzfeldt-Jakob-Krankheit**

Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) wurde erstmals in den frühen 20er Jahren des vergangenen Jahrhunderts von den beiden deutschen Neurologen Hans Gerhard Creutzfeldt und Alfons Jakob beschrieben (Creutzfeldt 1920; Jakob 1921). Sie hat eine Inzidenz von etwa 1-1,5 Fällen pro Jahr/Mio. Einwohner und einen Erkrankungsgipfel zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr. Klinisch imponiert ein progressiver Verlust der Geistesfähigkeit in Verbindung mit cerebellären Symptomen wie Ataxie, Myoklonien, pyramidalen und extrapyramidalen Zeichen sowie Sehstörungen. Im Endstadium der Erkrankung zeigt sich typischerweise das Bild eines akinetischen Mutismus (Zerr und Poser 2002).

Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit des Menschen gehört wie die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) der Rinder und Scrapie bei Schafen zu den transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (TSE). Diese stets tödlich verlaufenden Erkrankungen sind durch charakteristische morphologische Veränderungen im ZNS-Bereich geprägt. Im Vordergrund stehen hierbei eine schwammartige (spongiforme) Vakuolisierung des Gewebes sowie ein massiver Verlust an Nervenzellen, der von einer Astrogliose begleitet wird. Zusätzlich können amyloide Proteinablagerungen gefunden werden, diese Amyloidplaques enthalten PrP in der pathologischen Isoform des Prionproteins (PrP<sup>Sc</sup>) (Prusiner et al. 1983 und Prusiner 1998).

Prionerkrankungen des Menschen können entsprechend ihrer Ätiologie in die drei Unterformen sporadisch, hereditär und erworben unterteilt werden. Die häufigste Unterform macht mit etwa 90% aller Fälle die sporadische Form aus. Die mediane Überlebenszeit der sporadischen CJK (sCJK) beträgt 6 Monate. Eine Einteilung in 4 verschiedene

Klassifikationskriterien (sicher, wahrscheinlich, möglich, kein Fall) erfolgt anhand der in Kapitel 2.1.1 dargestellten diagnostischen Kriterien. Die Diagnose der sCJK wird zudem durch die Bestimmung weiterer Parameter im Liquor wie der neuronenspezifischen Enolase (NSE) (Zerr et al. 1995), des Tau-Proteins (Otto et al. 1997a) und des Proteins S-100 (Otto et al. 1997b) gestützt.

Darüber hinaus zeigt auch die Magnetresonanztomografie (MRT) mit einer diagnostischen Wertigkeit von etwa 66% CJK-typische Befunde. Charakteristischerweise finden sich bei der sCJK Hyperintensitäten in Teilen der Basalganglien, dem Nucleus caudatus und im Putamen sowie teilweise vorübergehend im Kortex. Durch die MRT gelingt insbesondere die Abgrenzung zur nvCJK. Hier finden sich Hyperintensitäten vor allem im posterioren Thalamus (sogenanntes "pulvinar sign").

Andere Formen der CJK sind erworben, etwa die iatrogene CJK (iCJK) oder die neue Variante der CJK (nvCJK).

Bei der iatrogenen Form der CJK kann eine direkte Weitergabe der Erkrankung von Mensch zu Mensch erfolgen. Hierbei muss es zur Übertragung von infektiösem Gewebe kommen. Als Ausgangsgewebe dienen vor allem Kornea, Dura sowie aus Leichenhypophysen extrahierte Wachstumshormone und Gonadotropine.

Im April 1996 berichteten Will et al. von 10 Patienten mit einer CJK, deren Verlaufsform sich klinisch und in ihrem neuropathologischen Profil deutlich von den bisher beschriebenen Fällen unterschieden hat. Diese Form der CJK wurde daraufhin als neue Variante (nv) bezeichnet. Auffällig war vor allem das ungewöhnlich junge Alter der Patienten, das durchschnittlich unter 30 Jahren lag, und das zunächst durch psychiatrische Veränderungen imponierende Erscheinungsbild. CJK-typische EEG Veränderungen konnten bei diesen Patienten nicht beobachtet werden. Im Mausmodell konnte nachgewiesen werden, dass nvCJK und BSE nicht nur fast identische Inkubationszeiten, sondern auch neuropathologische Gemeinsamkeiten aufweisen (Scott et al. 1999). Insgesamt scheinen alle Befunde darauf hinzuweisen, dass BSE und nvCJK durch dasselbe infektiöse Agens ausgelöst werden.

Schließlich können Prionerkrankungen auch hereditär weitergegeben werden, wie etwa im Fall der familiären CJK (fCJK), im Rahmen des Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndroms (GSS) oder der fatalen familiären Insomnie (FFI). Die am häufigsten anzutreffenden Mutationen, die die Ausbildung der pathologischen Isoform des Prionproteins begünstigen, betreffen Codon 200, Codon 102 und Codon 178 des Prionproteingens.

## 1.5.2 Alzheimer-Demenz

Am 03. November 1906 hielt Alois Alzheimer erstmals seinen Vortrag „Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde“, in dem er über die von ihm entdeckte Erkrankung berichtete. Alzheimer behandelte im November 1901 eine 51-jährige Frau, die „komisch geworden“ war. Sie schaffte es nicht mehr, die einfachsten Dinge im Haushalt zu verrichten, versteckte zu Hause alle möglichen Gegenstände, sprach davon verfolgt und belästigt zu werden, belästigte ihrerseits die Nachbarschaft und wurde extrem eifersüchtig.

Die Alzheimer-Demenz ist mittlerweile mit einem Anteil von etwa 2/3 in den westlichen Industriestaaten die häufigste Demenzursache überhaupt (Canadian Study of Health and Aging Working Group 1994; Ott et al. 1995).

Sie hat unter den 65- bis 74-jährigen eine geschätzte Prävalenz von 0,8%, unter den 75- bis 84-jährigen von über 6,6% und unter den über 85-jährigen bereits eine Prävalenz von ca. 23,1% (Bickel 2000). Die Inzidenz der Erkrankung zeigt demnach einen starken Anstieg mit dem Alter.

In der Regel äußert sich die Erkrankung anfangs als leichte kognitive Beeinträchtigung, die vor allem das Speichern und Abrufen neuer Informationen betrifft. Die Alltagsbewältigung bleibt zunächst noch erhalten. Später sind im Allgemeinen alle höheren kortikalen Funktionen betroffen und die Patienten zunehmend abhängig von der Hilfe anderer (Kurz 2002).

Histologisch ist die Erkrankung durch einen Neuronenverlust gekennzeichnet, der eine deutliche Bevorzugung von bestimmten Hirnarealen zeigt. Vor allem sind der Hippokampus, Locus coeruleus, Nucleus basalis Meynert, der entorhinale Kortex und der temporoparietale Kortex betroffen.

Zusätzlich fallen die typischen histomorphologischen Läsionen der Alzheimer-Demenz, bestehend aus senilen Plaques, Alzheimer-Fibrillen und einer Amyloidangiopathie auf.

Senile Plaques sind konzentrische Ablagerungen im Neuropil. Ihr Kern besteht hauptsächlich aus abgelagertem und aggregiertem  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> (Glennner und Wong 1984; Kang et al. 1987), der von einem Kranz aus degenerierten Neuriten und Astrozytenfortsätzen umgeben ist.

Fibrilläre Veränderungen des Zytoskeletts im Neuron bestehen aus Konglomeraten hyperphosphorylierten Tau-Proteins. Sie werden als „tangles“ bezeichnet und finden sich in größter Anzahl in den Gebieten verstärkter Degeneration (Brun und Englund 1981; Braak und Braak 1995).

Bei der AD kommt es durch ein Ungleichgewicht von Tau-Proteinkinasen und Proteinphosphatasen zu einer Hyperphosphorylierung von Tau-Protein. Als Konsequenz wird

postuliert, dass Tau-Protein nicht mehr in der Lage ist, an Mikrotubuli zu binden. Dies führt zu einer Destabilisierung der Mikrotubuli und zu einer Störung des axonalen Transportes.

Hyperphosphoryliertes Tau-Protein neigt zur Bildung von paarigen helikalen Filamenten (Goedert et al. 1991), welche die Entstehung neurofibrillärer Bündel triggern.

Die oben bereits erwähnte Amyloidangiopathie besteht aus Ablagerungen von  $\beta$ -Amyloid<sub>1-40</sub> und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> in der Media leptomeningealer und kleiner kortikaler Gefäße. Sie lassen sich durch eine Kongorot-Färbung darstellen und werden deshalb auch als kongophile Angiopathie bezeichnet.

In der Pathogenese der Alzheimer-Erkrankung wird dem Amyloid-Vorläuferprotein (APP) und seiner proteolytischen Spaltung in A $\beta$ -Peptide eine besondere Bedeutung zugeschrieben. APP wird auf Chromosom 21 codiert und fungiert als Zelloberflächenrezeptor (Kang et al. 1987). Es spielt eine wichtige Rolle bei Lern- und Gedächtnis- sowie Wachstumsprozessen. Während APP im Normalfall durch die  $\alpha$ -Sekretase zwischen Lysin 687 und Leucin 688 in das nicht-plaquebildende lösliche APP (APPs) gespalten wird, kommt es bei der Alzheimer-Demenz zu einer gesteigerten Aktivität der  $\beta$ - bzw. gamma-Sekretasen. Dabei wird APP zuerst durch die  $\beta$ -Sekretase gespalten, daraufhin folgt an verschiedenen Schnittstellen eine gamma-Sekretasen-vermittelte Spaltung, so dass neben dem kürzeren A $\beta$ <sub>40</sub> auch das längere A $\beta$ <sub>42</sub> entsteht (Li et al. 1999). A $\beta$ <sub>42</sub> zeigt starke amyloidogene Eigenschaften und fördert somit die Bildung der senilen Plaques.

APP scheint ähnlich dem zellulären Prionprotein eine wichtige Rolle in der Homöostase des Kupferhaushaltes zu spielen, indem es ebenfalls kupferbindende Eigenschaften besitzt: Während es in der A $\beta$ -Region niedrigaffin Kupfer binden kann, bindet es im N-terminalen Bereich Cu-Ionen hochaffin. In diesem Bereich können außerdem Cu-II-Ionen zu Cu-I-Ionen reduziert werden, auf diese Weise können hier potentiell Radikale entstehen (Multhaup et al. 1996; Multhaup et al. 1998).

### 1.5.3 Demenz mit Lewy-Körperchen

Der Begriff Demenz mit Lewy-Körperchen wurde 1995 durch eine Konsensuskonferenz eingeführt (McKeith et al. 1996). Lewy-Körperchen sind intrazytoplasmatische, neuronale, eosinophile Einschlusskörperchen und ursprünglich von Friedrich Lewy als das typische pathologische Korrelat des Morbus Parkinson beschrieben worden. Bei der Demenz mit Lewy-Körperchen findet man sie sowohl im Hirnstamm als auch im limbischen Kortex und im Neokortex.

Es handelt sich um eine Erkrankung mit obligatorisch progredientem Abbau kognitiver Funktionen. Charakteristisch und für die Diagnosestellung von großer Bedeutung ist eine kognitive Fluktuation im Verlauf der Erkrankung, wobei diese vor allem die Aufmerksamkeit

und Konzentration betrifft. Motorisch stehen Parkinsonsymptome im Vordergrund. Des Weiteren zeigen die Patienten häufig detailreiche visuelle Halluzinationen und entwickeln Wahnvorstellungen. Beim Versuch einer neuroleptischen Behandlung dieser psychiatrischen Symptome kommt es häufig zu einer Exazerbation der extrapyramidalen Symptomatik bis hin zu einer extrapyramidalen Krise, weshalb die Gabe konventioneller Neuroleptika als kontraindiziert gilt (McKeith et al. 1992). Das Bild der Erkrankung ist darüber hinaus durch häufige Stürze und Synkopen gekennzeichnet, wodurch die Diagnose weiter gestützt wird (McKeith et al. 1996).

Eine klinische Unterscheidung gestaltet sich häufig nicht ganz einfach, da auch eine Demenz vom Alzheimer-Typ mit einer extrapyramidalen Symptomatik einhergehen kann, beziehungsweise bei im Vordergrund stehender motorischer Symptomatik eine Abgrenzung zum echten Morbus Parkinson schwierig sein kann.

### **1.5.4 Normaldruckhydrozephalus**

Der Normaldruckhydrozephalus wurde erstmals 1965 von Adams et al. beschrieben. Trenkwalder et al. (1995) gehen von einer Prävalenz von etwa 0,4% bei über 65-jährigen aus. Das Erkrankungsrisiko steigt mit höherem Lebensalter an, der Altersgipfel der Erkrankung liegt etwa bei 70 Jahren.

Klinisch imponiert der NPH durch eine Trias aus kognitiver Störung, Störung des Gangbildes sowie Harninkontinenz.

In Abgrenzung zum obstruktiven Hydrozephalus stehen beim Normaldruckhydrozephalus die inneren Liquorwege miteinander in Verbindung (Hydrocephalus communicans). Insbesondere ein hyperdynamer Fluss im Aquädukt ist für diese Erkrankung typisch (Bradley et al. 1991).

Anders als der Name „Normaldruckhydrozephalus“ vermuten lässt, kommt es vor allem während REM-Schlafphasen zu periodischen Liquordrucksteigerungen, die einen transependymalen Übertritt von Liquor in die Marklager bedingen. In der Bildgebung (MRT oder Computertomographie) äußert sich dies typischerweise als eine frontalebentete periventrikuläre Randunschärfe. Zusätzlich ist die überproportionale Erweiterung der Seitenventrikel bei nur geringer kortikaler Atrophie leicht erkennbar.

Diagnostisch ist entscheidend, dass es nach einer Liquorpunktion mit Ablassen von ca. 40 ml Liquor klinisch zu einer Besserung der Symptomatik kommt (spinal tap), der Normaldruckhydrozephalus gehört deshalb zu den prinzipiell reversiblen Ursachen einer Demenzerkrankung. Die Demenz ist allerdings das Symptom, welches am wenigsten auf eine Liquorablassung anspricht (Clarfield 1989; Arnold und Kumar 1993). Eine Erklärung hierfür ist die in neueren Studien gezeigte Komorbidität mit einer Alzheimer-Pathologie, die

durch die Druckentlastung nicht gebessert wird (Silverberg et al. 2003). Therapeutisches Mittel der Wahl bleibt nichtsdestotrotz die Shuntoperation, die laut Literaturübersicht in etwa 59% der Fälle Erfolge erzielt (Hebb und Cusimano 2001).

### **1.5.5 Morbus Parkinson**

Morbus Parkinson beschreibt die Erkrankung des idiopathischen Parkinsonsyndroms und hat schätzungsweise eine Prävalenz von 1% bei über 60-Jährigen (de Lau und Breteler 2006). Es ist damit nach der Alzheimer-Demenz die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung. Der Altersgipfel der Erkrankung liegt in der 6. Lebensdekade und Männer scheinen insgesamt häufiger betroffen zu sein als Frauen.

Die Diagnose eines Parkinsonsyndroms beinhaltet definitionsgemäß das Vorliegen einer Akinese sowie eines der folgenden Kardinalsymptome:

- muskulärer Rigor
- (Ruhe-)tremor
- reduzierte Stell- und Haltereфлекse.

Die oben genannten Symptome zeigen am Anfang der Erkrankung häufig einen einseitigen Beginn und oft persistiert eine Asymmetrie im Krankheitsverlauf. Diese Beobachtung kann zur klinischen Abgrenzung gegenüber einem sekundär bedingten Parkinsonsyndrom von diagnostischer Bedeutung sein, ebenso wie das für das idiopathische Parkinsonsyndrom typische gute Ansprechen auf L-DOPA. Demzufolge wird das idiopathische Parkinsonsyndrom vorwiegend klinisch diagnostiziert (Gelb et al. 1999). Begleitend treten vegetative Symptome wie Störungen der Temperatur- und Blutdruckregulation, Harnblasenstörungen sowie Störungen sexueller Funktionen auf. Auch psychische Symptome wie Depressionen, sensorische Symptome wie Dysästhesien und Schmerzen sowie kognitive Symptome, beispielsweise in Form frontaler Störungen, lassen sich häufig krankheitsbegleitend diagnostizieren. Im späten Verlauf weisen PD-Patienten nicht selten eine Demenz auf. Ursächlich für die Erkrankung ist der Untergang dopaminerger Neurone in der Pars compacta der Substantia nigra mit einem konsekutiven Mangel an Dopamin im Striatum. Neuropathologisch ist die aus dem Zelluntergang resultierende Depigmentierung der Substantia nigra im Mittelhirn bereits makroskopisch sichtbar, daneben finden sich wie bei der Demenz mit Lewy-Körperchen Ablagerungen von Lewy-Körperchen, intrazytoplasmatischen ubiquitinierten Proteinaggregationen, die vor allem aus  $\alpha$ -Synuclein bestehen (Corti et al. 2005).

## 1.6 Liquormarker

### 1.6.1 $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> im Liquor cerebrospinalis

$\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> ist ein in der klinischen Routine gebräuchlicher CSF-Biomarker, der zur Diagnostik der Alzheimer-Demenz herangezogen wird. Die Konzentration von  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> ist im Liquor von Patienten mit einer AD im Vergleich zu gleichaltrigen Gesunden herabgesetzt (Galasko 1998; Strozyk et al. 2003) und eignet sich daher als Indikator für das Vorliegen einer Demenz.

Erniedrigte  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>-Konzentrationen sind jedoch kein AD-spezifischer Befund, herabgesetzte  $A\beta_{42}$ -Konzentrationen finden sich unter anderem auch im Liquor von Patienten mit einer DLB (Mollenhauer et al. 2005; Parnetti et al. 2001), einer CJK (Otto et al. 2000), bei Patienten mit Morbus Parkinson (Mollenhauer et al. 2006) sowie ebenfalls beim NPH (Lins et al. 2004).

$\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> ist demnach nicht in der Lage, zwischen verschiedenen Demenzerkrankungen zu diskriminieren. Als Referenzwerte für Gesunde werden Werte zwischen 500 pg/ml und 1700 pg/ml angegeben, während für Alzheimer-Patienten Werte zwischen 400 pg/ml und 700 pg/ml ermittelt wurden (Hulstaert et al. 1999; Sjögren 2001).

### 1.6.2 Tau-Protein im Liquor cerebrospinalis

Ähnlich wie  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>, gehört Tau-Protein zu den klinisch gebräuchlichen Laborparametern zur Diagnostik einer Demenz. Auch Tau-Protein ist nicht spezifisch für eine einzige Demenz, denn erhöhte CSF-Tau-Konzentrationen finden sich neben der AD (Arai et al. 1995; Riemenschneider et al. 1996; Shoji et al. 1998) ebenfalls bei der Demenz mit Lewy-Körperchen (Mollenhauer et al. 2005) sowie besonders stark erhöht im Liquor von CJK-Patienten (Otto et al. 1997a). Über erhöhte Tau-Protein-Konzentrationen im Liquor ist auch bei NPH-Patienten (Kudo et al. 2000) sowie bei Patienten mit Morbus Parkinson berichtet worden (Mollenhauer et al. 2006). Tau-Protein gilt damit als Surrogatparameter für das Vorliegen einer neuronalen Schädigung, da bei jeder Art von Zellschädigung Tau-Protein aus den Zellen freigesetzt wird.

### 1.6.3 PrP<sup>c</sup> im Liquor cerebrospinalis

Bis heute sind einige Arbeiten veröffentlicht worden, in denen PrP<sup>c</sup> im Liquor nachgewiesen und gemessen werden konnte. Angestoßen durch die Entdeckung von PrP<sup>c</sup> in zellfreien Translationssystemen (Hay et al. 1987) und Zellkulturen (Caughey et al. 1989), konnten

Tagliavini et al. 1992 erstmals über eine im menschlichen Liquor cerebrospinalis gelöste Form des Prionproteins berichten, welche in ihren molekularen Eigenschaften der physiologischen Form des Prionproteins entsprach (Tagliavini et al. 1992). Im Laufe der Zeit wurden weitere Arbeiten veröffentlicht, die primär die pathologische Proteinase-K-resistente Form nachzuweisen versuchten, um auf diese Art die Infektiosität des Liquor cerebrospinalis von an Creutzfeldt-Jakob Erkrankten analog der Infektiosität von Blut und Blutbestandteilen aufzuzeigen.

Nichtsdestotrotz konnte in der 2001 von Wong et al. publizierten Arbeit lediglich die physiologische, Proteinase-K-sensitive Form des Prionproteins im Liquor von CJK-Erkrankten nachgewiesen werden, Unterschiede ergaben sich allerdings in der Höhe der PrP-Konzentrationen, die bei CJK-Proben teilweise niedriger waren. Fünf Jahre später folgte eine weitere Studie, die das Prionproteinmuster im Liquor cerebrospinalis von Scrapie-infizierten Schafen mit dem von nicht-infizierten Tieren verglichen hat. In dieser Arbeit konnte, mit Ausnahme einer geringfügig gesteigerten Resistenz des Prionproteins gegenüber Proteinase-K-Verdau im Liquor erkrankter Tiere verglichen mit gesunden Tieren, weder ein verändertes elektrophoretisches Profil noch eine veränderte Konzentration des Prionproteins zwischen beiden Gruppen festgestellt werden (Picard-Hagen et al. 2006). Ebenfalls 2006 erschien eine Arbeit von Boesenberg-Grosse et al., in der neben weiteren Markerproteinen auch PrP<sup>c</sup> im Liquor von Creutzfeldt-Jakob-Erkrankten gemessen und mit neuropathologischen Läsionsprofilen verglichen worden ist. Hierbei zeigte sich eine Korrelation zwischen dem kortikalen Nervenzellverlust und einer Erniedrigung der PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentration.

## 1.7 Aufgabenstellung und Zielsetzung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der physiologischen Form des Prionproteins bei neurologischen Erkrankungen. In der wissenschaftlichen Literatur liegen bislang überwiegend Arbeiten zur Frage der Rolle der pathologischen Form des Prionproteins (PrP<sup>Sc</sup>) bei Prionerkrankungen vor, die Fragestellung zur potentiellen Beteiligung des PrP<sup>c</sup> bei anderen neurologischen Erkrankungen ist bislang jedoch kaum bearbeitet worden.

Diese Arbeit soll die Rolle der physiologischen Form des Prionproteins bei neurologischen Erkrankungen des Menschen näher beleuchten. Unter dem Gesichtspunkt einer möglichen neuroprotektiven Funktion des Prionproteins sollen die Konzentrationen von PrP<sup>c</sup> im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen gemessen und mit denen von neurologisch gesunden Kontrollen verglichen werden. Dabei soll die Fragestellung diskutiert werden, welche Rückschlüsse aus einer erhöhten oder erniedrigten PrP<sup>c</sup>-Konzentration im Hinblick auf dessen Funktion gezogen werden können. Zusätzlich soll evaluiert werden, ob Faktoren wie Alter, Geschlecht, Schweregrad einer Erkrankung oder im Fall der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung genetische Polymorphismen Einfluss auf die Höhe der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen ausüben.

Darüber hinaus soll in der Arbeit herausgestellt werden, ob PrP<sup>c</sup> möglicherweise auch als Markerprotein zur Diagnostik von neurologischen Erkrankungen herangezogen werden könnte und ob es hierbei mit klinisch gebräuchlichen Markern wie  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> oder Tau-Protein, die in der Diagnostik von Demenzerkrankungen Verwendung finden, korreliert werden kann.

Da das Gehirn in direktem Kontakt mit der cerebrospinalen Flüssigkeit steht, sich pathologische Prozesse daher besonders gut in ihr widerspiegeln und sie einer Untersuchung relativ einfach zugänglich ist, wurde Liquor cerebrospinalis als Untersuchungsmedium gewählt.

Prionerkrankungen gehören der Gruppe der neurodegenerativen Erkrankungen an, daher liegt ein Schwerpunkt auf der Untersuchung dieser Erkrankungen. Nichtsdestotrotz soll es Ziel dieser Arbeit sein, möglichst mehrere unterschiedliche Entitäten neurologischer Erkrankungen zu erfassen, um auch Aussagen über die Rolle des PrP<sup>c</sup> beispielsweise bei entzündlichen Erkrankungen oder ischämisch bedingten Erkrankungen des zentralen Nervensystems treffen zu können.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Patienten**

In der vorliegenden Arbeit wurden 317 Liquorproben untersucht, die Patienten mit folgenden Erkrankungen entnommen worden sind: Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK), Alzheimer-Demenz (AD), Normaldruckhydrozephalus (NPH), Demenz mit Lewy-Körperchen (DLB), Morbus Parkinson, Encephalomyelitis disseminata (ED), ischämische Hirninsulte, generalisierte epileptische Anfälle und entzündliche ZNS-Erkrankungen wie Meningitis und Enzephalitis.

Die verwendeten Liquorproben stammten zum einen von Patienten, die der Göttinger Prionforschungsgruppe im Rahmen der dort seit 1993 durchgeführten epidemiologischen Studie zur systematischen Erfassung und Beurteilung von Prionerkrankungen in Deutschland als CJK-Verdachtsfälle gemeldet worden sind und deren Liquor dort konsiliarisch mit der differentialdiagnostischen Fragestellung auf das Vorliegen einer CJK untersucht worden ist.

Weitere Proben stammten aus dem Neurochemischen Labor des Klinikums der Georg-August-Universität Göttingen. Diese Liquorproben wurden Patienten entnommen, die stationär oder ambulant in der Abteilung Neurologie des Universitätsklinikums Göttingen behandelt worden sind. Die Ethik-Kommission der Universität Göttingen hat sich in ihrer Sitzung vom 17.02.2005 mit dieser Studie befasst und ihre Durchführung bewilligt.

#### **2.1.1 Kontrollen**

Als Kontrollen dienten insgesamt 40 Proben von Patienten, denen im Rahmen eines ambulanten oder stationären Aufenthaltes in der neurologischen Abteilung des Universitätsklinikums Göttingen Liquor cerebrospinalis zu diagnostischen Zwecken entnommen wurde und bei denen eine organische Krankheitsursache ausgeschlossen werden konnte. Die neurochemische Untersuchung des Liquors zeigte keine pathologischen Befunde.

Als Diagnosen wurden bei diesen Patienten vorwiegend Depressionen, Erkrankungen des peripheren Nervensystems sowie Kopfschmerzen ohne organische Genese gestellt.

Da die Altersstrukturen in den hier untersuchten Krankheitsgruppen sehr heterogen sind (die Gruppe der neurodegenerativen Erkrankungen besteht mit wenigen Ausnahmen aus älteren Patienten), wurde das Kontrollkollektiv in eine Gruppe jüngerer (jünger als 40 Jahre) und in

eine Gruppe älterer Kontrollen (älter als 40 Jahre) unterteilt, und jede Erkrankungsgruppe mit hinsichtlich der Altersstruktur vergleichbaren Kontrollgruppen verglichen.

### **2.1.2 Creutzfeldt-Jakob-Krankheit**

In dieser Gruppe wurden 117 sporadisch aufgetretene CJK Fälle untersucht, iatrogene, familiäre oder genetische CJK Fälle sind nicht mit eingeschlossen worden. In allen Fällen wurde bereits klinisch die Diagnose „wahrscheinliche sCJK“ gemäss der im Folgenden erläuterten Klassifikationskriterien der WHO von 1998 gestellt (Zerr et al. 2000):

Essentiell für diese Diagnose ist das Vorliegen einer progressiven Demenz von weniger als 2 Jahren, typische EEG-Veränderungen im Sinne periodischer Sharp-wave-Komplexe und/oder der Nachweis der Proteine 14-3-3 im Liquor cerebrospinalis sowie mindestens 2 der folgenden 4 klinischen Erscheinungsformen:

1. Myoklonien
2. visuelle und/oder zerebelläre Symptome
3. pyramidale und/oder extrapyramidale Störungen
4. akinetischer Mutismus.

Die Kriterien zur Diagnosestellung „mögliche sCJK“ beinhalten ebenfalls eine progressive Demenz von weniger als 2 Jahren Dauer sowie 2 von 4 der oben genannten klinischen Erscheinungsformen, jedoch ohne vorliegendes EEG oder Fehlen typischer EEG-Veränderungen und ohne Nachweis von 14-3-3 Proteinen im Liquor.

In allen Fällen wurde eine postmortale neuropathologische Untersuchung durchgeführt und die Diagnose so bestätigt. Tau-Protein-Konzentrationen wurden in 112 und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>-Konzentrationen in 76 Fällen bestimmt.

### **2.1.3 Alzheimer-Demenz**

Bei den in dieser Gruppe untersuchten 29 Patienten wurde die Diagnose einer AD nach den Richtlinien der NINCDS-ADRDA gestellt (McKhann et al. 1984). Nach diesen Kriterien gilt eine AD als wahrscheinlich, wenn eine fortschreitende Verschlechterung von Gedächtnis und anderen kognitiven Funktionen vorliegt, ohne dass eine systemische oder zerebrale Ursache für die Defizite in Frage kommt und Defizite in mindestens 2 kognitiven Funktionen (z.B. Aphasie, Alexie, Akalkulie, Apraxie) vorhanden sind.

Die Diagnose einer möglichen AD wird gestellt, wenn die klinische Diagnose aufgrund unzureichender Informationen oder des Vorhandenseins anderer Erkrankungen von potentieller Ätiologie offen bleibt. Eine definitive AD bleibt nach diesen Kriterien der neuropathologischen Untersuchung vorenthalten.

Fälle mit einer neurologischen Begleiterkrankung wie einem ischämischen Hirninfarkt in der jüngeren Anamnese, einem kürzlich stattgehabten epileptischen Anfall oder einer vaskulären Enzephalopathie wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. In jeweils 18 der hier untersuchten Fälle wurden die Konzentrationen von Tau-Protein und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> bestimmt.

### **2.1.4 Demenz mit Lewy-Körperchen**

Die Diagnosen der hier untersuchten 21 Fälle basierten auf den Empfehlungen der Konsensuskonferenz von 1995 (McKeith et al. 1996), als Ausschlusskriterien galten die in 2.1.3 bereits für die AD-Gruppe beschriebenen Ausschlusskriterien. In 12 Fällen wurde zusätzlich die Konzentration von Tau-Protein ermittelt sowie in 8 Fällen die Konzentration von  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>.

### **2.1.5 Normaldruckhydrozephalus**

In dieser 24 Fälle umfassenden Gruppe wurden lediglich Proben von Patienten untersucht, die mindestens 2 der 3 NPH-typischen Symptome (kognitive Störung, Gangstörung und Harninkontinenz) aufwiesen und bei denen es nach einer probatorischen Liquorentnahme zu einer Verbesserung der beschriebenen Symptomatik gekommen war. Die neuroradiologische Untersuchung dieser Patienten musste mit dem Bild eines Normaldruckhydrozephalus vereinbar gewesen sein. Als Ausschlusskriterien galten ebenfalls die in 2.1.3 für die AD-Gruppe aufgeführten Kriterien. In 12 der hier untersuchten Fälle wurde die Konzentration von Tau-Protein bestimmt, in 7 Fällen die Konzentration von  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>.

### **2.1.6 Morbus Parkinson**

In dieser Gruppe wurden 27 überwiegend nicht-demente Patienten mit einem idiopathischen Parkinsonsyndrom untersucht. Die Diagnosen in dieser Gruppe wurden nach den Richtlinien der ICD-10 gestellt. Patienten mit einem Parkinson-Syndrom sekundärer Genese wurden nicht mit eingeschlossen. Auch in dieser Gruppe wurden nur Fälle untersucht, die nicht die in 2.1.3 aufgeführten Ausschlusskriterien erfüllten.

### **2.1.7 Generalisierte epileptische Anfälle**

In dieser Gruppe wurden 13 Patienten untersucht, die einen primär generalisierten oder primär fokal, sekundär generalisierten tonisch-klonischen Krampfanfall erlitten hatten. Es wurden ausschließlich Patienten eingeschlossen, bei denen eine symptomatische Ursache des Anfalls etwa im Rahmen entzündlicher oder raumfordernder ZNS-Prozesse ausgeschlossen werden konnte. In der Mehrzahl der Fälle (62%) konnte eine genuine Epilepsie diagnostiziert werden, in anderen Fällen (38%) wurden als Auslöser Provokationsfaktoren wie Schlafentzug oder in einem Fall Schmerzmittelabusus angegeben. Die Liquorpunktionen bei diesen Patienten wurden durchschnittlich 2,75 Tage nach dem Anfall durchgeführt, die Schwankungsbreite lag in einem Bereich von 0-6 Tagen.

### **2.1.8 Encephalomyelitis disseminata**

Es wurden CSF-Proben von 11 Patienten untersucht, bei denen basierend auf den McDonald Kriterien (McDonald et al. 2001) die Diagnose schubförmig remittierender/ progredienter oder aber primär chronisch verlaufender Formen der ED gestellt wurde.

### **2.1.9 Meningitis und Enzephalitis**

Die Diagnosen der hier untersuchten 14 Patienten basierten auf Kriterien der ICD-10. Bei diesen Patienten wurden akute Entzündungen der Hirnhäute, des Gehirns, des Kleinhirns oder des Hirnstammes diagnostiziert, die durch verschiedene Pathogene ausgelöst worden sind. Als Erreger konnten Herpes simplex I, Herpes simplex II, Varizella Zoster und Pneumokokken nachgewiesen werden. In einigen Fällen konnte kein spezifischer Erreger nachgewiesen werden.

### **2.1.10 Ischämische Hirninsulte**

In diese Gruppe wurden 21 Fälle von Patienten mit einem stattgehabten ischämischen Hirninsult eingeschlossen. Hierbei waren unterschiedliche Hirnareale betroffen. In der Mehrzahl der Fälle handelte es sich um ischämische Hirninsulte im rechts- oder linksseitigen Mediastromgebiet (78%), zusätzlich wurden Hirnstamminsulte (11%), Insulte im Kleinhirnbereich (5%) sowie Insulte im posterioren Stromgebiet (5%) diagnostiziert. Die Liquorpunktionen wurden durchschnittlich 7 Tage nach dem Insultereignis bei einer Schwankungsbreite von 1 Tag bis zu 15 Tagen durchgeführt.

Die Diagnosen in dieser Gruppe wurden nach Kriterien der ICD-10 gestellt, Fälle mit einer Ischämie auf dem Boden einer Vaskulitis oder anderer entzündlicher Erkrankungen sowie Fälle mit einer dementiellen oder anderweitigen Erkrankungen des ZNS wurden nicht mit eingeschlossen.

### **2.2 Gewinnung und Aufarbeitung des Liquor cerebrospinalis**

Alle Proben wurden zwischen Januar 1997 und Dezember 2005 entnommen und gesammelt.

In allen Fällen wurde Liquor im Rahmen der Routinediagnostik entnommen und ausschließlich Material verwendet, das nach Abschluss der angeforderten Tests übrig blieb, eine Mehrbelastung der Patienten durch zusätzliche Liquorpunktionen entstand nicht.

Die Lumbalpunktionen wurden unter den üblichen Bedingungen durchgeführt.

Der Liquor wurde nach der Lumbalpunktion aliquotiert und daraufhin in 1,5 ml Reaktionsgefäßen bei -80°C eingefroren. Auf diese Weise wurden die Proben bis zum Tag der Untersuchung gelagert.

Alle Proben wurden maximal dreimal eingefroren und wieder aufgetaut.

Blutige Liquorproben wurden von der Untersuchung ausgeschlossen.

### **2.3 Geräte**

- Mikrotiter-Platten-Reader (1420 Multilabel Counter Victor2, Perkin Elmer Wallac GmbH, Freiburg)
- Mikrotiter-Platten-Washer (Columbus, Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim)
- Tischzentrifuge (Centrifuge 5810 R, Eppendorf AG, Hamburg)
- Zentrifuge (Centrifuge 5415 D, Eppendorf AG, Hamburg)
- Brutschrank (General Electrics)

### **2.4 Verbrauchsmaterialien und Chemikalien**

- Platelia-BSE-Test (Bio-Rad Laboratories GmbH, München)
- INNOTEST® beta-AMYLOID (1-42) (Innogenetics, Ghent, Belgien)
- hAmyloid  $\beta$ 42 ELISA® (Genetics Company, Schlieren, Schweiz)
- INNOTEST® hTau Ag (Innogenetics, Ghent, Belgien)
- Rekombinantes Prionprotein (Prionics, Zürich, Schweiz)
- 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße

## 2.5 ELISA

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent Assay) ist eine weit verbreitete Methode zur quantitativen Bestimmung von Proteinen, die auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion basiert. Das Prinzip dieses Verfahrens beruht darauf, dass ein Antikörper (coating-Antikörper), der spezifisch an das zu untersuchende Protein oder Molekül bindet, an der Oberfläche einer Testplatte immobilisiert gebunden vorliegt.

Wird daraufhin das zu untersuchende Protein in die Probenkammer der Testplatte gegeben, so kann nun dieser Antikörper eine Bindung mit dem Protein eingehen. Nach einer bestimmten Inkubationszeit wird der nicht-gebundene Anteil der Probe durch eine Waschlösung entfernt, so dass nur noch der von Antikörpern gebundene Teil der Probe vorliegt. In einem nächsten Schritt wird ein Detektions-Antikörper hinzugegeben, an dessen Ende ein Enzym, meist Meerrettichperoxidase (HRP) oder alkalische Phosphatase (AP), gebunden ist. Dieser Detektionsantikörper geht ebenfalls eine Bindung mit dem zu untersuchenden Protein ein. Wichtig ist, dass er an einer anderen Stelle des Proteins bindet als der auf der Platte immobilisierte Antikörper. Auf diese Weise liegt das zu untersuchende Antigen zwischen zwei Antikörpern gebunden vor, ähnlich wie in einem Sandwich („Sandwich-Technik“).

Nach erneutem Waschen werden überschüssige Detektions-Antikörper ausgewaschen und daraufhin ein zum Enzym passendes Substrat hinzugegeben, welches als Chromogen fungiert und nach der enzymatischen Reaktion einen Farbumschlag zeigt.

Nach Zugabe einer Stopplösung, die die Farbreaktion beendet, kann in einem Photometer die Farbintensität gemessen werden. Diese ist proportional zur Höhe der zu messenden Antigenkonzentration, so dass beim Vergleich mit einer Eichkurve die genauen Antigenkonzentrationen ermittelt werden können.

### 2.5.1 Bestimmung von PrP<sup>c</sup> im Liquor cerebrospinalis

Die Messung der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen erfolgte mit dem Platelia-BSE-Test der Firma Bio-Rad. Bei diesem Test handelt es sich um ein handelsübliches Testkit (12x8 well-Testplatte) zum qualitativen in-vitro-Nachweis von PrP<sup>Sc</sup> bei Rindern und Schafen auf enzymimmunologischer Basis.

Die Analysen erfolgten mit Ausnahme einiger Modifikationen analog zu den im Benutzerhandbuch dargelegten Schritten. Der laut Benutzerhandbuch durchzuführende Proteinase-K-Verdau entfiel für diese Arbeit. Dieser Schritt dient dem Verdau der physiologischen Isoform PrP<sup>c</sup>, die im Rahmen der BSE-Testung zur Analyse der pathologischen Isoform PrP<sup>Sc</sup> störend wäre (Zerr et al. 2004).

Zur Kalibrierung diente eine aus 8 wells bestehende Verdünnungsreihe mit rekombinantem PrP (Prionics, Zürich, Schweiz), aus der eine Eichkurve erstellt wurde.

Die Untersuchung der Proben erfolgte bei Raumtemperatur, verwendet wurden jeweils 1  $\mu$ l der zu untersuchenden Probe, die zu den vorher auf die Titerplatte pipettierten 99  $\mu$ l eines Probenverdünnungspuffers (im Testkit enthalten) hinzugegeben wurden. Anschließend wurde die Titerplatte für 75 min. bei 37° C inkubiert.

Nach der Inkubation wurde ein fünffacher Waschschrift mit einer Pufferlösung (Tris-NaCl, pH 7,4; im Testkit enthalten und zuvor hergestellt) durchgeführt.

Nach diesem Schritt wurde die Mikrotiterplatte auf saugfähigem Papier umgedreht, um restliche Flüssigkeit zu entfernen. Anschließend wurden sofort 100  $\mu$ l der ebenfalls im Kit mitgelieferten und zuvor hergestellten Konjugatlösung (peroxidasemarkierter monoklonaler PrP-Antikörper) in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte hineingegeben. Die Platte wurde daraufhin für 60 min. bei +2,8°C inkubiert.

Nach dieser zweiten Inkubation wurde die Platte erneut fünffach gewaschen und zur Entfernung restlicher Flüssigkeit auf saugfähigem Papier umgedreht.

Im nächsten Schritt erfolgte die Zugabe von 100  $\mu$ l der enzymatischen Entwicklungslösung, die aus einem Peroxidasesubstratpuffer (Zitronensäure und Natriumacetat pH 7,4 mit 0,015% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 4% Dimethylsulfoxid) und dem Chromogen Tetramethylbenzidinlösung besteht (ebenfalls mitgeliefert und laut Handbuch zuvor hergestellt). Nach Zugabe der Entwicklungslösung wurde die Platte für 30 min. bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden 100  $\mu$ l 1 N-Schwefelsäure, die als Stopplösung fungiert, ebenfalls im Kit enthalten ist und zuvor hergestellt wurde, zu jeder Probe hinzugegeben. Die Zugabe der Stopplösung erfolgte in der gleichen zeitlichen Reihenfolge wie die Zugabe der Entwicklungslösung. Unmittelbar nach Anhalten der Reaktion wurde die Extinktion im Mikrotiter-Platten-Reader bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Die dadurch ermittelten Werte gaben mit Hilfe der sigmoidalen Eichkurve Aufschluss über die Höhe der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen.

### **2.5.2 Bestimmung von $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> im Liquor cerebrospinalis**

Die Bestimmung von A $\beta$ <sub>1-42</sub> erfolgte mit handelsüblichen Testkits auf enzymimmunologischer Basis. Hierzu wurde mit Ausnahme der CJK-Proben der hAmyloid  $\beta$ 42 ELISA® der Firma Genetics Company (Schlieren, Schweiz) verwendet.

Zur Messung der CJK Proben wurde der INNOTEST® beta-AMYLOID (1-42) der Firma Innogenetics (Gent, Belgien, untere Nachweisgrenze bei 50 pg/ml) verwendet. Die Benutzung von zwei unterschiedlichen Testkits zur Messung der A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Konzentrationen lag in einer unterschiedlichen Verfügbarkeit der Testkits begründet.

### **2.5.3 Bestimmung von Tau Protein im Liquor cerebrospinalis**

Die Bestimmung von Tau-Protein erfolgte ebenfalls mittels ELISA-Technik, hierzu wurde der Testkit INNOTEST® hTau Ag der Firma Innogenetics (Ghent, Belgien, untere Nachweisgrenze bei 60 pg/ml) verwendet.

## **2.6 Genetische Untersuchungen**

Der Polymorphismus am Codon 129 des Prionproteingens wurde nach DNA-Isolierung aus Blutzellen nach standardisierten Methoden durchgeführt (Windl et al. 1999).

## **2.7 Statistische Auswertungen**

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms „SPSS für windows“, Version 11.5.

Zum statistischen Vergleich der Erkrankungs- und Kontrollgruppen wurde die Fisher-Varianz-Analyse (einfaktorielle ANOVA) verwendet.

Auf diese Weise wurden Mittelwerte einer Variablen bei mehr als zwei Fallgruppen untersucht. Als post-hoc Test wurde der Test nach Bonferroni verwendet.

Der Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben wurde benutzt, wenn nur die Mittelwerte zweier Fallgruppen miteinander verglichen werden sollten (Ermittlung von Geschlechterunterschieden).

Zusammenhänge zweier Parameter wurden mittels einer linearen Regressionsanalyse errechnet. Um den Einfluss mehrerer Parameter auf eine abhängige Variable überprüfen zu können, wurde eine schrittweise multiple Regressionsanalyse durchgeführt; die bei diesen Berechnungen berücksichtigten Kovariablen sind im Text genannt. Der Regressionskoeffizient wurde jeweils als  $\beta$  angegeben. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet.

### **2.7.1 Boxplots**

Zur graphischen Darstellung der Daten wurden die sogenannten Box-Whisker-Plots benutzt. Dabei stellt die Box den Interquartilenbereich dar, der 50% der Daten umfasst. Der Boden der Box stellt den 25-Perzentilenbereich und das Dach der Box den 75-Perzentilenbereich dar. Die horizontale Linie in der Box entspricht dem Median. Die vertikalen Linien ausserhalb der Box werden als Whisker bezeichnet. Ihre Länge beträgt maximal das 1,5fache des Interquartilenabstandes. Milde Ausreißer werden als Kreis dargestellt und liegen

definitionsgemäß zwischen dem 1,5- und 3fachen des Interquartilenabstandes, Ausreißer überhalb des 3fachen Interquartilenabstandes werden als Stern dargestellt.

### **2.7.2 Diagnostische Wertigkeit und Youden-Index**

Zur Bestimmung der diagnostischen Wertigkeit von PrP<sup>c</sup> im Liquor wurde der optimale Cut-off-Punkt bestimmt, der den besten Youden-Index widerspiegelt. Der Youden-Index ist eine zusammenfassende Maßzahl aus Sensitivität und Spezifität und fasst die Güte eines diagnostischen Tests in einem Wert zusammen. Er errechnet sich aus der Summe aus Sensitivität und Spezifität minus 1.

Der Youden-Index nimmt somit Werte zwischen 0 und 1 an, je näher der Wert bei 1 liegt, umso besser ist die Güte eines Testverfahrens.

Sensitivitäten und Spezifitäten wurden mit einer Vierfeldertafel errechnet.

## **2.8 Einteilung der neurodegenerativen Erkrankungen nach Schweregrad**

Zur genaueren Analyse wurde versucht, alle untersuchten Fälle nach dem Schweregrad der Erkrankung zum Zeitpunkt der Probengewinnung einzuteilen.

Da dies eine retrospektive Studie ist und eine Einteilung deshalb nur anhand der schriftlichen Mitteilungen in Akten und Arztbriefen geschehen konnte, war eine Einteilung in verschiedene Schweregrade in einigen Fällen auf Grund unzureichender Informationen nicht möglich. Im Fall der Gruppe Morbus Parkinson wurde aus diesem Grund auf eine Einteilung gänzlich verzichtet.

Die Fälle wurden nach jeweils krankheitsspezifischen Gesichtspunkten eingeteilt, die im Folgenden dargestellt werden:

### **2.8.1 Schweregradklassifizierung von AD- und DLB-Patienten**

Es existiert eine Vielzahl von neuropsychologischen Testverfahren, mit deren Hilfe dementielle Erkrankungen in verschiedene Schweregrade eingeteilt werden können.

Ein weit verbreiteter Test ist der sogenannte „mini-mental state test“ (MMST) (Folstein et al. 1975). Bei diesem schnell und einfach durchzuführenden standardisierten Test zur Klassifizierung von Demenzen kann der Patient in verschiedenen test-psychologischen Aufgaben eine Gesamtpunktzahl von maximal 30 Punkten erreichen. In diesem Test entspricht eine erreichte Punktzahl von 26-30 Punkten noch einem Normalbefund, eine Punktzahl von 18-25 entspricht in etwa einer leichten Demenz, eine Punktzahl von 11-17 findet man bei mittelschwer betroffenen Demenz-Kranken und ein schwer betroffener Patient erreicht 0 bis maximal 10 Punkte. In dieser Arbeit wurde die Schweregradeinteilung der AD- und DLB-Patienten neben der klinischen Beurteilung vorwiegend auf der Basis dieses Tests durchgeführt, da er auch bei den meisten der hier untersuchten Fälle durchgeführt wurde.

Ergänzend dazu beziehungsweise bei Fehlen einer neuropsychologischen Testung sind die Fälle nach klinischen Gesichtspunkten eingeteilt worden. Dazu zählen Merkmale wie Störungen kognitiver Funktionen, Alltagsbewältigung, Störungen von Antrieb und Affekt und Störungen körperlicher Funktionen. Tabelle 1 zeigt wesentliche Veränderungen in Abhängigkeit des jeweiligen Demenzstadiums.

## Material und Methoden

	frühes Stadium	mittleres Stadium	spätes Stadium
Lernen und Gedächtnis	zunehmende Lernschwäche, auch Altgedächtnis betroffen	Hochgradige Vergesslichkeit, Erinnerung an eigene Biographie verblasst	alle höheren psychischen Funktionen erlöschen allmählich, sprachliche Äusserungen sind auf wenige Wörter reduziert, Echolalie und Logoklonie
Denkvermögen	Bewältigung komplexer Aufgaben nicht mehr möglich	Logisches Schließen, Erkennen von Zusammenhängen, Planen erheblich eingeschränkt	
Sprache	Wortfindung und Benennen erschwert, unpräzise Ausdrucksweise	Paraphasien, Perseverationen, floskelhafte Sprache, reduzierter Informationsgehalt, Lesen und Schreiben nicht mehr möglich	
Zerebrale Sehstörungen	Erkennen von Gegenständen kann erschwert sein	Nichterkennen vertrauter Personen oder des eigenen Gesichts	
Räumliche Leistungen	Einschätzung räumlicher Verhältnisse und Nachzeichnen geometrischer Figuren erschwert	Störungen der räumlichen Orientierung, optische Apraxie, Störung visuell geleiteter Handlungen	
Alltagskompetenz	zunehmende Probleme bei gewohnten Tätigkeiten in Haushalt und Beruf, beim Autofahren und beim Führen des Bankkontos	Probleme bei einfachen Alltagsaktivitäten wie Auswahl der Kleidung, Ankleiden, Körperpflege, nicht mehr alleine lebensfähig	
Störungen von Antrieb und Affekt	Aspontaneität, Antriebsmangel, Stimmungslabilität	Unruhe, Aggressivität, illusionäre Verkennungen, wahnhaft Befürchtungen, optische Sinnestäuschungen	Unruhe, Nesteln, Schreien, Störung des Tag-Nacht-Rhythmus, Wahnphänomene, Sinnestäuschungen

Tabelle 1: Einteilung der AD und DLB nach klinischen Aspekten (zusammenfassend nach Kurz 2002)

### **2.8.2 Schweregradklassifizierung von NPH-Patienten**

Zur Erfassung des Schweregrades bei Patienten mit Normaldruckhydrozephalus wurde die sogenannte Homburg-Scale nach Kiefer (Kiefer et al. 2003) verwendet. Diese Einteilung berücksichtigt nicht nur den kognitiven Status eines Patienten, sondern auch typische Symptome des Normaldruckhydrozephalus wie maximal erreichbare Gehstrecke, Inkontinenz sowie Kopfschmerzen. Je weiter die Erkrankung fortgeschritten ist, umso mehr Punkte erreicht der Patient. Insgesamt kann ein maximaler Punktwert von 24 erreicht werden. Da die anderen Demenzformen ebenfalls in drei Schweregrade eingeteilt wurden, wurde auch für diese Erkrankungsgruppe eine Einteilung in drei Schweregrade gewählt. Eine erreichte Punktzahl zwischen 1 bis 5 wurde dabei als leichtes Stadium gewertet, eine Punktzahl zwischen 6 und 11 als mittleres Stadium und eine Punktzahl von 12 und darüber wurde als schweres Krankheitsstadium gewertet.

### **2.8.3 Schweregradklassifizierung von CJK-Patienten**

Die Schweregradeinteilung in der Gruppe CJK wurde anhand anderer Kriterien vorgenommen. Für diese Gruppe wurden der klinische Beginn der Erkrankung und der Tod des Patienten mit dem Zeitpunkt der Lumbalpunktion in Relation gesetzt. Die Zeitspanne vom Zeitpunkt des Krankheitsbeginns bis zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion wurde durch die Zeitspanne der gesamten Krankheitsdauer geteilt. Eine Einteilung in drei Untergruppen wurde entsprechend dem Zeitpunkt der Lumbalpunktion im ersten, zweiten oder dritten Drittel des Krankheitsverlaufes vorgenommen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Charakterisierung der Patienten- und Kontrollgruppen

Tabelle 2 gibt einen Überblick über Gruppengrößen und stellt Alters- und Geschlechtsverteilungen innerhalb der untersuchten Erkrankungs- und Kontrollgruppen dar:

Gruppe	n (weiblich/ männlich)	Alter, Median (Spannweite) Mittelwert $\pm$ SD		
		gesamt	weiblich	männlich
CJK	117 (69/48)	64 (19-88) <i>64<math>\pm</math>10,8</i>	65 (19-88) <i>65,5<math>\pm</math>11,4</i>	63 (38-81) <i>61,8<math>\pm</math>9,4</i>
AD	29 (18/11)	64 (47-80) <i>63,7<math>\pm</math>9,8</i>	66 (47-80) <i>64,7<math>\pm</math>9,5</i>	60 (49-76) <i>62<math>\pm</math>10,7</i>
DLB	21 (8/13)	77 (58-87) <i>75,7<math>\pm</math>7</i>	79 (58-85) <i>76,7<math>\pm</math>8,2</i>	73 (65-87) <i>75,1<math>\pm</math>6,3</i>
PD	27 (9/12/?)	69 (50-83) <i>69,9<math>\pm</math>9,5</i>	62 (50-83) <i>65,5<math>\pm</math>12,2</i>	72 (60-81) <i>72,4<math>\pm</math>7</i>
NPH	24 (11/13)	73 (60-86) <i>73,6<math>\pm</math>5,8</i>	74 (60-86) <i>74,3<math>\pm</math>7,4</i>	72 (63-78) <i>72,9<math>\pm</math>4,2</i>
Hirnsulte	21 (9/12)	64 (27-83) <i>63,5<math>\pm</math>13</i>	68 (27-79) <i>63,4<math>\pm</math>17,1</i>	64 (49-83) <i>63,7<math>\pm</math>10,3</i>
ED	11 (7/4)	42 (23-57) <i>43,7<math>\pm</math>12,3</i>	39 (23-57) <i>41,3<math>\pm</math>14,2</i>	48 (40-56) <i>47,9<math>\pm</math>7,8</i>
Meningitis/ Enzephalitis	14 (5/9)	56 (16-77) <i>48,4<math>\pm</math>22,6</i>	56 (23-66) <i>46<math>\pm</math>20</i>	55 (16-77) <i>49,8<math>\pm</math>25</i>
Epileptische Anfälle	13 (5/8)	23 (17-65) <i>32,7<math>\pm</math>17,7</i>	26 (23-65) <i>40,5<math>\pm</math>21,1</i>	21 (17-56) <i>27,9<math>\pm</math>14,6</i>
Kontrollen gesamt	40 (22/18)	49 (19-80) <i>48,7<math>\pm</math>18,6</i>	42 (19-80) <i>45<math>\pm</math>17,9</i>	57 (21-79) <i>53,3<math>\pm</math>19</i>
Kontrollen >40 Jahre	24 (11/13)	60 (46-80) <i>61,5<math>\pm</math>11,7</i>	54 (47-80) <i>60<math>\pm</math>12,2</i>	65 (46-79) <i>62,7<math>\pm</math>11,5</i>
Kontrollen <40 Jahre	16 (11/5)	29 (19-39) <i>29,6<math>\pm</math>6,5</i>	32 (19-37) <i>30<math>\pm</math>5,7</i>	23 (21-39) <i>28,6<math>\pm</math>8,8</i>

Tabelle 2: Alters- und Geschlechtsverteilungen innerhalb der untersuchten Gruppen

### 3.1.1 Vergleich der Alters- und Geschlechtsverteilungen innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppen

Bezüglich der Geschlechtsverteilung in den untersuchten Erkrankungs- und Kontrollgruppen zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Beim Vergleich der Altersstrukturen der untersuchten Gruppen lagen signifikante Unterschiede vor, dabei nahm das mittlere Erkrankungsalter in folgender Reihenfolge ab: DLB>NPH>PD>CJK>AD>Insulte>ältere Kontrollen>Meningitis/Enzephalitis>Kontrollen gesamt>ED>epileptische Anfälle>jüngere Kontrollen.

Die Kollektive aller Gruppen neurodegenerativer Erkrankungen waren signifikant älter als die Kollektive der Gruppen Meningitis/Enzephalitis, ED, epileptische Anfälle und jüngere sowie gesamte Kontrollen.

Innerhalb der Gruppe neurodegenerativer Erkrankungen waren DLB-Patienten ( $p=0,006$ ) und NPH-Patienten ( $p=0,045$ ) signifikant älter als CJK-Patienten.

Für die Gruppe DLB wurde zusätzlich ein signifikanter Unterschied zur Gruppe der älteren Kontrollen festgestellt ( $p=0,01$ ). Alle anderen Gruppen neurodegenerativer Erkrankungen zeigten hinsichtlich der Altersstruktur keine signifikanten Unterschiede zur Gruppe der älteren Kontrollen.

Für die Gruppe der Patienten mit Hirninsult wurden keine signifikanten Unterschiede zu den einzelnen Gruppen der neurodegenerativen Erkrankungen sowie zur Gruppe der älteren Kontrollen festgestellt, gegenüber allen anderen Gruppen waren die Hirninsult-Patienten signifikant älter.

Innerhalb der Gruppen ED, Meningitis/Enzephalitis und epileptische Anfälle fanden sich keine weiteren signifikanten Unterschiede der Altersverteilung.

Für die Gruppe ED fanden sich außer den bereits beschriebenen zusätzlich signifikante Altersunterschiede zur Gruppe der älteren Kontrollen, der Unterschied zur Gruppe der gesamten Kontrollen betrug  $p=1,0$  sowie zur Gruppe der jüngeren Kontrollen  $p=0,269$ .

Die Gruppe Meningitis/Enzephalitis war bezüglich der Altersverteilung mit der Gruppe der gesamten Kontrollen ( $p=1,0$ ) und mit der Gruppe der älteren Kontrollen ( $p=0,132$ ) vergleichbar, der Vergleich mit der Gruppe jüngerer Kontrollen zeigte einen signifikanten Altersunterschied ( $p=0,003$ ).

Die Gruppe der epileptischen Anfälle schließlich war mit der Gruppe der jüngeren Kontrollen ( $p=1,0$ ) vergleichbar, neben den bereits beschriebenen fanden sich weitere signifikante Unterschiede der Altersverteilung gegenüber der gesamten Kontroll- ( $p=0,005$ ) und der älteren Kontrollgruppe ( $p<0,001$ ).

Die drei Kontrollgruppen unterschieden sich ebenfalls signifikant voneinander (ältere zu gesamten Kontrollen  $p=0,006$ ; jüngere zu gesamten und jüngere zu älteren Kontrollen jeweils  $p<0,001$ ).

### 3.1.2 Vergleich der Schweregradverteilung innerhalb der Gruppe neurodegenerativer Erkrankungen

Gruppe	Schweregrad, Mittelwert $\pm$ SD			Schweregrad, n (weiblich/männlich)		
	gesamt	weiblich	männlich	leicht	mittel	schwer
CJK	2,26 $\pm$ 0,76	2,27 $\pm$ 0,8	2,24 $\pm$ 0,74	21 (13/8)	41 (23/18)	50 (31/19)
AD	2,08 $\pm$ 0,91	2,06 $\pm$ 0,9	2,13 $\pm$ 0,99	9 (6/3)	5 (4/1)	11 (7/4)
DLB	2,54 $\pm$ 0,78	2,25 $\pm$ 0,96	2,67 $\pm$ 0,71	2 (1/1)	2 (1/1)	9 (2/7)
NPH	2,14 $\pm$ 0,79	2,22 $\pm$ 0,83	2,08 $\pm$ 0,79	5 (2/3)	8 (3/5)	8 (4/4)

Tabelle 3: Vergleich der Schweregradverteilung innerhalb der Gruppe neurodegenerativer Erkrankungen

Tabelle 3 gibt Auskunft über die Schweregradverteilungen innerhalb der nach Schweregrad unterteilten Erkrankungsgruppen.

Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Schweregrades zwischen beiden Geschlechtern konnte bei keiner Gruppe festgestellt werden, darüber hinaus fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied beim Vergleich der mittleren Schweregrade der einzelnen Erkrankungen.

### 3.2 PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis

Einen Überblick über die Ergebnisse der PrP<sup>c</sup>-Bestimmungen im Liquor cerebrospinalis gibt

Tabelle 4:

Gruppe	PrP <sup>c</sup> [ng/ml], Median (Spannweite)		
	<i>Mittelwert±SD</i>		
	gesamt	weiblich	männlich
CJK	145 (10-420) <i>159,8±75,7</i>	144 (10-420) <i>159,6±81,3</i>	151 (61-393) <i>160,1±67,8</i>
AD	168 (35-376) <i>177,5± 79,6</i>	173 (35-376) <i>190,9±86,7</i>	144 (41-277) <i>155,4±64,1</i>
DLB	153 (31-291) <i>161,5±65,6</i>	129,5 (96-233) <i>150±55,4</i>	160 (31-291) <i>168,6±72,4</i>
PD	178 (0-322) <i>173,7±81,1</i>	215 (80-322) <i>208,4±70,5</i>	169 (0-312) <i>155,9±87,2</i>
NPH	171 (40-268) <i>163,3±54,6</i>	180 (99-268) <i>174,6±54,6</i>	169 (40-222) <i>153,9±55</i>
Hirnsulte	173 (86-365) <i>192,7±77,2</i>	194 (114-302) <i>197,6±56,3</i>	162,5 (86-365) <i>189±92,1</i>
ED	227 (156-315) <i>225,6±48,7</i>	248 (156-265) <i>225,4±45,1</i>	208 (172-315) <i>225,8±61,9</i>
Meningitis/ Enzephalitis	215,5 (71-400) <i>221,9±82,3</i>	215 (105-400) <i>229±110,5</i>	216 (71-325) <i>218±69,7</i>
Epileptische Anfälle	194 (119-347) <i>201,3±62,7</i>	194 (119-374) <i>175,8±52</i>	202 (166-374) <i>217,3±66,7</i>
Kontrollen gesamt	219 (23,6-403) <i>225,8±79,4</i>	203,5 (110-343) <i>203±61,4</i>	259 (23,6-403) <i>253,6±91,2</i>
Kontrollen >40 Jahre	243,5 (141-403) <i>261,7±70,3</i>	218 (141-343) <i>240,55±59,5</i>	257 (164-403) <i>279,5±75,9</i>
Kontrollen <40 Jahre	177 (110-271) <i>185,2±47,8</i>	174 (110-232) <i>165,5±35,6</i>	223 (162-271) <i>228,6±44,2</i>

Tabelle 4: Ergebnis der PrP<sup>c</sup>-Messungen im Liquor cerebrospinalis

### 3.2.1 Kontrollkollektiv

Im Kontrollkollektiv konnte eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von insgesamt 219 ng/ml CSF gemessen werden. Die Aufteilung in eine Gruppe jüngerer und eine Gruppe älterer Kontrollen ergab für die Gruppe jüngerer Kontrollen eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 177 ng/ml. Demgegenüber konnte in der Gruppe älterer Kontrollen mit 243,5 ng/ml eine signifikant höhere Konzentration gemessen werden ( $p=0,012$ ) (siehe Tabelle 4 und Abbildung 1), die Regression der Parameter Alter und PrP<sup>c</sup>-Konzentration in der gesamten Kontrollgruppe ergab mit einem Regressionskoeffizienten von  $\beta=0,404$  einen statistisch signifikanten Zusammenhang beider Parameter ( $p=0,01$ ).

Dieses Ergebnis spiegelte sich vor allem beim weiblichen Geschlecht wider ( $\beta=0,643$ ;  $p=0,001$ ) (siehe Abbildung 3), für männliche Kontrollen konnte es nicht nachvollzogen werden ( $\beta=0,169$ ;  $p=0,503$ ) (siehe Abbildung 4).

Innerhalb der Gruppe jüngerer Kontrollen konnte ein signifikanter Unterschied der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen zwischen männlichen und weiblichen Fällen beobachtet werden ( $p=0,027$ ), in der Gruppe der älteren Kontrollen konnte hingegen kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Geschlechtern nachgewiesen werden ( $p=0,167$ ) (siehe Abbildung 2). Für die gesamte Gruppe der Kontrollen war der Unterschied zwischen männlichen (mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration 259 ng/ml) und weiblichen Kontrollen (mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration 203,5 ng/ml) statistisch signifikant ( $p=0,017$ ).

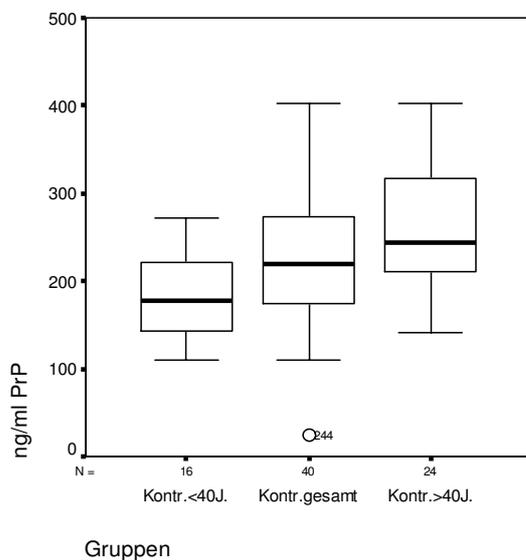


Abbildung 1: PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen in den Kontrollgruppen

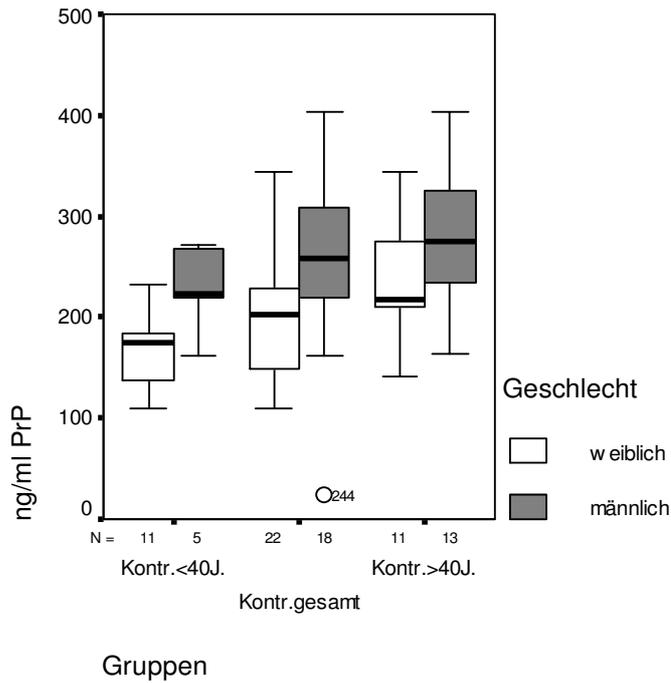
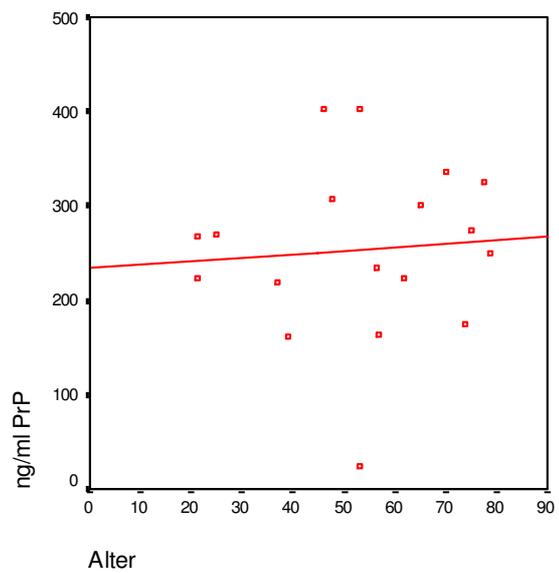
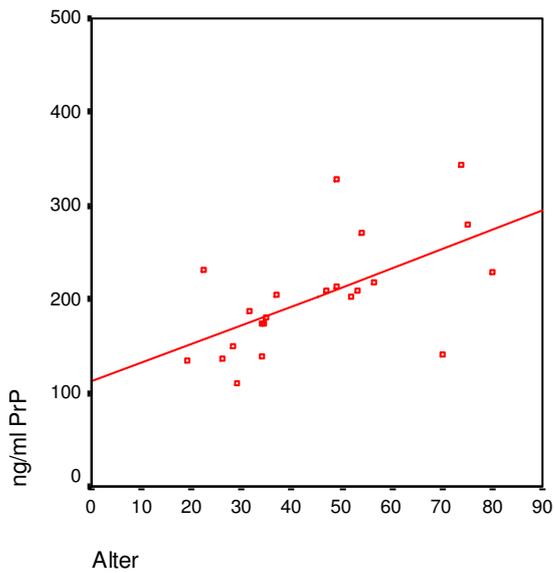


Abbildung 2: PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen in den Kontrollgruppen, nach Geschlecht unterteilt



Abbildungen 3 und 4: Einfluss des Alters auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei weiblichen Kontrollen ( $\beta=0,643$ ;  $p=0,001$ ) (links) und männlichen Kontrollen ( $\beta=0,169$ ;  $p=0,503$ ) (rechts)

### 3.2.2 Neurodegenerative Erkrankungen

Wie Abbildung 5 und Tabelle 4 verdeutlichen, sind bei neurodegenerativ bedingten Erkrankungen die PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen niedriger als bei älteren Kontrollen. Für die gesamte Gruppe der neurodegenerativ bedingten Erkrankungen konnte eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 158 ng/ml CSF bestimmt werden.

Im Einzelnen fanden sich folgende mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen: Für die Gruppe CJK 144 ng/ml, für die Gruppe AD 168 ng/ml, für die Gruppe DLB 153 ng/ml, für die Gruppe NPH 171 ng/ml und für die Gruppe PD 178 ng/ml.

Damit fanden sich in allen untersuchten Erkrankungsgruppen signifikant niedrigere PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen verglichen mit den Ergebnissen der älteren Kontrollen. Im Einzelnen konnten für diesen Vergleich für die Gruppen CJK, NPH und DLB jeweils eine Signifikanz von  $p < 0,001$ , für die Gruppe AD eine Signifikanz von  $p = 0,002$  und für die Gruppe PD schliesslich eine Signifikanz von  $p = 0,001$  bestimmt werden.

Ein signifikanter Unterschied zwischen einzelnen Gruppen neurodegenerativer Erkrankungen wurde nicht festgestellt.

Unterteilt nach Geschlecht, zeigten sich für die Vergleiche männlicher Erkrankungsfälle mit älteren männlichen Kontrollen ebenfalls signifikante Veränderungen für alle untersuchten Erkrankungsgruppen ( $p < 0,001$  für CJK;  $p = 0,002$  für AD;  $p = 0,005$  für DLB;  $p < 0,001$  für PD;  $p = 0,001$  für NPH), für den Vergleich weiblicher Erkrankungsfälle mit weiblichen älteren Kontrollen konnten signifikante Unterschiede lediglich in der Gruppe CJK erhoben werden ( $p = 0,046$ ).

Ein signifikanter Unterschied zwischen Proben männlicher und weiblicher Fälle ließ sich hingegen für keine Erkrankungsgruppe feststellen.

Da sich in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien niedrigere PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen fanden und fortgeschrittene Erkrankungsstadien mit einem höheren Lebensalter einhergingen, wurde zur Analyse einer Abhängigkeit der PrP<sup>c</sup>-Konzentration vom Alter eine multiple Regression mit den Kovariablen Alter und Schweregrad durchgeführt. Auf diese Weise konnte auch in der Gruppe der neurodegenerativ Erkrankten ein signifikanter Einfluss des Alters auf die PrP<sup>c</sup>-Konzentration dargestellt werden ( $\beta = 0,158$ ;  $p = 0,034$ ), im Gegensatz zu den Kontrollen war dieses Ergebnis jedoch nicht ausschließlich auf den Einfluss des weiblichen Geschlechts zurückzuführen (weibliche Fälle:  $\beta = 0,130$ ;  $p = 0,183$ ; männliche Fälle:  $\beta = 0,198$ ;  $p = 0,092$ ).

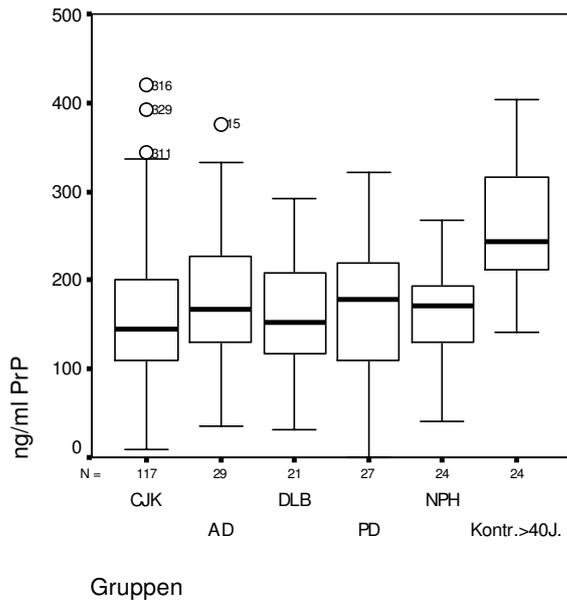


Abbildung 5: PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen

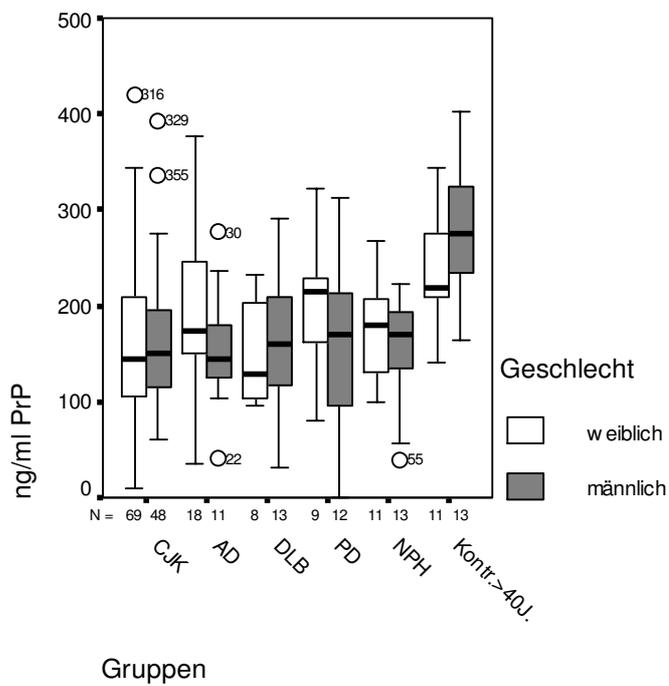


Abbildung 6: PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen, nach Geschlecht unterteilt

### 3.2.2.1 Einteilung der neurodegenerativen Erkrankungen nach Schweregrad

Die Einteilung in drei Gruppen unterschiedlichen Schweregrades zeigte, dass bei vielen neurodegenerativen Erkrankungen mit zunehmender Erkrankungsschwere deutlich niedrigere PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen gemessen werden konnten.

Für alle der hier nach Schweregrad unterteilten Erkrankungsgruppen zusammengenommen konnte für die Gruppe der leichtgradig Erkrankten eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 198 ng/ml, für die Gruppe der mittelschwer Erkrankten eine mediane Konzentration von 157,5 ng/ml und für die Gruppe der schwer Erkrankten eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 136,5 ng/ml gemessen werden.

Damit wiesen alle Schweregradgruppen signifikant niedrigere PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen auf als die Gruppe der älteren Kontrollen (schwer- und mittelgradig Erkrankte jeweils  $p < 0,001$  und leichtgradig Erkrankte  $p = 0,015$ ). Zusätzlich waren die PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen von schwer Erkrankten mit  $p < 0,001$  signifikant gegenüber den Liquorkonzentrationen von leicht Erkrankten erniedrigt. Die Konzentrationsänderungen zwischen den Gruppen der mittelschwer und der leicht Erkrankten ( $p = 0,064$ ) sowie zwischen den Gruppen der schwer und der mittelschwer Erkrankten ( $p = 0,685$ ) waren nicht signifikant.

Die Durchführung der multiplen Regression zwischen PrP<sup>c</sup> und den Kovariablen Schweregrad und Alter bestätigte das Ergebnis niedrigerer PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei fortgeschrittenen Erkrankungsverläufen und zeigte mit  $\beta = -0,326$  für die Erkrankungsgruppen CJK, AD, DLB und NPH zusammengenommen einen signifikanten Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup>-Konzentration und Schweregrad der Erkrankung ( $p < 0,001$ ).

Unterteilt nach jeder Erkrankung im Einzelnen, konnten für die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ( $\beta = -0,235$ ,  $p = 0,013$ ) (Abbildung 9+10), für die Alzheimer-Demenz ( $\beta = -0,497$ ,  $p = 0,011$ ) (Abbildung 11+12) und für den Normaldruckhydrozephalus ( $\beta = -0,442$ ,  $p = 0,005$ ) (Abbildung 13+14) signifikant niedrigere PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen mit zunehmender Erkrankungsschwere dargestellt werden.

Für die Demenz mit Lewy-Körperchen (Abbildung 15+16) ist eine Aussage bezüglich der Abhängigkeit vom Schweregrad nur schwer möglich, da nur eine geringe Anzahl an Proben leicht- bis mittelgradig erkrankter Patienten untersucht werden konnte. Niedrige PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im schweren Stadium der Erkrankung konnten aber auch für diese Gruppe festgestellt werden.

Die Beobachtung niedrigerer PrP<sup>c</sup>-Liquorspiegel bei fortgeschrittenen Erkrankungsstadien konnte in allen Erkrankungsgruppen für beide Geschlechter gemacht werden (Abbildungen 10, 12, 14 und 16), signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede waren in keiner Erkrankungsgruppe darstellbar.

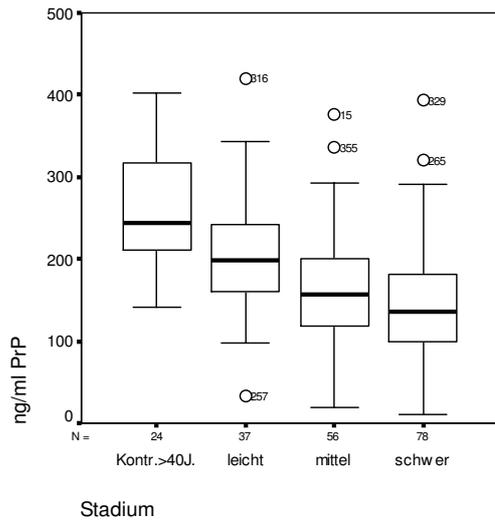


Abbildung 7: Einfluss des Stadiums der Erkrankung auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei CJK, AD, NPH und DLB verglichen mit älteren Kontrollen

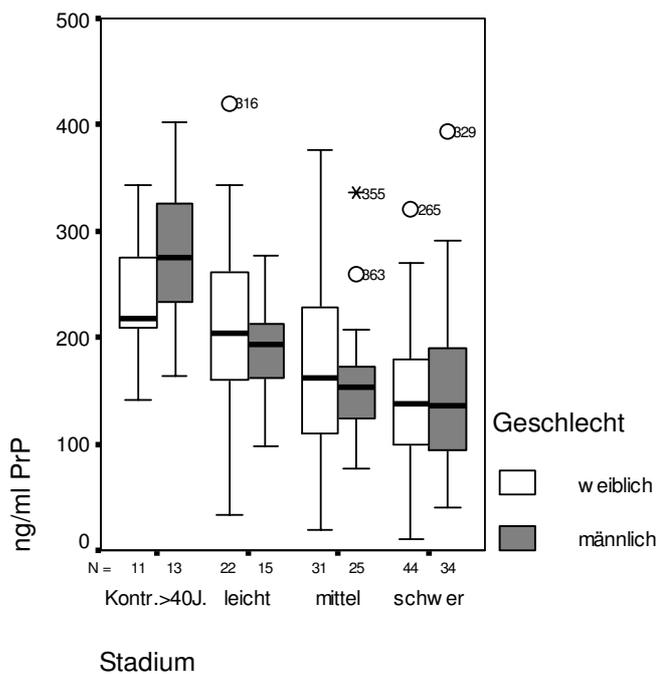


Abbildung 8: Einfluss des Stadiums der Erkrankung auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei CJK, AD, NPH und DLB verglichen mit älteren Kontrollen, nach Geschlecht unterteilt

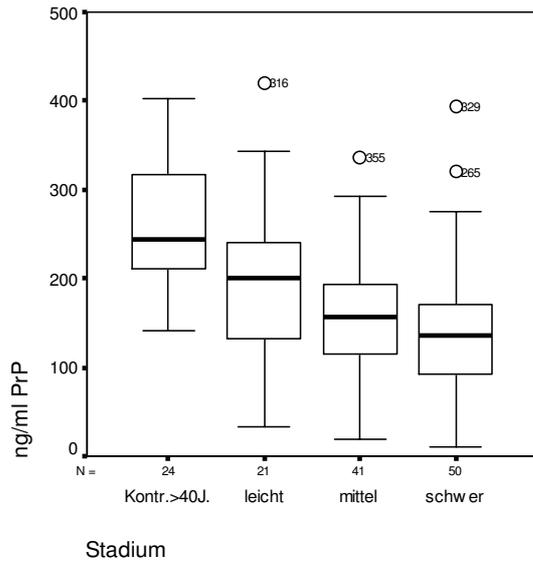


Abbildung 9: Einfluss des Stadiums der CJK auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen

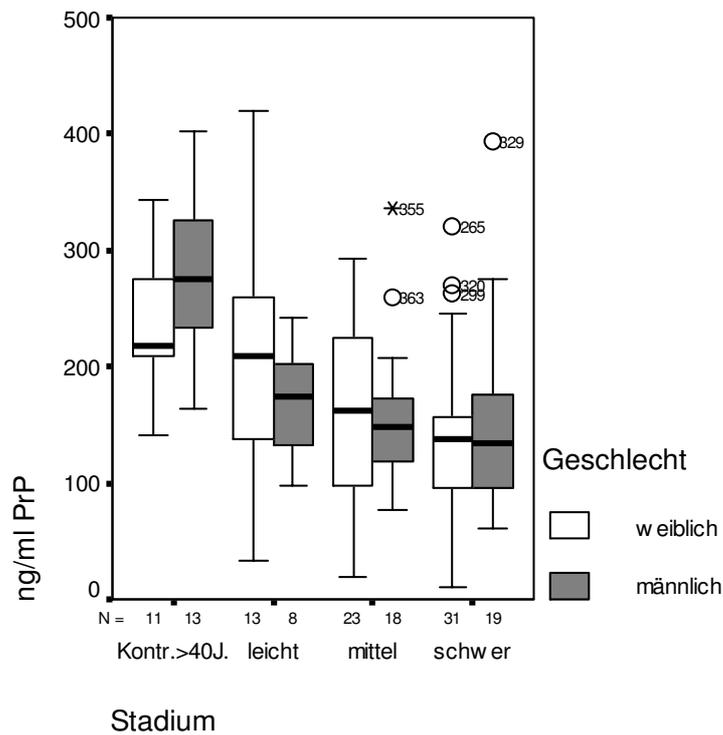


Abbildung 10: Einfluss des Stadiums der CJK auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen, nach Geschlecht unterteilt

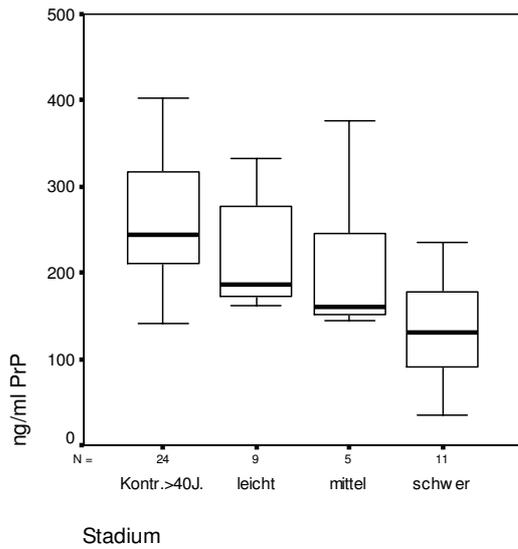


Abbildung 11: Einfluss des Stadiums der AD auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen

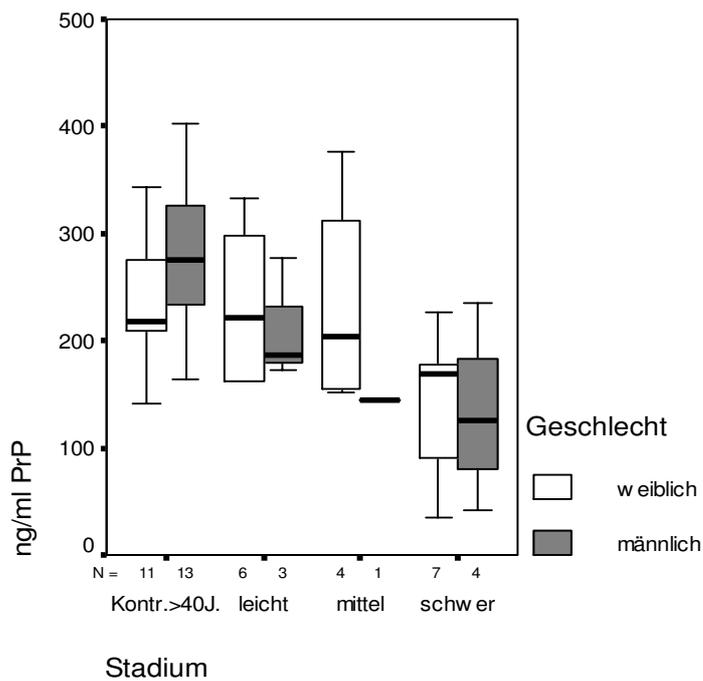


Abbildung 12: Einfluss des Stadiums der AD auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen, nach Geschlecht unterteilt

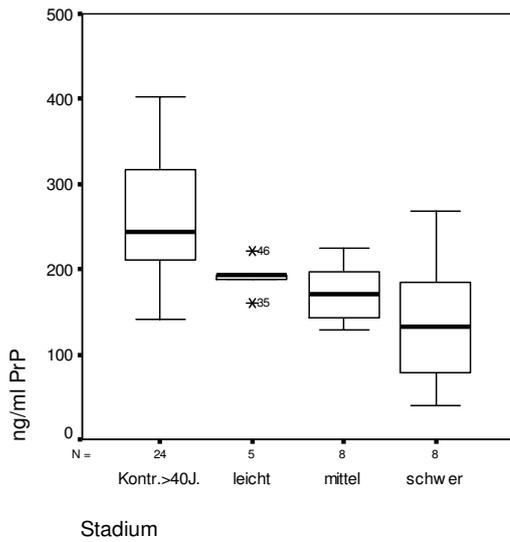


Abbildung 13: Einfluss des Stadiums des NPH auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen

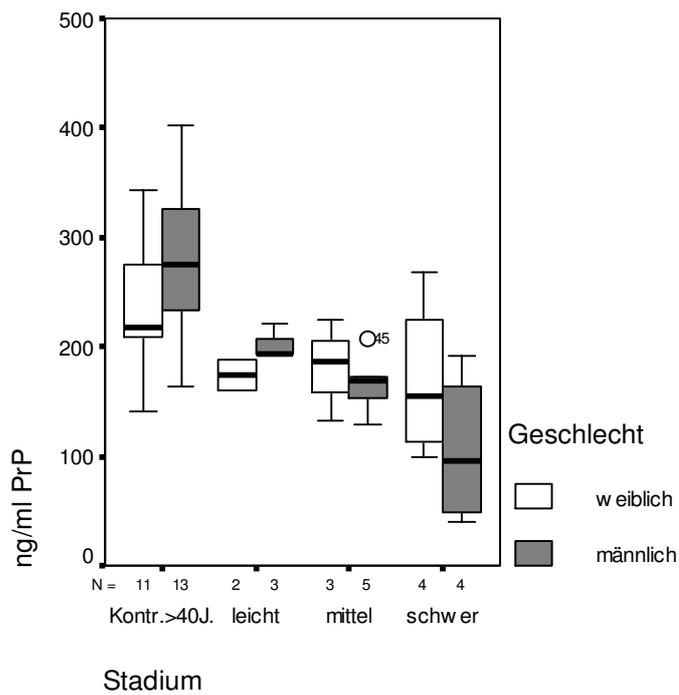


Abbildung 14: Einfluss des Stadiums des NPH auf PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen, nach Geschlecht unterteilt

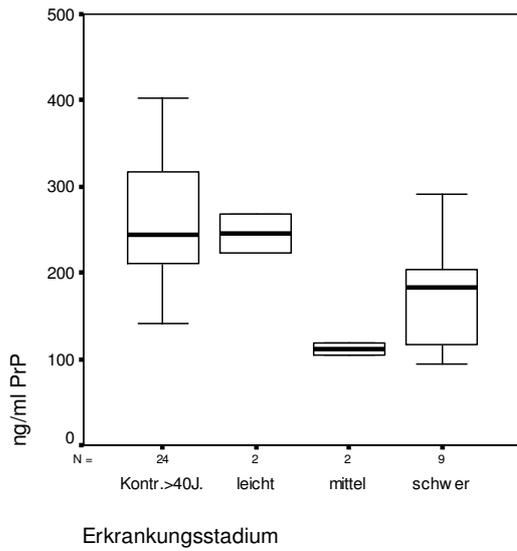


Abbildung 15: Einfluss des Stadiums der DLB auf PrP<sup>c</sup>-Liquoronzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen

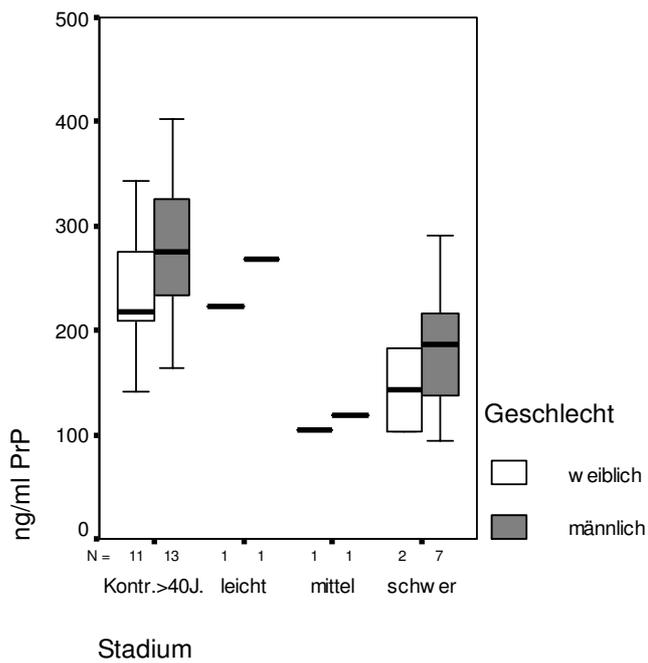


Abbildung 16: Einfluss des Stadiums der DLB auf PrP<sup>c</sup>-Liquoronzentrationen verglichen mit älteren Kontrollen, nach Geschlecht unterteilt

### 3.2.2.2 Diagnostische Wertigkeit von PrP<sup>c</sup> im Liquor cerebrospinalis

Zur Evaluierung der potentiellen diagnostischen Wertigkeit von PrP<sup>c</sup> wurde der optimale Cut-Off-Punkt bestimmt.

Auf seiner Grundlage wurden Sensitivität, Spezifität sowie als zusammenfassendes Maß aus beidem der Youden-Index bestimmt. Der optimale Cut-Off-Punkt lag bei allen hier untersuchten neurodegenerativen Gruppen in einem ähnlichen Bereich. So wurde für die Gruppe CJK ein Cut-Off-Punkt bei 205 ng/ml errechnet. In 76 % lagen die gemessenen PrP<sup>c</sup>-Werte in dieser Gruppe unter dem errechneten Cut-Off-Punkt. Die Spezifität lag bei 88%, der Youden-Index lag damit bei 0,64.

Für die Gruppen AD und NPH konnte der optimale Cut-Off-Punkt bei 200 ng/ml bestimmt werden, hier lagen 72% der AD- beziehungsweise 79% der NPH-Messwerte bei einer Spezifität von jeweils 88% unterhalb des errechneten Cut-Off-Punktes. Der optimale Cut-Off-Punkt für die Gruppen DLB und PD wurde für 210 ng/ml berechnet, die Spezifität für diesen Wert betrug jeweils 79%, 76% der DLB- und 63% der PD-Fälle wiesen PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen von weniger als 210 ng/ml auf.

### 3.2.2.3 Einfluss des Genotyps am Codon 129 auf PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen

Der genetische Polymorphismus am Codon 129 des Prionproteingens wurde in insgesamt 107 Fällen untersucht, in 73 Fällen (67%) waren die Patienten homozygot für Methionin, 19 Patienten (18%) waren heterozygot (MV) und die verbleibenden 16 Patienten (15%) waren homozygot für Valin (VV). Für MM-Patienten konnte eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 153 ng/ml ermittelt werden, MV-Patienten hatten eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 122 ng/ml und für VV-Patienten konnte eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 119 ng/ml bestimmt werden.

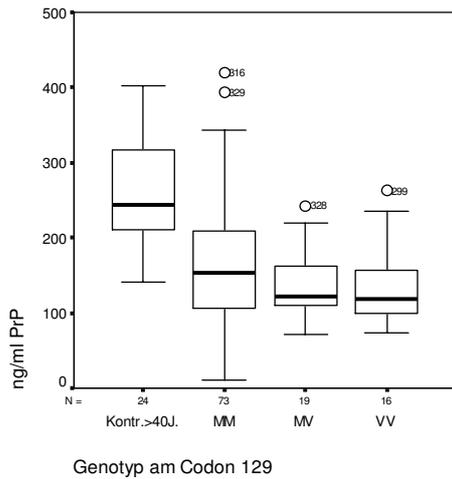


Abbildung 17: CJK-PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen in Abhängigkeit vom Genotyp am Codon 129

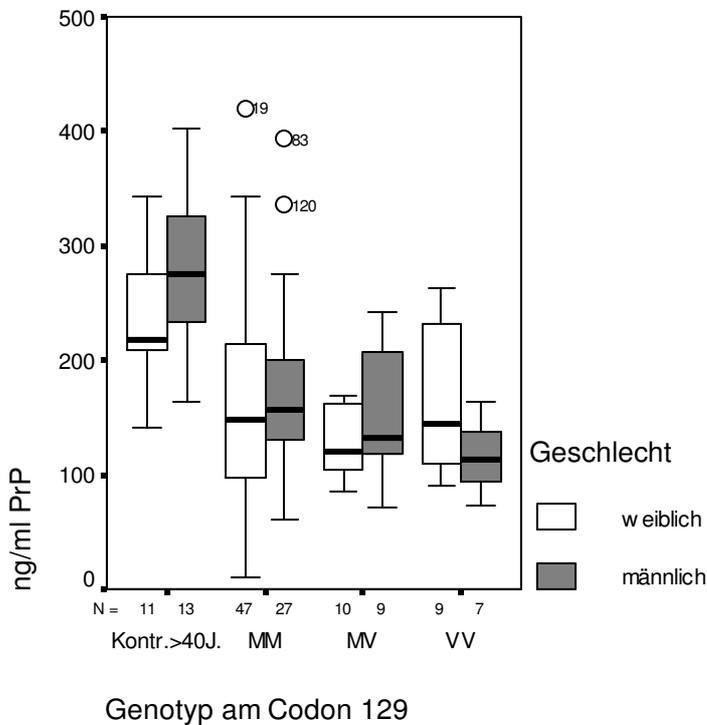


Abbildung 18: CJK-PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen in Abhängigkeit vom Genotyp am Codon 129, nach Geschlecht unterteilt

Abbildung 18 zeigt, dass die bei VV-Fällen gefundenen niedrigeren PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen vor allem bei männlichen CJK-Fällen zu finden waren, wohingegen diese Beobachtung bei weiblichen Fällen nicht nachvollzogen werden konnte. Der statistische Vergleich zwischen der männlichen MM- und der männlichen VV-Gruppe konnte mit einem p-Wert von 0,18 jedoch kein signifikantes Ergebnis aufzeigen. Zur genaueren Einordnung der beschriebenen Beobachtungen gibt Tabelle 5 neben der PrP<sup>c</sup>-Konzentration auch das mittlere Erkrankungsstadium für beide Geschlechter abhängig vom jeweiligen Genotyp wieder.

Genotyp	Anzahl n (weiblich/ männlich)	Stadium, Mittelwert			PrP <sup>c</sup> [ng/ml], Median (Spannweite) <i>Mittelwert±SD</i>		
		gesamt	weiblich	männlich	gesamt	weiblich	männlich
MM	73 (46/27)	2,17	2,13	2,22	153 (10-420) 166,5±86,1	150,5 (10-420) 162,9±91,3	157 (61-393) 172,7±77,8
MV	19 (10/9)	2,31	2,44	2,14	122 (72-243) 139,3±45,8	119,5 (86-169) 126,9±30	132 (72-243) 153,1±57,4
VV	16 (9/7)	2,44	2,78	2,00	119 (74-263) 140,2±60	144 (90-263) 158,9±66,4	114 (74-163) 116,1±32,1

Tabelle 5: PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen und Erkrankungsstadien bei CJK in Abhängigkeit vom Genotyp am Codon 129 des Prionproteingens

Für männliche MM-Fälle konnte ein mittleres Erkrankungsstadium von 2,22, für männliche MV-Fälle ein mittleres Erkrankungsstadium von 2,14 und für männliche VV-Fälle ein mittleres Stadium von 2,00 berechnet werden, während die Ergebnisse der weiblichen Fälle eine entgegengesetzte Reihenfolge aufwiesen.

Mittels multipler Regressionsanalyse (Erkrankungsstadium als abhängige Variable; Genotyp, Alter und PrP<sup>c</sup>-Konzentration als Kovariablen) ließ sich errechnen, dass bei weiblichen CJK-Fällen ein signifikanter Zusammenhang zwischen Genotyp und Erkrankungsstadium vorliegt ( $\beta=0,287$ ;  $p=0,017$ ). Demzufolge sind weibliche VV-Patienten (mittleres Erkrankungsstadium 2,78) in einem signifikant späteren Stadium der Erkrankung lumbalpunktiert worden als weibliche MV- oder MM-Patienten (mittleres Erkrankungsstadium 2,44 bzw. 2,13).

Demgegenüber zeigte dieselbe Berechnung für die Gruppe der männlichen Fälle keine signifikante Beziehung beider Parameter zueinander ( $\beta=0,005$ ;  $p=0,974$ ).

Um den genauen Einfluss des Genotyps auf die PrP<sup>c</sup>-Konzentration beurteilen zu können, wurde ebenfalls eine multiple Regressionsanalyse durchgeführt. Die PrP<sup>c</sup>-Konzentration wurde dabei als abhängige Variable gewählt und als Kovariablen wurden neben dem Genotyp auch das Erkrankungsstadium und das Alter in die Berechnung miteinbezogen.

Dabei war für die gesamte Gruppe CJK keine signifikante Abhängigkeit der PrP<sup>c</sup>-Konzentration vom Genotyp feststellbar ( $\beta=-0,125$ ;  $p=0,198$ ). Auch in der Gruppe der weiblichen CJK-Fälle ( $\beta=0,034$ ;  $p=0,794$ ) zeigte die Auswertung für diesen Zusammenhang keine signifikanten Resultate. In der Gruppe der männlichen CJK-Fälle hingegen konnte mit einem Regressionskoeffizienten von  $\beta=-0,309$  und einem p-Wert von 0,049 ein signifikanter

Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentration und Genotyp am Codon 129 nachgewiesen werden. Männliche VV-Fälle waren demnach durch niedrigere PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen charakterisiert. Ein signifikanter Einfluss des Alters auf die Höhe der PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentration war bei dieser Berechnung weder für weibliche ( $\beta=0,151$ ;  $p=0,216$ ) noch für männliche CJK-Fälle nachweisbar ( $\beta=-0,006$ ;  $p=0,971$ ).

### 3.2.3 PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei nicht-neurodegenerativen Erkrankungen

Abbildungen 19+20 und Tabelle 4 zeigen detailliert die Ergebnisse der PrP<sup>c</sup>-Analysen bei Erkrankungen, die nicht degenerativ bedingt sind.

Insgesamt konnte für diese Gruppe der Erkrankungen eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 197 ng/ml CSF gemessen werden.

Für die Gruppe der ischämischen Hirninsulte wurde eine mediane Konzentration von 173 ng/ml ermittelt, für die Gruppe ED eine mediane Konzentration von 227 ng/ml, für die Gruppe Meningitis/Enzephalitis eine mediane Konzentration von 215,5 ng/ml und für die Gruppe der epileptischen Anfälle konnte schliesslich eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 194 ng/ml CSF ermittelt werden.

Zur weiteren Analyse der erhobenen Messwerte wurden die Ergebnisse mit den hinsichtlich der Altersverteilung der entsprechenden Erkrankung jeweils am besten passenden Kontrollgruppen verglichen.

Die Gruppe der Hirninsulte wurde dementsprechend mit der Gruppe der älteren Kontrollen verglichen, die Gruppe ED mit der Gruppe der gesamten Kontrollen und der jüngeren Kontrollen, die Gruppe Meningitis/Enzephalitis mit der Gruppe der gesamten Kontrollen und der älteren Kontrollen und die Gruppe der epileptischen Anfälle wurde schließlich mit der Gruppe der jüngeren Kontrollen verglichen.

Für die Gruppe der ischämischen Hirninsulte, in der ähnlich wie für die neurodegenerativen Erkrankungen zum Teil niedrige PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen gemessen werden konnten, wurde für den Vergleich der PrP<sup>c</sup>-Konzentration mit denen der Gruppe der älteren Kontrollen ein p-Wert von 0,113 errechnet. Aus Abbildung 20 und Tabelle 4 gehen hervor, dass vor allem Proben männlicher Hirninsult-Patienten durch niedrige PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen gekennzeichnet sind. Der statistische Vergleich ausschließlich männlicher Fallgruppen mit männlichen älteren Kontrollen war mit  $p=0,084$  hingegen ebenfalls nicht signifikant.

Statistisch signifikante Unterschiede konnten auch für den Vergleich der übrigen Erkrankungsgruppen mit den jeweiligen Kontrollen nicht ermittelt werden.

Darüberhinaus konnten in keiner Erkrankungsgruppe signifikante Unterschiede zwischen Proben männlicher und weiblicher Fälle nachgewiesen werden.

Die Analyse einer Abhängigkeit der PrP<sup>C</sup>-Konzentrationen vom Alter zeigte für die gesamte Gruppe der nicht-neurodegenerativen Erkrankungen mit  $\beta=0,168$  und  $p=0,208$  ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang. Da auch die Gruppe der Hirninsulte eine Tendenz zu niedrigen Konzentrationen aufwies, wurde die Abhängigkeit der PrP<sup>C</sup>-Liquorkonzentration vom Alter zusätzlich einerseits für die Kombination der Gruppen Meningitis/Enzephalitis, ED und epileptische Anfälle und andererseits für die Gruppe der Hirninsulte getrennt überprüft. In der Kombination der Gruppen Meningitis/Enzephalitis, ED und epileptische Anfälle konnte hierfür ein Regressionskoeffizient von  $\beta=0,302$  bei einem p-Wert von 0,065 ermittelt werden. Für die Gruppe der Hirninsult-Patienten wurde ein Regressionskoeffizient von  $\beta=0,314$  berechnet, der p-Wert betrug 0,177. Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten für diese Berechnungen nicht festgestellt werden.

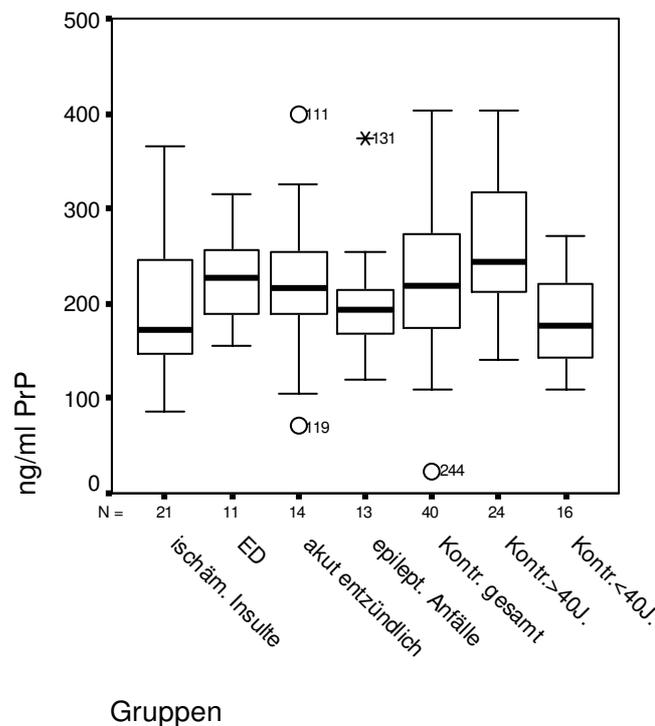


Abbildung 19: PrP<sup>C</sup>-Liquorkonzentrationen bei Patienten mit nicht-neurodegenerativen Erkrankungen

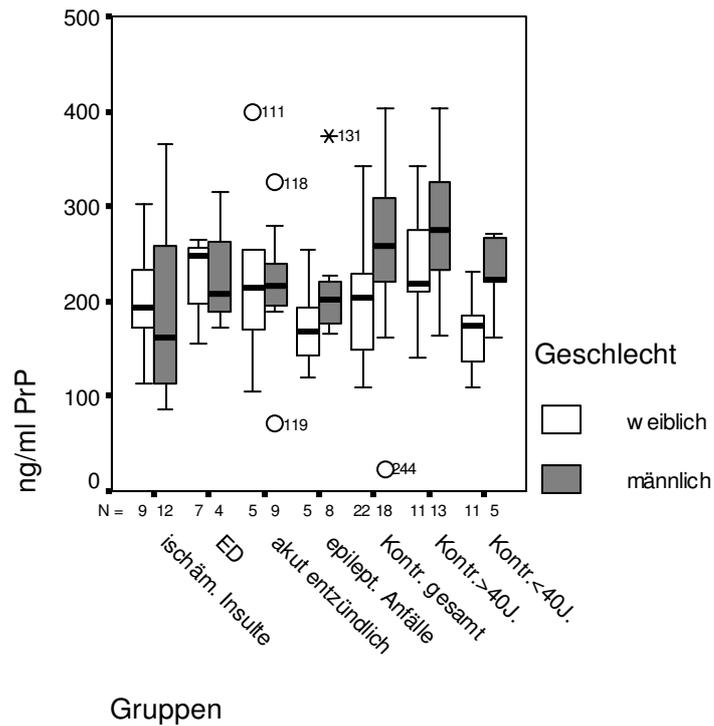


Abbildung 20: PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei Patienten mit nicht-neurodegenerativen Erkrankungen, nach Geschlecht unterteilt

### 3.3 Ergebnis der $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>-Messungen

Abbildung 21 und Tabelle 6 stellen die Ergebnisse der  $A\beta_{1-42}$ -Messungen in CJK-, AD-, DLB- und NPH-Proben dar.

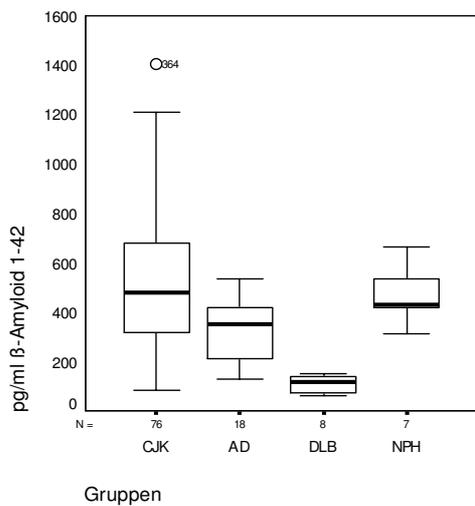


Abbildung 21:  $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen in CJK-, AD-, DLB- und NPH-Proben

Gruppe	A $\beta$ <sub>1-42</sub> [pg/ml], Median (Spannweite) <i>Mittelwert<math>\pm</math>SD</i>		
	gesamt	weiblich	männlich
CJK	477 (83-1407) <i>519,1<math>\pm</math>285</i>	496 (83-1191) <i>524,9<math>\pm</math>270,7</i>	418 (103-1407) <i>509,7<math>\pm</math>311,6</i>
AD	349,1 (130,3-536,9) <i>323,4<math>\pm</math>136,7</i>	346 (130,3-520,2) <i>319,9<math>\pm</math>155,7</i>	352,12 (141,8-536,9) <i>326,9<math>\pm</math>124,1</i>
DLB	118,4 (61-152) <i>109,7<math>\pm</math>36,3</i>	106 (61-150,9) <i>106<math>\pm</math>63,6</i>	118,41 (68,7-152) <i>111<math>\pm</math>32,1</i>
NPH	430,8 (311,3-662,3) <i>473,3<math>\pm</math>113,9</i>	481,3 (423,9-662,3) <i>512,2<math>\pm</math>111,6</i>	412,55 (311,3-540,4) <i>421,4<math>\pm</math>114,8</i>

Tabelle 6: A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Konzentrationen in CJK-, AD-, DLB- und NPH-Proben

### 3.4 Ergebnis der Tau-Protein-Messungen

Abbildung 22 und Tabelle 7 stellen die Ergebnisse der Tau-Protein-Messungen in CJK-, AD-, DLB- und NPH-Proben dar.

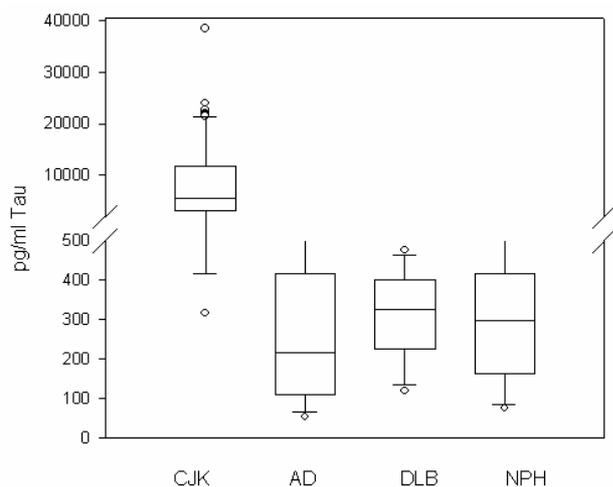


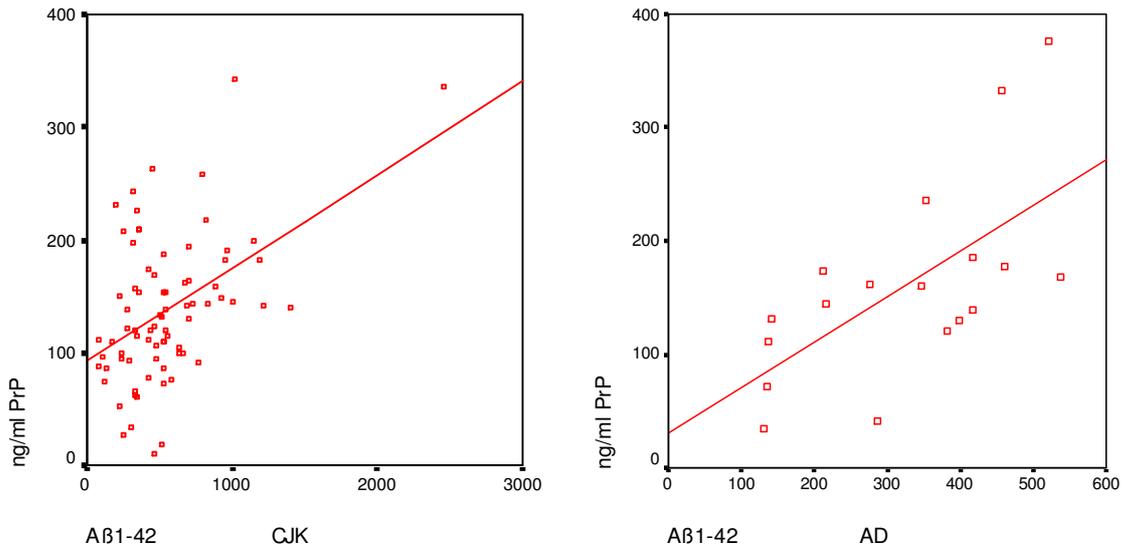
Abbildung 22: Tau-Protein-Konzentrationen in CJK-, AD-, DLB- und NPH-Proben

Gruppe	Tau [pg/ml], Median (Spannweite) <i>Mittelwert±SD</i>		
	gesamt	weiblich	männlich
CJK	5534 (316-38490) <i>8624,4±7251,8</i>	7064 (615-38490) <i>9071,5±7294,9</i>	5099 (103-1407) <i>7948,7±7214,9</i>
AD	217,4 (54,6-1765) <i>415,1±444,5</i>	268,2 (54,61-1765) <i>471,8±567,9</i>	166,6 (98,7-934,8) <i>358,3±300,1</i>
DLB	325,4 (118,7-474,4) <i>309,8±107,4</i>	225,5 (176,3-412,7) <i>271,5±124,7</i>	328,4 (118,7-474,4) <i>322,5±106,1</i>
NPH	296,5 (75-1039,9) <i>385,8±301,8</i>	296,5 (75-1039,9) <i>414,8±357</i>	304,3 (109,3-853,2) <i>356,8±266,3</i>

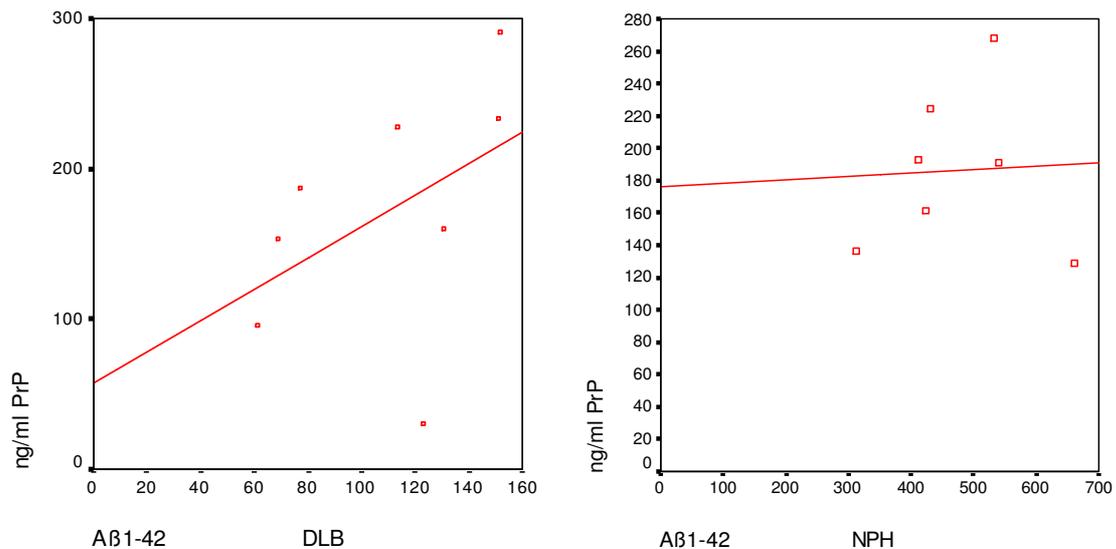
Tabelle 7: Tau-Protein-Konzentrationen in CJK-, AD-, DLB- und NPH-Proben

### 3.5 Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup> und $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>

In diesem Teil der Arbeit wird auf den statistischen Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup> und A $\beta$ <sub>1-42</sub> bei CJK, AD, DLB und NPH eingegangen. Hierbei konnten einige signifikante Beziehungen zwischen beiden Biomarkern aufgezeigt werden. Da die CJK-Proben mit einem anderen Testkit für A $\beta$ <sub>1-42</sub> gemessen wurden, ließen die A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Ergebnisse der CJK-Gruppe keinen statistischen Vergleich mit denen der anderen neurodegenerativen Erkrankungen zu. Für CJK ergab sich mit einem Regressionskoeffizienten von  $\beta=0,463$  eine signifikant positive Beziehung zwischen PrP<sup>c</sup> und A $\beta$ <sub>1-42</sub> ( $p=0,001$ ) (Abbildung 23). Ein ähnliches Ergebnis konnte für die Untersuchung der anderen Proben neurodegenerativ Erkrankter gezeigt werden. Auch für die gesamte Gruppe der AD-, DLB- und NPH-Patienten zusammengenommen ergab sich mit einem Regressionskoeffizienten von  $\beta=0,399$  ein signifikant positiver Zusammenhang beider Marker ( $p=0,014$ ) (keine Abbildung). Betrachtet man auch hier die Ergebnisse für jede Erkrankung im Einzelnen, so ergab sich für die Gruppe AD ein Regressionskoeffizient von  $\beta=0,634$  und ein p-Wert von 0,005 und damit ebenfalls eine statistisch signifikante Beziehung zwischen PrP<sup>c</sup> und A $\beta$ <sub>1-42</sub> (Abbildung 24). Für die Gruppen DLB und NPH ergaben sich mit  $\beta=0,461$  und  $p=0,251$  (DLB) (Abbildung 25) beziehungsweise  $\beta=0,049$  und  $p=0,917$  (NPH) (Abbildung 26) demgegenüber keine signifikanten Beziehungen zwischen PrP<sup>c</sup> und A $\beta$ <sub>1-42</sub>.



Abbildungen 23 und 24: Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup> und A $\beta_{1-42}$  bei CJK (linke Abbildung) ( $\beta=0,463$ ;  $p=0,001$ ) und AD (rechte Abbildung) ( $\beta=0,634$ ;  $p=0,005$ )

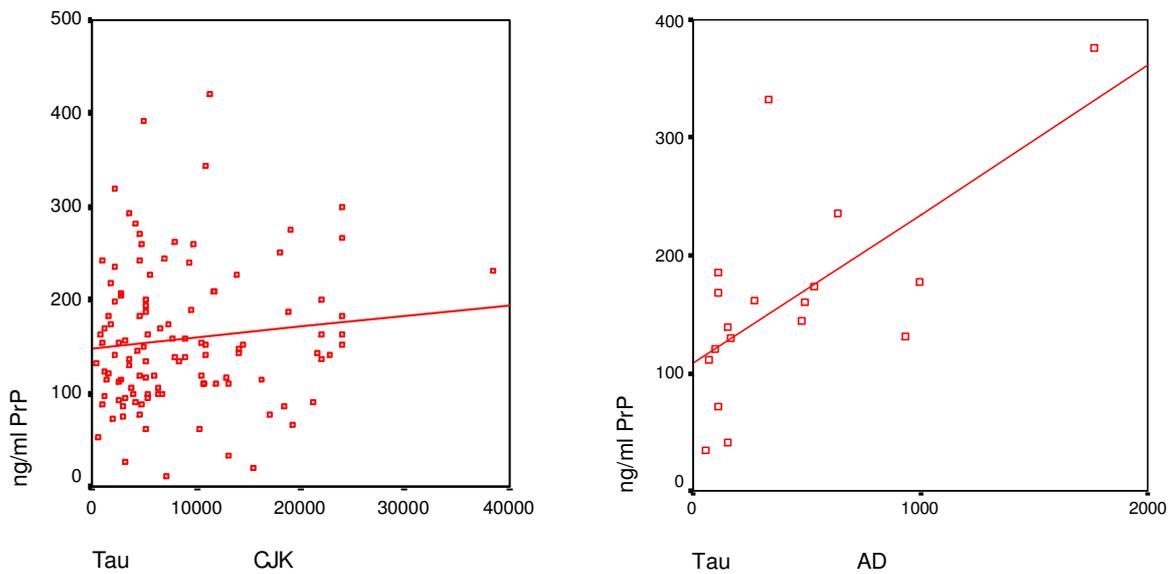


Abbildungen 25 und 26: Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup> und A $\beta_{1-42}$  bei DLB (linke Abbildung) ( $\beta=0,461$ ;  $p=0,251$ ) und NPH (rechte Abbildung) ( $\beta=0,049$ ;  $p=0,917$ )

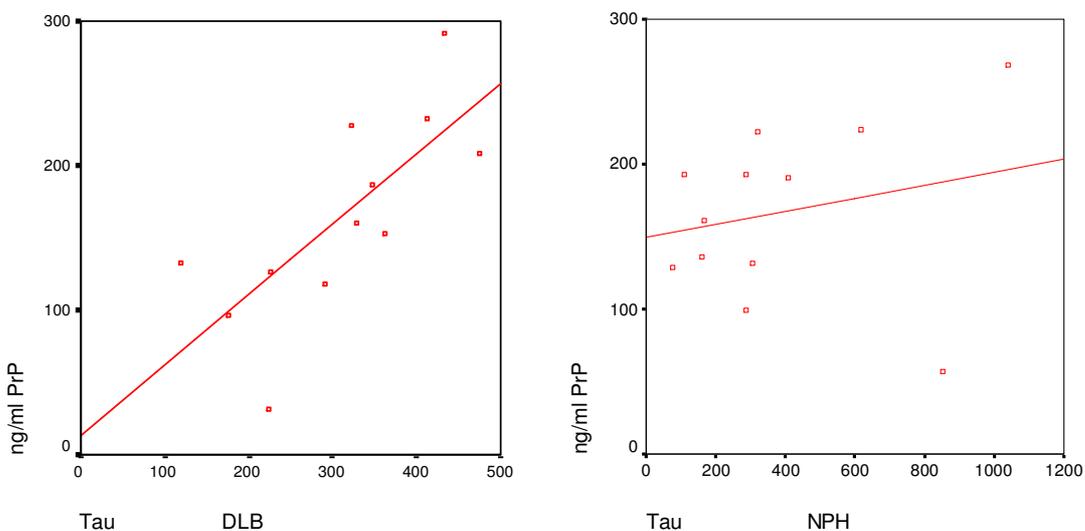
### 3.6 Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup> und Tau-Protein

Analog zu  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> in Kapitel 3.5 werden an dieser Stelle die statistischen Beziehungen von PrP<sup>c</sup> zu Tau-Protein näher beleuchtet. Die Auswertungen hierzu zeigten für die gesamte Gruppe der dabei berücksichtigten neurodegenerativen Erkrankungen (CJK, AD, DLB, NPH) keinen signifikanten Zusammenhang ( $\beta=0,07$ ;  $p=0,388$ ) (keine Abbildung). Im Einzelnen konnten jedoch signifikante Ergebnisse berechnet werden: Für die Gruppe AD konnte ein p-

Wert von 0,003 bei einem Regressionskoeffizienten von  $\beta=0,651$  ermittelt werden, so dass ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen beiden Markern dargestellt werden konnte (Abbildung 28). Auch in der Gruppe DLB korrelierten PrP<sup>c</sup> und Tau signifikant positiv miteinander. Dem dabei berechneten Regressionskoeffizienten von  $\beta=0,743$  war ein p-Wert von 0,006 zugeordnet (Abbildung 29). Bei der Auswertung der Gruppen CJK und NPH konnten hingegen mit  $\beta=0,107$  und  $p=0,258$  (CJK) (Abbildung 27) beziehungsweise  $\beta=0,226$  und  $p=0,480$  (NPH) (Abbildung 30) keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden.



Abbildungen 27 und 28: Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup> und Tau bei CJK (linke Abbildung) ( $\beta=0,107$ ;  $p=0,258$ ) und AD (rechte Abbildung) ( $\beta=0,651$ ;  $p=0,003$ )



Abbildungen 29 und 30: Zusammenhang zwischen PrP<sup>c</sup> und Tau bei DLB (linke Abbildung,  $\beta=0,743$ ;  $p=0,006$ ) und NPH (rechte Abbildung,  $\beta=0,226$ ;  $p=0,480$ )

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen gemessen und mit altersentsprechenden neurologisch gesunden Kontrollen verglichen. Bei den Erkrankungen wurde zwischen neurodegenerativen und nicht-neurodegenerativen Erkrankungen unterschieden. Zu erstgenannter Gruppe wurde die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, die Alzheimer-Demenz, die Demenz mit Lewy-Körperchen, der Normaldruckhydrozephalus und der Morbus Parkinson gezählt, sowie zu letztgenannter Gruppe ischämische Hirninsulte, Enzephalomyelitis disseminata, Meningitis und Enzephalitis sowie generalisierte epileptische Anfälle. Diese Unterteilung soll der Assoziation des Prionproteins mit dadurch (im Falle der Konformationsänderung) ausgelösten neurodegenerativen Erkrankungen wie der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit Rechnung tragen, in diesem Zusammenhang die Rolle anderer neurodegenerativer Erkrankungen beleuchten und gleichzeitig die Abgrenzung weiterer, nicht-neurodegenerativ-bedingter Erkrankungen verdeutlichen.

### 4.1 PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen

Die Untersuchungsergebnisse zeigten, dass PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen deutlich niedriger waren im Vergleich zu Patienten mit nicht-neurodegenerativen Erkrankungen und neurologisch Gesunden.

Die Gruppe der neurodegenerativen Erkrankungen wies eine mediane PrP<sup>c</sup>-CSF-Konzentration von 158 ng/ml auf, während in der Gruppe der nicht-neurodegenerativen Erkrankungen eine mediane Konzentration von 197 ng/ml und in der (älteren) Kontrollgruppe eine mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration von 243,5 ng/ml gemessen werden konnte.

Innerhalb der neurodegenerativen Erkrankungsgruppen zeigten sich kaum Unterschiede bezüglich der Höhe der PrP<sup>c</sup>-Liquorspiegel, so dass die mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration in allen hier untersuchten Krankheitsgruppen in ähnlicher Ausprägung erniedrigt war.

Durch eine Einteilung in verschiedene Schweregrade konnten innerhalb der Gruppe neurodegenerativer Erkrankungen bei Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, Alzheimer-Demenz und Normaldruckhydrozephalus mit fortschreitender Erkrankungsschwere niedrigere PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen beobachtet werden. Dieses Ergebnis konnte lediglich bei der Demenz mit Lewy-Körperchen nicht nachvollzogen werden. Zwar lagen auch bei dieser Entität die PrP<sup>c</sup>-Messwerte im schweren Stadium der Erkrankung auf einem niedrigen Niveau, da sich jedoch die Diagnosestellung der Demenz mit Lewy-Körperchen in den Anfangsphasen der Erkrankung häufig schwierig gestaltet, wird die Diagnose oft erst im schweren Stadium der

Erkrankung gestellt. Dies hat zur Folge, dass in dieser Arbeit nur wenige Proben von Patienten in einem milden oder mittleren Erkrankungsstadium untersucht werden konnten.

Die Gründe für erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei neurodegenerativen Erkrankungen sind bis jetzt ungeklärt, da über die Rolle des PrP<sup>c</sup> im menschlichen Organismus in vivo bislang nur wenig bekannt ist. Arbeiten zu PrP<sup>c</sup> im menschlichen Liquor sind erstmals 1992 von Tagliavini et al. sowie später von Wong et al. (2001) und Boesenberg-Grosse et al. (2006) veröffentlicht worden, wobei in der Arbeit von Wong ebenfalls teilweise erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor von CJK-Patienten beschrieben werden konnten.

Da die PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei allen hier untersuchten neurodegenerativen Erkrankungen erniedrigt waren und diese Erniedrigung deutlich mit der Schwere der Erkrankung korrelierte, lässt dieser Befund vermuten, dass allgemeine, unspezifische und bei mehreren Erkrankungen vorkommende Mechanismen der Neurodegeneration verantwortlich sein könnten.

Unklar ist bislang auch, ob eine erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Konzentration im Liquor von neurodegenerativ Erkrankten Folge der Erkrankung ist.

Vorstellbar wäre, dass eine verminderte Synthese von PrP<sup>c</sup> auch zu einem Verlust der damit verbundenen neuroprotektiven Funktion führt. Die Folge könnte eine Ansammlung schädlicher oxidativer Produkte sein, welche zum Untergang von Nervenzellen führen und damit eine neurodegenerative Erkrankung auslösen könnten (Smith et al. 1997; Zhang J et al. 1999). Allerdings betreffen diese Überlegungen bisher allgemeine Prozesse, genaue Zusammenhänge zwischen PrP<sup>c</sup> und Neurodegeneration bedürfen weiterer Arbeiten.

Umgekehrt könnte der zunehmende Verlust der Neuronen im Verlauf neurodegenerativer Erkrankungen auch zu einer zunehmenden Erniedrigung der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor führen (Boesenberg-Grosse et al. 2006).

Im Gegensatz dazu konnte in einer Studie eine in Alzheimer-Gehirnen intraneuronal erhöhte Immunreaktivität für PrP<sup>c</sup> nachgewiesen werden (Voigtländer et al. 2001). Es bleibt jedoch unklar, ob das gesteigerte PrP<sup>c</sup>-Signal die Folge einer durch oxidativen Stress bedingten Überexpression von PrP<sup>c</sup> ist. Eine weitere Möglichkeit für die gesteigerte PrP<sup>c</sup>-Immunreaktivität in AD-Gehirnen bestünde in einem verzögerten Abbau von PrP<sup>c</sup> innerhalb der Zellen. Zusätzlich könnte auch eine Blockade des intrazellulären Transports von PrP<sup>c</sup> an die Zellmembran, an die PrP<sup>c</sup> gebunden wird, zu einer Signalanhebung in der Zelle führen (Voigtländer et al. 2001). Letztgenannte von Voigtländer et al. formulierte Hypothese könnte mit erniedrigten PrP<sup>c</sup>-Liquorwerten vereinbar sein.

Im Jahr 2007 wurde eine weitere Studie veröffentlicht, die interessante Zusammenhänge zwischen PrP<sup>c</sup> und AD aufzeigen konnte: Eine verstärkte Expression von PrP<sup>c</sup> geht demzufolge mit einer Hemmung der  $\beta$ -Sekretasen-abhängigen Spaltung des Amyloid-Präcursor-Proteins einher, so dass es auf diese Weise zu einer verringerten Bildung von A $\beta$ -

Plaques kommt. Umgekehrt waren Gehirne von Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen durch erhöhte A $\beta$ -Konzentrationen charakterisiert (Parkin et al. 2007).

PrP<sup>c</sup> hat somit direkte Interaktionspartner, die für die Alzheimer-Pathologie entscheidend sind. Ferrer et al. konnten darüber hinaus nachweisen, dass PrP<sup>c</sup> in senilen Alzheimer-Plaques mit A $\beta$  co-lokalisiert vorkommt (2001).

Die bei AD messbar niedrigeren  $\beta$ -Amyloid-Liquorkonzentrationen werden auf eine verstärkte Ablagerung in senilen Alzheimer-Plaques zurückgeführt (Galasko 1998; Strozyk et al. 2003).

Ob hingegen die Erniedrigung der PrP<sup>c</sup>-Liquorspiegel bei der Alzheimer-Demenz und bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen durch ähnliche Mechanismen bedingt ist, etwa im Rahmen der Ablagerung von PrP<sup>c</sup> mit co-lokalisiertem  $\beta$ -Amyloid in senilen Plaques, bleibt spekulativ. Auch in der Gruppe CJK, in der besonders niedrige PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor messbar waren, könnten die Konversion von PrP<sup>c</sup> zu PrP<sup>Sc</sup> und die damit einhergehenden PrP-Ablagerungen zur Erniedrigung der Liquorspiegel beitragen.

#### **4.2 Einfluss des Genotyps am Codon 129 auf PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei CJK**

Da der Prionproteintyp nur bei einem geringen Teil der hier verwendeten Proben bekannt war, wurde auf die Einbeziehung dieser Daten verzichtet, gleichwohl bei der Betrachtung der durch unterschiedliche Genotypen bedingten klinischen, neuropathologischen und eventuell neurochemischen Unterschiede innerhalb der sCJK der Einfluss des Prionproteintyp eine große Rolle spielt und wenn möglich stets Berücksichtigung finden sollte.

Bis heute liegen keine Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Genotyp am Codon 129 des Prionproteingens und PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen vor. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen zumindest beim männlichen Geschlecht auf niedrigere PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen in Proben von Patienten mit mindestens einem Valin-Allel schließen. Zahlreiche Unterschiede bezüglich des Krankheitsverlaufes einer sporadischen CJK und neuropathologischer Veränderungen sind abhängig vom Genotyp beschrieben worden. Denkbar wäre, dass sich derartige Unterschiede auch in einem veränderten neurochemischen Profil widerspiegeln könnten.

Für die Gruppe der männlichen CJK-Fälle konnte dargestellt werden, dass VV-Fälle durch besonders stark erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen charakterisiert waren. Die Einbeziehung der Parameter Alter und Erkrankungsstadium in diesen Sachverhalt sollte klären, ob die erniedrigten PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei männlichen VV-Fällen eventuell durch den Einfluss dieser Parameter zu erklären seien. Denkbar wäre beispielsweise, dass erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei männlichen VV-Fällen lediglich auf einen weiter fortgeschrittenen Erkrankungsverlauf zurückgeführt werden könnten. Überraschenderweise konnte jedoch

dargestellt werden, dass sich männliche VV-Fälle zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion nicht in einem fortgeschritteneren Stadium der Erkrankung befanden als MM- oder auch MV-Fälle, sondern eher in einem früheren Stadium. Da auch das Alter als Einflussgröße in diesem Zusammenhang keinen signifikanten Einfluss auf die Höhe der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen auszuüben scheint, sind erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen bei männlichen VV-Fällen möglicherweise Ausdruck einer vom Genotyp abhängigen unterschiedlichen Regulation der PrP<sup>c</sup>-Synthese.

Für weibliche Fälle konnte keine signifikante Beziehung zwischen PrP<sup>c</sup>-Konzentration und Genotyp dargestellt werden. In diesem Zusammenhang gilt zu beachten, dass weibliche VV-Fälle erst in einem sehr viel späteren Erkrankungsstadium lumbalpunktiert worden sind verglichen mit weiblichen MV- und MM-Fällen. Daraus ist zu folgern, dass VV-Fälle selbst dann nicht stärker erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen als MV- und MM-Fälle aufwiesen, wenn sie sich in einem besonders weit fortgeschrittenen Erkrankungsverlauf befanden.

Unabhängig vom Geschlecht fanden sich allerdings mit 122 ng/ml auch bei MV-Fällen ähnlich niedrige mediane PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen wie bei VV-Fällen (119 ng/ml). Fälle mit mindestens einem Valin-Allel waren demnach insgesamt durch niedrigere PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen charakterisiert als Fälle des MM-Genotyps (155 ng/ml) (siehe Tabelle 5).

Wie eingangs berichtet, gibt es auch unterschiedliche neuropathologische Profile in Abhängigkeit vom Genotyp. Passend zu den in diesem Teil der Arbeit vorgestellten Ergebnissen zeigte eine von Hauw et al. (2000) veröffentlichte Studie, dass PrP-Ablagerungen und Amyloidplaques bei CJK insbesondere verstärkt in Gehirnen von Trägern des MV-, aber auch des VV-Genotyps vorkommen, und dass in Gehirnen von Trägern des MM-Genotyps keine Amyloidplaques und nur wenig PrP-Ablagerungen zu finden seien.

Erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Liquorspiegel bei Patienten mit mindestens einem Valin-Allel könnten demzufolge auf verstärkte PrP-Ablagerungen zurückgeführt werden, die bei diesen Patienten gefunden werden können. Möglicherweise nimmt in diesem Zusammenhang auch die längere Krankheitsdauer, die für VV-Fälle beschrieben worden ist (Parchi et al. 1999; Pocchiari et al. 2004), Einfluss auf die PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen.

An dieser Stelle ergibt sich somit ein weiterer Hinweis dafür, dass die in Kapitel 4.1 diskutierte Erniedrigung der PrP<sup>c</sup>-Liquorspiegel tatsächlich auf einer erhöhten PrP-Ablagerung im ZNS-Gewebe beruhen könnte, und dass dieser Mechanismus nicht nur bei CJK- und Alzheimer-, sondern möglicherweise auch bei Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen ursächlich für erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Liquorspiegel sein könnte.

### 4.3 PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit nicht-neurodegenerativen Erkrankungen

Beim Vergleich der Erkrankungsgruppen ED und Meningitis/Enzephalitis mit hinsichtlich der Altersstruktur vergleichbaren Kontrollgruppen (siehe Kapitel 3.2.3) konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der CSF-PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen festgestellt werden.

Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass entzündliche Erkrankungen des zentralen Nervensystems, unabhängig davon ob sie akut auftreten oder chronisch verlaufen, keinen messbaren Einfluss auf die Höhe der PrP<sup>c</sup>-Konzentration im Liquor und damit vermutlich auch auf dessen Regulation nehmen. Eine für diese Erkrankungen charakteristischerweise zu findende Störung der Blut-Liquorschranke scheint demnach nicht mit veränderten PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen einherzugehen.

In der Gruppe der Patienten, die einen generalisierten epileptischen Anfall erlitten hatten, waren niedrigere Werte als in den Gruppen ED und Meningitis/Enzephalitis messbar. Dieses Ergebnis ist durch die spezielle Altersstruktur in dieser Gruppe erklärbar, da das Patientenkollektiv in dieser Gruppe vor allem aus jüngeren Patienten bestand. Ein Vergleich mit der Gruppe der jüngeren Kontrollen zeigte keine statistisch signifikanten Veränderungen, so dass davon ausgegangen werden muss, dass auch ein epileptischer Anfall keinen messbaren Einfluss auf die Höhe der PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentration ausübt. Zusammenhänge zwischen PrP<sup>c</sup> und epileptischen Anfällen sind in der verstärkten Anfälligkeit von PrP<sup>0/0</sup>-Mäusen für epileptische Anfälle zu sehen (Walz et al. 1999; Rangel et al. 2007). Dies wird durch die wegfallende Eigenschaft von PrP<sup>c</sup> begründet, kompensatorisch neuroprotektiv zu wirken.

Ähnlich wie in den Gruppen der neurodegenerativen Erkrankungen fanden sich niedrige PrP<sup>c</sup>-Messwerte auch im Liquor von Patienten, die einen ischämischen Hirninsult erlitten hatten. Signifikante Werte konnten in dieser Gruppe allerdings nicht erhoben werden.

Studien an Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen konnten darstellen, dass die Größe eines Infarktareals sowohl nach 60-minütiger transienter wie auch nach permanenter fokaler Ischämie bei Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen signifikant gegenüber Wildtyp-Mäusen erhöht ist (McLennan et al. 2004; Weise et al. 2006).

In einer früheren Studie an Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen konnte darüber hinaus eine signifikante Hochregulation von PrP<sup>c</sup> 4 und 8 Stunden nach Beginn einer permanenten fokalen Ischämie in der betroffenen Hemisphäre verglichen mit Kontrolltieren nachgewiesen werden, die allerdings 24 Stunden nach Eintritt der Ischämie nicht mehr festgestellt werden konnte (Weise et al. 2004).

Eine intraneuronale Hochregulation von PrP<sup>c</sup> findet sich demzufolge nicht nur bei der AD, sondern auch bei Ischämien. In beiden Fällen wird diskutiert, dass die Hochregulation

kompensatorisch zur besseren Abwehr von unter diesen Bedingungen verstärkt auftretendem oxidativen Stress im Rahmen der neuroprotektiven Funktion von PrP<sup>c</sup> erfolgen könnte. Sowohl bei Ischämien als auch bei AD finden sich folglich intraneuronale Hochregulation kombiniert mit niedrigen CSF-Konzentrationen. In dieser Arbeit wird jedoch unter anderem spekuliert, dass erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen auf Ablagerungen im ZNS-Gewebe zurückgeführt werden könnten. Dieser Ansatz kann allerdings nicht die Ergebnisse in der Gruppe der Hirninsult-Patienten erklären, da ZNS-Ablagerungen natürlich kein typisches Merkmal dieser Erkrankungsgruppe darstellen. Ablagerungen in Form seniler Plaques könnten aber auch in dieser Gruppe eine Ursache für die gemessenen niedrigen Liquorkonzentrationen sein, da diese Gruppe hauptsächlich aus älteren Patienten bestand, bei denen senile Plaques häufig und in großer Zahl auch ohne Vorliegen einer klinisch manifesten kognitiven Beeinträchtigung gefunden werden können.

Die Tiermodellstudien haben verdeutlicht, dass die PrP<sup>c</sup>-Regulation nach einem ischämischen Ereignis keinen statischen Charakter aufweist, sondern dynamisch verläuft und innerhalb weniger Stunden veränderte Regulationsmuster gefunden werden können. Somit müssen auch die Ergebnisse der Liquoruntersuchungen in einem zeitlichen Zusammenhang betrachtet werden, um eine Aussage darüber treffen zu können, ob derartig schnelle Veränderungen auch auf Liquorebene nachzuweisen sind. Da die Liquorentnahmen der hier untersuchten Proben im Rahmen der Routinediagnostik erfolgten und Mehrfachpunktionen einzelner Patienten nicht durchgeführt wurden, lassen sich zeitabhängige Schwankungen der CSF-PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen in verschiedenen CSF-Proben derselben Patienten nicht nachvollziehen. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass die Lumbalpunktion bei Hirninsult-Patienten mit typischer Symptomatik durch die guten bildgeberischen Untersuchungsmethoden nicht zur Standarddiagnostik gehört. Sie bleibt speziellen Fragestellungen etwa beim Verdacht auf Vorliegen einer Vaskulitis als Ursache für den Hirninsult vorenthalten. Diese Tatsache hat zur Konsequenz, dass die Liquorentnahmen der Hirninsult-Patienten in dieser Arbeit je nach diagnostischer Dringlichkeit zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Symptombeginn durchgeführt wurden, was die Vergleichbarkeit der ermittelten Werte einschränkt. Zusätzlich ist der ischämische Hirninsult ein sehr vielgestaltiges neurologisches Ereignis. Je nach Infarktlokalisierung ergeben sich unterschiedliche zelluläre Schädigungsmuster, die auch eine unterschiedliche Freisetzung von Nervenzellbestandteilen in den Liquor bedingen könnten. Darüber hinaus spielt auch die Ausdehnung der Schädigung eine entscheidende Rolle für die Interpretation der ermittelten PrP<sup>c</sup>-Werte.

Die Vielzahl der unterschiedlichen Variablen könnte eine Erklärung für die große Schwankungsbreite der ermittelten PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen in dieser Erkrankungsgruppe sein.

Die dafür relativ geringe Fallzahl erschwert eine eindeutige Beurteilung der erhobenen Messwerte.

#### 4.4 Biologische Einflussfaktoren

Es konnte gezeigt werden, dass die PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor jüngerer weiblicher Kontrollen signifikant gegenüber jüngeren männlichen Kontrollen erniedrigt waren. Darüber hinaus korrelierte das Alter weiblicher Kontrollen signifikant mit der Höhe der PrP<sup>c</sup>-Konzentration. Dies konnte ebenso für die gesamte Gruppe der neurodegenerativen Erkrankungen (unabhängig vom Geschlecht) festgestellt werden. Ein fortgeschrittenes Alter ging demnach mit erhöhten PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen einher. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass das Alter einen Einfluss auf die Höhe der PrP<sup>c</sup>-Konzentration ausübt.

Ein möglicher Einfluss des Alters auf die Regulation von PrP<sup>c</sup> wurde in einigen Studien bereits untersucht. So konnten Williams et al. (2004) zeigen, dass es in (männlichen) Mäusen verschiedener Altersgruppen (6, 18 und 24 Monate) mit fortschreitendem Alter zu einer Hochregulation von PrP<sup>c</sup> im Hirngewebe kommt.

In einer weiteren Studie wurde eine altersabhängige Expression von PrP<sup>c</sup> auf humanen Leukozyten aus dem peripheren Blut demonstriert (Politopoulou et al. 2000). Dabei zeigte sich, dass Zellen älterer gesunder Individuen durch eine höhere Expression von PrP<sup>c</sup> auf der Zelloberfläche charakterisiert waren, als dies bei jüngeren Erwachsenen oder Kindern der Fall war. Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten in dieser Studie hingegen nicht nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit können nicht ausschließen, dass geschlechtsspezifische Unterschiede für die Regulation des PrP<sup>c</sup> eine Rolle spielen, obwohl diese Beobachtung nur von den Ergebnissen innerhalb der Kontrollgruppe gestützt wird. Innerhalb der Erkrankungsgruppen hingegen konnten keine Unterschiede hinsichtlich des Einflusses des Alters bei männlichen/weiblichen Individuen beobachtet werden.

Auch Unterschiede bezüglich der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen zwischen Proben männlicher und weiblicher Fälle konnten nur in der Gruppe der jüngeren Kontrollen ermittelt werden, obwohl wie bereits beschrieben in der Gruppe CJK geschlechtsspezifische Unterschiede abhängig vom Genotyp detektiert werden konnten. Nichtsdestotrotz muss spekuliert werden, dass das Geschlecht keinen eindeutig darstellbaren Einfluss auf die Veränderungen der PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen in den hier untersuchten Erkrankungsgruppen ausübt.

Signifikante Veränderungen der PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen gegenüber Kontrollen konnten lediglich für männliche, nicht aber für weibliche Fälle neurodegenerativer Erkrankungen nachgewiesen werden. Diese Tatsache ist weniger auf geschlechtsspezifische Unterschiede innerhalb der Erkrankungsgruppen (keine signifikanten Unterschiede zwischen männlichen

und weiblichen Gruppen) zurückzuführen, sondern vielmehr Ausdruck der zwar nicht signifikanten, trotzdem jedoch deutlich niedrigeren medianen PrP<sup>c</sup>-Konzentration älterer weiblicher Kontrollen verglichen mit älteren männlichen Kontrollen. Prinzipiell sind für diesen Umstand zwei Ursachen denkbar:

Zum einen kann nicht ausgeschlossen werden, dass ältere Kontrollen, die klinisch keinerlei Hinweise auf das Vorliegen einer spezifischen neurodegenerativen Erkrankung boten, sich subklinisch bereits in der Entwicklungsphase einer dementiellen Erkrankung befanden. Wie unter 4.3 bereits für die Hirninsult-Gruppe erwähnt, finden sich senile Plaques und andere für dementielle Erkrankungen typische neuropathologische Befunde auch bereits bei klinisch völlig unauffälligen Menschen, so dass die Grenze zwischen normalem und pathologischem Altern nur schwer definierbar ist (Reischies et al. 1996). Aufgrund dessen kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese Prozesse auch bereits in der Gruppe der älteren Kontrollen zu einer Erniedrigung der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor geführt haben.

Allerdings lag zum einen das mittlere Alter der älteren weiblichen Kontrollen mit 60 Jahren etwas niedriger als das mittlere Alter der älteren männlichen Kontrollen (62,7 Jahre), so dass es unwahrscheinlich erscheint, dass ältere weibliche Kontrollen in dieser Arbeit derartigen altersassoziierten Veränderungen im Sinne seniler Plaques stärker unterworfen waren als ältere männliche Kontrollen. Darüber hinaus zeigte sich in der Gruppe der älteren weiblichen Kontrollen keine Erniedrigung der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen mit weiter zunehmendem Alter (Abbildung 3).

Wahrscheinlicher ist hingegen, dass der mit niedrigeren PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen einhergehende Einfluss des weiblichen Geschlechts in der Gruppe der jüngeren Kontrollen auch in der Gruppe der älteren Kontrollen einen messbaren Einfluss ausübt und deshalb in dieser Gruppe im Vergleich zum männlichen Geschlecht ebenfalls niedrigere PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen gemessen werden konnten.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass weibliche Geschlechtshormone einen Einfluss auf die Regulation von PrP<sup>c</sup> ausüben könnten. Der sich mit dem fortschreitenden Alter verändernde Spiegel weiblicher Geschlechtshormone könnte Ursache für die in dieser Arbeit beobachtete altersabhängige Zunahme der CSF-PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen vor allem bei weiblichen Individuen sein.

In der Literatur finden sich verschiedene Berichte, die Östrogen eine neuroprotektive Rolle zuweisen. Dabei scheinen Östrogen und PrP<sup>c</sup> einige Eigenschaften zu teilen. Ebenso wie für PrP<sup>c</sup>, ist für Östrogen neben einer direkten antioxidativen Funktion eine über Membranrezeptoren vermittelte neuroprotektive Wirkungsweise beschrieben worden (Behl und Holsboer 1999). Weiterhin konnte im Tiermodell gezeigt werden, dass auch Östrogen die Bildung seniler Plaque-Formationen beeinflusst. Hirne von ovariectomierten Mäusen mit Estradioldefizienz waren hierbei durch einen erhöhten Spiegel der plaquebildenden A $\beta$ -

Peptide gekennzeichnet, während eine Substitution mit 17-beta-Östradiol zu einer Normalisierung der A $\beta$ -Spiegel in diesen Tieren geführt hat (Petanceska et al. 2000; Zheng et al. 2002).

Eine Therapie mit 17-beta-Östradiol führt laut Wise et al. (2005) zu einer verlangsamten Progression eines Hirnschadens und einer Begrenzung der Ausdehnung eines Zellschadens durch Unterdrückung von pro-apoptotischen Stoffwechselwegen sowie einer verstärkten Expression von Genen, die für das Überleben der Zelle von Bedeutung sind. Eine Studie, in der PrP<sup>c</sup> im Fokus des wissenschaftlichen Interesses stand und die ebenfalls über geschlechtsspezifische Unterschiede berichtete, ist 2005 publiziert worden: Weibliche Zrhc I PrP<sup>0/0</sup>-Mäuse zeigten nach transienter Ischämie einen mit Wildtyp-Tieren vergleichbar geringen neuronalen Schaden, während männliche Tiere mehr als die Hälfte aller Neuronen verloren hatten (Sakurai-Yamashita et al. 2005).

#### 4.5 Beziehungen von PrP<sup>c</sup> zu $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> und Tau-Protein

Bei der Regression von PrP<sup>c</sup> mit  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> und Tau-Protein zeigten sich signifikante Beziehungen der Biomarker zueinander. So korrelierte PrP<sup>c</sup> bei CJK- und AD-Proben positiv mit  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>. Dieses Ergebnis zeigt, dass die Konzentrationen von PrP<sup>c</sup> und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> im Verlauf dieser neurodegenerativen Erkrankungen im Liquor in ähnlicher Weise absinken.

Vorherige Arbeiten zu PrP<sup>c</sup> und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> konnten unter anderem darstellen, dass PrP<sup>c</sup> in  $\beta$ -Amyloid-Plaques co-lokalisiert zu finden ist (Ferrer et al. 2001) und dass es einen regulativen Effekt auf die  $\beta$ -Sekretasen-vermittelte Spaltung des Amyloidvorläuferproteins ausübt (Parkin et al. 2007). Die in dieser Arbeit gefundene positive Korrelation beider Marker könnte folglich Ausdruck dafür sein, dass beide Proteine miteinander interagieren und in dieselben pathophysiologischen Prozesse involviert sind.

Die Regression von PrP<sup>c</sup> mit Tau-Protein zeigte für die Gruppen CJK und NPH keine signifikanten Ergebnisse. Für die Gruppen AD und DLB konnten demgegenüber statistisch signifikante positive Beziehungen nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis ist insofern überraschend, als dass bei erniedrigten PrP<sup>c</sup>- und erhöhten Tau-Protein-Konzentrationen im Vergleich zu Kontrollen eher ein negativer Zusammenhang beider Marker zu erwarten gewesen wäre. Möglicherweise sind für diese Ergebnisse und für die Tatsache, dass in den Gruppen CJK und NPH für PrP<sup>c</sup> und Tau-Protein keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden konnte, zeitliche Unterschiede der beiden Konzentrationsveränderungen verantwortlich. Während die PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei CJK, AD und NPH über den gesamten Verlauf der Krankheit noch abnahmen, ließ sich analog

dazu eine stadienabhängige Erhöhung der Tau-Protein-Konzentration in keiner der hier untersuchten Erkrankungsgruppen nachvollziehen.

Tatsächlich konnten die meisten Langzeitstudien über den Verlauf der Tau-Protein-Konzentrationen bei AD keinen Anstieg der Tau-Protein-Konzentration mit zunehmendem Progress der Erkrankung feststellen (Sunderland et al. 1999; Wallin et al. 2006; Blennow et al. 2007; Zetterberg et al. 2007).

Es bleibt spekulativ, ob Veränderungen der Tau-Protein-Konzentrationen und Veränderungen der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor zu unterschiedlichen Zeitpunkten stattfinden, so dass eine negative Korrelation beider Marker nicht darstellbar ist. Darüber hinaus ist beschrieben, dass bei Tau-Protein als Zelluntergangsmarker gegen Ende einer Erkrankung auch ein Absinken der Konzentration beobachtet werden kann (Hesse et al. 2000), so dass eine positive Korrelation von PrP<sup>c</sup> und Tau-Protein durch diesen Effekt erklärt werden könnte.

#### **4.6 PrP<sup>c</sup> als Biomarker**

In der vorliegenden Arbeit konnte verdeutlicht werden, dass PrP<sup>c</sup> im Liquor von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen abhängig von der jeweiligen Erkrankung in 63 bis 79% der Fälle erniedrigt ist. Damit erfüllt es eine wesentliche Voraussetzung, um als Biomarker zur Diagnostik und Verlaufskontrolle von neurodegenerativen Erkrankungen eingesetzt zu werden.

Zusätzlich fanden sich Korrelationen von PrP<sup>c</sup> mit klinisch gebräuchlichen Biomarkern. Auch dies stützt eine mögliche Funktion als Biomarker.

Eine Gemeinsamkeit mit Tau-Protein und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> besteht in der Tatsache, dass sich auch PrP<sup>c</sup> nicht dazu eignet, zwischen verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen differentialdiagnostisch unterscheiden zu können.

Die errechnete diagnostische Wertigkeit von PrP<sup>c</sup> zeigt keine Verbesserung gegenüber der in der Literatur angegebenen diagnostischen Wertigkeit von Tau-Protein oder  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>. Da ein direkter Vergleich der diagnostischen Wertigkeiten zwischen PrP<sup>c</sup> auf der einen Seite und Tau-Protein und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> auf der anderen Seite in dieser Arbeit nicht durchführbar war (unterschiedliche Gruppengrößen, keine Bestimmung von Tau und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> in der Kontrollgruppe), empfiehlt es sich, diesen Aspekt in weiteren Studien zu überprüfen, um die Wertigkeit von PrP<sup>c</sup> als diagnostisches Markerprotein exakter einordnen zu können.

## 5 Zusammenfassung

Das zelluläre Prionprotein (PrP<sup>c</sup>) gilt als physiologisches Homolog der scrapie-assoziierten Isoform des Prionproteins und wird für die Entstehung spongöser Enzephalopathien wie der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit verantwortlich gemacht. Lange Zeit war unbekannt, welche Funktion dieses ubiquitär vorkommende Protein besitzt, doch in der jüngeren Vergangenheit konnten einige Studien nachweisen, dass es sich vorwiegend durch neuroprotektive Eigenschaften auszeichnet und dass es nicht nur in die Pathogenese der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit involviert ist, sondern auch für andere neurologische Erkrankungen wie die Alzheimer-Demenz oder den Hirninsult eine entscheidende Rolle spielt.

Diese Studien wurden hauptsächlich an Tiermodellen und in Zellkulturen durchgeführt. Über PrP<sup>c</sup> bei Menschen ist bislang jedoch kaum etwas bekannt. In dieser Arbeit wurden PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen mittels enzymimmunologischer Methoden gemessen und mit denen von altersentsprechenden Kontrollen verglichen. Dabei sollte der Fragestellung nachgegangen werden, ob und in welchen Erkrankungen Veränderungen der Liquorkonzentrationen messbar seien und ob daraus Rückschlüsse vor allem im Hinblick auf eine neuroprotektive Funktion gezogen werden könnten. Zur genaueren Analyse der Daten wurden potentielle Einflussfaktoren evaluiert, darunter Alter, Geschlecht und Schweregrad der Erkrankung. In der Gruppe CJK wurde auch der Einfluss des Genotyps am Codon 129 untersucht, da zahlreiche Unterschiede bezüglich des klinischen Verlaufes einer CJK in Abhängigkeit vom Genotyp beschrieben worden sind. Um zu überprüfen, ob PrP<sup>c</sup> in der Diagnostik von neurologischen Erkrankungen eingesetzt werden könnte, wurde für neurodegenerative Erkrankungen die diagnostische Wertigkeit bestimmt. Zusätzlich wurden die PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen mit Liquorkonzentrationen von Tau-Protein- und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> korreliert, die als etablierte Biomarker in der Diagnostik dementieller Erkrankungen anerkannt sind.

Es konnte dargestellt werden, dass PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen signifikant gegenüber altersvergleichbaren Kontrollen erniedrigt sind (mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration 158 ng/ml gegenüber 243,5 ng/ml;  $p < 0.001$ ), während in der Gruppe nicht-neurodegenerativer Erkrankungen (mediane PrP<sup>c</sup>-Konzentration 197 ng/ml) keine signifikanten Unterschiede verglichen mit altersentsprechenden Kontrollgruppen dargestellt werden konnten. In den unterschiedlichen Gruppen neurodegenerativer Erkrankungen waren in 63 bis zu 79% der Fälle erniedrigte Konzentrationen messbar und durch eine Einteilung in jeweils drei Schweregrade konnte dargelegt werden, dass diese Erniedrigung signifikant mit dem Schweregrad der jeweiligen

Erkrankung korrelierte ( $\beta=-0,326$ ;  $p<0,001$  für CJK, AD, NPH und DLB zusammengenommen). Fortgeschrittene Stadien dieser Erkrankungen waren demnach durch besonders niedrige PrP<sup>c</sup>-Spiegel charakterisiert.

Vor allem für die Gruppe der männlichen CJK-Fälle konnte zusätzlich ein Einfluss des Genotyps am Codon 129 des Prionproteingens nachgewiesen werden. Heterozygote- und Valin-homozygote-Fälle wiesen besonders stark erniedrigte PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen auf, die signifikant mit der Häufigkeit des Allels Valin am Genotyp des Codon 129 korrelierten ( $\beta=-0,309$ ;  $p=0,049$ ).

Sowohl für die gesamte Gruppe der neurodegenerativen Erkrankungen als auch für die Kontrollgruppe konnte eine signifikante Abhängigkeit der PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen vom Alter gezeigt werden. PrP<sup>c</sup>-Liquorwerte stiegen mit fortschreitendem Alter an und besonders niedrige Messwerte waren für junge weibliche Kontrollen darstellbar. Diese Gruppe wies signifikant niedrigere PrP<sup>c</sup>-Konzentrationen auf als ihre männlichen Altersgenossen ( $p=0,027$ ).

Weiterhin konnten einige signifikante Zusammenhänge zwischen PrP<sup>c</sup>- einerseits und Tau-Protein- und  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>-Konzentrationen andererseits dargestellt werden, die die Verwendung von PrP<sup>c</sup> als diagnostisches Markerprotein weiter stützen. So zeigte sich beispielsweise eine signifikante Korrelation zwischen  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> und PrP<sup>c</sup> bei Patienten mit CJK ( $\beta=0,463$ ;  $p=0,001$ ) und Alzheimer-Erkrankung ( $\beta=0,634$ ;  $p=0,005$ ).

Die Ursachen für erniedrigte Konzentrationen in der Gruppe neurodegenerativer Erkrankungen bleiben spekulativ. Da erniedrigte Liquorspiegel jedoch für alle hier untersuchten Erkrankungen nachweisbar waren, könnten allgemeinen Mechanismen der Neurodegeneration als Ursache vermutet werden, beispielsweise in Form von Nervenzellverlusten oder aber in Form von verminderter Synthese.

$\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> und PrP<sup>c</sup> korrelierten in dieser Arbeit sehr stark miteinander und erniedrigte  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>-Liquorkonzentrationen bei AD und anderen neurodegenerativen Erkrankungen werden auf die Ablagerung in Alzheimer-Plaques zurückgeführt. PrP<sup>c</sup> ist in Alzheimer-Plaques mit A $\beta$  co-lokalisiert, so dass die Erniedrigungen von  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>- und PrP<sup>c</sup>-Konzentrationsspiegeln im Liquor durch einen ähnlichen Pathomechanismus erklärt werden könnten. Die Hypothese, dass Ablagerungen im ZNS Ursache erniedrigter Liquorkonzentrationen sein könnten, wird auch dadurch gestützt, dass PrP-Ablagerungen bei CJK-Fällen vor allem bei MV- und VV-Fällen gefunden werden, während ZNS-Gewebe von MM-Fällen, für die deutlich höhere PrP<sup>c</sup>-Liquorkonzentrationen gemessen wurden, kaum durch Ablagerungen von PrP charakterisiert sind.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen auf interessante Zusammenhänge zwischen dem physiologischen Prionprotein und neurodegenerativen Erkrankungen hin. Genaue Mechanismen müssen nun in experimentellen Modellen untersucht werden.

## 6 Literaturverzeichnis

- Adams AD, Fisher CM, Hakim S (1965): Symptomatic occult hydrocephalus with "normal" cerebrospinal fluid pressure. A treatable syndrome. *N Engl J Med* 273: 117-126
- Alper T, Cramp WA, Haig DA, Clarke MC (1967): Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? *Nature* 214: 764-766
- Alperovitch A, Zerr I, Pocchiari M, Mitrova E, de Pedro Cuesta J, Hegyi I, Collins S, Kretzschmar H, van Duijn C, Will RG (1999): Codon 129 prion protein genotype and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 353: 1673-1674
- Arai H, Terajima M, Miura M, Higuchi S, Muramatsu T, Machida N, Seiki H, Takase S, Clark CM, Lee VM (1995): Tau in cerebrospinal fluid: a potential diagnostic marker in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 38: 649-52
- Arnold SE, Kumar A (1993): Reversible dementias. *Med Clin North Am* 77: 215-30
- Behl C, Holsboer F (1999): The female sex hormone oestrogen as a neuroprotectant. *Trends Pharmacol Sci* 20: 441-4
- Bendheim PE, Brown HR, Rudelli RD, Scala LJ, Goller NL, Wen GY, Kascsak RJ, Cashman NR, Bolton DC (1992): Nearly ubiquitous tissue distribution of the scrapie agent precursor protein. *Neurology* 42: 149-56
- Berr C, Richard F, Dufouil C, Amant C, Alperovitch A, Amouyel P (1998): Polymorphism of the prion protein is associated with cognitive impairment in the elderly: the EVA study. *Neurology* 51: 734-737
- Berr C, Helbecque N, Sazdovitch V, Mohr M, Amant C, Amouyel P, Alperovitch A, Hauw JJ (2003): Polymorphism of the codon 129 of the prion protein (PrP) gene and neuropathology of cerebral ageing. *Acta Neuropathol (Berl)*. 106:71-4
- Bickel H (2000): Demenzsyndrom und Alzheimer Krankheit: Eine Schätzung des Krankenbestandes und der jährlichen Neuerkrankungen in Deutschland. *Gesundheitswesen* 62: 211-8

- Blennow K, Zetterberg H, Minthon L, Lannfelt L, Strid S, Annas P, Basun H, Andreasen N (2007): Longitudinal stability of CSF biomarkers in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 419: 18-22
- Boesenberg-Grosse C, Schulz-Schaeffer WJ, Bodemer M, Ciesielczyk B, Meissner B, Krasnianski A, Bartl M, Heinemann U, Varges D, Eigenbrod S (2006): Brain-derived proteins in the CSF: do they correlate with brain pathology in CJD? *BMC Neurol* 6: 35
- Bounhar Y, Zhang Y, Goodyer CG, LeBlanc A (2001): Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 276: 39145-9
- Braak H, Braak E (1995): Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging* 16: 271-8
- Bradley WG, Jr, Whittemore AR, Watanabe AS, Davis SJ, Teresi LM, Homyak M (1991): Association of deep white matter infarction with chronic communicating hydrocephalus: implications regarding the possible origin of normal-pressure hydrocephalus. *AJNR Am J Neuroradiol* 12: 31-9
- Brown DR, Schulz-Schaeffer WJ, Schmidt B, Kretschmar HA (1997a): Prion protein-deficient cells show altered response to oxidative stress due to decreased SOD-1 activity. *Exp Neurol* 146: 104-12
- Brown DR, Qin K, Herms JW, Madlung A, Manson J, Strome R, Fraser PE, Kruck T, von Bohlen A, Schulz-Schaeffer W (1997b): The cellular prion protein binds copper in vivo. *Nature* 390: 684-7
- Brown DR, Wong BS, Hafiz F, Clive C, Haswell SJ, Jones IM (1999): Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase. *Biochem J* 344: 1-5
- Brown DR, Nicholas RS, Canevari L (2002): Lack of prion protein expression results in a neuronal phenotype sensitive to stress. *J Neurosci Res* 67: 211-24
- Brun A, Englund E (1981): Regional pattern of degeneration in Alzheimer's disease: neuronal loss and histopathological grading. *Histopathology* 5: 459-564
- Büeler H, Fischer M, Lang Y, Bluethmann H, Lipp HP, DeArmond SJ, Prusiner SB, Aguet M, Weissmann C (1992): Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature* 356: 577-82

- Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, Aguet M, Weissmann C (1993): Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 73: 1339-47
- Canadian Study of Health and Aging Working Group (1994): Canadian Study of Health and Aging: study methods and prevalence of dementia. *CMAJ* 150: 899-913
- Caughey B, Race RE, Ernst D, Buchmeier MJ, Chesebro B (1989): Prion protein biosynthesis in scrapie-infected and uninfected neuroblastoma cells. *J Virol* 63: 175-81
- Chen S, Mangé A, Dong L, Lehmann S, Schachner M (2003): Prion protein as trans-interacting partner for neurons is involved in neurite outgrowth and neuronal survival. *Mol Cell Neurosci* 22: 227-33
- Chiarini LB, Freitas AR, Zanata SM, Brentani RR, Martins VR, Linden R (2002): Cellular prion protein transduces neuroprotective signals. *EMBO J* 21: 3317-26
- Clarfield AM (1989): Normal-pressure hydrocephalus: saga or swamp? *JAMA* 262: 2592-3
- Corti O, Hampe C, Darios F, Ibanez P, Ruberg M, Brice A (2005): Parkinson's disease: from causes to mechanisms. *C R Biol* 328: 131-42
- Creutzfeldt HG (1920): Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems. *Z Gesamt Neurol Psychiatr* 57: 1-18
- De Lau LM, Breteler MM (2006): Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 5: 525-35
- Del Bo R, Scarlato M, Ghezzi S, Martinelli-Boneschi F, Fenoglio C, Galimberti G, Galbiati S, Virgilio R, Galimberti D, Ferrarese C (2006): Is M129V of PRNP gene associated with Alzheimer's disease? A case-control study and a meta-analysis. *Neurobiol Aging* 27: Epub
- Dermaut B, Croes EA, Rademakers R, Van den Broeck M, Cruts M, Hofman A, van Duijn CM, Van Broeckhoven C (2003): PRNP Val129 homozygosity increases risk for early-onset Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 53: 409-412
- Ferrer I, Blanco R, Carmona M, Puig B, Ribera R, Rey MJ, Ribalta T (2001): Prion protein expression in senile plaques in Alzheimer's disease, *Acta Neuropathol* 101: 49-56

- 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: 189-98
- Gajdusek DC (1967): Slow-virus infections of the nervous system. *N Engl J Med* 276: 392–400
- Galasko D (1998): CSF tau and Abeta42: logical biomarkers for Alzheimer's disease? *Neurobiol Aging* 19: 117-9
- Gauczynski S, Peyrin JM, Haïk S, Leucht C, Hundt C, Rieger R, Krasemann S, Deslys JP, Dormont D, Lasmézas CI (2001): The 37-kDa/67-kDa laminin receptor acts as the cell-surface receptor for the cellular prion protein *EMBO J* 20: 5863-75
- Gelb DJ, Oliver E, Gilman S (1999): Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol* 56: 33-9
- Glenner GG und Wong CW (1984). Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 120: 885-890
- Goedert M, Spillantini MG, Crowther RA (1991): Tau proteins and neurofibrillary degeneration. *Brain Pathol* 1: 279-86
- Hauw JJ, Sazdovitch V, Laplanche JL, Peoc'h K, Kopp N, Kemeny J, Privat N, Delasnerie-Laupretre N, Brandel JP, Deslys JP (2000): Neuropathologic variants of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease and codon 129 of PrP gene. *Neurology* 54: 1641-46
- Hay B, Prusiner SB, Lingappa VR (1987): Evidence for a secretory form of the cellular prion protein. *Biochemistry* 26: 8110-5
- Hebb AO, Cusimano MD (2001): Idiopathic normal pressure hydrocephalus: a systematic review of diagnosis and outcome. *Neurosurgery* 49: 1166-84; discussion 1184-6
- Hermes J, Tings T, Gall S, Madlung A, Giese A, Siebert H, Schumann P, Windl O, Brose N, Kretschmar H (1999): Evidence of presynaptic location and function of the prion protein. *J Neurosci* 19: 8866-8875

- Hesse C, Rosengren L, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Jensen C, Davidsson P, Blennow K (2000): Cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease evaluated after acute ischemic stroke. *J Alzheimers Dis* 2: 199-206
- Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD (1999): Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF. *Neurology* 52: 1555-62
- Jakob A (1921): Über eine der multiplen Sklerose klinisch nahestehende Erkrankung des Zentralnervensystems (spastische Pseudosklerose) mit bemerkenswertem anatomischen Befunde. Mitteilung eines vierten Falles. *Med Klin* 17: 372-376
- Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Müller-Hill B (1987): The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 325: 733-6
- Kiefer M, Eymann R, Komenda Y, Steudel WI (2003): A grading system for chronic hydrocephalus. *Zentralbl Neurochir* 64: 109-115
- Krakauer DC, Zanotto PM, Pagel M (1998): Prion's progress: patterns and rates of molecular evolution in relation to spongiform disease. *J Mol Evol* 47: 133-145
- Kramer ML, Kratzin HD, Schmidt B, Römer A, Windl O, Liemann S, Hornemann S, Kretzschmar H (2001): Prion protein binds copper within the physiological concentration range. *J Biol Chem* 276: 16711-16719
- Kretzschmar HA, Stowring LE, Westaway D, Stubblebine WH, Prusiner SB, Dearmond SJ (1986): Molecular cloning of a human prion protein cDNA. *DNA* 5: 315-24
- Kretzschmar HA, Tings T, Madlung A, Giese A, Herms J (2000): Function of PrP(C) as a copper-binding protein at the synapse. *Arch Virol Suppl* 16: 239-49
- Kudo T, Mima T, Hashimoto R, Nakao K, Morihara T, Tanimukai H, Tsujio I, Koike Y, Tagami S, Mori H (2000): Tau protein is a potential biological marker for normal pressure hydrocephalus. *Psychiatry Clin Neurosci* 54: 199-202
- Kurschner C, Morgan JI (1996): Analysis of interaction sites in homo- and heteromeric complexes containing Bcl-2 family members and the cellular prion protein. *Brain Res Mol Brain Res* 37: 249-58

Kurz A: Klinik; in: Demenzen; hrsg. v. Beyreuther K, Einhäupl KM, Förstl H, Kurz A; Thieme-Verlag, Stuttgart 2002, 168-86

Kuwahara C, Takeuchi AM, Nishimura T, Haraguchi K, Kubosaki A, Matsumoto Y, Saeki K, Matsumoto Y, Yokoyama T, Itohara S (1999): Prions prevent neuronal cell-line death. *Nature* 400: 225-6

Li QX, Fuller SJ, Beyreuther K, Masters CL (1999): The amyloid precursor protein of Alzheimer disease in human brain and blood. *J Leukoc Biol* 66: 567-74

Lins H, Wichart I, Bancher C, Wallesch CW, Jellinger KA, Rösler N (2004): Immunoreactivities of amyloid beta peptide((1-42)) and total tau protein in lumbar cerebrospinal fluid of patients with normal pressure hydrocephalus. *J Neural Transm* 111: 273-80

MacGregor I, Hope J, Barnard G, Kirby L, Drummond O, Pepper D, Hornsey V, Barclay R, Bessos H, Turner M (1999): Application of a time-resolved fluoroimmunoassay for the analysis of normal prion protein in human blood and its components. *Vox Sang* 77: 88-96

McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC (2001): Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 50: 121-127

McKeith IG, Fairbairn, A, Perry R (1992): Neuroleptic sensitivity in patients with senile dementia of Lewy body type. *BMJ* 305: 673-678

McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, Perry EK, Dickson DW, Hansen LA, Salmon DP, Lowe J, Mirra SS, Byrne EJ (1996): Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop. *Neurology* 47: 1113-1124

McKhann G, 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: 939-44

- McLennan NF, Brennan PM, McNeill A, Davies I, Fotheringham A, Rennison KA, Ritchie D, Brannan F, Head MW, Ironside JW (2004): Prion protein accumulation and neuroprotection in hypoxic brain damage. *Am J Pathol* 165: 227-235
- Miura T, Hori-i A, Mototani H, Takeuchi H (1999): Raman spectroscopic study on the copper(II) binding mode of prion octapeptide and its pH dependence. *Biochemistry* 38: 11560-9
- Mollenhauer B, Cepek L, Bibl M, Wiltfang J, Schulz-Schaeffer WJ, Ciesielczyk B, Neumann M, Steinacker P, Kretzschmar HA, Poser S (2005): Tau protein, Abeta42 and S-100B protein in cerebrospinal fluid of patients with dementia with Lewy bodies. *Dement Geriatr Cogn Disord* 19: 164-70
- Mollenhauer B, Trenkwalder C, von Ahsen N, Bibl M, Steinacker P, Brechlin P, Schindehuetten J, Poser S, Wiltfang J, Otto M (2006): Beta-amyloid 1-42 and tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 22: 200-8
- Mouillet-Richard S, Ermonval M, Chebassier C, Laplanche JL, Lehmann S, Launay JM, Kellermann O (2000): Signal transduction through prion protein. *Science* 289: 1925-8
- Multhaup G, Schlicksupp A, Hesse L, Behr D, Ruppert T, Masters CL, Beyreuther K (1996): The amyloid precursor protein of Alzheimer's disease in the reduction of copper(II) to copper(I). *Science* 271: 1406-1409
- Multhaup G, Ruppert T, Schlicksupp A, Hesse L, Bill E, Pipkorn R, Masters CL, Beyreuther K (1998): Copper-binding amyloid precursor protein undergoes a site-specific fragmentation in the reduction of hydrogen peroxide. *Biochemistry* 37: 7224-7230
- Ott A, Breteler MM, van Harskamp F, Claus JJ, van der Cammen TJ, Grobbee DE, Hofman A (1995): Prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia: association with education. The Rotterdam study. *BMJ* 310: 970-3
- Otto M, Wiltfang J, Tumani H, Zerr I, Lantsch M, Kornhuber J, Weber T, Kretzschmar HA, Poser S (1997a): Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 225: 210-2
- Otto M, Stein H, Szudra A, Zerr I, Bodemer M, Gefeller O, Poser S, Kretzschmar HA, Mäder M, Weber T (1997b): S-100 protein concentration in the cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease *J Neurol* 244: 566-70

- Otto M, Esselmann H, Schulz-Shaeffer W, Neumann M, Schröter A, Ratzka P, Cepek L, Zerr I, Steinacker P, Windl O (2000): Decreased beta-amyloid1-42 in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 54: 1099-102
- Pan KM, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serban A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick RJ, Cohen FE (1993): Conversion of  $\alpha$ -helices into  $\beta$ sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 10962-10966
- Parchi P, Castellani R, Capellari S, Ghetti B, Young K, Chen SG, Farlow M, Dickson DW, Sima AA, Trojanowski JQ (1996): Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 39: 767-78
- Parchi P, Giese A, Capellari S, Brown P, Schulz-Schaeffer W, Windl O, Zerr I, Budka H, Kopp N, Piccardo P (1999): Classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Ann Neurol* 46: 224-33
- Parkin ET, Watt NT, Hussain I, Eckman EA, Eckman CB, Manson JC, Baybutt HN, Turner AJ, Hooper NM (2007): Cellular prion protein regulates beta-secretase cleavage of the Alzheimer's amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 11062-7
- Parnetti L, Lanari A, Amici S, Gallai V, Vanmechelen E, Hulstaert F (2001): Phospho-Tau International Study Group CSF phosphorylated tau is a possible marker for discriminating Alzheimer's disease from dementia with Lewy bodies. Phospho-Tau International Study Group. *Neurol Sci* 22: 77-8
- Petanceska SS, Nagy V, Frail D, Gandy S (2000): Ovariectomy and 17beta-estradiol modulate the levels of Alzheimer's amyloid beta peptides in brain. *Exp Gerontol* 35: 1317-25
- Picard-Hagen N, Gayraud V, Vigué C, Moudjou M, Imbs C, Toutain PL (2006): Prion protein in the cerebrospinal fluid of healthy and naturally scrapie-affected sheep. *J Gen Virol* 7: 3723-7
- Pocchiari M, Puopolo M, Croes EA, Budka H, Gelpi E, Collins S, Lewis V, Sutcliffe T, Guilivi A, Delasnerie-Laupretre N (2004): Predictors of survival in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease and other human transmissible spongiform encephalopathies. *Brain* 127: 2348-59

- Politopoulou G, Seebach JD, Schmutz M, Schwarz HP, Aguzzi A (2000): Age-related expression of the cellular prion protein in human peripheral blood leukocytes. *Haematologica* 85: 580-587
- Prusiner SB (1982): Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216: 136-144
- Prusiner SB (1991): Molecular biology of prion diseases. *Science* 252: 1515-22
- Prusiner SB (1998): Prions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 13363-13383
- Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, Bolton DC, Bendheim PE, Groth DF, Glenner GG (1983): Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell* 35: 349-58
- Puckett C, Concannon P, Casey C, Hood L (1991): Genomic structure of the human prion protein gene. *Am J Hum Genet* 49: 320-9
- Rangel A, Burgaya F, Gavín R, Soriano E, Aguzzi A, Del Río JA (2007): Enhanced susceptibility of Prnp-deficient mice to kainate-induced seizures, neuronal apoptosis, and death: Role of AMPA/kainate receptors. *J Neurosci Res* 85: 2741-55
- Reischies FM, Schaub RT, Schlattmann P (1996): Normal ageing, impaired cognitive functioning and senile dementia--a mixture distribution analysis. *Psychol Med* 26: 785-90
- Rieger R, Edenhofer F, Lasmézas CI, Weiss S (1997): The human 37-kDa laminin receptor precursor interacts with the prion protein in eukaryotic cells. *Nat Med* 3: 1383-8
- Riemenschneider M, Buch K, Schmolke M, Kurz A, Guder WG (1996): Cerebrospinal protein tau is elevated in early Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 212: 209-11
- Roucou X, Gains M, LeBlanc AC (2004): Neuroprotective functions of prion protein. *J Neurosci Res* 75: 153-61
- Sakurai-Yamashita Y, Sakaguchi S, Yoshikawa D, Okimura N, Masuda Y, Katamine S, Niwa M (2005): Female-specific neuroprotection against transient brain ischemia observed in mice devoid of prion protein is abolished by ectopic expression of prion protein-like protein. *Neuroscience* 136: 281-7

- Schätzl HM, Da Costa M, Taylor L, Cohen FE, Prusiner SB (1995): Prion protein gene variation among primates. *J Mol Biol* 245: 362-374
- Schmitt-Ulms G, Legname G, Baldwin MA, Ball HL, Bradon N, Bosque PJ, Crossin KL, Edelman GM, DeArmond SJ, Cohen FE (2001): Binding of neural cell adhesion molecules (N-CAMs) to the cellular prion protein. *J Mol Biol* 314: 1209-25
- Scott MR, Will R, Ironside J, Nguyen HO, Tremblay P, DeArmond SJ, Prusiner SB (1999): Compelling transgenic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 15137-42
- Sharonova IN, Vorobjev VS, Haas HL (1998): High-affinity copper block of GABA(A) receptor-mediated currents in acutely isolated cerebellar Purkinje cells of the rat. *Eur J Neurosci* 10: 522-8
- Shoji M, Matsubara E, Kanai M, Watanabe M, Nakamura T, Tomidokoro Y, Shizuka M, Wakabayashi K, Igeta Y, Ikeda Y (1998): Combination assay of CSF tau, A beta 1-40 and A beta 1-42(43) as a biochemical marker of Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 158: 134-40
- Silverberg GD, Mayo M, Saul T, Rubenstein E, McGuire D (2003): Alzheimer's disease, normal-pressure hydrocephalus, and senescent changes in CSF circulatory physiology: a hypothesis. *Lancet Neurol* 2: 506-511
- Sjögren M, Vanderstichele H, Agren H, Zachrisson O, Edsbacke M, Wikkelso C, Skoog I, Wallin A, Wahlund LO, Marcusson J (2001): Tau and Abeta42 in cerebrospinal fluid from healthy adults 21-93 years of age: establishment of reference values. *Clin Chem* 47: 1776-81
- Smith MA, Richey Harris PL, Sayre LM, Beckman JS, Perry G (1997): Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 17: 2653-7
- Stahl N, Borchelt DR, Hsiao K, Prusiner SB (1987): Scrapie prion protein contains a phosphatidylinositol glycolipid. *Cell* 51: 229-240
- Strozyk D, Blennow K, White LR, Launer LJ (2003): CSF Abeta 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study. *Neurology* 60: 652-656

- Sunderland T, Wolozin B, Galasko D, Levy J, Dukoff R, Bahro M, Lasser R, Motter R, Lehtimäki T, Seubert P (1999): Longitudinal stability of CSF tau levels in Alzheimer patients. *Biol Psychiatry* 46: 750-5
- Tagliavini F, Prelli F, Porro M, Salmona M, Bugiani O, Frangione B (1992): A soluble form of prion protein in human cerebrospinal fluid: implications for prion-related encephalopathies. *Biochem Biophys Res Commun* 184: 1398-404
- Tobler I, Gaus SE, Deboer T, Achermann P, Fischer M, Rüllicke T, Moser M, Oesch B, McBride PA, Manson JC (1996): *Nature* 380: 639-42
- Trenkwalder C, Schwarz J, Gebhard J, Ruland D, Trenkwalder P, Hense HW, Oertel WH (1995): Starnberg trial on epidemiology of Parkinsonism and hypertension in the elderly. Prevalence of Parkinson's disease and related disorders assessed by a door-to-door survey of inhabitants older than 65 years. *Arch Neurol* 52: 1017-22
- Vassallo N, Herms J (2003): Cellular prion protein function in copper homeostasis and redox signalling at the synapse. *J Neurochem* 86: 538-44
- Vassallo N, Herms J, Behrens C, Krebs B, Saeki K, Onodera T, Windl O, Kretzschmar HA (2005): Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by cellular prion protein and its role in cell survival. *Biochem Biophys Res Commun* 332: 75-82
- Viles JH, Cohen FE, Prusiner SB, Goodin DB, Wright PE, Dyson HJ (1999): Copper binding to the prion protein: structural implications of four identical cooperative binding sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 2042-7
- Voigtländer T, Klöppel S, Birner P, Jarius C, Flicker H, Verghese-Nikolakaki S, Sklaviadis T, Guentchev M, Budka H (2001): Marked increase of neuronal prion protein immunoreactivity in Alzheimer's disease and human prion diseases. *Acta Neuropathol (Berl)* 101: 417-423
- Wallin AK, Blennow K, Andreasen N, Minthon L (2006): CSF biomarkers for Alzheimer's Disease: levels of beta-amyloid, tau, phosphorylated tau relate to clinical symptoms and survival. *Dement Geriatr Cogn Disord* 21: 131-8
- Walz R, Amaral OB, Rockenbach IC, Roesler R, Izquierdo I, Cavalheiro EA, Martins VR, Brentani RR (1999): Increased sensitivity to seizures in mice lacking cellular prion protein. *Epilepsia* 40: 1679-82

- Weise J, Crome O, Sandau R, Schulz-Schaeffer W, Bähr M, Zerr I (2004): Upregulation of cellular prion protein (PrP<sub>c</sub>) after focal cerebral ischemia and influence of lesion severity. *Neurosci Lett* 372: 146-50
- Weise J, Sandau R, Schwarting S, Crome O, Wrede A, Schulz-Schaeffer W, Zerr I, Bähr M (2006): Deletion of cellular prion protein results in reduced Akt activation, enhanced postischemic caspase-3 activation, and exacerbation of ischemic brain injury. *Stroke* 37: 1296-300
- White AR, Collins SJ, Maher F, Jobling MF, Stewart LR, Thyer JM, Beyreuther K, Masters CL, Cappai R (1999): Prion protein-deficient neurons reveal lower glutathione reductase activity and increased susceptibility to hydrogen peroxide toxicity. *Am J Pathol* 155: 1723-30
- Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A, Smith PG (1996): A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347: 921-25
- Williams WM, Stadtman ER, Moskowitz J (2004): Ageing and exposure to oxidative stress in vivo differentially affect cellular levels of PrP in mouse cerebral microvessels and brain parenchyma. *Neuropathol Appl Neurobiol* 30: 161-168
- Windl O, Giese A, Schulz-Schaeffer W, Zerr I, Skworc K, Arendt S, Oberdieck C, Bodemer M, Poser S, Kretzschmar HA (1999): Molecular genetics of human prion diseases in Germany. *Hum Genet* 105: 244-252
- Wise PM, Dubal DB, Rau SW, Brown CM, Suzuki S (2005): Are estrogens protective or risk factors in brain injury and neurodegeneration? Reevaluation after the Women's health initiative. *Endocr Rev* 26: 308-12
- Wong BS, Green AJ, Li R, Xie Z, Pan T, Liu T, Chen SG, Gambetti P, Sy MS (2001): Absence of protease-resistant prion protein in the cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease. *J Pathol* 194: 9-14
- Zanata SM, Lopes MH, Mercadante AF, Hajj GN, Chiarini LB, Nomizo R, Freitas AR, Cabral AL, Lee KS, Juliano MA (2002): Stress-inducible protein 1 is a cell surface ligand for cellular prion that triggers neuroprotection. *EMBO J* 21: 3307-16
- Zerr I, Poser S (2002): Clinical diagnosis and differential diagnosis of CJD and vCJD. With special emphasis on laboratory tests. *APMIS* 110: 88-98

- Zerr I, Bodemer M, Racker S, Grosche S, Poser S, Kretschmar HA, Weber T (1995): Cerebrospinal fluid concentration of neuron-specific enolase in diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 345: 1609-10
- Zerr I, Pocchiari M, Collins S, Brandel JP, de Pedro Cuesta J, Knight RSG, Bernheimer H, Cardone F, Delasnerie-Laupretre N, Cuadrado Corrales N (2000): Analysis of EEG and CSF 14-3-3 proteins as aids to the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 55: 811-815
- Zerr I, Bodemer M, Kaboth U, Kretschmar H, Oellerich M, Armstrong VW (2004): Plasminogen activities and concentrations in patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 371: 163-166
- Zetterberg H, Pedersen M, Lind K, Svensson M, Rolstad S, Eckstrom C, Syversen S, Mattson UB, Ysander C, Mattsson N (2007): Intra-individual stability of CSF biomarkers for Alzheimer's disease over two years. *J Alzheimers Dis* 12: 255-60
- Zhang CC, Steele AD, Lindquist S, Lodish HF (2006): Prion protein is expressed on longterm repopulating hematopoietic cells and is important for their self-renewal. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 2184-2189
- Zhang J, Perry G, Smith MA, Robertson D, Olson SJ, Graham DG, Montine TJ (1999): Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. *Am J Pathol* 154: 1423-9
- Zheng H, Xu H, Uljon SN, Gross R, Hardy K, Gaynor J, Lafrancois J, Simpkins J, Refolo LM, Petanceska S (2002): Modulation of A(beta) peptides by estrogen in mouse models. *J Neurochem* 80: 191-6

## Danksagung

Frau Prof. Dr. med. I. Zerr danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Betreuung der vorliegenden Arbeit. Weiterhin gilt mein besonderer Dank Frau Monika Bodemer und Frau Barbara Ciesielczyk für ihre hilfreiche Unterstützung im Labor und für wertvolle Anregungen.

## Lebenslauf

Am 18. März 1981 wurde ich als zweites Kind von Herrn Dr. med. Konrad Meyne und Thea Meyne, geb. Bussmann, in Wolfenbüttel geboren. Nach dem Besuch der Grundschule Cranachstrasse von 1987 bis 1990 in Wolfenbüttel erfolgte ein Wechsel an die Grundschule Klütschule in Hameln (1990 bis 1991). Von 1991 bis 1993 besuchte ich die Orientierungsstufe West sowie von 1993 bis 1995 das Schiller-Gymnasium in Hameln. Von 1995 an besuchte ich das Jacobson-Gymnasium in Seesen, wo ich 2000 das Abitur ablegte.

Meinen Zivildienst leistete ich von 2000 bis 2001 in den Asklepios-Kliniken Schildautal im Pflegedienst in der Abteilung für Neurologie ab.

Seit dem Wintersemester 2001/2002 studierte ich an der Georg-August-Universität Göttingen. Im Rahmen des Praktischen Jahres absolvierte ich zwei Tertiale im Klinikum Oldenburg (Innere Medizin und Anästhesiologie) sowie ein Tertial im St. Bernward Krankenhaus in Hildesheim (Chirurgie).

Im Mai 2008 schloss ich mein Studium mit dem zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ab und bin seit dem 01.12.2008 als Assistenzarzt in der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin im DIAKO ev. Diakonie-Krankenhaus in Bremen tätig.