

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

**Immunologisches Profil und PrP^C-Expression von
Patienten mit subkortikaler vaskulärer
Enzephalopathie und vaskulärem kognitivem
Impairment**

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

vorgelegt von
Panteleimon Oikonomou

aus Thessaloniki

Göttingen 2016

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H.K. Kroemer

Referentin: Prof. Dr. med. I. Zerr

Ko-Referent: PD Dr. F. Lühder

Datum der mündlichen Prüfung: 21.03.2017

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „**Immunologisches Profil und PrP^C-Expression von Patienten mit subkortikaler vaskulärer Enzephalopathie und vaskulären kognitivem Impairment**“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den 20.09.2016

(Unterschrift)

Inhaltverzeichnis

Inhaltverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis	VIII
1. Einleitung.....	1
1.1. Vaskuläre Demenz und subkortikale vaskuläre Enzephalopathie.....	1
1.2. Zytokine und Chemokine als neuroimmunologische Mediatoren	10
1.3. Das Prion-Protein	13
1.4. Zweck der Arbeit.....	18
2. Fragestellungen	19
3. Patienten, Material und Methoden.....	20
3.1. Patienten.....	20
3.2. Klinische Materialien.....	23
3.3. Biochemische Materialien.....	24
3.4. Biochemische Methoden.....	27
3.5. Statistische Auswertung	31
4. Ergebnisse.....	32
4.1. Deskriptive Analyse der erhobenen Daten innerhalb der Patientengruppen	32
4.2. Pro-inflammatorische Zytokine und Chemokine im Liquor	36
4.3. Pro- und anti-inflammatorische Zytokine und Chemokine im Serum.....	41
4.4. Korrelation der Immunmarker mit den klinischen Parametern.....	45
4.5. CRP-Bestimmung im Serum.....	49
4.6. PrP ^C -Bestimmung im Liquor	49
4.7. PrP ^C -Bestimmung im Serum.....	53
5. Diskussion.....	55
5.1. Studiendesign.....	55
5.2. Analyse der Demenzmarker im Liquor und der klinischen Marker	57
5.3. Regulation der pro-inflammatorischen Zytokine und Chemokine im Liquor.....	58
5.4. Regulation der pro- und anti-inflammatorischen Zytokine und Chemokine im Serum... 64	
5.5. Korrelationen der Zytokine und Chemokine mit dem kognitiven Status in der SVE-Gruppe 68	
5.6. Regulation des PrP ^C in den SVE-Patienten.....	70
6. Zusammenfassung	74
7. Anhang	76
7.1. Ätiopathologische Klassifikation der zerebralen Mikroangiopathie	76

7.2.	Klinische Leitsymptome der SVE nach Bänzner et al. (2003).....	76
7.3.	Liquorparameter innerhalb der SVE- und der AD-Gruppe.....	77
7.4.	ARWML-Skala und MMST innerhalb der SVE-Gruppe	78
7.5.	Konzentration der Zytokine und Chemokine in den Liquorproben der K-, AD- und SVE-Gruppe.....	78
7.6.	Rangkorrelationen nach Spearman zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Liquor und den verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe.....	80
7.7.	Untere Detektionsgrenze von den gemessenen Zytokinen und Chemokinen im Serum sowie Anzahl und Anteil der untersuchten Proben mit detektierbaren Werten von den jeweiligen Zytokinen und Chemokinen.....	81
7.8.	Konzentrationswerte von den gemessenen Werten von Zytokinen und Chemokinen im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe.....	82
7.9.	Rangkorrelationen nach Spearman zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Serum und verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe.....	83
7.10.	PrP ^C -Konzentrationswerte im Liquor von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe	83
7.11.	Rangkorrelationen nach Spearman zwischen PrP ^C -Konzentrationswerten im Liquor und klinischen Parametern in der SVE- Gruppe.....	84
7.12.	PrP ^C -Konzentrationswerte im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe.....	84
8.	Bibliografie	85

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1: Häufigkeit der Demenzformen	7
Abb. 1.2: Schematische Darstellung der tertiären Struktur des PrP ^C	15
Abb. 3.1: Bio-Plex Immunoassay: Sandwich-Komplex (Bio-Rad Laboratories, Inc. 2012)	28
Abb. 3.2: Schematische Darstellung der Versuchsschritte der Bio-Plex-Methode für die Zytokin- und Chemokin-Bestimmung (Geng et al. 2012)	30
Abb. 4.1: Liquorparameter der AD- und SVE-Gruppen und Untergruppen	34
Abb. 4.2: Gesamtwerte der ARWMC-Skala nach Wahlund et al. (2001) innerhalb der SVE-Patienten der Studie	35
Abb. 4.3: Der MMST innerhalb der SVE- Gruppe und der Untergruppen	36
Abb. 4.4: Prozentanteil der untersuchten Proben mit detektierbaren Zytokinen-Konzentrationen anhand ihrer Gruppe.....	37
Abb. 4.5: Bestimmung von IL-2 und IL-17 im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppen	37
Abb. 4.6: Bestimmung von IL-6, IL-7, IL-13 und TNF- α im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppen	38
Abb. 4.7: Bestimmung von G-CSF und GM-CSF im Liquor von Patienten mit SVE und AD sowie von Kontrollen	39
Abb. 4.8: Bestimmung von Chemokinen IL-8, MCP-1 und MIP-1 β im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppe	39
Abb. 4.9: Konzentrationswerte des IL-6 im Liquor von Patienten der Untergruppen	40
Abb. 4.10: Konzentrationswerte der Chemokine, IL-8 und MIP-1 β im Liquor von Patienten der SVE-Untergruppen	41
Abb. 4.11: Bestimmung der pro-inflammatorischen, Makrophagen-aktivierenden und hämatopoetischen Zytokine im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppe	43
Abb. 4.12: Bestimmung der Chemokine-Konzentrationen im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppen	44
Abb. 4.13: Bestimmung von B-Zell-aktivierenden T _H 2-Zytokinen im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppen	45
Abb. 4.14: Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von IL-8 im Liquor und dem Alter in Jahren von Patienten mit SVE.....	46
Abb. 4.15: Die signifikanten Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von Zytokinen und Chemokinen und den Demenzmarkern im Liquor von Patienten mit SVE	47
Abb. 4.16: Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von IL-6, IL-8 und MIP-1 β im Liquor und den Werten des MMST bei Patienten mit SVE	48
Abb. 4.17: Signifikante Korrelationen zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Serum und verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe	49
Abb. 4.18: Konzentrationswerte von CRP im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppe	49
Abb. 4.19: PrP ^C -Konzentrationswerte im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppe	50
Abb. 4.20: PrP ^C -Konzentrationswerte im Liquor von Patienten der Untergruppen	51

Abb. 4.21: Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von PrP ^C und den verschiedenen Demenzmarkern im Liquor von Patienten mit SVE	52
Abb. 4.22: Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von PrP ^C und IL-2, IL-8 und MCP-1 im Liquor von Patienten mit SVE	53
Abb. 4.23: PrP ^C -Konzentrationswerte im Serum von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppe	54
Abb. 4.24: Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von PrP ^C und IL-13 sowie MIP-1 β im Serum von Patienten mit SVE	54

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Die untersuchten Zytokine in dieser Studie, ihre produzierenden Zellen sowie ihre Hauptwirkungen	11
Tabelle 1.2: Die untersuchten Chemokine in dieser Studie, ihre Gruppen, produzierenden Zellen und Hauptwirkungen	13
Tabelle 3.1: Bewertung der ARWMC-Skala	24
Tabelle 3.2: Punkte der ARWML-Skala anhand des anatomischen Bereichs	24
Tabelle 4.1: Zusammensetzung des gesamten Patientenkollektivs	32
Tabelle 4.2: χ^2 -Test zur Untersuchung der Unterschiede der Geschlechtsverteilung zwischen den Gruppen	33
Tabelle 7.1: Ätiopathologische Klassifikation der zerebralen Mikroangiopathie	76
Tabelle 7.2: Klinische Leitsymptome der SVE nach Bänzner et al. (2003)	76
Tabelle 7.3: Liquorparameter innerhalb der SVE- und der AD-Gruppe	77
Tabelle 7.4: ARWML-Skala und MMST innerhalb der SVE-Gruppe	78
Tabelle 7.5: Konzentration der Zytokine und Chemokine in den Liquorproben der K-, AD- und SVE-Gruppe	78
Tabelle 7.6: Rangkorrelationen nach Spearman zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Liquor und den verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe	80
Tabelle 7.7: Untere Detektionsgrenze von den gemessenen Zytokinen und Chemokinen im Serum sowie Anzahl und Anteil der untersuchten Proben mit detektierbaren Werten von den jeweiligen Zytokinen und Chemokinen	81
Tabelle 7.8: Konzentrationswerte von den gemessenen Werten von Zytokinen und Chemokinen im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe	82
Tabelle 7.9: Rangkorrelationen nach Spearman zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Serum und verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe	83
Tabelle 7.10: PrP ^C -Konzentrationswerte im Liquor von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe	83
Tabelle 7.11: Rangkorrelationen nach Spearman zwischen PrP ^C -Konzentrationswerte im Liquor und klinischen Parameter in der SVE-Gruppe	84
Tabelle 7.12: PrP ^C -Konzentrationswerte im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe	84

Abkürzungsverzeichnis

- AD Alzheimer-Demenz
- ADDTC *State of California Alzheimer's Disease Diagnostic and Treatment Centers*
- APP Amyloid-Vorläufer-Protein
- AS Aminosäuren
- A β 1–40 Amyloid- β 1–40
- A β 1–42 Amyloid- β 1–42
- ARWMC *Age-Related White Matter Changes Rating Scale*
- BHS Blut-Hirn-Schranke
- CAA zerebrale Amyloidangiopathie
- CADASIL *Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*
- CAMCOG Cambridge Cognitive Examination Battery
- CBF *cerebral blood flow*
- cCT kraniale Computertomografie
- CJK Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung
- cMRT kraniale Magnetresonanztomografie
- CSFs *colony-stimulating factors*
- d. h. das heißt
- DD Differenzial-Diagnose
- DSM *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder*
- DWM *deep white matter*
- EAE Autoimmun-Enzephalopathien
- EF isoelektrische Fokussierung
- ELISA *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*
- FLAIR *Fluid Attenuating Inversion Recovery*
- FFI *fatal familial insomnia*
- ggf. gegebenenfalls
- GHV Gesamthirnmolumen
- G-CSF *granulocyte-colony stimulating factor*
- GM-CSF *granulocyte-macrophage-colony stimulating factor*
- GPCR G-Protein-gekoppelten Sieben-Transmembrandomänen-Rezeptoren
- GSS Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom
- ICD *International Classification of Diseases*
- IIs Interleukine
- IFNs Interferone
- LP Lumbalpunktion
- LPS Lipopolysaccharide
- M Methionin
- MBP *myelin basic protein*
- MCP-1 bzw. CCL2 *monocyte chemoattractant protein-1*
- MCI *Mild Cognitive Impairment*
- MID Multiinfarktdemenz
- MIP-1 β bzw. CCL3 *macrophage inflammatory protein-1 β*
- MMP Matrix-Metalloproteasen
- MMST Mini-Mental-Status-Test

- NFL Neurofilament-Protein
- NFT *neurofibrillary tangles*
- NINDS-AIREN *National Institute of Neurological Disorders and Stroke-
Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement
en Neurosciences*
- NVE Neurovaskuläre Einheit
- PBS *phosphate buffered saline*
- PE Phycoerythrin
- PrP^C zelluläres Prion-Protein
- PRNP Prion-Protein-Gen
- Q-Alb Albumin-Liquor/Serum-Quotient
- RF Risikofaktoren
- SVD subkortikale vaskuläre Demenz
- SVD *small vessel disease*
- SVE subkortikale vaskuläre Enzephalopathie
- Treg regulatorische T-Zellen
- TIMP-1 *tissue inhibitor of metalloproteinases 1*
- TNF- α *tumor nekrosis faktor- α ,*
- TSE *transmissible spongiform encephalopathy*
- u. a. unter anderem
- z. B. zum Beispiel
- V Valin
- VaD vaskuläre Demenz
- VCI *Vascular Cognitive Impairment*
- VCIND *Vascular Cognitive Impairment No Dementia*
- WMHs *White Matter Hyperintensities*
- WMLs *White Matter Lesions*
- ZNS Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1. Vaskuläre Demenz und subkortikale vaskuläre Enzephalopathie

1.1.1. Einführung

Die kognitive Beeinträchtigung kommt häufig bei alten Menschen vor und ist eine der Hauptursachen für Invalidität und Pflegeabhängigkeit in alternden Gesellschaften (Reuser et al. 2010). Neue Studien betonen die wichtige Rolle der vaskulären Risikofaktoren in der klinischen Manifestation der Störung kognitiver Fähigkeiten (Qiu et al. 2007). Obwohl die Alzheimer-Demenz (AD) die am häufigsten diagnostizierte Ursache der kognitiven Dysfunktion bei älteren Menschen ist, werden kognitive Beeinträchtigungen auch durch vaskuläre Krankheiten, mikro- oder makrovaskuläre Veränderungen im Gehirn, stumme Hirninfarkte und klinisch klar manifestierte Schlaganfälle hervorgerufen und tragen so als wichtige Ursachen zur Pathogenese und zum Krankheitsbild bei (Gorelick et al. 2011). Außerdem fördert die zerebrale vaskuläre Insuffizienz Neurodegeneration und umgekehrt (Iadecola 2004). Tatsächlich wurde durch verschiedene pathologische Untersuchungen die häufige Kombination von vaskulären und Alzheimer-typischen Veränderungen belegt (Launer et al. 2008).

Die Prävalenz von Demenzen beträgt bei Personen über 65 Jahre in Industrieländern 5 % bis 10%. Dabei verdoppelt sich die Prävalenz der Alzheimer-Krankheit alle 4,3 Jahre, während sich die Prävalenz der vaskulären Demenz (VaD) alle 5,3 Jahre verdoppelt. Die altersbereinigte Prävalenzrate für die Alzheimer-Krankheit liegt bei 19,2 und für die VaD bei 14,6 pro 1000 Personen-Jahre (Gorelick et al. 2011). Mittlerweile haben populationsbezogene MRT-Studien eine hohe Prävalenz mikroangiopathischer Veränderungen in einer älteren Population gefunden, 23 % für klinisch stumme Lakunen und 95 % für Marklagerveränderungen (*White Matter Lesions*, WMLs) (Longstreth et al. 1996, 1998), wobei ein Zusammenhang mit erhöhtem Risiko für Schlaganfall und Demenz besteht (Wallesch und Förstl 2012).

1.1.2. Definitionen von Demenz, VCI, MCI und SVE

Demenz ist nach DSM-IV (2003) als die Entwicklung multipler kognitiver Defizite definiert, die schwerwiegend genug sind, um eine Beeinträchtigung der sozialen oder beruflichen Leistungsfähigkeit zu verursachen, und die eine deutliche Verschlechterung gegenüber einem früheren Leistungsniveau darstellen.

Vascular Cognitive Impairment (VCI) stellt sich dar als ein Syndrom mit klinischen Schlaganfällen oder subklinischen vaskulären Hirnveränderungen sowie begleitenden kognitiven Beeinträchtigungen mindestens einer kognitiven Domäne. Dies beinhaltet das ganze Spektrum der kognitiven Einschränkungen (*Vascular Cognitive Impairment No Dementia*, VCIND; *Mild Cognitive Impairment*, MCI; vaskuläre Demenz, VaD) sowie das pathologische Spektrum von einer „reinen“ Alzheimer-Krankheit durch verschiedene Grade der vaskulären Beteiligung, die sogenannte gemischte Krankheit (*Mixed-Disease*, Alzheimer-Erkrankung mit vaskulärer Demenz) bis zur „reinen“ VaD. (O'Brien et al. 2002; Román et al. 2004; Selnes und Vinters 2006; Gorelick et al. 2011).

Die leichte kognitive Störung (*Mild Cognitive Impairment*, MCI) ist als subjektive und objektivierbare kognitive Leistungsverschlechterung bei erhaltener Alltagskompetenz definiert (DGPPN und DGN 2015). Über vaskuläre leichte kognitive Störung (*Vascular Mild Cognitive Impairment*, VaMCI) sprechen wir, wenn die kognitive Beeinträchtigung aufgrund einer zerebrovaskulären Erkrankung entwickelt wurde. Hierbei können die kognitiven Defizite in anderen kognitiven Domänen (z. B. exekutive Funktionen) auftreten, in Abgrenzung zum sogenannten *amnesic* MCI, wobei Gedächtnisstörungen als Leitsymptom des MCI-Syndroms anzusehen sind (O'Brien et al. 2003).

Die subkortikale vaskuläre Enzephalopathie (SVE) ist nach Bänzner et al. (2003) operational als eine Erkrankung des höheren Lebensalters mit einem Altersgipfel jenseits des 65. Lebensjahres definiert, die sich durch eine zerebrale Mikroangiopathie mit zwei Haupttypen der zerebralen Gewebeschädigung auszeichnet: Die lakunären zerebralen Ischämien sowie diffusen Veränderungen der weißen Hirnsubstanz, welche sowohl in der zerebralen Bildgebung mittels cMRT und cCT als auch neuropathologisch voneinander abgrenzbar sind, liegen allerdings sehr häufig gleichzeitig vor (Bänzner et al. 2003).

1.1.3. Klinische Kriterien für die vaskuläre Demenz und VCI

Die diagnostischen Kriterien sind nicht nur als diagnostische Werkzeuge in der klinischen Praxis, sondern auch für die Durchführung von epidemiologischen Studien besonders wichtig. Die am häufigsten verwendeten klinischen Kriterien sind die DSM (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder*) und die ICD (*International Classification of Diseases*). Bei den NINDS-AIREN (*National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences*) und den ADDTC (*State of California Alzheimer's Disease Diagnostic and Treatment Centers*) handelt es sich um wissenschaftliche Kriterien, die hauptsächlich in der Forschung als diagnostische Instrumente für VaD angewendet werden. Für die Abgrenzung der Diagnose der

subkortikalen Form der VaD wurden zusätzlich unterstützende klinische Kriterien vorgeschlagen (Erkinjuntti 2002).

Alle diagnostischen Kriterien zur Kennzeichnung kognitiver Syndrome, die mit Gefäßerkrankungen verbunden sind, sollen auf der Kombination zweier Faktoren beruhen: Darstellung einer kognitiven Beeinträchtigung (Demenz oder VaMCI) mithilfe der neuropsychologischen Testungen und Nachweis entweder eines klinischen Schlaganfalls anamnestisch oder einer Hirngefäßerkrankung mit bildgebenden Verfahren, die einen Zusammenhang zwischen den kognitiven Störungen und Gefäßerkrankungen aufweist (Gorelick et al. 2011).

1.1.4. Subtypen von VCI

Da VCI ein Oberbegriff ist und eine heterogene Gruppe von Erkrankungen bezeichnet, kann das VCI für den klinischen Einsatz in verschiedene Untergruppen eingeteilt werden (O'Brien et al. 2003). Zu den Untergruppen gehören: Die vaskuläre kognitive Beeinträchtigung ohne Demenz bzw. vaskuläre leichte kognitive Beeinträchtigung (VCIND/VaMCI), die vaskuläre Demenz (VaD) und die gemischten Formen von primären neurodegenerativen Erkrankungen (hauptsächlich Alzheimer-Krankheit) und VaD (Román et al. 2004). Obwohl diese Untergruppen noch wenig spezifiziert sind, lassen sie sich durch Risikofaktoren, pathologische Mechanismen, klinische Merkmale und Ansprechen auf die Behandlung charakterisieren (Rockwood et al. 2006).

1.1.5. Klassifizierung des VCI und Ätiopathogenese der SVE

Das VCI wurde zusätzlich anhand der ätiologischen und neuropathologischen Mechanismen der vaskulären Veränderungen in folgenden Kategorien klassifiziert (Jiwa et al. 2010):

- VCI bei Makroangiopathie (*large-vessel vascular dementia*): Multiinfarktdemenz (MID), strategische Infarkte
- VCI bei Mikroangiopathie (*small-vessel vascular dementia*): Multilakunäres Syndrom, SVE und Mikrogefäßveränderungen ohne neuroradiologischen Nachweis einer Läsion)
- VCI infolge Ischämie/Hypoperfusion
- VCI im Rahmen anderer Angiopathien: zerebrale Amyloidangiopathie, zerebrale Vaskulitis, CADASIL, andere hereditäre Angiopathien)
- VCI infolge Hämorrhagie (einzelne oder multiple intrazerebrale Hämatome, Mikroblutungen)

Zu der zerebralen Makroangiopathie gehören die MID und die Demenz bei strategischen Infarkten.

Bei der MID handelt es sich um mehrere territoriale, überwiegend kortikale, ischämische oder hämorrhagische, gleichzeitig oder zeitlich versetzt auftretende Hirninfarkte, die zum Untergang und zur Atrophie von neuronalem Gewebe führen. Die Infarkte treten aufgrund der atherosklerotischen Erkrankungen in großen Arterien (z. B. Arteria Carotis) mit den weitverbreiteten thromboembolischen Insulten vor allem in kortikalen Regionen auf. Dieser Typ entspricht der klassischen, im Jahre 1974 von Hachinski beschriebenen vaskulären Demenzform (Hachinski et al. 2006).

Die Ansicht, dass ein bestimmter Schwellenwert des Volumens von Hirngewebeverlust (z. B. > 50–100 ml) vorhersehbar Demenz verursacht, ist nicht mehr allgemein akzeptiert (Selnes und Vinters 2006). So kann das Vorhandensein von Infarkten geringer Größe, die jedoch an strategischen für spezifische kognitive Fähigkeiten entscheidenden Stellen wie medialem dorsalem Thalamuskern, hinterem Kapselknie, linkem inferiorem frontalem Gyrus und Basalganglien liegen, mit relativ ausgeprägten kognitiven Auffälligkeiten assoziiert werden (Vermeer et al. 2003). Häufigste klinische Form von strategischen Infarkten sind die bilateralen Thalamusinfarkte (Perren et al. 2005).

Obwohl kognitive Beeinträchtigungen aufgrund zerebraler makroangiopathischer Veränderungen klinisch wichtig sind, kommen sie selten als einziger Befund vor (Moorhouse und Rockwood 2008).

Mehrere kleinere Infarkte und zerebrale Mikroangiopathien treten häufiger bei vaskulären Demenzen auf als einzelne große Infarkte (Bowler 2007). Die zerebrale Mikroangiopathie (*small vessel disease*, SVD) gilt heutzutage als die häufigste Ursache des VCI (O'Brien et al. 2003; Hachinski et al. 2006).

Die vaskulären Demenzen bei Mikroangiopathie werden auch subkortikale vaskuläre Demenz (SVD) genannt, weil die Veränderungen in der subkortikalen Mikrozirkulation eine zentrale Rolle in ihrer Pathogenese spielen (Pantoni 2010). Bei der zerebralen Mikroangiopathie sind die langen, penetrierenden, subkortikalen, nicht kollateralisierten Arterien und Arteriolen hauptsächlich betroffen und deswegen können multifokale und diffuse subkortikale, ischämische Veränderungen auftreten (Ringelstein und Kuhlenbäumer 2004). Jedoch kann eine vollständige Identifizierung der SVD mit ischämischen Läsionen wie lakunären Infarkten und Veränderungen der weißen Substanz (*White Matter Lesions*, WMLs) restriktiv sein, da bei SVD kleine und große hämorrhagische Läsionen vorhanden sein können (Pantoni 2010). Die ätiopathologische Klassifikation der zerebralen Mikroangiopathie umfasst 5 allgemeine Typen (siehe Anhang 7.1). Der degenerative (arteriosklerotische) Typ tritt am häufigsten auf (Pantoni 2010).

Klinisch kann die zerebrale Mikroangiopathie mit verschiedenen Syndromen manifestiert und neuroradiologisch dokumentiert werden. Hierzu gehören der einzelne lakunäre Infarkt bzw. das multilakunäre Syndrom und die subkortikale arteriosklerotische Enzephalopathie (SAE) bzw. Morbus Binswanger oder Leukoaraiose (Zhang et al. 2010). Die SVE beinhaltet beide Formen der zerebralen Mikroangiopathien (Bäzner et al. 2003).

Lakunen sind kleine, typischerweise kreisrunde oder ovoide Hirninfarkte mit einem Durchmesser von 5 bis 15 mm. Sie kommen in subkortikalen Hirnarealen vor. Deshalb können Strukturen wie Basalganglien, Thalamus, Marklager sowie Hirnstamm betroffen sein. Multiple lakunäre Infarkte werden als zwei oder mehrere bilateral gelegene lakunäre Hirninfarkte definiert. Definitionsgemäß sind lakunäre Syndrome durch die Abwesenheit von jeglichen kortikalen Fokalsymptomen gekennzeichnet, was sich durch die strikt subkortikale Lage der Läsionen erklärt (Ringelstein und Kuhlenbäumer 2004).

Die zweite große Einheit der zerebralen Mikroangiopathie stellt die SAE, auch Binswanger-Erkrankung genannt, dar. Leukoaraiose gilt auch als neuroradiologisches Synonym. Der Begriff „Leukoaraiose“ wurde durch Hachinski nach den griechischen Begriffen *leukos* (weiß) und *araiosis* (Dichteverminderung) geprägt und umfasst eine Reihe von Krankheitsbildern. Er bezieht sich ursprünglich auf Veränderungen der weißen Substanz, die mittels CT nachgewiesen werden, wird aber auch für entsprechende MRT-Veränderungen angewendet (Bowler 2007). Die SVE bzw. Leukoaraiose tritt in den bildgebenden Verfahren als beidseits in den Hemisphären auftretende, fleckige oder diffuse Marklagerveränderungen auf (Pantoni 2010).

Es gibt verschiedene Theorien über die Ätiologie und Pathophysiologie dieser Veränderungen. Heutzutage gilt in den meisten Studien die Ischämie durch chronische Gefäßokklusion als die häufigste Ursache. Die Lipohyalinose mit Verdickung der Gefäßwände der kleinen zerebralen Arterien und Arteriolen kann zur kritischen Stenose und zur Minderdurchblutung von vielen subkortikalen Regionen führen und demzufolge weitverbreitete unvollständige Infarkte der tiefen weißen Substanz verursachen. Diese Veränderungen werden besonders in den langen penetrierenden Marklagerarteriolen gefunden (Khan et al. 2007). Neben der vaskulären (ischämischen) Leukenzephalopathie bestehen zusätzlich die entzündlichen und metabolischen Leukenzephalopathien (Ringelstein und Kuhlenbäumer 2004).

Histopathologisch zeigen diese leukoaraiotischen Gebiete vielfältige Merkmale verschiedenen Umfangs, wie Axon- und Oligodendroglieverlust, reaktive Astroglie, lokales Ödem und Demyelinisierung (Streifler et al. 2003).

Unabhängig vom Auftreten lakunärer Läsionen oder konfluierender WMLs können auch mikroangiopathische Veränderungen mit Kapillarverlust und Störungen der Blut-Hirn-Schranke (BHS) ohne nachgewiesene lakunäre Läsionen oder SAE durch Zellverlust und Atrophie der Hirnmasse, besonders im tiefen Marklager (*deep white matter*, DWM), zum VCI führen (Brown et al. 2007).

Die zerebrale Hypoperfusion als Ursache kognitiver Störungen kann durch Herzerkrankungen, z. B. Herzrhythmusstörungen, Vorhofflimmern oder Komplikationen des Herz-Lungen-Bypasses, auftreten. Die hauptsächlich betroffene Struktur der ischämischen Schäden liegt in hippocampalen Neuronen, aber auch in kortikalen arteriellen Grenzzonen und DWM vor (Jiwa et al. 2010).

Die zerebrale Amyloidangiopathie (CAA) wird durch vaskuläre Ablagerung von β -Amyloid-Proteinen hauptsächlich in kortikalen und leptomeningealen kleinkalibrigen Gefäßen gekennzeichnet, die einen potenziellen Mechanismus zur vaskulären und zerebralen Dysfunktion bietet (Iemolo et al. 2009). CAA liegt häufig auch als pathologisches Merkmal der AD vor (Smith und Greenberg 2009). CAA wird zunehmend als Ursache von mehreren fokalen hämorrhagischen Schlaganfällen in einer Größe von Mikroblutungen bis zu umfangreichen Blutungen gefunden (Knudsen et al. 2001).

Vaskulitiden zerebraler Gefäße gehören zu dem Spektrum der inflammatorisch bedingten zerebralen Mikroangiopathien. Es handelt sich um eine heterogene Kategorie von primären und sekundären Erkrankungen, deren Diagnose mittels Nachweises immunologischer Zellen an den pathologischen Veränderungen der Gefäßwände gestellt wird (Lienert und Sturzenegger 2008).

CADASIL (*Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*) bezeichnet die häufigste monogenetische Form der SVE. Diese wird durch eine dominant vererbte Mutation des NOTCH3-Gens auf Chromosom 19q12 verursacht. Die Erkrankung ist selten (ca. 200 Familien bekannt in Deutschland) und tritt relativ früh bei den betroffenen Patienten auf (Ringelstein und Kuhlenbäumer 2004).

1.1.6. Epidemiologie und Risikofaktoren des VCI

Die meisten älteren Studien verwenden den Begriff VaD oder MID. In jüngerer Zeit wurde der Begriff VCI eingeführt, um das gesamte Spektrum von kognitiven Störungen im Bereich von milder kognitiver Beeinträchtigung bis zur entwickelten Demenz abzudecken (Hachinski et al. 2006).

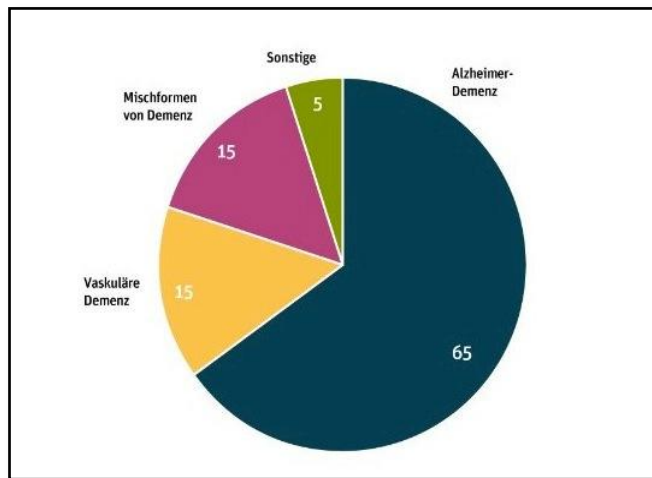


Abb. 1.1: Häufigkeit der Demenzformen. Die Alzheimer-Demenz ist unter den demenziellen Erkrankungen bei weitem die häufigste Form. Die vaskulären Formen und Mischformen belegen hierbei den zweiten und dritten Platz. Die Angaben schwanken allerdings je nach Quelle (Berlin-Institut für Bevölkerung und Entwicklung, 2011).

Die Prävalenz von VaD liegt zwischen 3% und 6%, aber die beschriebene Variation lag zwischen 0% bis 20%. Es gibt relativ wenige Daten hinsichtlich der Häufigkeit in der allgemeinen Bevölkerung (Iemolo et al. 2009). Die Inzidenz variiert stark, mit Daten von 0,7 bis 8,1 pro 1000 und Jahr (Fratiglioni et al. 2000). Die Häufigkeit der Entwicklung einer VaD nach einem Schlaganfall liegt bei 7,4% bei den krankenhausbasierten Studien und bei 41,3% bei den populationsbezogenen Studien (Pendlebury und Rothwell 2009).

Die Inzidenz der kognitiven Beeinträchtigung, welche ausreichend ist, um Störungen zu verursachen, aber nicht um die aktuellen Kriterien für vaskuläre Demenz zu erfüllen, beträgt 35,2% im Vergleich zu 3,8% mit einem ähnlichen Grad der Beeinträchtigung in Kontrollen ohne Schlaganfall (Iemolo et al. 2009).

Die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren könnten an der Entwicklung des VCI beteiligt sein (Kaffashian et al. 2011). Im Einzelnen sind Alter, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Hyperlipidämie, Herzerkrankungen (wie z.B. Vorhofflimmern, koronare Krankheiten, Herzinsuffizienz) die wichtigsten Risikofaktoren der vaskulären Enzephalopathie (Román et al. 2002).

Der Anteil der vaskulären Demenzen mikroangiopathischer Ätiologie beträgt 36% bis 67% (Chui 2001). Die Prävalenz der vaskulären Läsionen in der weißen Hirnsubstanz (WMLs) nimmt von 11% im vierten auf 83% im siebten Lebensjahrzehnt zu (Hentschel et al. 2003). Die klinische Bedeutung der WMLs für den kognitiven Zustand der Patienten wird kontrovers diskutiert (Hentschel et al. 2003). Eine Metaanalyse zeigte, dass Hyperintensitäten der weißen Substanz (*White Matter Hyperintensities*, WMHs) ein erhöhtes Risiko für Schlaganfall,

Demenz und Tod vorhersagen können. Ihre Entdeckung sollte ein detailliertes Screening der Risikofaktoren für Schlaganfall und Demenz veranlassen (DeBette und Markus 2010). Daher können sie als Marker für die Einschlusskriterien in einer Forschungs-Einstellung verwendet werden, wenn WMHs als Teil der diagnostischen Untersuchungen identifiziert wurden.

1.1.7. Klinisches Bild, neuroradiologische und neuropsychologische Untersuchung der SVE

Die neurologischen Symptome von Patienten mit VCI sind ebenso heterogen wie die Erkrankung selbst und sie unterscheiden sich entsprechend den Typen der zugrunde liegenden Gefäßerkrankung. Bei Mikroangiopathie tritt hauptsächlich die Symptomatik der SVE auf, während bei dem Vorhandensein territorialer Hirninfarkte die neurologische Herdsymptomatik wie Aphasie, Hemianopsie, hemisensomotorische Defizite und Reflex-Asymmetrie überwiegt (Salka et al. 2008). Das klinische Bild der SVE, welches die Patienten dieser Studie zeigten, kann somatische Symptome wie Gangstörungen mit Störung der posturalen Kontrolle, Hypokinese, Rigidität und Bradykinese (vaskuläre Pseudoparkinsonism), Miktionsstörungen wie Nykturie und Inkontinenz, leichte fokalneurologische Zeichen wie pseudobulbäre Symptomatik (Román et al. 2002; Bänzner et al. 2003) und ein progredientes kognitives Syndrom mit psychomotorischer Verlangsamung, Störung der exekutiven Funktionen (Aufmerksamkeit, Konzentration, Handlungsplanung, Urteilsvermögen), Antriebsmangel sowie Gedächtnisstörungen umfassen (Hachinski et al. 2006; Ramos-Estébanez et al. 2008). Persönlichkeit und affektive Störungen wie Depression, die sogenannte „vaskuläre Depression“, werden oft ebenso beobachtet (Taylor et al. 2013).

Die neuroradiologische Diagnostik der SVE wird durch den Nachweis von Marklager-Veränderung (WMLs) durchgeführt, die hauptsächlich als Hyperintensitäten der weißen Hirnsubstanz (WMHs) in den T2-gewichteten oder FLAIR-Sequenzen (*Fluid Attenuating Inversion Recovery*) der kranialen Magnetresonanztomografie (cMRT) sowie als Lakunen und Mikroblutungen auch im CT identifiziert werden und eine nicht entzündliche oder metabolische Genese haben (Seiler et al. 2012). Für die Quantifizierung der WMLs können verschiedene Ratingskalen verwendet werden (Fazekas et al. 2002; Olsson et al. 2013).

Die neuropsychologische Untersuchung muss mittels verschiedener Testungen die Funktion aller kognitiven Domänen prüfen und mögliche Defizite nachweisen. Besonders sollen die exekutiven Funktionen erfasst werden, da sie bei SVE-Patienten am stärksten beeinträchtigt sind (Bagnoli et al. 2012).

1.1.8. Biomarker-Bestimmung bei Demenzerkrankungen

Biomarker sind objektiv gemessene, biologische Merkmale, die als Indikatoren einer Krankheit bzw. ihres Verlaufs herangezogen werden können (Schmitz et al. 2008). Potenzielle Biomarker werden derzeit untersucht, um die Früherkennung, die neuropathologische Diskriminierung, die Prognose sowie die Überwachung der Progression der pathologischen Prozesse sowie das Ansprechen auf die Behandlung bei Demenzen zu unterstützen (Moorhouse und Rockwood 2008).

Liquor dient als beste Quelle in der Forschung nach biochemischen Biomarkern für demenzielle Entwicklungen, da er in enger Verbindung mit dem extrazellulären Raum des ZNS steht, in den zelluläre Produkte freigesetzt werden. Daher sollte seine biochemische Zusammensetzung auf die pathologischen ZNS-Prozesse reflektiert werden (Wallin et al. 2012). Da die Lumbalpunktion ein vergleichsweise invasives Verfahren darstellt und somit für populationsbezogene Screening-Testungen nicht geeignet ist, sind Plasma- und Serum-Biomarker eher erwünscht.

Zu den diagnostischen Biomarkern im Liquor für die AD gehören das gesamte Tau-Protein (Gesamt-Tau), das phosphorylierte Tau-Protein an Threonin 181 (P-Tau) und die Amyloidpeptide 1–42/1–40 (A β 1–42 und A β 1–40) (Otto et al. 2008). Die histopathologischen Merkmale der AD wie die neuronale Degeneration und die intrazellulären Fibrillenbündel (*neurofibrillary tangles*, NFT) finden ihre Entsprechung in der erhöhten Konzentration des Gesamt-Tau- und des P-Tau-Proteins, während das dritte Hauptmerkmal der AD, nämlich die extrazellulären Ablagerungen von Amyloid- β , sogenannte „senile Plaques“, in der niedrigen Konzentration des A β 1–42 im Liquor ausstrahlt (Blennow und Zetterberg 2009). Die kombinierte Messung von Gesamt-Tau, P-Tau und A β 1–42 im Liquor weist eine Sensitivität und Spezifität von 80–90% auf (Blennow und Zetterberg 2010).

Veränderungen dieser drei Biomarker wurden auch bei Patienten mit MCI gefunden (Spitzer et al. 2010) und konnten eine Progression zur AD vorhersagen (Mattsson et al. 2009). Die Berechnung des Quotienten aus A β 1–42 und A β 1–40 bietet eine differenzialdiagnostische Größe und kann die Zuverlässigkeit der neurochemischen Demenzdiagnose verbessern (Lewczuk et al. 2004; Wiltfang et al. 2007).

Potenzielle Biomarker des VCI sind der Albuminquotient als Hinweis auf eine Störung der BHS, das Sulfatit als Marker der Demyelinisierung, das Neurofilament-Protein (NFL) als Marker axonaler Degeneration und die Matrix-Metalloproteasen (MMP) als Marker der Neuroinflammation (Hachinski et al. 2006; Moorhouse und Rockwood 2008). Das *myelin basic protein* (MBP), der *tissue inhibitor of metalloproteinases* (TIMP-1), das NFL und die

Matrix-Metalloproteinase-9 (MMP-9) erlauben bei der SVE eine gute Differenzierung von AD (Wallin et al. 2012). NFL gilt besonders als Biomarker von Marklagerveränderungen und reflektiert wahrscheinlich axonale Degeneration (Sjögren et al. 2001).

1.2. Zytokine und Chemokine als neuroimmunologische Mediatoren

1.2.1. Inflammatorische Beteiligung bei Störungen der neurovaskulären Einheit und bei demenziellen Erkrankungen

Im Mittelpunkt der Pathogenese der SVE stehen die neurovaskuläre Einheit (NVE) und ihre Funktionsstörung, wobei mehrere Faktoren (Ischämie, Störung der BHS und der Autoregulation) beteiligt sind. Die NVE besteht aus vaskulären und perivaskulären Zellen, Neuronen und Neuroglia. Ihre Funktion ist es, die Homöostase der zerebralen Mikroumgebung zu erhalten (Iadecola 2004).

Die vaskulären Risikofaktoren und genetischen Komponenten induzieren inflammatorisch und hypoxisch bedingte Veränderungen der Funktion der NVE, die durch verschiedene Mechanismen zur Entstehung der WMLs führen können (Iadecola 2010). Die Rolle der inflammatorischen Zytokine und Chemokine in der Entwicklung der Angiopathie durch die Initiierung und Progression der Atherosklerose ist gut dokumentiert (Grammas 2011).

Die Aktivierung des Immunsystems im zentralen Nervensystem (ZNS) ist ein klassisches Merkmal von Ischämie, neurodegenerativen Erkrankungen, immunvermittelten Erkrankungen, Infektionen und Traumata (Amor et al. 2010). Die immunologische Aktivierung kann als Reaktion sowohl auf die ursprüngliche Ursache der Zellschädigung als auch auf das Ergebnis, nämlich die nekrotischen Zellen und Gewebe, auftreten (Mitchell und Cotran 2003). Es gibt viele Anzeichen dafür, dass entzündliche Mechanismen innerhalb des zentralen Nervensystems zu kognitiven Störungen durch Zytokin-vermittelte Wechselwirkungen zwischen Neuronen und Gliazellen beitragen können (Lee et al. 2009).

1.2.2. Physiologische Funktion von Zytokinen

Zytokine (von altgriechisch *kýtos* = „Gefäß“, „Höhlung“ „Zelle“ und *kinos* = „Bewegung“) sind kleine und nicht strukturelle Polypeptide mit einem Molekulargewicht von 8 bis 40 kDa, die das Verhalten anderer Zellen als Signalmoleküle regulieren. Sie werden nach ihren biologischen Funktionen in Interleukine (ILs), Interferone (IFNs), *tumor necrosis factors* (TNFs), kolonie-stimulierende Faktoren (CSFs) und Wachstumsfaktoren (GFs) unterteilt.

Zytokine werden durch eine Vielzahl von Immunzellen (z.B. T-Lymphozyten, Makrophagen) und Nicht-Immunzellen (z.B. Astrozyten, Schwann-Zellen, Fibroblasten) ausgeschüttet (Rubio-Perez und Morillas-Ruiz 2012).

Die meisten Zytokine weisen vielfältige Wirkungen auf. Durch die Bindung an bestimmte Rezeptorkomplexe auf der Oberfläche ihrer Zielzellen lösen Zytokine intrazelluläre Signalkaskaden aus, die durch verschiedene Mechanismen, Proteininteraktionen und Genexpressionen dieser Zellen beeinflusst werden. Auf diese Weise können die Zytokine biologische Prozesse wie Zellproliferation, Zellaktivierung, Differenzierung, Zytotoxizität, Apoptose und Synthese von oberflächlichen Membranproteinen induzieren. Darüber hinaus können verschiedene Zytokine synergistisch und antagonistisch auf ihre Zielzellen wirken (Schütt und Bröken 2009).

Die Wirkung der Zytokine kann als pleiotrop (unterschiedliche Wirkung auf unterschiedliche Zielzellen), autokrin (Wirkung auf die sezernierende Zelle), parakrin (Wirkung auf benachbarte Zellen) und endokrin (Wirkung auf weit entfernte Zellen) gekennzeichnet werden (Murphy et al. 2009). Es folgt die Tabelle 1.1 mit einer Übersicht über die Zytokine, die in dieser Studie untersucht wurden.

Tabelle 1.1: Die untersuchten Zytokine in dieser Studie, ihre produzierenden Zellen sowie ihre Hauptwirkungen.

Zytokin	Produzierende Zellen	Hauptwirkung
IL-1 β	Makrophagen, Epithelzellen	Fieber, Aktivierung der T-Zellen und Makrophagen
IL-2 (T-Zell-Wachstums-Faktor)	T-Zellen	Proliferation der T-Zellen
IL-4	T-Zellen, Mastzellen	Aktivierung von B-Zellen, IgE-Wechsel, induzierte Differenzierung zu T _H 2-Zellen
IL-5	T-Zellen, Mastzellen	Wachstum und Differenzierung der eosinophilen Zellen
IL-6	Makrophagen, T-Zellen, Endothelzellen	Wachstum und Differenzierung von T- und B-Zellen, Produktion von Proteinen der akuten Phase, Fieber
IL-7	Nicht-T-Zellen	Wachstum von Prä-B- und Prä-T-Zellen
IL-10 (<i>cytokine synthesis inhibitory factor</i>)	Monozyten	Wirksamer Inhibitor von Makrophagenfunktionen
IL-12 (<i>NK cell stimulatory factor</i>)	Makrophagen, dendritische Zellen	Aktivierung von NK-Zellen, Differenzierung von CD4-T-Zellen zu T _H 1-ähnlichen Zellen
IL-13	T-Zellen	Wachstum und Differenzierung der B-Zellen, Hemmung der T _H 1-Zellen und der Produktion inflammatorischer Zytokine durch Makrophagen, löst Allergien und Asthma aus

Zytokin	Produzierende Zellen	Hauptwirkung
IL-17	T _H 17, CD8-T-Zellen, NK-Zellen, γ : δ -T-Zellen	induziert Zytokinproduktion bei Epithelien, Endothelien und Fibroblasten, entzündungsfördernd
IFN- γ (Interferon- γ)	T-Zellen, NK-Zellen	Aktivierung von Makrophagen, Zunahme von MHC-Molekülen, Abtötung von T _H 2-Zellen
G-CSF (<i>granulocyte-colony-stimulating factor</i>)	Fibroblasten, Monozyten	stimuliert die Entwicklung und Differenzierung der myeloiden Vorläuferzellen
GM-CSF (<i>granulocyte macrophage-colony-stimulating factor</i>)	Makrophagen, T-Zellen	stimuliert das Wachstum und die Differenzierung der Myelomonocytenlinie, besonders der dendritischen Zellen
TNF- α (<i>tumor necrosis factors</i>)	Makrophagen, T-Zellen, NK-Zellen	fördert Entzündungen, Endothelaktivierung

Die Hauptfunktion von Zytokinen ist die Regulation der T-Zell-Differenzierung von undifferenzierten Zellen zu T-Helfer-1- (T_H1) und T-Helfer-2- (T_H2) Zellen, regulatorischen T-Zellen und T-Helfer-17-Zellen (Steinman 2007). Anhand ihrer entzündungsfördernden bzw. entzündungshemmenden Eigenschaften während einer Immunantwort können die Zytokine in zwei allgemeine Kategorien eingeteilt werden: die pro-inflammatorischen Zytokine (IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-12, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α) und anti-inflammatorische Zytokine (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) entsprechend der T_H1- oder T_H2-Immunantwort (Schütt und Bröken 2009).

1.2.3. Physiologische Funktion von Chemokinen

Die Chemokine (chemotaktische Zytokine) sind kleine (8–10 kDa), strukturell miteinander verwandte Proteine, die die gerichtete Wanderung von Leukozyten regulieren. Chemokine werden anhand ihres Musters der Sequenz beider Cysteine auf ihrem Aminoterminus und der Anzahl der dazwischen liegenden Aminosäuren (AS) in vier Untergruppen eingeteilt, die wichtig für ihre dreidimensionale Faltung sind. Die daraus resultierenden Chemokin-Gruppen wurden als C, CC, CXC und CX3C beschrieben (Rossi 2000).

Die Rezeptoren der verschiedenen Chemokine gehören zu den G-Protein-gekoppelten Sieben-Transmembrandomänen-Rezeptoren (GPCR), die auf verschiedenen Zielzellen lokalisiert sind. Sie werden entsprechend ihren Liganden in vier Gruppen eingeteilt. Diese werden hauptsächlich von Immunzellen, aber auch von Nicht-Immunzellen wie Neuronen, Astrozyten und Epithelzellen exprimiert (Mines et al. 2007). Die Beziehung zwischen Chemokinen und ihren Rezeptoren ist komplex, sodass einzelne Chemokine oft an verschiedene Rezeptoren binden können. Ein Chemokin-Rezeptor kann von mehreren Chemokinen aktiviert werden

(Cardona et al. 2008). Die Tabelle 1.2 zeigt die in dieser Studie gemessenen Chemokine, ihre produzierenden Zellen sowie ihre Hauptwirkungen.

Tabelle 1.2: Die untersuchten Chemokine in dieser Studie, ihre Gruppen, produzierenden Zellen und Hauptwirkungen.

Chemokin	Gruppe	Produzierende Zellen	Wirkung
MIP1- β (CCL-4) (<i>macrophage inflammatory protein-β</i>)	CC	Monozyten, Makrophagen, Neutrophile, Endothel	lockt CD8-T-Zellen und Monozyten an, hemmt Proliferation hämatopoetischer Stammzellen
MCP-1 (CCL-2) (<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>)	CC	Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Keratinozyten	lockt T-Gedächtniszellen an
IL-8 (CXCL8)	CXC	Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Keratinozyten	lockt naive T-Zellen, Neutrophile und Basophile an

1.2.4. Messungen der Zytokine und Chemokine im Liquor und Serum

In vielen Studien wurde versucht, Zytokine und Chemokine im Liquor zu untersuchen. Diese Moleküle treten in geringen Konzentrationen auf, und es waren extrem sensitive Assays für ihren Nachweis erforderlich. Außerdem können solche inflammatorischen Signalmoleküle für kurze Distanzen zwischen den Zellen diffundieren und zur lokalen Entzündung beitragen, ohne notwendigerweise in den Liquor in nachweisbaren Mengen einzudiffundieren. Aus diesem Grund kann ein undetektierbares Zytokin oder Chemokin im Liquor eine mögliche Rolle für sie nicht ausschließen (Galasko und Montine 2010).

Die Mehrheit der Zytokine lässt sich im Blut leichter detektieren als im Liquor. Eine Erklärung dafür kann eine fehlende intrathekale Produktion dieser Zytokine aufgrund des Vorhandenseins der produzierenden Immunzellen im Blut im Gegensatz zum Liquor sein.

1.3. Das Prion-Protein

1.3.1. Prionerkrankungen beim Menschen

Durch Prionen verursachte Erkrankungen, die auch als übertragbare spongiforme Enzephalopathien (*transmissible spongiform encephalopathy*, TSE) bezeichnet werden, bestehen aus einer Gruppe von verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen, die sowohl bei Menschen als auch bei Tieren auftreten können. Es existieren vier Formen menschlicher Prionerkrankungen: Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (CJK), Gerstmann-Sträulser-Scheinker-Syndrom (GSS), letale familiäre Insomnie (*fatal familial insomnia*, FFI) und Kuru. Diese

Formen können weiter als sporadisch, erworben oder vererbt klassifiziert werden (Collinge 2001).

Die TSEs werden durch verschiedene histopathologische Veränderungen im Gehirn charakterisiert. Die Hauptmerkmale umfassen die spongiöse (schwammförmige) Veränderung mit konfluierenden Vakuolen im Neuropil, die zu der Benennung der Erkrankung führte, die reaktive astrozytäre Gliose und die Ablagerungen des pathologisch gefalteten Scrapie-Prion-Proteins (PrP^{Sc}), die als Plaques imponieren können. Wie andere degenerative Gehirnerkrankungen sind Prionkrankheiten von Nervenzellverlust begleitet (Aguzzi und Haass 2003).

Der Erreger dieser seltenen Erkrankungsgruppe konnte so lange nicht nachgewiesen werden, bis 1982 Stanley B. Prusiner mit der „protein-only“-Hypothese postulierte, dass ein Protein ohne eigene Nukleinsäure die Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung verursacht (Prusiner 1982). Daher wird die Definition des sogenannten Prions als eines proteinhaltigen, infektiösen Partikels ohne Nukleinsäuresequenz (Prion für *proteinaceous infectious particle*) geprägt. Das pathogene Prion-Protein, das in den histopathologischen Veränderungen abgelagert wird, ist ein Konformationsisomer eines physiologisch kodierten Proteins. Das physiologische, zelluläre PrP wurde PrP^C (C für *cellular*) und das pathogene PrP wurde PrP^{Sc} (Sc für Scrapie) genannt (Prusiner 1998).

1.3.2. Das zelluläre Prion-Protein (PrP^C)

1.3.2.1. Biosynthese und Struktur von PrP^C

Das PrP^C ist ein Glykoprotein, das mit einem C-terminalen Glykophosphatinositol (GPI)-Anker an der äußeren Zellmembran befestigt wird (Aguzzi und Heikenwalder 2006). 1985 wurde das Prion-Protein-Gen (PRNP) entdeckt (Oesch 1985). PRNP ist beim Menschen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 20 lokalisiert und kodiert 254 AS (Puckett et al. 1991). Die Biosynthese des PrP^C beginnt an zytosolischen Ribosomen mit der Translation einer N-terminalen Signalsequenz von 22 AS. Im rauen endoplasmatischen Retikulum werden die Signalsequenz und danach auch ein hydrophobes C-terminales Peptid von 23 AS Länge am Serin 231 abgespalten und durch einen GPI-Anker ersetzt. Die weitere posttranslationale Modifikation mit der komplexen Glykosylierung erfolgt im Golgi-Apparat. Anschließend wird PrP^C mit dem GPI-Anker an die äußere Plasmamembran geheftet (Nunziante et al. 2003; Sunyach et al. 2003). Das reife und posttranslational modifizierte PrP^C besitzt 208–220 AS und kann ein Molekulargewicht zwischen 27 kDa und 36 kDa aufweisen, abhängig vom

Glykosylierungsstatus. Es existieren die un-, mono- oder diglykosylierten PrP^C-Isoformen, die mittels Western Blot unterschieden werden können (Aguzzi und Heikenwalder 2006). Durch Kernspinresonanzspektroskopie-Studien (*nuclear magnetic resonance*, NMR) konnte die räumliche Struktur von verschiedenen rekombinanten PrP-Proteinen dargestellt werden. Die dreidimensionale Struktur war von zwei unterschiedlichen Bereichen gekennzeichnet: Einem ungefalteten, frei beweglichen Polypeptid N-terminal (AS 23–120) und einer hochstrukturierten globulären Domäne am C-Terminus (AS 121–231). Der N-Terminus weist eine Oktarepeat-Domäne (OD), nämlich eine fünfmalige Wiederholungssequenz von acht Aminosäuren (Pro-His-Gly-Gly-Gly-Trp-Gly-Gln), und einen Bereich von zwanzig hydrophoben AS, die sogenannte hydrophobe Domäne (HD), auf. Die tertiäre Struktur des C-terminalen Teils enthält zwei antiparallele β -Stränge, die eine β -Faltblattstruktur und drei α -Helices bilden. Die erste Helix wird durch die beiden β -Stränge eingeschlossen. Eine Disulfidbrücke zwischen Cystein 179 und Cystein 214 verbindet und stabilisiert die zweite und dritte Helix. Hierdurch wird der hydrophobe Kern des PrP^C gebildet. Die AS Asparagin 181 und Asparagin 197 können glykosyliert und die GPI-Anker am Serin 231 angehängt werden (Riek et al. 1996; Zahn et al. 2000; Ronga et al. 2006).

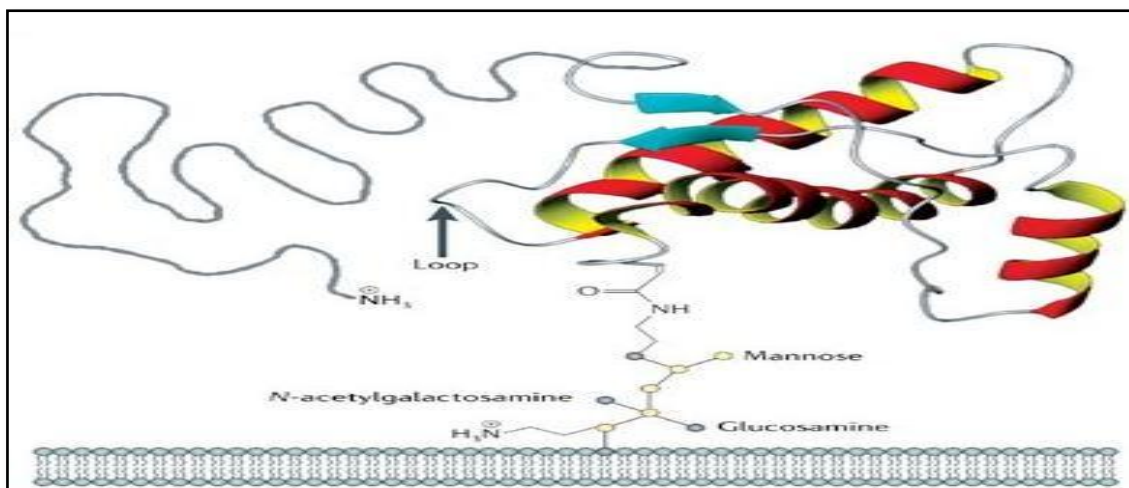


Abb. 1.2: Schematische Darstellung der tertiären Struktur des PrP^C. Das PrP^C der Säugetiere besitzt folgende Grundstruktur: Ein frei bewegliches Polypeptid N-terminal (AS 23–120) sowie eine hochstrukturierte Domäne C-terminal (AS 121–231) mit drei α -Helices und zwei antiparallelen β -Faltblättern. C-Terminus ist mit einem GPI-Anker in die äußere Zellmembran integriert (Aguzzi und Heikenwalder 2006).

1.3.2.2. Die physiologische Funktion von PrP^C

PrP^C ist evolutionär hochkonserviert, was eine wichtige biologische Rolle des Proteins indiziert (Rivera-Milla et al. 2006). Das PRNP wird ubiquitär von den meisten Zelltypen, aber hauptsächlich im Gehirn und Rückenmark exprimiert. Das höchste mRNA-Level des PRNP wurde in Neuronen des ZNS und im Lymphgewebe festgestellt (Ning et al. 2005). Außerdem

wurde PrP^C auch in Lunge, Herz, Niere, Magendarm, Muskeln, Milchdrüsen und lymphatischen Geweben nachgewiesen (Zomosa-Signoret et al. 2008).

Allerdings ist die physiologische Funktion des zellulären Prion-Proteins bis heute unklar. Die hauptsächlich angewendeten Methoden, die in der Forschung für Funktionsbestimmung des PrP^C zur Verfügung stehen, sind die transgenen Mäuse und Zellserien mit Überexpression, Deletion oder komplettem Knock-out des Gens PRNP. Die erste Experimente mit Prnp0/0-Mäusen zeigten keinen signifikanten Phänotyp und keine große Abnormalität (Büeler et al. 1992). In folgenden Studien konnten geringe Unterschiede im zirkadianen Rhythmus, in der Lernfähigkeit, in der synaptischen Physiologie und in einigen elektrophysiologischen Parametern sowie leichte Störungen der Myelinisierung beobachtet werden (Collinge et al. 1994; Tobler et al. 1996; Nishida et al. 1997; Vassallo und Herms 2003). Weitere Funktionen, die dem PrP^C zugeschrieben werden, sind Immunregulation, Signaltransduktion, Kupferbindung, synaptische Übertragung, Induktion von Apoptose oder Schutz vor Apoptose (Aguzzi und Polymenidou 2004).

1.3.2.3. Funktion vom PrP^C bei oxidativen/ischämischen Stressbedingungen und im Immunsystem

Einige Studien weisen auf eine neuroprotektive Funktion des Prion-Proteins hin (Kuwahara et al. 1999; Roucou und LeBlanc 2005; Li und Harris 2005; Lee et al. 2007).

In-vitro-Experimente mit Kulturen von hippocampalen Neuronen der Maus zeigten, dass nach der Entziehung des Serums mehr Zelluntergang bei PRNP0/0-Zellen vorhanden war als bei PRNP+/-Zellen und dass die Transduktion von PrP^C oder Bcl-2 die Apoptose reduziert (Kuwahara et al. 1999). Außerdem wurde gezeigt, dass PrP^C vor Bax-vermittelter Apoptose (Bounhar et al. 2001) sowie durch die Bildung mit dem Stress-induzierbaren Protein 1 (STI1) vor Anisomycin-induzierter Apoptose schützt (Zanata et al. 2002; Chiarini et al. 2002). Weitere Studien zeigten, dass PrP^C eine Rolle bei intrazellulären antioxidativen Abwehrmechanismen spielt. In einer anderen Studie fand sich, dass neokortikale Neuronen von Prnp0/0-Mäusen sensitiver sind als die Kontrollgruppe zu Stress-induzierenden Substanzen wie Wasserstoffperoxid und Xanthinoxidase (Brown et al. 2002).

Die neuroprotektive Wirkung des PrP^C gegen oxidativen Stress wurde *in vivo* mithilfe von Tierversuchsmodellen untersucht. Für die Entstehung zerebraler Läsionen wurden hauptsächlich zwei Methoden verwendet: zum einen der *Controlled Cortical Impact* (CCI), wobei signifikant größere Läsionen und schlechtere Ergebnisse bei den neuromotorischen Testungen bei PRNP0/0-Mäusen als bei der Kontrollgruppe auftraten (Hoshino et al. 2003), und zum anderen die am häufigsten verwendete Methode der *Middle Cerebral Artery*

Occlusion (MCAO). McLennan et al. wiesen darauf hin, dass hypoxische Hirninfarktareale bei PrP^C-Knock-out-Mäusen deutlich größer waren als bei Mäusen vom Wildtyp (McLennan et al. 2004). Weitere Tierversuche fügten mehrere Hinweise zu der neuroprotektiven Wirkung des PrP^C bei ischämischen Konditionen hinzu, was die Verbindung zwischen PrP^C und den vaskulären ischämischen Hirnerkrankungen begründen konnte.

Es wurde gezeigt, dass unter hypoxischen/ischämischen Bedingungen zerebrales PrP^C überexprimiert wird (McLennan et al. 2004; Weise et al. 2006; Mitteregger et al. 2007). Mitsios et al. zeigten in ihrer Studie, dass die PrP^C-Konzentration im Plasma von Patienten mit akutem ischämischen Schlaganfall im Vergleich zu Kontrollen signifikant erhöht war. Mit immunohistochemischen Methoden wurde auch erhöhte Expression von PrP^C im Soma der Neuronen, in den Endothelzellen der kleinen Gefäße und in inflammatorischen Zellen des periinfarktierten Hirngewebes nachgewiesen (Mitsios et al. 2007). Im Einklang damit wurde eine gesteigerte PrP^C-Expression bei Autopsien in hypoxischen Regionen menschlicher Gehirne beobachtet (Esiri et al. 2000).

Als potenzielle zelluläre Mechanismen für die neuroprotektive Wirkung wurden verschiedene Signalwege mit der Beteiligung der *mitogen-activated protein kinase / extracellular signal-regulated kinase* (MAPK/ERK) (Spudich et al. 2005) und der Phosphatidylinositol-3-kinase PI3K/Akt vorgeschlagen (Weise et al. 2006; Weise et al. 2008). Die Interaktion mit diesem PI3K-Enzym wurde auch als Mechanismus für die Beteiligung des PrP^C in zahlreichen zellulären Signalwegen vorgeschlagen, welche Funktionen wie Zellwachstum, Zellproliferation und Differenzierung kontrollieren (Vassallo et al. 2005). Zusätzlich lassen die Ergebnisse der Studie von Mitteregger et al. vermuten, dass diese protektive Wirkung in der Oktarepeat-Region in der unstrukturierten N-terminalen Domäne liegt (Mitteregger et al. 2007). Es wurde auch gezeigt, dass PrP^C mit dem Enzym Laktat-Dehydrogenase (LDH) interagiert und unter hypoxischem Zustand zu deren Überexpression führt (Ramljak et al. 2015).

Andere Studien unterstützen eine wichtige Rolle von PrP^C im Immunsystem und besonders in der Zytokin-Antwort der T-Zellen (Isaacs et al. 2006; Ingram et al. 2009). PrP^C wird in der Tat in verschiedenen Zelltypen des Immunsystems exprimiert, wie beispielsweise in mononuklearen Zellen und Lymphozyten (Barclay et al. 1999; Brown et al. 2000) sowie auf der Oberfläche der Endothelzellen (Starke et al. 2002). Eine wichtige Rolle von PrP^C bei der T-Zell-Aktivierung wurde auch berichtet (Mabbott et al. 1997). PrP⁰/0-T-Zellen zeigten eine reduzierte Induktion von sowohl T_H1- und T_H17- als auch T_H2- Zytokinen. PrP-Knock-out-Mäuse zeigten eine reduzierte IL-17-Antwort (Ingram et al. 2009). Chronische Entzündungen

können die Expression von PrP^C erhöhen (Konturek et al. 2005), was eine mögliche Folge von pro-inflammatorischen Zytokinen sein kann, wie TNF- α , welches zur Hochregulation von PrP^C führt (Sauer et al. 2003).

Außer den peripheren Leukozyten ist PrP^C hoch im Liquor exprimiert (Schmitz et al. 2010; Schmitz et al. 2014). Die Bestimmung von PrP^C wurde schon in Patienten mit AD und anderen neurodegenerativen Erkrankungen durchgeführt, ohne eine Hochregulation nachzuweisen (Meyne et al. 2009; Schmidt et al. 2014). Es wurde auch vorgeschlagen, dass PrP^C einen potenziellen Biomarker für HIV-assoziiertes neurokognitives Impairment darstellt und dass diese Wirkung neuroinflammatorisch vermittelt (Roberts et al. 2010).

1.4. Zweck der Arbeit

Neuroinflammation – induziert durch die Regulation der Zytokine und Chemokine – ist ein wesentlicher Faktor der strukturellen und funktionellen Störung der NVE bei SVE und des VCI (Iadecola 2010). In diesem Zusammenhang ist PrP^C ein potenzieller Regulator von inflammatorischen und hypoxischen Prozessen im menschlichen Körper (Schmitz et al. 2010; Schmitz et al. 2014; Ramljak et al. 2015). Darüber hinaus schützt PrP^C Neurone unter oxidativen und ischämischen Bedingungen (Weise et al. 2004; Weise et al. 2006), was PrP^C möglicherweise an den Schnittpunkt der Neuroinflammation und der hypoxisch-bedingten Neurodegeneration stellt (Schmitz et al. 2015).

Unter Berücksichtigung dieses Hintergrunds bezweckt diese Arbeit, die Rolle der immunologischen Mechanismen sowie die Rolle von PrP^C in Patienten mit SVE und VCI im Vergleich zu Patienten mit AD und Kontrolle zu untersuchen.

Darum wurde das Profil von 17 Zytokinen und Chemokinen im Liquor und Serum von Patienten mit SVE und AD sowie von der Kontrollgruppe mittels eines *Cytokin-17-plex-xMAP*-basierten Assays bestimmt. Parallel wurde die Konzentration von PrP^C bei den gleichen Patienten gemessen. Ein statistischer Vergleich und die Prüfung der möglichen Korrelationen der bestimmten Werte sowohl miteinander als auch mit den bekannten Demenzmarkern und dem Schweregrad der Demenz, wie durch neuropsychologische Tests definiert, wurden durchgeführt.

2. Fragestellungen

Fragestellung dieser Arbeit in Stichpunkten:

1. Welches Zytokin-Profil im Liquor lässt sich bei SVE-Patienten beschreiben?
2. Gibt es Unterschiede der gemessenen inflammatorischen Parameter und des PrP^C-Proteins in Serum und Liquor zwischen den Patienten mit SVE, AD und den Kontrollen?
3. Gibt es Zusammenhänge der gemessenen Zytokine und Chemokine und des gemessenen PrP^C mit dem kognitiven Status und den anderen Demenz-Biomarkern in der SVE?
4. Bestehen Korrelationen zwischen den gemessenen Zytokinen und dem PrP^C im Liquor und im Serum in den SVE-Patienten?

3. Patienten, Material und Methoden

3.1. Patienten

3.1.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

Zielgruppe dieser Arbeit waren Patienten mit subkortikaler vaskulärer Enzephalopathie (SVE) mit oder ohne Demenz. Das Studiendesign umfasste außerdem Vergleichsgruppen von Patienten mit Alzheimer-Demenz sowie Kontrollpatienten.

Das Patientenkollektiv der SVE-Gruppe wurde im Rahmen der klinischen longitudinalen Studie „Untersuchung der prognostischen Aussagekraft von liquorchemischen Markern in der Diagnostik und Differentialdiagnostik der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit und vaskulärer Demenzen“ durchgeführt. Für diese Studie wurde am 10.10.2007 sowie mit Ergänzungsantrag am 27.04.2011 der Ethikantrag unter der Nummer 34/09/07 von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität Göttingen genehmigt.

Für die Vergleichsgruppen wurden Patientenproben und Daten aus der Prionenforschungsgruppe des Nationalen Referenzzentrums für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien der Universitätsmedizin Göttingen verwendet. Die Liquor- und Serumproben der Patienten, welche zur Kontrolle oder Vergleichsgruppe (AD) herangezogen wurden, wurden bei Patienten zu diagnostischen Zwecken abgenommen.

Die Ethik-Kommission der Universitätsmedizin Göttingen genehmigte diese Studie [Antragsnummer: 9/6/08, geändert am 01.06.2015].

3.1.2 Kriterien für die klinische Gruppe

Das leitende und zentrale Einschlusskriterium der Patienten der SVE-Gruppe war der Nachweis einer subkortikalen vaskulären Enzephalopathie, definiert durch *White Matter Lesions* (WMLs) und Lakunen im Rahmen einer zerebralen Mikroangiopathie durch MRT, aber auch Leukoaraiose durch CT. Um das Ausmaß von vaskulären Läsionen, insbesondere der Veränderungen der weißen Substanz, von den eingeschlossenen Patienten in der vaskulären Demenzstudie beurteilen und quantifizieren zu können, wurde die neuroradiologische visuelle Skala *Age-related White Matter Changes Rating Scale* (ARWMC-Skala) nach Wahlund et al. (2001) verwendet (siehe klinische Materialien). Für die Auswertung wurden MRT-Bilder mit T2- oder FLAIR-gewichteten Sequenzen verwendet. Falls das MRT nicht vorhanden bzw. kontraindiziert war, wurde das axiale cCT auch mittels der ARWMC-Skala nach Wahlund ausgewertet.

Neben den bildgebenden Hinweisen zeigten die Patienten weitere Symptome im Rahmen der

SVE, wie progrediente kognitive Beeinträchtigung im Sinne einer demenziellen Entwicklung sowie Gangstörungen, affektive Störungen und anamnestisch multiple vaskuläre Risikofaktoren. Mindestens zwei von diesen typischen zusätzlichen Merkmalen der SVE mussten auch erfüllt sein zum Einbezug in die Studie, basierend auf den modifizierten NINDS-AIREN-Kriterien (Erkinjuntti 2002).

Falls ein Verdacht oder Nachweis bestand, dass die Enzephalopathie eine andere Ursache hatte wie z. B. eine entzündliche (Multiple Sklerose, Zerebrale Vaskulitis), infektiöse (Herpes Zoster Enzephalitis) oder metabolische, wurden die Patienten von der Studie ausgeschlossen. Ausschlusskriterien waren zudem anamnestische oder neuroradiologische Hinweise zerebraler Ischämie oder Blutung innerhalb der letzten acht Wochen, große territoriale Hirninfarkte, Hirnblutungen und Raumforderung sowie eine akute oder chronische entzündliche, infektiöse oder neoplastische Erkrankung des zentralen Nervensystems (z. B. Multiple Sklerose, Meningitis, Lymphom).

Bei der Gruppe der AD wurde die Diagnose einer AD nach den Richtlinien der NINDS-AIREN gestellt.

Als Kontrollen wurden Proben von Patienten bezeichnet, die aus diagnostischen Gründen gewonnen wurden und keine Demenz, neurodegenerative oder vaskuläre Erkrankung aufwiesen. Die meisten Patienten zeigten Kopfschmerzen oder idiopathische Fazialisparese sowie leichte affektive Störungen, wobei eine Lumbalpunktion zur Erfassung der Differenzialdiagnose durchgeführt wurde.

3.1.3 Patientengruppierung und Untergruppierung

Es wurden für die Studie folgende Patientengruppen und Untergruppen geprägt:

- Subkortikale vaskuläre Enzephalopathie (SVE)

Anhand des Mini-Mental-Status-Test (MMST) wurde diese Gruppe in zwei Untergruppen aufgeteilt: SVE mit Demenz (SVE+D) und SVE ohne Demenz (SVE-D), je nachdem, ob der MMST-Wert unter oder bei 25 Punkten bzw. über 25 Punkten zum Zeitpunkt der Patientenrekrutierung und der Probengewinnung stand. Darüber hinaus wurde noch in zwei andere Untergruppen aufgeteilt, und zwar anhand des A β -Quotienten (A β 1–42 / A β 1–40) bzw. A β -Ratio (A β -R), nämlich SVE-A β -R>1 und SVE-A β -R<1. Studien zeigten auch, dass A β -R mit Cut-off-Werten von circa 1 (0,975) deutlich Patienten mit AD von Patienten mit anderen Demenzformen unterscheidet (Lewczuk et al. 2004).

Zusammengefasst wurden die folgenden Untergruppen durch die Teilung der SVE-Hauptgruppe geformt:

- o SVE+D und SVE-D
- o SVE-A β -R>1 und SVE-A β -R<1

Als Vergleichsgruppe wurde die folgende Klassifikation benutzt:

- Alzheimer-Demenz (AD)
- Kontrollen (K)

3.1.4 Erhebung der klinischen Daten

Die klinisch angeforderten Daten wurden von der speziell für die oben erwähnte klinische longitudinale Studie entwickelten Datenbank (VaskEnz®) erhoben.

Die meisten an der Studie teilnehmenden Patienten erhielten T2- oder FLAIR- gewichtete Sequenzen von 3-Tesla-cMRT der Firma Siemens unter Verwendung von Standard-Protokollen für Demenz-Diagnostik oder Diffusion-gewichteten Bildern bei Vermutung einer ischämischen zerebralen Krankheit. Die Beurteilung der Bilder und die Auswertung der WMLs erfolgten durch einen erfahrenen Neuroradiologen (Dr. Carlos Romero) mit der ARWMC-Skala.

Die neuropsychologische Testbatterie umfasste MMST, DemTect, Uhrentest nach Shulman, Cambridge Cognitive Examination Batterie (CAMCOG). Für die vorliegende Arbeit wurde nur der MMST verwendet.

3.1.5 Gewinnung und Aufarbeitung der Proben

Alle Proben wurden im Rahmen der Routinediagnostik gewonnen.

Die Liquorproben wurden durch Lumbalpunktionen unter den üblichen Bedingungen auf Stationen durchgeführt. Der Liquor wurde in Eppendorf-Gefäßen aliquotiert und anschließend im Gefrierschrank bei -80 °C bis zum Tag der Untersuchung gelagert. Blutige Liquorproben wurden von der Untersuchung ausgeschlossen.

Die Serumproben wurden durch venöse Blutabnahme aus einer der Cubitalgefäße der Patienten in spezielle Serum-Monovetten entnommen. Nach der Verarbeitung wurde das Serum auch in Eppendorf-Gefäßen bis zum Tag der Untersuchung bei -80 °C gelagert.

Im Rahmen der Routine-Liquordiagnostik wurden im neurochemischen Labor der Universitätsmedizin Göttingen bei den meisten Patienten der SVE-Gruppe die Werte von Gesamtprotein und Albumin nephelometrisch nach Reibe gemessen, die Zellzahl in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer ausgezählt und das Q-Albumin berechnet sowie die Konzentration der Demenzmarker Gesamt-Tau, P-Tau, A β 1-40, A β 1-42, A β -R mittels INNOTEST® Elisa Kit bestimmt. Die Werte wurden genauso in der Datenbank (VaskEnz®) dokumentiert und von da erhoben.

Außerdem wurde auch im Rahmen dieser Studie die Konzentration vom C-reaktivem Protein (CRP) in Serumproben der Patienten von den K-, AD- und SVE-Gruppen durch einen Latex-Immunoassay im Analysengerät c16000-ARCHITECT® in der Abteilung der klinischen Chemie der Universitätsmedizin Göttingen.

3.2. Klinische Materialien

3.2.1. Mini-Mental-Status-Test (MMST)

Bei dem MMST handelt es sich um ein für den klinischen Alltag geeignetes Screeninginstrument zur Feststellung kognitiver Defizite und zur Erfassung des Schweregrades einer Demenz. Der MMST wurde 1975 von Folstein und Kollegen entwickelt (Folstein et al. 1975) und ist mittlerweile das meistverbreitete Testverfahren für die Erstbeurteilung sowie zur Verlaufskontrolle eines Patienten mit kognitiver Beeinträchtigung. Er enthält 20 Fragen bzw. Aufgaben, die als Interview mit dem Patienten durchgeführt werden. Anhand von neun Ausgabekonstellationen wurden kognitive Domänen überprüft wie zeitliche und örtliche Orientierung, Merkfähigkeit und Erinnerungsfähigkeit, Aufmerksamkeit und Flexibilität, Aufnahmefähigkeit, Sprache und Sprachverständnis, Lesen, Schreiben sowie konstruktive Praxis. Für jede erfolgreich bewältigte Aufgabe bekommt der Patient einen Punkt. Die Auswertung erfolgt mittels einfacher Addition der vergebenen Punkte. Die Skala reicht von 0 bis 30 Punkten, wobei 30 für uneingeschränkte, 0 für schwerstmöglich geschädigte kognitive Funktionen steht. Ab Werten unterhalb von 25 Punkten liegt eine krankheitswertige kognitive Beeinträchtigung vor. Eine Punktzahl innerhalb 21–24 weist auf eine leichte, 10–20 auf mittlere Demenz hin. Eine schwere Form liegt bei einer Punktzahl von unter 10 vor. Trotzdem bestehen unterschiedliche Annahmen über die Punktgrenzen und die Testung kann nicht zur Unterscheidung der verschiedenen Demenzformen dienen, obwohl Studien zeigten, dass Patienten mit anderen Demenzformen (vaskuläre Demenz, Lewy-Körperchen-Demenz) signifikant unterschiedliche Ergebnisse bei bestimmten Aufgaben (zeitliche Orientierung) aufwiesen als die Patienten mit Alzheimer-Demenz (Jefferson et al. 2002; Palmqvist et al. 2009).

3.2.2. *Age-related White Matter Changes Rating Scale* (ARWMC) nach Wahlund et al. (2001)

Die ARWMC- Skala dient zur semiquantitativen Beurteilung der Veränderung der weißen Substanz (*White Matter Changes*, WMCs) und ist im Gegensatz zu anderen neuro-radiologischen Skalen nicht nur auf cMRT, sondern auch auf cCT anwendbar. Darüber hinaus besteht bei dieser Skala eine Differenzierung zwischen der rechten und linken Hemisphäre,

jedoch weniger anatomische differenzierte Kapazität (d.h. keine Berücksichtigung von periventrikulären und tiefen Marklagern sowie einzelnen Basalganglien und infratentoriellen Bereichen). Die Punkte wurden anhand der folgenden Tabelle vergeben und die Summe der Punkte beträgt 0 bis 30 Punkte (Wahlund et al. 2001).

Tabelle 3.1: Bewertung der ARWMC-Skala

Punkte	Lobär und Infratentoriell	Basalganglien
0	keine Läsionen	keine Läsionen
1	fokale Läsionen ≥ 5 mm	fokale Läsionen ≥ 5 mm
2	beginnende Konfluenz der Läsionen	> 1 fokale Läsion
3	diffuse Einbeziehung der Region	konfluierende Läsionen

Tabelle 3.2: Punkte der ARWML-Skala anhand des anatomischen Bereichs

	lobär			Infratentoriell	Basalganglien
	Frontal	Parieto-okzipital	Temporal		
re	0-1-2-3	0-1-2-3	0-1-2-3	0-1-2-3	0-1-2-3
li	0-1-2-3	0-1-2-3	0-1-2-3	0-1-2-3	0-1-2-3

3.3. Biochemische Materialien

3.3.1. Instrumente

Gerät/ Anwendung	Modell	Hersteller
Bio-Plex-Software		BioRad (München, D)
Bio-Plex-200-System		BioRad (München, D)
Bio-Plex pro wash station		BioRad (München, D)
Gefrierschränke, (-80 °C)	MDF-K73V	Sanyo Biomedical (München, D)
	MDF-46086S	Sanyo Biomedical (München, D)

Gerät/ Anwendung	Modell	Hersteller
Gelkammern und Zubehör	Mini Protean II TM System Protean II XL Cell	Bio-Rad (München, D)
Kühlschränke, (4°C) (-20°C)	HR-4110 Economy	Medilab (Estenfeld, D) Liebherr (Biberach, D)
Laborschüttler	HS 501 digital Polymax 1040 MTS 2	Schütt Labortechnik (Göttingen) Heidolph (Schwabach, D) IKA-Combimag (Staufen, D)
Luminex-Typ Reader	Wallac 1420 Viktor Multilabel Counter	Perkin Elmer (Boston, USA)
Magnetrührer	IKAMAG RCT RH basic 2	IKA-Combimag (Staufen, D)
Vortexer	Vortex mixer SA8 REAX 200	Stuard (Staffordshire, UK) Heidolph (Schwabach, D)
Waagen	BL 150 S CP 3202 P	Sartorius (Göttingen, D)
Zentrifugen	5810 R	Eppendorf (Hamburg, D)

3.3.2. Materialien

Bezeichnung	Merkmale	Hersteller
Aluminiumfolie		
Eppendorf-Cups	2 ml, 1,5 ml	Eppendorf (Hamburg, D)
Falcon-Röhrchen	15 ml, 50 ml	Sarstedt (Newton, USA)
Filterpapier (gefaltet)	3 hw	Sartorius (Göttingen, D)
Pinzetten		Braun (Melsungen, D)
Pipetten	5 ml, 10 ml, 25 ml	Sarstedt (Nümbrecht, D)

Bezeichnung	Merkmale	Hersteller
Pipetten	1–10 µl, 10–100 µl, 200–1000 µl	Eppendorf (Hamburg, D)
Spritzen		Rettberg (Göttingen, D)

3.3.3. Kits

Bezeichnung	Hersteller
BetaPrion® BSE EIA Test Kit	Roboscreen (Leipzig, D)
Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 17-plex	BioRad (München, D)
Bio-Plex Pro™ Reagent Kit	BioRad (München, D)
Bio-Plex Pro™ 1X96 Filter Plate	BioRad (München, D)
Bio-Plex Pro™ Amine Coupling Kit	BioRad (München, D)

3.3.4. Anti-PrP^C-Antikörper

- Primäre, Bead-gekoppelte Antikörper

Beschreibung	Spezifikation	Verdünnung	Hersteller
8G8	Mouse	1:500 (1 µl pro Ansatz)	Spi-Bio, Paris, Frankreich

- Sekundäre, biotinylierte Antikörper

Antikörper	Spezifikation	Verdünnung	Hersteller
SAF32	Mouse	1:200 (100 µl pro Ansatz)	Spi-Bio, Paris, Frankreich

3.4. Biochemische Methoden

3.4.1. Prinzip der Funktion der Bio-Plex-Technologie

3.4.1.1. Prinzip der Technologie

Der Bio-Plex Pro Assay ermöglicht die Quantifizierung von multiplen Protein-Biomarkern bei verschiedenen Proben in einer einzigen Reaktion von einer 96-Well-Mikrotiterplatte. Die Bio-Plex®-Technik basiert auf grundlegenden Funktionen der xMAP-Technologie und es handelt sich um einen Suspension Array. Suspensionssysteme von Mikrosphären bieten einen neuen Ansatz für Multiplex-Assays für groß angelegte Screening-Anwendungen (Kang et al. 2012).

Jedes Element in der Anordnung besteht aus einer Subpopulation von Partikeln mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften und trägt einen anderen Oberflächen-Rezeptor. Fluoreszenz-eingefärbte Mikrosphären können als fester Träger für eine Vielzahl von molekularen Analysen verwendet werden. Durch optisch kodierte Mikropolymerpartikel können also Suspension-Mikroarrays geschaffen werden, um hochgradige Multiplex-Analysen komplexer Proben zu ermöglichen (Nolan und Sklar 2002).

Hierbei werden unterschiedlich fluoreszierende Mikrosphären (sogenannte Beads) – jede mit unterschiedlicher Farbkodierung oder spektralen Eigenschaften – angewendet, um ihre Identifikation während einer multiplen Suspension zu ermöglichen.

Der Array beruht auf der hohen Empfindlichkeit eines Durchflusszytometers, der gleichzeitig mittels zweier Lasersysteme optische Eigenschaften der Mikrosphären erfasst. Diese mikropartikelbasierte, zytometrische Methode gilt als ein effizientes Verfahren zur simultanen Messung mehrerer Peptide aus einer Vielzahl von Testproben (Chen et al. 1999). Durch einen digitalen Hochgeschwindigkeits-Signalprozessor werden die Fluoreszenzdaten effizient sortiert und analysiert.

Mithilfe also der Bio-Plex-Technologie können in einer 96-Well-Mikrotiterplatte bis zu 100 Parameter gemessen werden (Bio-Rad Laboratories, Inc. 2012).

3.4.1.2. Ablauf des Verfahrens

Der Bio-Plex Pro Assay ist ein Immunoassay, welcher prinzipielle Ähnlichkeiten mit einem Sandwich-ELISA aufweist, jedoch mit der Anwendung unterschiedlicher fluoreszierender Beads, die an einen primären Antikörper gebunden sind, einhergeht. Die gekoppelten Beads binden an die zu messenden Proteine und nach den folgenden Waschschritten zur Entfernung der ungebundenen Proteine wird ein biotinylierter sekundärer Antikörper hinzugegeben, welcher ein anderes Epitop des Proteins als der primäre gekoppelte Fängerantikörper erkennt.

Auf diese Art und Weise wird ein Sandwich-Komplex herbeigeführt. An das Biotin wird in einem nächsten Versuchsschritt fluoreszierendes Streptavidin angelagert. Das Phycoerythrin (PE) dient als ein Fluoreszenz-Indikator bzw. Reporter.

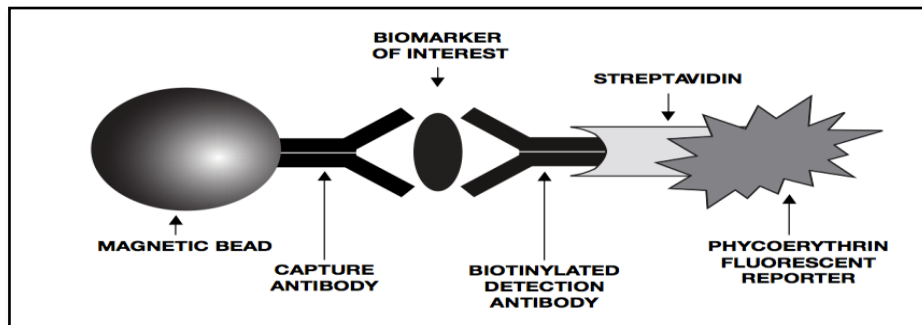


Abb. 3.1: Bio-Plex Immunoassay: Sandwich-Komplex (Bio-Rad Laboratories, Inc. 2012)

Die Daten werden durch ein *Bio-Plex 200 Reader* ähnlich wie bei einem Luminex-basierten Reader Laser erfasst, sobald die Platte in das Gerät gezogen wird.

Anhand der spezifischen Fluoreszenz der Beads, welche während der Messung in dem *Bio-Plex 200 Reader* von einem roten (635 nm) Laser detektiert werden, werden die Beads klassifiziert, Nummern zugeteilt und somit wird des verbindende Peptid identifiziert. Ein grüner (532 nm) Laser erregt gleichzeitig das PE, sodass ein Signal erzeugt wird, das von einem „Photomultiplier“ (PMT) detektiert wird. Ein High-Speed-Digital-Prozessor verwaltet die Datenausgabe und mittels *Bio-Plex ManagerTM Software* werden die Daten als mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) sowie Konzentration (pg/ml) dargestellt.

Diese Sandwich-Methode kann zum Nachweis vieler Proteine in einer einzigen Probe angewendet werden, da der primäre Antikörper nicht an einer Mikrotiterplatte gebunden ist, sondern an die verschiedenen Beads. So kann man bis zu 200 verschiedene Bead-gekoppelte Antikörper mit dem passenden biotinylierten Antikörper zu einem Probenansatz hinzugeben und innerhalb einer Messung die gesuchten Proteine erkennen und quantifizieren.

3.4.2. Protokoll der Messung der Konzentration der 17 Zytokine und Chemokine mit dem Bio-Plex ProTM Human Cytokine 17-plex Kit

Der „Bio-Plex ProTM Human Cytokine 17-plex Assay“ ermöglicht die Messung von 15 Zytokinen (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, G-CSF, GM-CSF, TNF- α , IFN- γ) und 3 Chemokinen (IL-8, MCP-1, MIP-1 β) in menschlichen Proben.

Zunächst wurde das Assay-Kit aus dem Kühlschrank (4 °C) genommen und zur Äquilibrierung der Reagenzien eine Stunde bei Raumtemperatur gelagert. Die zu messenden Proben wurden langsam aufgetaut. Dann wurden die Standards laut Herstelleranweisung vorbereitet. Nachdem die Proben komplett aufgetaut waren, wurde eine Verdünnung dieser

Proben durchgeführt. Die Serumproben wurden im Verhältnis 1:4 mit „Sample Diluent“ verdünnt und die Liquorproben nativ verwendet. Anschließend wurden die gekoppelten Beads vorbereitet. Hierzu wurden „10x coupled magnetic Beads“ 1:10 mit „Assay Buffer“ verdünnt und mit Aluminiumfolie bedeckt, um sie vor Lichteinfluss zu schützen.

Hiernach wurde die 96-Well-Filterplatte zunächst mit 100 µl „Assay Buffer“ pro Well angefeuchtet, abgesaugt und dann mit 50 µl der gekoppelten Beads-Lösung gefüllt. Nachfolgend wurde die Filterplatte zweimal mit 100 µl „Wash Buffer“ pro Well gewaschen. Sofort folgte pro Well die Zugabe von 50 µl der vorher vorbereiteten und gründlich gevortexten Proben, Standards sowie Blanks und die Platte wurde unter Lichtausschluss durch Abdeckung mit Aluminiumfolie für 30 min bei Raumtemperatur mit 300 rpm geschüttelt. In der Zwischenzeit wurde das Bio-Plex-System geöffnet, um die „Warm up“-Funktion rechtzeitig vor der Messung zu ermöglichen. In den 10 übrigen Minuten wurde die Lösung für den sekundären Antikörper vorbereitet („1x Detection Antibody“), indem „10x stock Detection Antibody“ mit „Detection Antibody diluent“ verdünnt wurde. Nach der Inkubation wurden drei Waschschriffe durchgeführt, 25 µl von der Detektion-Antikörper-Lösung pro Well zugegeben und für 30 min, wie zuvor beschrieben, auf dem Schüttler inkubiert. Während der Zeit wurden das Software-Protokoll vorbereitet und die Werte des S1-Standards normalisiert. Danach folgte in den letzten 10 Minuten der Inkubationszeit, ähnlich wie oben erwähnt, die Vorbereitung der Streptavidin-PE-Lösung mit „Assay Buffer“ und das Röhrchen wurde durch Bedeckung mit Aluminiumfolie geschützt. Nach der Inkubation und erneutem, dreimaligem Waschen wurden 50 µl von ihr pro Well pipettiert. Danach wurde die Platte für 10 min unter Schutz vor Licht bei Raumtemperatur mit 300 rpm geschüttelt. Nach letztmaligem Waschen erfolgte die Zugabe von 125 µl „Assay Buffer“ pro Well und die Platte wurde anschließend für 1 min mit 1100 rpm geschüttelt.

Daraufhin wurde die Platte in den *Bio-Plex 200 Reader* gelegt und das Fluoreszenzsignal wurde sowohl durch den normalen Photomultiplier (PMT) (*Low RPN*) als auch durch den sensitiven PMT (*High RPN*) detektiert und mit der *Bio-Plex ManagerTM Software* wurde die Konzentration unter Berücksichtigung der Probenverdünnung hinsichtlich der Standardkurve gemessen.

Alle Waschschriffe sowie das Absaugen wurden mittels des Plattenwaschgerätes (*Bio-Plex pro wash station*) durchgeführt. Eine schematische Darstellung des Versuchs ist in Abb. 3.2 aufgeführt.

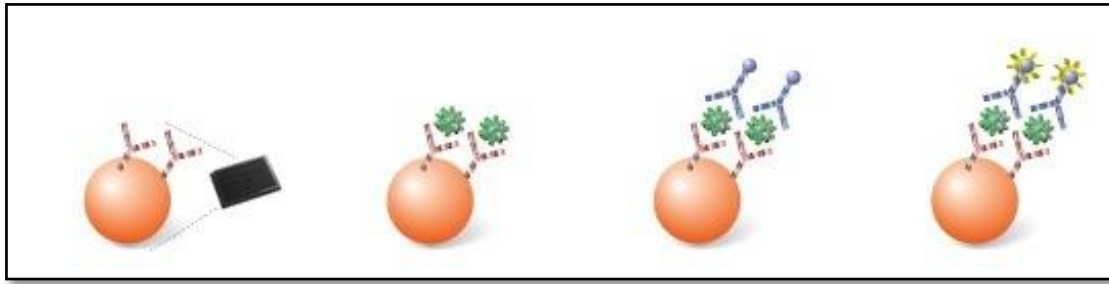


Abb. 3.2: Schematische Darstellung der Versuchsschritte der Bio-Plex-Methode für die Zytokin- und Chemokin-Bestimmung (Geng et al. 2012).

3.4.3. Entwicklung des PrP^C-Bestimmungs-Assays

Auf der Basis der Bio-Plex-Technologie wurde in unserem Labor ein Immunoassay für die PrP^C-Bestimmung entwickelt. Diese Arbeit wurde von Marie Wohlfang im Rahmen ihrer Promotion durchgeführt. Die biochemische Methode für die Entwicklung der Methode wie die Biotinylierung der Antikörper und die Bead-Kopplung der Antikörper wurden in ihrer Dissertation detailliert erläutert.

3.4.4. Protokoll der Messung der PrP^C-Konzentration

Für die Messung der PrP^C-Konzentration wurde das folgende Protokoll durchgeführt: Zunächst wurden die zur Messung herangezogenen Proben aufgetaut und dann die Serumproben 1:20 und die Liquorproben 1:100 mit PBS-Lösung verdünnt und gevortext. Der rekombinante humane PrP^C-Standard wurde ebenfalls vorbereitet. Vor der Zugabe der Proben wurde die 96-Well-Filterplatte des *Bio-Plex Reagent Kits* jeweils mit 100 µl „Assay Buffer“ pro Well angefeuchtet und abgesaugt und wie für die Zytokin-Messung in der *Bio-Plex pro wash station* gewaschen. Anschließend wurden jeweils 50 µl von den verdünnten Proben und dem humanen PrP^C-Standard in die Wells pipettiert. Daraufhin wurde 1 µl des primären, Bead-gekoppelten 8G8-Antikörpers hinzugefügt, welcher zuvor für 20 sec geschüttelt worden war, und die Filterplatte mit Aluminiumfolie bedeckt und im Kühlschrank bei 4 °C über Nacht auf einem Schüttler bei 500 rpm inkubiert. Am nächsten Tag wurde der sekundäre, biotinylierte SAF32-Antikörper 1:100 in „Detection Antibody Diluent“ verdünnt und das Bio-Plex-Gerät aufgewärmt. Danach wurden die Wells der Platte mit 100 µl „Wash Buffer“ dreimal gewaschen und 100 µl von der Lösung des sekundären, biotinylierten Antikörpers hinzupipettiert. Es folgte eine Inkubation für eine Stunde unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur auf dem Schüttler bei 500 rpm. Während der letzten 10 Minuten der Inkubation wurde Streptavidin-PE 1:100 in „Assay Buffer“ verdünnt und vor Licht geschützt. Nach drei Waschsritten folgte die Zugabe von 100 µl der verdünnten Streptavidin-PE-Lösung pro Well und die Platte wurde erneut für 10 min unter Lichtausschluss bei

Raumtemperatur mit 500 rpm geschüttelt. Weiterhin wurde die Filterplatte danach dreimal mit 100 µl Waschpuffer gewaschen und die Wells mit 125 µl „Assay Buffer“ aufgefüllt. Am Ende wurde die Platte für 1 min mit 1200 rpm geschüttelt und schließlich, ähnlich wie bei der Zytokin-Messung, wurde die Messung mittels Bio-Plex-200-Systems durchgeführt und mit der Software *Bio-Plex Manager 6.0* ausgewertet.

3.5. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Statistikprogramms „Prism 6 for Mac OS X“, Version 6.0b. Die Daten sind als Mittelwert \pm der Standardabweichung sowie als Median, Minimum und Maximum dargestellt. Die Häufigkeiten des Geschlechtes wurden durch den χ^2 -Test mit zweiseitiger exakter Signifikanz nach Fisher berechnet. Die Anzahl der jeweiligen Beobachtungen wird in der entsprechenden Tabelle dargestellt.

Zunächst wurde der „D’Agostino & Pearson omnibus“-Test für die quantitativen Variablen angewendet, um zu ermitteln, ob die Messungen normal verteilt wurden. Fast alle Zytokin- und PrP^C-Konzentrationswerte in unserer Hauptgruppe (SVE) zeigten keine normale Verteilung; aus diesem Grund wurden nicht-parametrische Tests verwendet.

Um mögliche signifikante Unterschiede in den verschiedenen Parametern zwischen den Gruppen und Untergruppen festzustellen, wurden nicht parametrische multiple Vergleiche mittels „One Way ANOVA“-Analyse sowie „Kruskal-Wallis-Test“ durchgeführt und dann ein Mann-Whitney-U-Test für zwei unabhängige Stichproben zwischen zwei Gruppen, wenn ihre Verteilungen ähnliche Formen haben.

Für die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen den Variablen wird der nicht parametrische Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman verwendet, und es wird die geschätzte Gerade einer linearen Regression dargestellt.

Die Signifikanzniveaus wurden bei den einzelnen Experimenten entsprechend dargestellt ($p < 0,0001$: ****; $p < 0,001$: ***; $p < 0,01$: **; $p < 0,05$: *).

Zur grafischen Darstellung der Daten wurden die sogenannten Box-Whisker-Plots verwendet. 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 Whiskers bezeichnet. Ihre Länge beträgt maximal das 1,5-Fache des Interquartilenabstandes. Milde Ausreißer werden als Kreis dargestellt und liegen definitionsgemäß zwischen dem 1,5- und 3-Fachen des Interquartilenabstandes, Ausreißer oberhalb des 3-fachen Interquartilenabstandes werden als Punkte dargestellt.

4. Ergebnisse

4.1. Deskriptive Analyse der erhobenen Daten innerhalb der Patientengruppen

4.1.1. Gesamtes Patientenkollektiv

Das Kollektiv dieser Studie beinhaltet Proben von 215 Patienten. Dabei schließt die SVE-Hauptgruppe 87 Patienten (42 weiblich und 45 männlich mit einem Altersmedian von 75) ein. Die AD-Gruppe umfasst 52 Patienten (29 weiblich und 23 männlich mit einem Altersmedian von 68) und die Kontrollgruppe 39 Patienten (21 weiblich und 16 männlich mit einem Altersmedian von 68). Die Tabelle 4.1 stellt die demografischen Daten der untersuchten Gruppen dar.

Die Hauptgruppe der SVE wurde anhand der Werte des MMST und des A β -Quotienten zum Zeitpunkt der Rekrutierung unterteilt, sodass die jeweiligen Untergruppen SVE+D und SVE–D bzw. SVE-A β -R<1 und SVE-A β -R>1 geformt wurden (siehe Abschnitt 3.1.3). Zu den Untergruppen, die anhand des Vorhandenseins einer Demenz (SVE+D und SVE–D) bestimmt wurden, gehörten jeweils 41 Patienten (17 weiblich und 24 männlich mit einem Altersmedian von 76) und 41 Patienten (25 weiblich und 16 männlich mit einem Altersmedian von 73) sowie zu der Untergruppe, die anhand der Werte des A β -Quotienten (A β -R<1 und A β -R>1) bestimmt wurden, 34 Patienten (16 weiblich und 18 männlich mit einem Altersmedian von 79) und 29 Patienten (19 weiblich und 10 männlich mit einem Altersmedian von 73,5).

Tabelle 4.1: Zusammensetzung des gesamten Patientenkollektivs

Gruppen	N	Geschlecht	Alter (Jahre)	
		w (%) / m (%)	Mittelwert \pm SD	Median [Min–Max]
SVE	87	42 (48,3) / 45 (51,7)	73,22 \pm 9.9	75 [40–87]
AD	52	29 (55,8) / 23 (44,2)	67,62 \pm 10.61	68,5 [50–87]
K	41	23 (52,7) / 18 (43,3)	64,21 \pm 14.58	68 [24–74]
SVE-Untergruppen				
SVE+D	41	17 (41,5) / 24 (58,5)	76,66 \pm 7.3	76 [55–88]
SVE–D	41	25 (61) / 16 (39)	69,63 \pm 11.4	73 [40–84]
SVE-Aβ-R<1	34	16 (47) / 18 (53)	78,41 \pm 6	79 [65–83]
SVE-Aβ-R>1	29	19 (65,5) / 10 (34,5)	70,71 \pm 11.3	73,5 [47–85]

4.1.2. Geschlechts- und Altersverteilung in den Gruppen

Die Geschlechtsverteilung zwischen der Gruppen und Untergruppen wurde durch den χ^2 -Test statistisch ausgewertet und zeigte keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 4.2).

Tabelle 4.2: χ^2 -Test zur Untersuchung der Unterschiede der Geschlechtsverteilung zwischen den Gruppen

Unterschiede zwischen Gruppen/Untergruppen	Exakte Signifikanz nach Fisher	p-Werte
SVE vs. K	nicht signifikant	0.4358
SVE vs. AD	nicht signifikant	0.4834
SVE+D vs. SVE-D	nicht signifikant	0.2039
SVE-A β -R<1 vs. SVE-A β -R>1	nicht signifikant	0.2039
AD vs. K	nicht signifikant	1.0000

Beim Vergleich der Altersverteilung zwischen den untersuchten Gruppen wurden signifikante Unterschiede gefunden. Der Median der SVE-Gruppe war um 7 Jahre höher als bei der Kontrolle ($p = 0,006$) und um 6,5 der AD ($p = 0,026$), während keine signifikanten Unterschiede zwischen der K- und der AD-Gruppe sowie zwischen der Unterguppen vorlagen. Innerhalb der SVE-Gruppe zeigte die Untergruppe mit Demenz einen um 3 Jahre höheren Median als die ohne Demenz an und die Untergruppe mit A β -Quotient über 1 hat einen Median um 5,5 Jahre höher als die mit A β -Quotient unter 1.

4.1.3. Liquorparameter in den SVE- und AD-Gruppe

Die Tabelle 7.3 im Anhang stellt die Werte der jeweiligen bestimmten Liquorparameter zum Zeitpunkt der Rekrutierung innerhalb der SVE- und AD-Gruppen dar.

Die SVE-Gruppe zeigte niedrigere Werte von Gesamt-Tau ($p < 0,0001$), P-Tau ($p < 0,0001$) und höhere Werte von A β 1–40 ($p = 0,027$) und A β 1–42 ($p < 0,0001$) im Vergleich zu der AD-Gruppe. Bezüglich der Untergruppen fanden sich signifikante Unterschiede zwischen der SVE-A β -R<1- und A β -R>1-Untergruppe. Dabei waren die Werte von Gesamt-Tau ($p = 0,0002$), P-Tau ($p = 0,0001$) und A β 1–40 ($p = 0,003$) signifikant erhöht, während die Werte von A β 1–42 ($p = 0,019$) signifikant erniedrigt in der SVE-A β -R<1-Gruppe waren (Abb. 4.1). Hinsichtlich der Abweichung des A β -Quotienten zwischen der SVE- (Mittelwert 1,011) und AD-Gruppe (Mittelwert 0,845) wurde ein signifikanter Anstieg in der SVE-Gruppe ($p = 0,004$) festgestellt.

Interessanterweise zeigte die SVE-A β -R<1-Gruppe eine ähnliche Abweichung der Demenzmarker wie die AD-Gruppe, außer den Werten von A β 1–40. Bei der SVE+D- und SVE-D-Untergruppe ergaben sich keine Unterschiede der A β -Quotienten-Werte, während sich bei der A β -R>1- und A β -R<1-Untergruppe dementsprechende Verteilungsmuster

zeigten, da der A β -Quotient für die Verteilung der Hauptgruppe diente. Beim Vergleich des Gesamtproteins und Albumin-Liquor/Serum Quotient (Q-Alb) zwischen den SVE-Untergruppen ergab sich keine signifikante Abweichung.

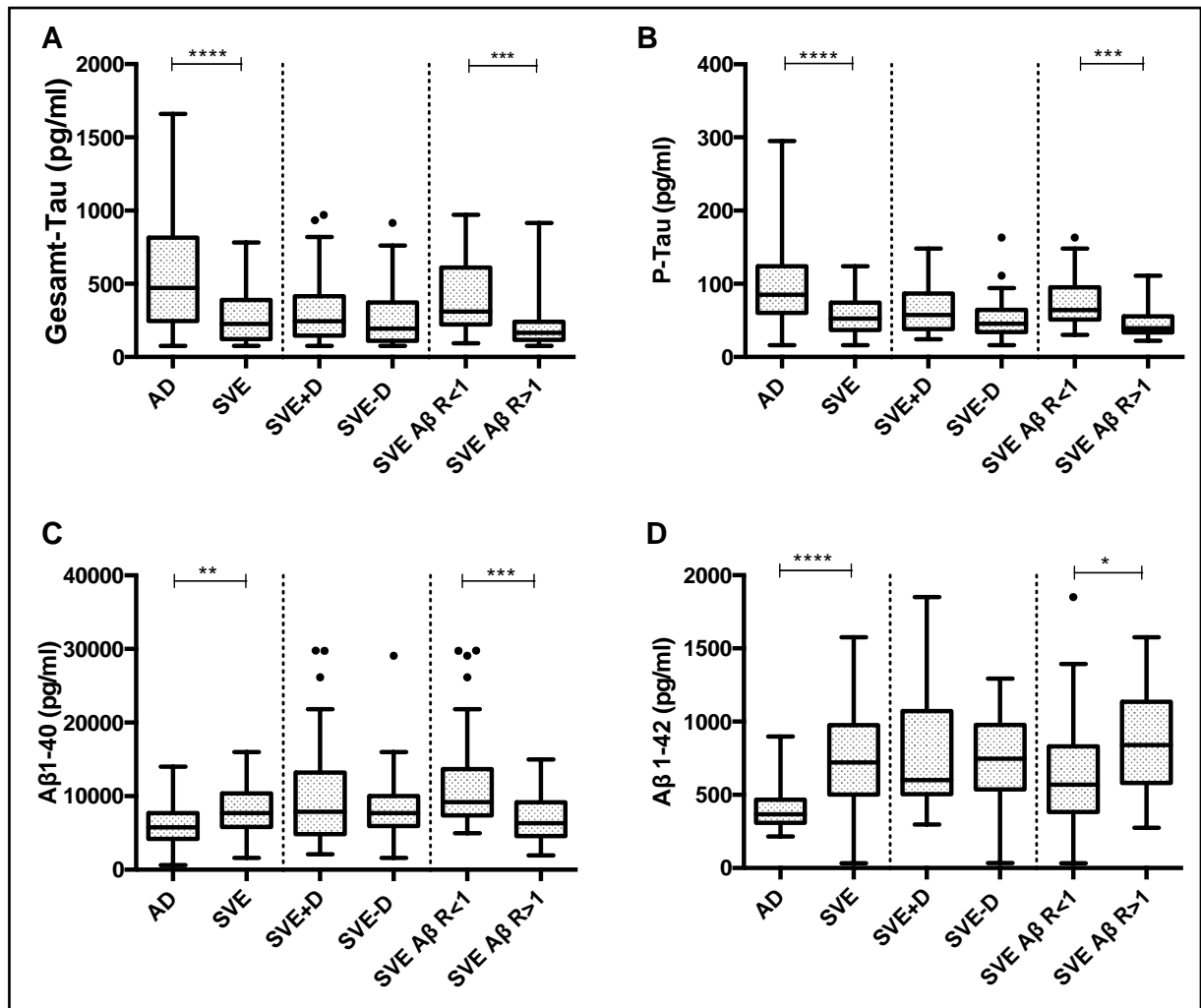


Abb. 4.1: Liquorparameter der AD- und SVE-Gruppe und der Untergruppen. A) Signifikant erhöhte Werte von Gesamt-Tau in der AD- gegenüber der SVE-Gruppe ($p < 0,0001$) sowie in der SVE-A β -R<1- gegenüber der SVE-A β -R>1-Untergruppe ($p = 0,0002$). B) Gleichfalls signifikant erhöhte Werte von P-Tau in der AD- gegenüber der SVE-Gruppe ($p < 0,0001$) sowie in der SVE-A β -R<1- gegenüber der SVE-A β -R>1-Untergruppe ($p = 0,0001$). C) Signifikant abgenommene Werte von A β 1–40 in der AD- gegenüber der SVE-Gruppe ($p = 0,027$), jedoch zugenommene in der SVE-A β -R<1- gegenüber der SVE-A β -R>1-Untergruppe ($p = 0,003$). D) Ebenfalls signifikant erniedrigte Werte von A β 1–42 in der AD- gegenüber der SVE-Gruppe ($p < 0,0001$) sowie in der SVE-A β -R<1- gegenüber der SVE-A β -R>1-Untergruppe ($p = 0,019$).

4.1.4. Neuroradiologische Skala in der SVE-Gruppe und den Untergruppen

Die nachgewiesene Marklagerveränderung bzw. die WMLs auf das cMRT ggf. cCT der eingeschlossenen Patienten wurden durch eine neuroradiologische Skala quantifiziert. Es wurden die Gesamtpunkte (Summe) der *Age-related White Matter Changes Rating Scale*

(ARWMC-Skala) nach Wahlund et al. (2001) ausgerechnet, um grob die gesamte Menge der Läsionen der weißen Substanz zu erfassen. Die deskriptive Statistik der Werte wird in der Tabelle 7.4 im Anhang dargestellt.

Beim Vergleich der Summenwerte der ARWMC-Skala zwischen den Untergruppen SVE+D und SVE–D fand sich eine signifikante Erhöhung in der SVE+D-Untergruppe ($p = 0,001$), wobei die anderen Untergruppen keinen signifikanten Unterschied zeigten (Abb. 4.2; A).

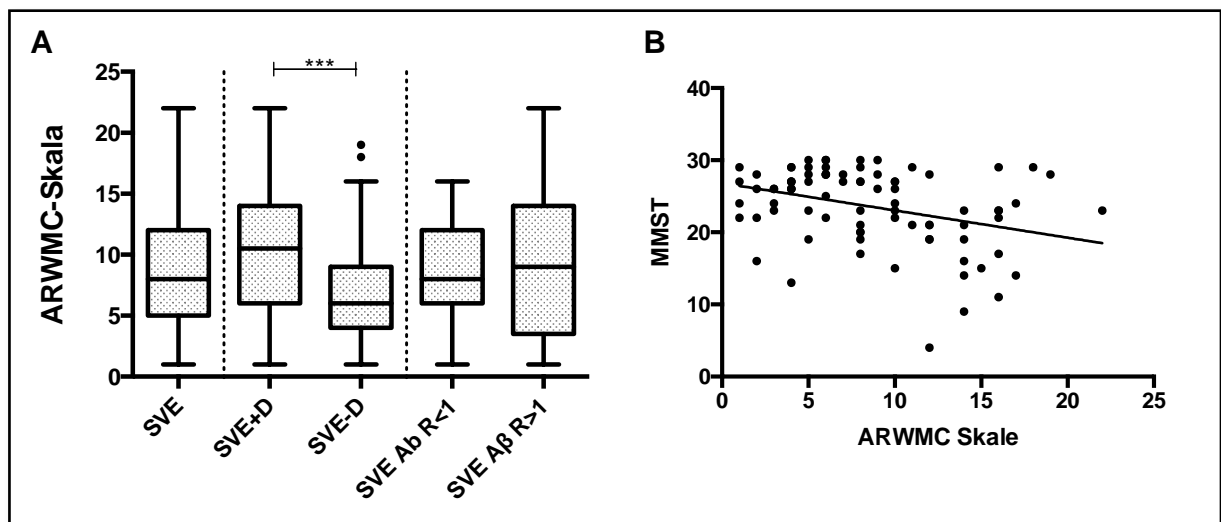


Abb. 4.2: Gesamtwerte der ARWMC-Skala nach Wahlund et al. (2001) innerhalb der SVE-Patienten der Studie. A) Es ergaben sich signifikant erhöhte Werte in der SVE+D- im Vergleich zu der SVE–D-Untergruppe ($p = 0,001$). B) Korrelation zwischen den Gesamtwerten der ARWMC-Skala und dem MMST. Es wurde eine signifikante negative Korrelation gefunden ($r = -0,314$; $p = 0,003$; $xyN = 83$)

Angesichts dieses Befunds wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen dem MMST und den Gesamtpunkten der ARWMC-Skala zum Zeitpunkt der SVE-Patientenrekrutierung vorliegt. Tatsächlich ergab sich mittels des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman eine signifikante negative Korrelation ($r = -0,314$; $p = 0,003$) (Abb. 4.2; B). Dies bedeutet, dass bei den Patienten der SVE-Gruppe zum Zeitpunkt ihrer Rekrutierung die Menge der Marklagerveränderungen auf der ARWMC-Skala umso größer war, je schlechter die Ergebnisse des MMST waren.

4.1.5. MMST der Patienten in der SVE-Gruppe und den Untergruppen

Zur Erfassung des kognitiven Zustands der Patienten zum Zeitpunkt der Rekrutierung und der Gewinnung der untersuchten Proben wurde der verbreitete Kurztest MMST als Hauptinstrument angewendet und anhand des Grenzwertes 25 in SVE+D und SVE–D eingeteilt (siehe Tabelle 7.4 im Anhang). Die Spannweite lag bei 4 bis 30 Punkten, aber die 25%- und die 75%-Perzentile betragen jeweils 21 und 28 Punkte in der gesamten SVE-Gruppe. Außer dem offensichtlichen Unterschied zwischen der SVE+D und SVE–D-

Untergruppe wurde auch beobachtet, dass die Patienten der SVE-A β -R>1-Untergruppe signifikant größere Summen von Punkten im MMST zeigten als die Patienten der SVE-A β -R<1-Untergruppe ($p = 0,0012$) (Abb. 4.3).

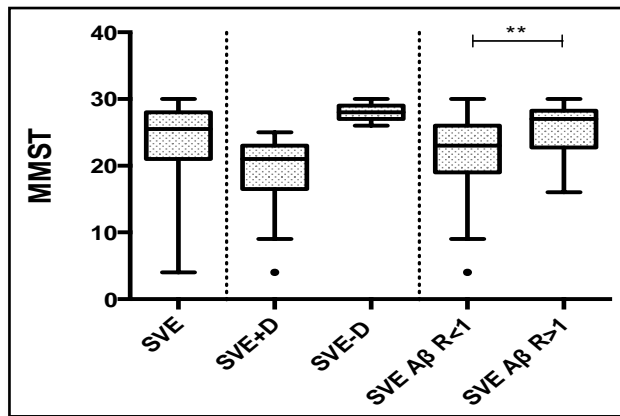


Abb. 4.3: Der MMST innerhalb der SVE-Gruppe und der Untergruppen. Die Patienten der SVE-A β -R>1-Untergruppe weisen signifikant bessere Ergebnisse bei dem MMST auf ($p = 0,0012$).

4.2. Pro-inflammatorische Zytokine und Chemokine im Liquor

Zunächst wurden im Liquor 17 verschiedene Zytokine und Chemokine mittels „Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 17-plex Kits“ gemessen. Für diese Experimente wurde 20, 18 und 36 Proben jeweils aus der Kontroll-, AD- und SVE-Gruppe verwendet. Dabei wurde zuerst festgestellt, dass sich der Anteil der nachgewiesenen Zytokine und Chemokine unterscheidet. Im Grunde genommen zeigten manche Zytokine keine detektierbare Konzentration in den untersuchten Proben. Die bestimmten Detektionsgrenzen wurden mittels der verwendeten Standards aufgestellt. Anschließend wurde der Anteil der Proben, welche nachgewiesene Werte der jeweiligen Zytokine zeigten, ausgerechnet. Bei der Messung der 17 Zytokine und Chemokine in den Liquorproben wurde festgestellt, dass unabhängig von der Patientengruppierung (K, AD, SVE) vollständig bei 8 davon, im Einzelnen das IL-2 und IL-6, das G-CSF und GM-CSF, das TNF- α sowie die Chemokine IL-8 bzw. CXCL8, das MCP-1 bzw. CCL2 und das MIP-1 β bzw. CCL3 und teilweise von den, IL-7, IL-13, IL-17 in einer genügenden Menge von Proben detektiert werden konnten. Dies stellt die folgende Abbildung dar.

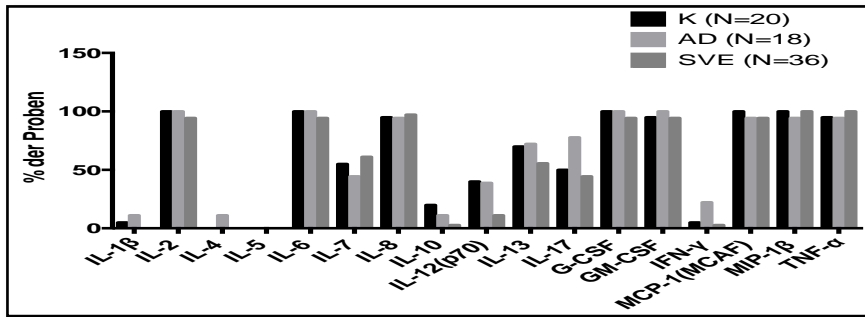


Abb. 4.4: Prozentanteil der untersuchten Proben mit detektierbaren Zytokin-Konzentrationen anhand ihrer Gruppe.

Die Konzentration der bestimmten Zytokine und Chemokine in Liquorproben in der K-, AD- und SVE-Gruppe sind in der Tabelle 7.5 im Anhang dargestellt. Im Liquor konnten also nur die pro-inflammatorischen Zytokine und Chemokine und nicht die typischen anti-inflammatorischen Zytokine (IL-4, IL-5, IL-10) nachgewiesen werden.

4.2.1. Vergleich der Immunmarker in den Hauptgruppen

Anschließend wurde untersucht, ob signifikante Unterschiede zwischen der SVE-Hauptgruppe und der AD- und K-Gruppe vorkommen.

Die IL-2-Werte waren signifikant erniedrigt in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K- ($p = 0,0006$) und AD-Gruppe ($p = 0,032$). Die tatsächliche Differenz der Mediane zwischen den Gruppen lag jeweils bei 0,52 pg/ml und bei 0,42 pg/ml. Trotz des signifikant niedrigeren Anteiles der Proben mit nachgewiesenen IL-17-Werten in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der AD-Gruppe zeigt auch die detektierte Konzentration niedrige Werte in der SVE-Gruppe im Vergleich zu den K- und AD-Proben, wobei der Unterschied signifikant war und die tatsächliche Abweichung 1,51 pg/ml beträgt ($p = 0,032$) (Abb. 4.5).

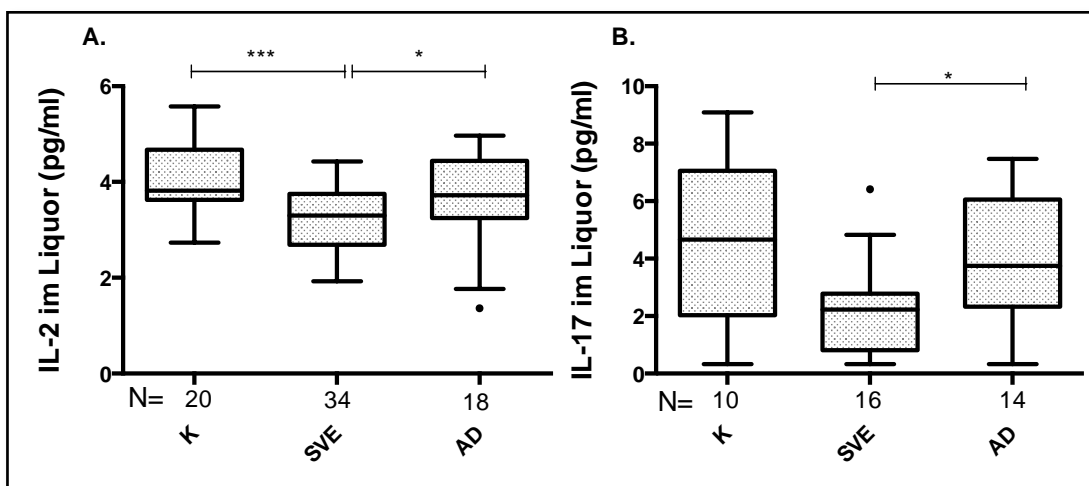


Abb. 4.5: Bestimmung von IL-2 und IL-17 im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppe. A) Die SVE-Liquorproben zeigten signifikant erniedrigte Konzentrationswerte von IL-2 im Vergleich zu den K-Proben

($p = 0,0006$) und den AD-Proben ($p = 0,032$). B) Gleichfalls weisen die SVE-Liquorproben signifikant erniedrigte Konzentrationswerte von IL-17 gegenüber den AD-Proben auf ($p = 0,032$).

Beim Vergleich der IL-6-Konzentrationen ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Beim Vergleich der detektierten IL-7- und IL-13-Konzentrationswerte fanden sich gleichfalls keine signifikanten Abweichungen zwischen den Gruppen. Die TNF- α -Konzentrationen unterschieden sich auch nicht signifikant zwischen den Gruppen (Abb. 4.6).

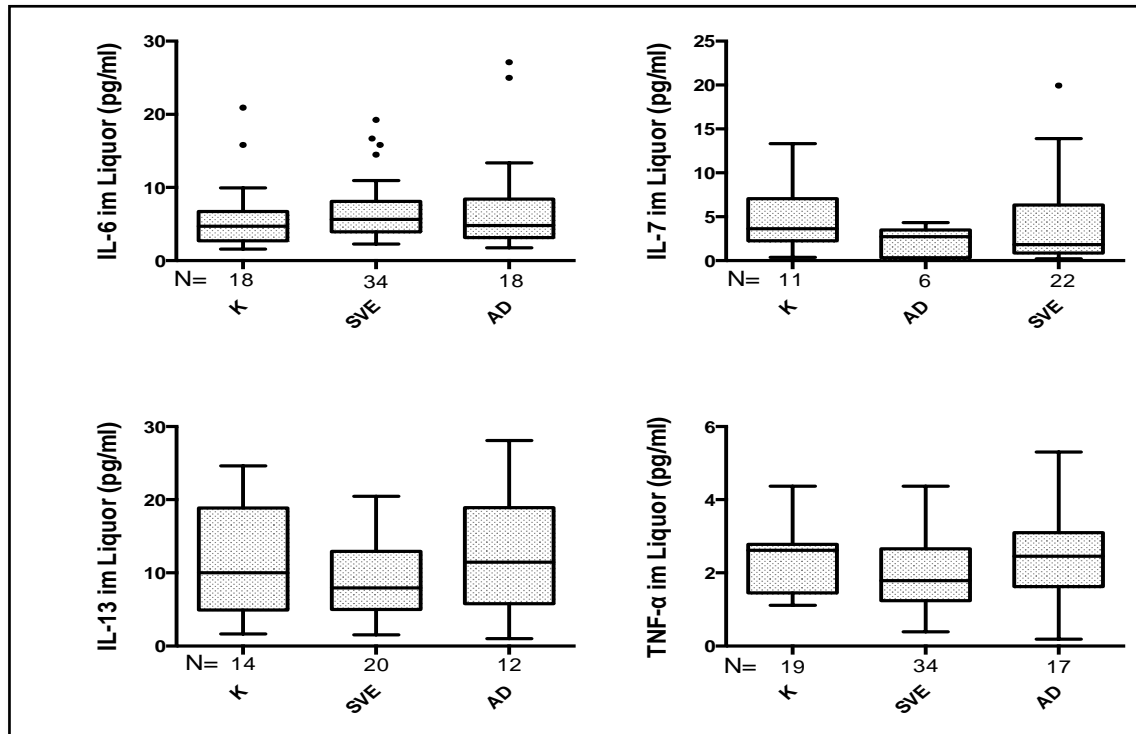


Abb. 4.6: Bestimmung von IL-6, IL-7, IL-13 und TNF- α im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppen. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Der Spiegel von G-CSF im Liquor der AD-Gruppe war signifikant erniedrigt verglichen mit der K- ($p = 0,003$) und der SVE-Gruppe ($p = 0,013$). Beim GM-CSF waren die Werte der AD-Gruppe im Vergleich zu der SVE-Gruppe signifikant erhöht ($p = 0,006$). Bei beiden koloniestimulierenden Faktoren fand sich im Liquor keine signifikante Abweichung zwischen der K- und SVE-Gruppe (Abb. 4.7).

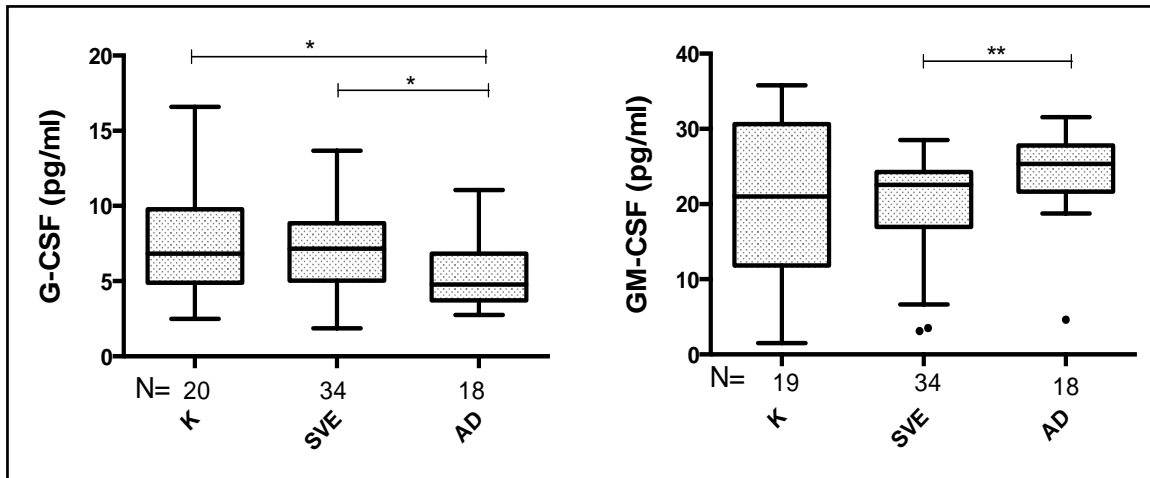


Abb. 4.7: Bestimmung von G-CSF und GM-CSF im Liquor von Patienten mit SVE und AD sowie von der Kontrollgruppe. Die G-CSF-Konzentrationen bei der AD-Gruppe zeigten signifikant erniedrigte Werte im Vergleich zu der K- ($p = 0,003$) und der SVE-Gruppe ($p = 0,013$). Die GM-CSF-Konzentrationen war dagegen bei der AD-Gruppe im Vergleich zu der SVE-Gruppe signifikant erhöht ($p = 0,006$).

Die Konzentrationsänderungen der untersuchten Chemokine IL-8 (CXCL8), MCP-1 (CCL2) und MIP-1 β (CCL3) zwischen den Gruppen waren weiterhin auch nicht signifikant (Abb. 4.8).

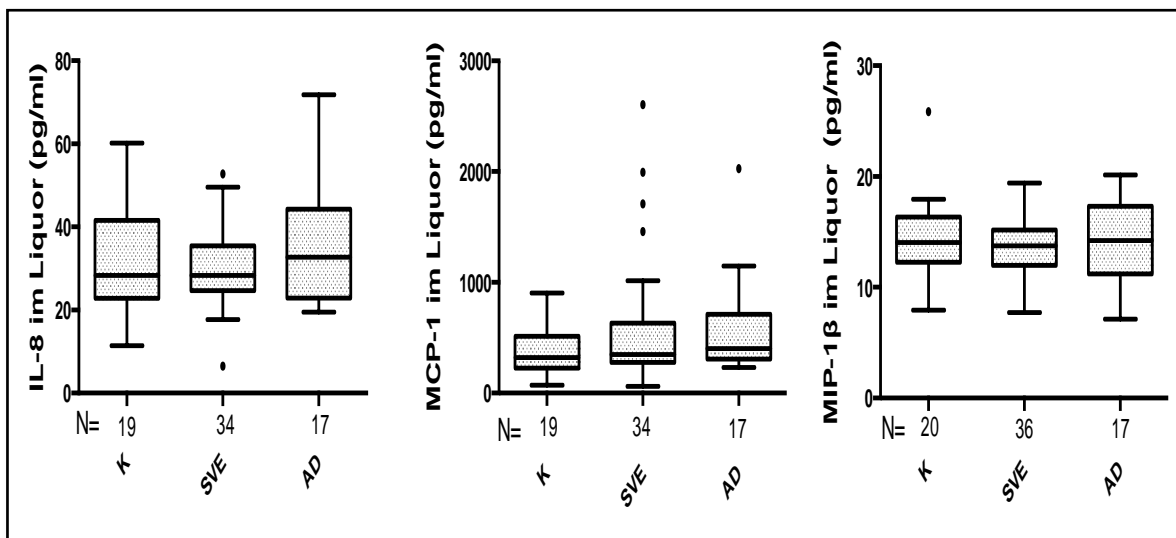


Abb. 4.8: Bestimmung von Chemokinen IL-8, MCP-1 und MIP-1 β im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppe. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

4.2.2. Vergleich der Immunmarker in den SVE-Untergruppen

Nachfolgend wurde innerhalb der SVE-Gruppe geprüft, ob Abweichungen von den Konzentrationswerten der gemessenen Zytokine zwischen den Untergruppen bestehen.

Wegen der geringen und statistisch nicht aussagekräftigen Anzahl von detektierbaren Werten in den untersuchten Liquorproben der SVE-Untergruppen wurde die Analyse für die

Interleukine IL-7, IL-13 und IL-17 nicht durchgeführt. Bei den übrigen Zytokinen ließen sich signifikante Unterschiede zwischen den Untergruppen lediglich bei IL-6, IL-8 und MIP-1 β detektieren.

Die Konzentrationen von IL-6 waren in den Liquorproben der SVE+D-Untergruppe signifikant erhöht gegenüber der SVE–D-Untergruppe ($p = 0,037$), wobei die Verteilung der SVE-Gesamtgruppe anhand des A β -Quotienten keinen signifikanten Unterschied für dieses wichtige Zytokin verursacht (Abb. 4.9).

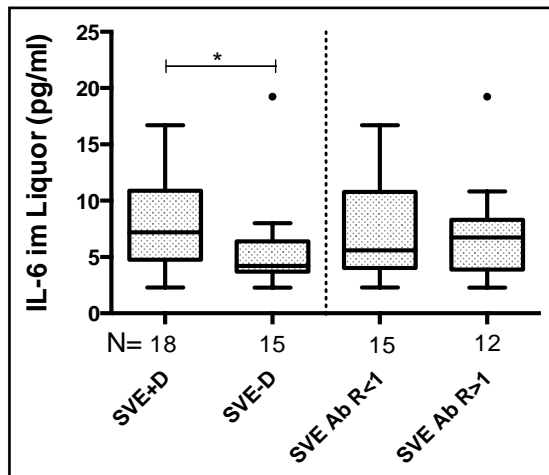


Abb. 4.9: Konzentrationswerte des IL-6 im Liquor von Patienten der Untergruppen. Signifikant erhöhte Werte von IL-6 im Liquor der SVE-Patienten mit Demenz als der ohne Demenz anhand des MMST ($p = 0,037$). Obwohl die Chemokine IL-8 und MIP-1 β in der K-, AD- und SVE-Gruppe sich nicht signifikant unterscheiden, wurde eine signifikante Abweichung beim Vergleich der SVE-Untergruppen gefunden. Die IL-8-Konzentration im Liquor war ähnlich wie bei IL-6. In der Gruppe der Patienten mit SVE und einem MMST über 25 war sie signifikant höher im Vergleich zu SVE-Patienten mit einem MMST unter 25 ($p = 0,039$). Dabei spielt die A β -Quotienten-basierte Verteilung auch keine signifikante Rolle. Im Gegensatz dazu fand sich, dass das MIP-1 β eine signifikant erniedrigte Konzentration in der SVE+D- im Vergleich zu der SVE–D-Untergruppe hat ($p = 0,037$). Dieses Chemokin zeigt auch eine signifikante Abweichung in den Untergruppen anhand des A β -Quotienten, wobei insgesamt die Patienten mit A β -Quotienten > 1 eine signifikant ($p = 0,01$) zugenommene Konzentration des MIP-1 β im Liquor gegenüber den anderen SVE- Patienten aufweisen (Abb. 4.10).

Betrachtet man die Analyse der anderen gemessenen Zytokine und Chemokine im Liquor, so ergaben sich keine anderen signifikanten Unterschiede zwischen den SVE-Untergruppen. Die entsprechenden Box-Plot-Diagramme wurden nicht dargestellt, aber die Konzentrationswerte wurden als Median und Mittelwert in der Tabelle 7.5 im Anhang dargestellt.

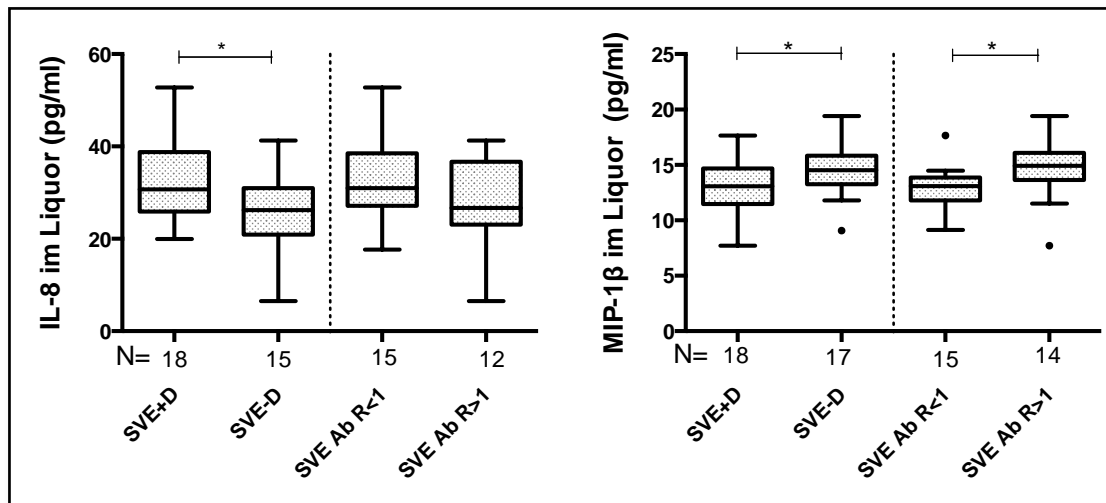


Abb. 4.10: Konzentrationswerte der Chemokine, IL-8 und MIP-1β im Liquor von Patienten der SVE-Untergruppen. Signifikant erhöhte Werte von IL-8 im Liquor der Patienten mit Demenz als der ohne Demenz anhand des MMST ($p = 0,039$). Im Gegensatz dazu ist MIP-1β signifikant erhöht in der SVE-D- und SVE-Aβ-R>1-Untergruppe im Vergleich zu den entsprechenden Untergruppen ($p = 0,037$ bzw. $p = 0,01$).

4.3. Pro- und anti-inflammatorische Zytokine und Chemokine im Serum

Anschließend beabsichtigen wir, die Expression der gleichen untersuchten Zytokine und Chemokine in der Peripherie von Patienten mit SVE und AD sowie von der Kontrollgruppe zu erfassen. Dazu wurde eine Anzahl von Serumproben aus der klinisch klassifizierten Patientengruppe gesammelt (20 K-, 39 AD-, 20 SVE-Serumproben) und wie für die Liquorproben mittels des „Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 17-plex Kits“ die Konzentrationen der gleichen 17 Zytokine und Chemokine bestimmt. Die 20 SVE-Serumproben stammen aus den gleichen Patienten, aus denen die schon untersuchten Liquorproben kommen.

Die Tabelle 7.7 im Anhang stellt die Anzahl und den Anteil der untersuchten Serumproben mit nachweisbaren Werten dar. Im Serum ließen sich deutlich mehr Zytokine nachweisen als im Liquor. Beispielsweise konnten IL-4, IL-5 und IL-12 nicht im Liquor nachgewiesen werden. Hingegen waren IL-2 und GM-CSF lediglich im Liquor messbar.

Die Konzentrationen der Zytokine und Chemokine wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung sowie als Median und Spannweite in der Tabelle 7.8 im Anhang aufgeführt. Aufgrund der niedrigen Anzahl der Serum-SVE-Proben wurde die SVE-Verteilung anhand des Aβ-Quotienten in diesem Fall nicht angewendet.

4.3.1 Vergleich der pro-inflammatorischen Zytokine und Chemokine zwischen den Hauptgruppen und den SVE-Untergruppen

Im Allgemeinen konnten die in der akuten Phase beteiligten Zytokine IL-1 β , IL-6 und TNF- α , die T_H1-Zytokine IFN- γ und IL-12 sowie die hämatopoetischen Zytokine IL-7 und G-CSF in die pro-inflammatorischen Zytokine eingeordnet werden. Der statistische Vergleich der Werte der Gruppen der Studie konnte einen ähnlichen Effekt bei vielen Zytokinen anzeigen. Im Serum der SVE-Gruppe waren sowohl die Konzentrationswerte von IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-7, G-CSF als auch von den T_H2-Zytokinen IL-4 und IL-5 erhöht.

Im Einzelnen waren im Serum die IL-1 β -Werte in den SVE-Proben im Vergleich zu den K- ($p < 0,0001$) und zu den AD-Proben ($p = 0,0045$) mit jeweiligem Unterschied um 1,295 pg/ml und um 0,79 pg/ml signifikant erhöht (Abb. 4.11; A). Beim Vergleich der Konzentrationswerte von IL-6 im Serum fand sich zwischen den Gruppen keine signifikante Abweichung (Abb. 4.11; B).

Bei der Beobachtung der Konzentrationswerte von IFN- γ und TNF- α ergab sich ein artgemäßes Schema. Beide waren in der SVE-Gruppe signifikant erhöht im Vergleich zu der K- und AD-Gruppe. Mittels Mann-Whitney-U-Test zeigten sich signifikant erhöhte Werte von IFN- γ in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K-Gruppe und der AD-Gruppe mit einem Unterschied jeweils um 149,6 pg/ml und 156,2 pg/ml mit p-Werten $< 0,0001$ (Abb. 4.11; C). Ähnlich fanden sich auch signifikant erhöhte Werte von TNF- α im Serum in den SVE-Proben verglichen mit den K-Proben ($p = 0,0035$) und den AD-Proben ($p = 0,0037$) mit einem Unterschied der Konzentrationswerte jeweils um 18,28 pg/ml und 17,27 pg/ml (Abb. 4.11; D). Neben den anderen T_H1-Zytokinen (z.B. IFN- γ , TNF- α) zeigt auch die IL-12-Konzentration erhöhte Werte in der SVE-Gruppe im Vergleich zur K-Gruppe ($p = 0,0218$) (Abb. 4.11; E).

Darüber hinaus wurden die hämatopoetischen Zytokine IL-7 und G-CSF im Serum in der SVE-Gruppe in ansteigender Konzentration gefunden. Es fand sich sogar der IL-7-Spiegel in der AD-Gruppe signifikant reduziert gegenüber der Kontroll-Gruppe ($p = 0,0142$) und den SVE-Gruppe im Serum ($p < 0,0001$) (Abb. 4.22; F). Beim G-CSF ergab sich auch eine signifikante Zunahme in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K-Gruppe ($p = 0,0002$) (Abb. 4.11; G). Daneben fanden sich interessanterweise bei dem Vergleich mit den nur neun Serumproben der SVE-D-Untergruppe signifikant erhöhte Werte ($p = 0,0256$) gegenüber den acht Proben von der SVE+D-Untergruppe (Abb. 4.11; H). Bei allen anderen gemessenen Zytokinen ergab sich keine ähnliche Differenz bei dem Vergleich zwischen den SVE-Untergruppen.

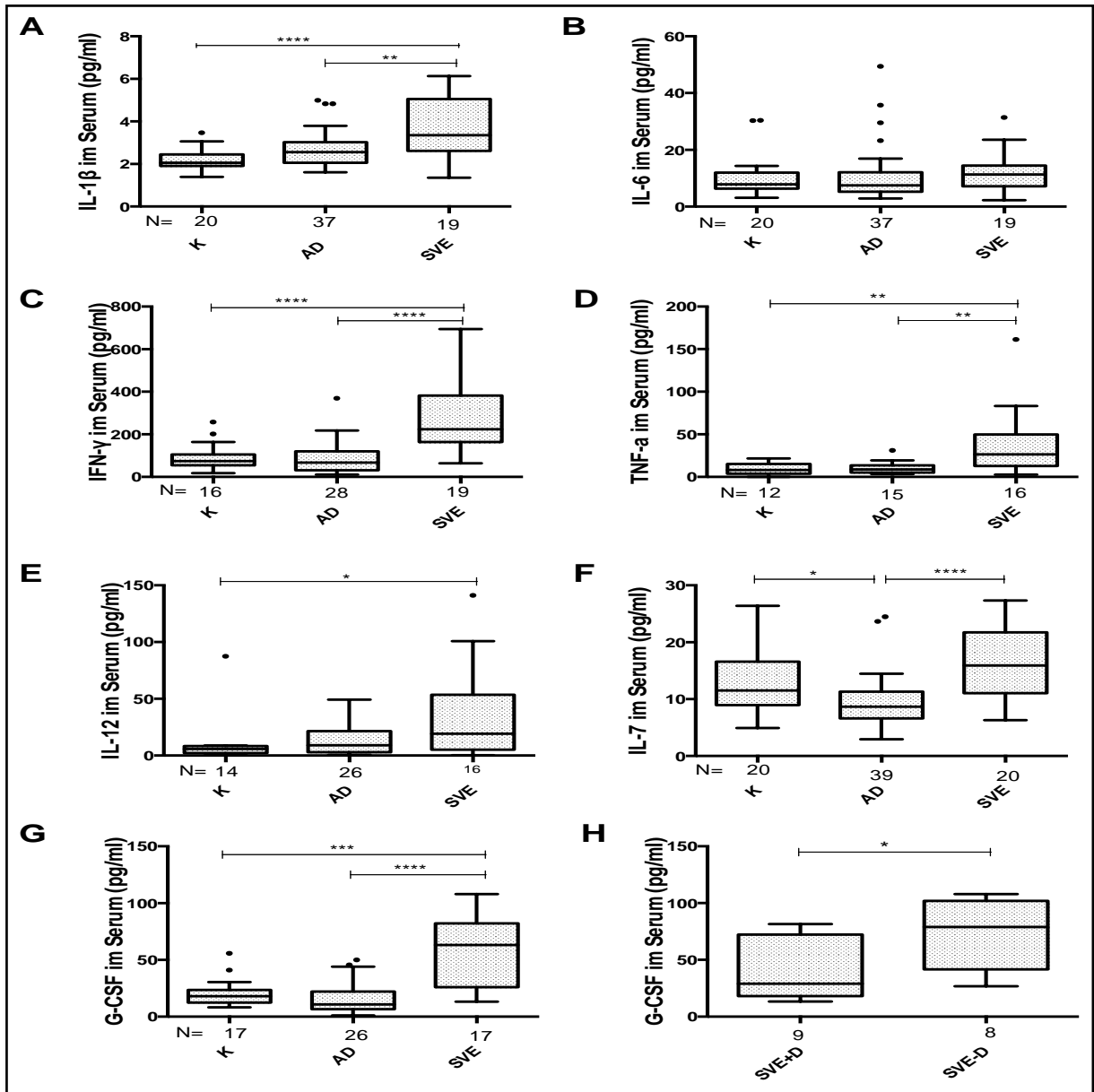


Abb. 4.11: Bestimmung der pro-inflammatorischen, Makrophagen-aktivierenden und hämatopoetischen Zytokine im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppe. A) Signifikant erhöhte IL-1 β -Werte in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K- ($p < 0,0001$) und AD-Gruppe ($p = 0,0045$). B) Kein signifikanter Unterschied bei IL-6-Serumwerten. C) Signifikante Zunahme der IFN- γ -Konzentration in den SVE-Serumproben gegenüber den K- und AD-Serumproben ($p < 0,0001$). D) Auch signifikantes Ansteigen der TNF- α -Konzentration in den SVE-Serumproben gegenüber den K- ($p = 0,0035$) und AD-Serumproben ($p = 0,0037$). E) IL-12-Werte in der SVE-Gruppe signifikant erhöht im Vergleich zu der K-Gruppe ($p = 0,0218$). F) Bei der AD-Gruppe signifikant erniedrigte Serumwerte von IL-7 gegenüber der K- ($p = 0,0142$) und SVE-Gruppe ($p < 0,0001$). G) Sehr signifikant erhöhte Serumwerte von G-CSF in der SVE-Gruppe verglichen mit der K- ($p = 0,0002$) und AD-Gruppe ($p < 0,0001$). H) Signifikant erhöhte G-CSF-Serumwerte in der SVE-D- gegenüber der SVE+D-Untergruppe.

Im Gegensatz zu den gemessenen Zytokinen zeigte die Messung von Chemokinen eine Zunahme in der AD-Gruppe bzw. eine Abnahme in der SVE-Gruppe. Dabei waren die Konzentrationswerte von IL-8 ($p = 0,0038$), MIP-1 β ($p = 0,0005$), MCP-1 ($p < 0,0001$) in der AD- im Vergleich zu der SVE-Gruppe signifikant erhöht. Daneben fand sich im Vergleich zu den Kontrollen in der AD-Gruppe eine signifikante Zunahme der IL-8-Konzentrationswerte ($p < 0,0001$) und in der SVE-Gruppe ein signifikantes Absinken der MCP-1-Konzentrationswerte ($p < 0,0001$) (Abb. 4.12).

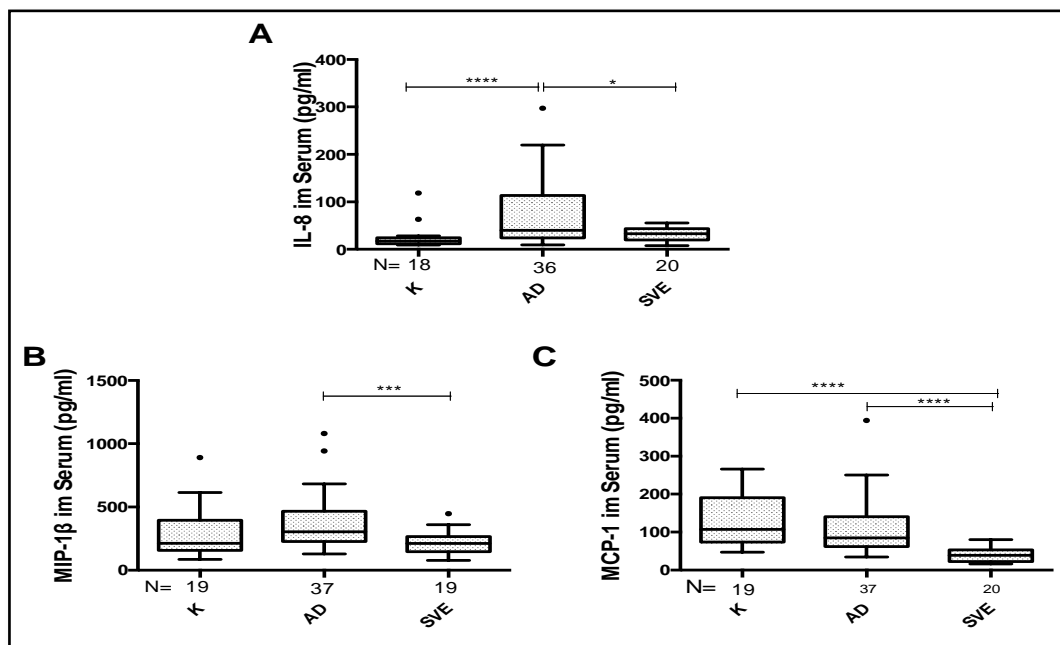


Abb. 4.12: Bestimmung der Chemokine-Konzentrationen im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppen. A) Signifikant erhöhte Werte von IL-8 in den AD- im Vergleich zu den SVE- ($p = 0,0038$) und K-Proben ($p < 0,0001$). B) Signifikant zugenommene Werte von MIP-1 β in den AD- gegenüber den SVE-Serumproben ($p = 0,0005$). C) Signifikant erniedrigte Werte von MCP-1 im Serum in der SVE- verglichen mit der K- und AD-Gruppe ($p < 0,0001$).

4.3.2 Vergleich der anti-inflammatorischen Zytokine zwischen den Hauptgruppen

Die Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13 gehören zu den T_H2-Zytokinen und aktivieren die B-Zellen, damit diese in der Lage sind, Antikörper zu produzieren. Insgesamt zeigen sie eine entzündungshemmende Wirkung und werden deswegen als anti-inflammatorische Zytokine bezeichnet.

Es konnte bei IL-4 und IL-5 eine Zunahme der gemessenen Konzentrationen im Serum in der SVE-Gruppe gefunden werden. Genauer zeigte sich beim Vergleich mit den K-Proben ein signifikanter Unterschied um 4,29 pg/ml bei IL-4 ($p = 0,0004$) und um 3,12 pg/ml bei IL-5 ($p < 0,0001$) sowie mit den AD-Proben mit tatsächlicher Differenz der Mediane von

4,2 pg/ml bei IL-4 und von 2,8 pg/ml ($p < 0,0001$). Die IL-13-Werte im Serum wiesen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf (Abb. 4.13).

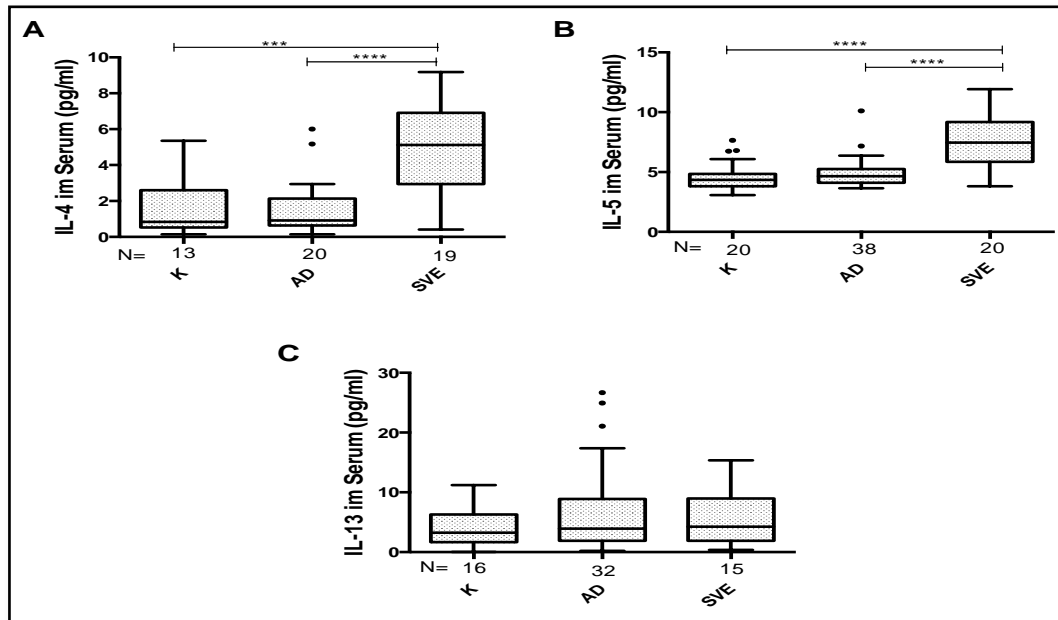


Abb. 4.13: Bestimmung von B-Zell-aktivierenden T_H2 -Zytokinen im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppen. A) Sehr signifikant erhöhte IL-4-Werte in der SVE-Gruppe verglichen mit der K- ($p = 0,0004$) und AD-Gruppe ($p = 0,0045$). B) Signifikantes Ansteigen der IL-5-Konzentration in den SVE-Serumproben gegenüber den K- und AD-Serumproben ($p < 0,0001$). C) Keine signifikante Abweichung der IL-13-Serumwerte zwischen den Gruppen.

4.4. Korrelation der Immunmarker mit den klinischen Parametern

Anschließend wurde untersucht, ob es Zusammenhänge zwischen den Konzentrationswerten von Zytokinen und Chemokinen im Liquor mit den klinischen angeforderten Parametern (siehe Abschnitt 4.1) in der SVE-Gruppe bestehen. Dafür wurden mittels des Korrelationstests nach Spearman alle möglichen Zusammenhänge geprüft. Die Tabelle 7.6 im Anhang stellt die Ergebnisse dar, wobei r-Werte die Art (d.h. positiv oder negativ) und den Koeffizienten der Korrelation sowie die p-Werte das Niveau der Signifikanz widerspiegeln. Alle Daten entsprechen dem Zeitpunkt der Lumbalpunktion.

4.4.1 Korrelation der Immunmarker im Liquor mit dem Alter

Zunächst wurde untersucht, ob das Alter der Patienten der SVE-Gruppe mit den Konzentrationen der gemessenen Zytokine und Chemokine im Liquor korreliert. Es fand sich eine signifikante positive Korrelation nur bei den Werten von IL-8 ($r = 0,373$; $p = 0,029$) (Abb. 4.14). Bei den anderen Zytokinen und Chemokinen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

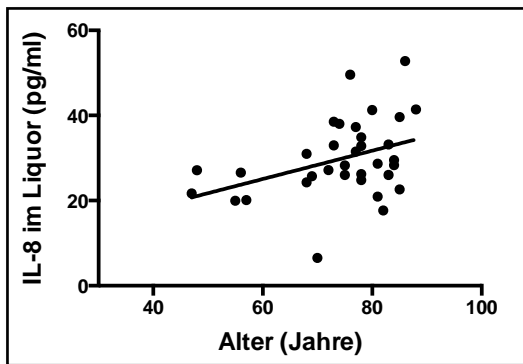


Abb. 4.14: Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von IL-8 im Liquor und dem Alter in Jahren von Patienten mit SVE. Es fand sich eine signifikante positive Korrelation ($r = 0,373$; $p = 0,029$; $xyN = 34$).

4.4.2 Korrelation der Immunmarker im Liquor mit den „Demenzmarkern“ im Liquor

Nachfolgend wurde geprüft, ob die Konzentrationen der nachgewiesenen Zytokine und Chemokine mit den Konzentrationen der verschiedenen Demenzmarker (Gesamt-Tau, P-Tau, A β 1–40, A β 1–42 und A β -Quotient {A β 1–42 / A β 1–40 * 10}) korrelieren.

Das pro-inflammatorische Chemokin IL-8 hängt interessanterweise signifikant positiv mit dem P-Tau-Wert im Liquor mit $r = 0,534$ zusammen ($p = 0,004$) (Abb. 4.15; A). Bezüglich A β 1–42 ergab sich eine signifikante negative Korrelation ($r = -0,356$; $p = 0,049$) mit dem *granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) (Abb. 4.15; B). Das heißt, dass je höher die Werte von G-CSF im Liquor sind, desto geringer ist die Konzentration von A β 1–42 im Liquor von Patienten mit SVE. Zusätzlich fand sich in der gesamten SVE-Gruppe ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen IL-8 und dem A β -Quotienten ($r = -0,409$; $p = 0,027$) (Abb. 4.15; C), obwohl die Teilung anhand der Cut-off-A β -Ratio-Werte von 1 keinen signifikanten Unterschied ($p = 0$) zwischen der geprägten A β -R>1- und A β -R<1-Untergruppe verursacht. Es ergab sich auch eine leicht signifikant positive Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von IL-6 und Q-Alb ($r = 0,357$; $p = 0,048$) bei 31 SVE-Patienten, was auf eine Beziehung der IL-6-Liquorexpression mit der Blut-Hirn-Schranke-Funktion hinweist (Abb. 4.15; D).

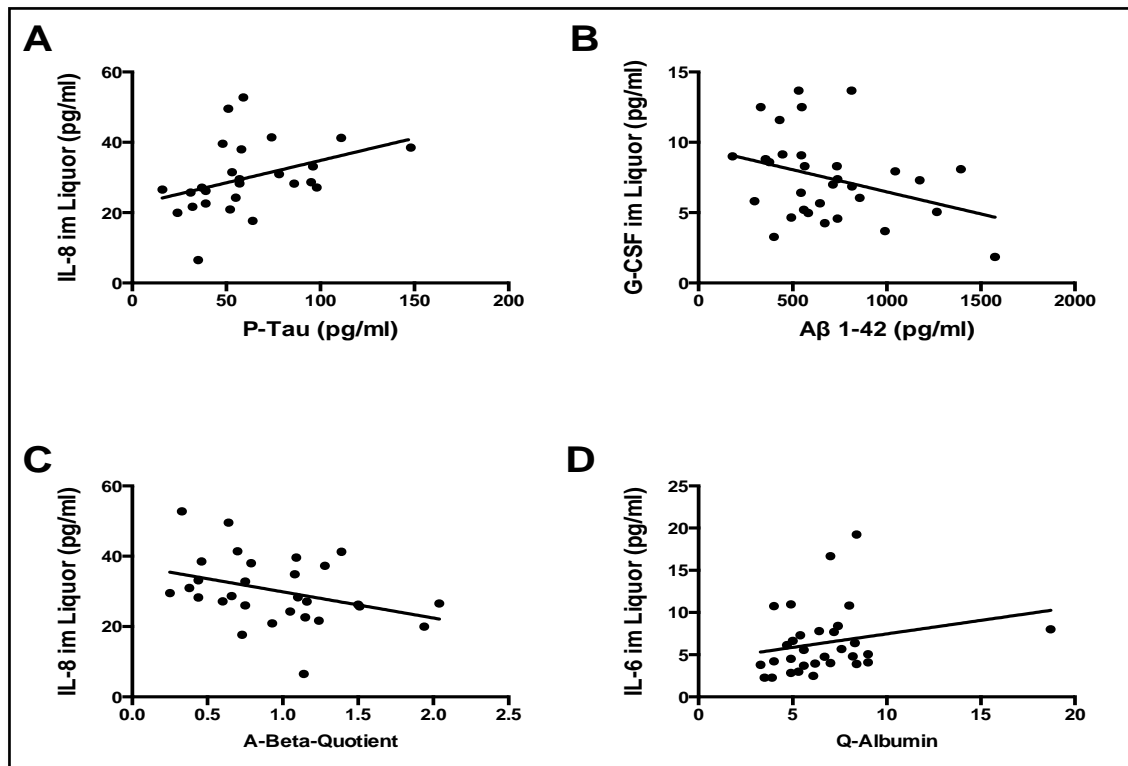


Abb. 4.15: Die signifikanten Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von Zytokinen und Chemokinen und den Demenzmarkern im Liquor von Patienten mit SVE. A) Es ergab sich ein positiver signifikanter Zusammenhang zwischen IL-8 und P-Tau ($r = 0,534$; $p = 0,0049$; $xyN = 26$). B) Negativer signifikanter Zusammenhang zwischen G-CSF im Liquor und A β 1-42 ($r = -0,356$; $p = 0,049$; $xyN = 26$). C) Negativer signifikanter Zusammenhang zwischen IL-8 und dem A β (1-42/1-40)-Quotienten ($r = -0,409$; $p = 0,027$; $xyN = 29$). D) Es wurde ein positiver signifikanter Zusammenhang zwischen IL-6 im Liquor und Q-Alb bei Patienten mit SVE ($r = 0,357$; $p = 0,048$; $xyN = 31$) festgestellt.

4.4.3 Korrelation der Immunmarker im Liquor mit dem kognitiven Status

Zuletzt wurde geprüft, ob die Ergebnisse der neuropsychologischen Testungen mit den gemessenen Werten der Zytokine und Chemokine im Liquor von SVE-Patienten zusammenhängen. Hierbei wurden hauptsächlich signifikante Korrelationen mit dem MMST gefunden, welcher auch als Kriterium für die Unterteilung der SVE-Gruppe in die Untergruppen SVE+D und SVE-D diente. Es ergaben sich signifikante Korrelationen mit den Konzentrationswerten von IL-6, IL-8 und MIP-1 β . Im Einzelnen fand sich, dass die MMST-Punkte signifikant negativ mit IL-6 ($r = -0,358$; $p = 0,04$) und mit IL-8 ($r = -0,372$; $p = 0,032$) sowie positiv mit MIP-1 β ($r = 0,437$; $p = 0,008$) korrelierten (Abb. 4.16).

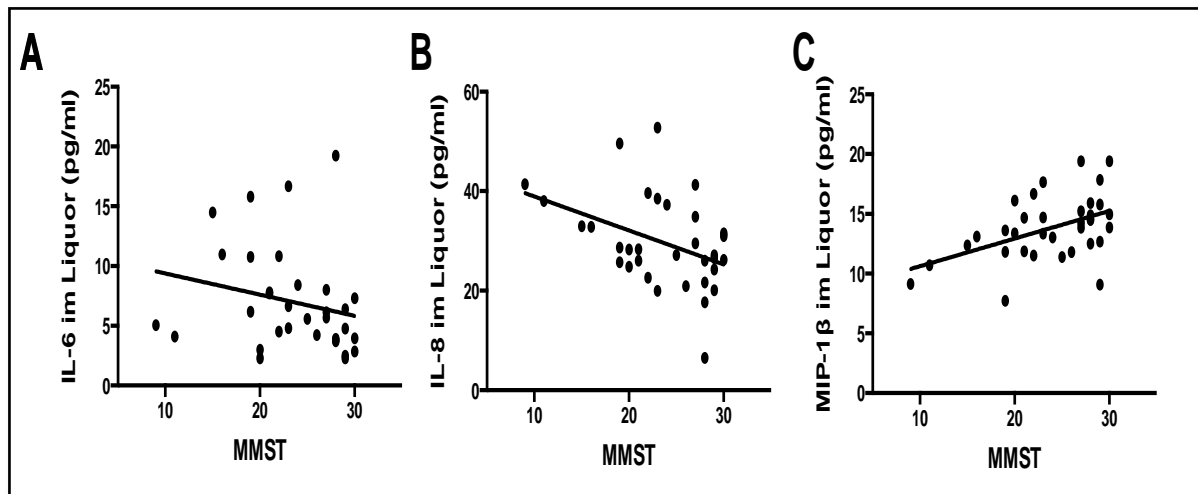


Abb. 4.16: Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von IL-6, IL-8 und MIP-1 β im Liquor und den Werten des MMST bei Patienten mit SVE. A) Der MMST hing signifikant negativ mit IL-6 ($r = -0,358$; $p = 0,04$; $xyN = 33$) und B) mit IL-8 ($r = -0,372$; $p = 0,032$; $xyN = 33$) sowie C) positiv mit MIP-1 β ($r = 0,437$; $p = 0,008$; $xyN = 35$) zusammen.

4.4.4 Korrelation der Immunmarker im Serum mit den klinischen Parametern

Anschließend wurde untersucht, ob Zusammenhänge zwischen den Konzentrationswerten der gemessenen Zytokine im Serum und den klinisch bestimmten Parametern, z.B. Alter, ARWML-Skala und MMST, in der SVE-Gruppe bestehen. Die Tabelle 7.9 im Anhang stellt die Ergebnisse von der Rangkorrelation nach Spearman dar.

Obwohl die Anzahl der gepaarten Beobachtungen gering war, konnten signifikante Korrelationen bei manchen Zytokinen festgestellt werden.

Die Messungen von MCP-1 im Serum zeigten eine signifikante negative Korrelation mit dem Alter der SVE-Patienten zum Zeitpunkt der Rekrutierung und Probengewinnung ($r = -0,45$; $p = 0,046$; $xyN = 20$) (Abb. 4.17; A).

Dennoch korrelierte der MMST interessanterweise positiv mit den Werten von MIP-1 β im Serum ($r = 0,528$; $p = 0,016$; $xyN = 20$) (Abb. 4.17; B).

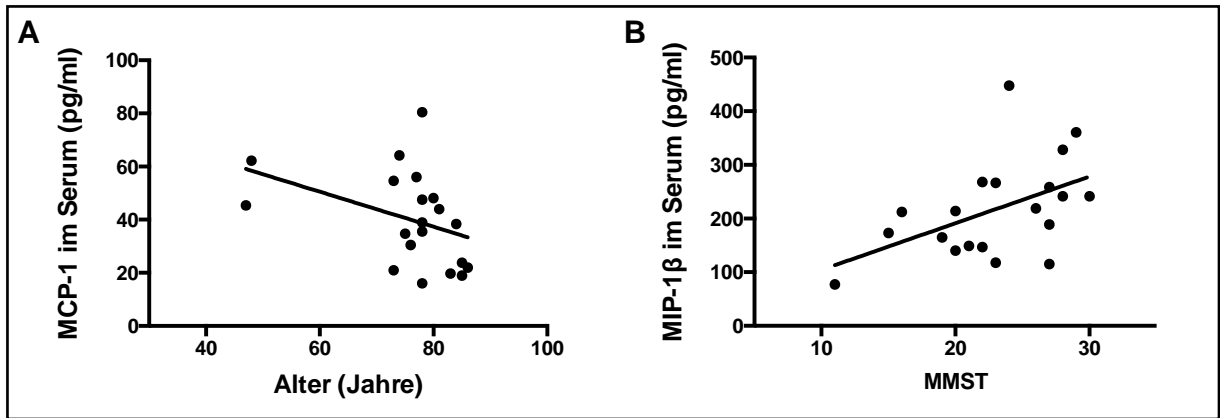


Abb. 4.17: Signifikante Korrelationen zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Serum und verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe. A) MCP-1 im Serum und Alter bei Patienten mit SVE. Es wurde ein signifikanter negativer Zusammenhang gefunden ($r = -0,45$; $p = 0,046$; $xyN = 20$). B) MIP-1β im Serum und MMST bei Patienten mit SVE. Es wurde ein hochsignifikanter positiver Zusammenhang festgestellt. ($r = 0,528$; $p = 0,016$; $xyN = 20$).

4.5. CRP-Bestimmung im Serum

Zur Erfassung von systematischen entzündlichen Markern in den Untersuchungsgruppen wurde zusätzlich das unspezifische Akute-Phase-Protein C-reaktives Protein (CRP) bei 11, 13 und 23 Patienten jeweils von K-, AD-, SVE-Serumproben bestimmt.

Die Ergebnisse zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen und fast alle Werte lagen im Normbereich ($< 10 \text{ mg/l}$) (Abb. 4.18).

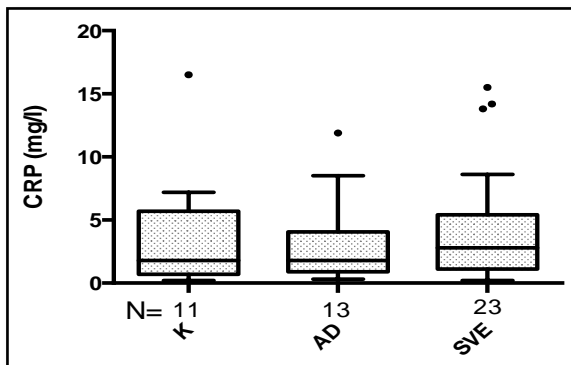


Abb. 4.18: Konzentrationswerte von CRP im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppe. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

4.6. PrP^C-Bestimmung im Liquor

Mittels der Bio-Plex-basierten-Methode wurde die Konzentration von PrP^C im Liquor von 19 K-, 16 AD- und 54 SVE-Patienten bestimmt. Die Tabelle 7.10 im Anhang stellt die gemessenen Werte dar.

4.6.1. PrP^C ist im Liquor von SVE-Patienten erhöht

In der SVE-Gruppe ist die PrP^C-Konzentration im Liquor höher als in der Kontrollgruppe. Hierbei lag der Median in dieser Gruppe um 377 ng/ml, während er bei der K-Gruppe um 198 ng/ml und bei der AD-Gruppe um 278 ng/ml lag. Bei unseren Messungen konnten Unterschiede zwischen dem Median der SVE-Proben und dem der K-Proben von 179 ng/ml und dem der AD-Proben von 83,62 ng/ml ausgerechnet werden.

Man erkennt jedoch anhand der Abb. 4.19, dass die PrP^C-Konzentrationen der SVE-Patienten über einen weiteren Bereich streuten und sich Überlappungen mit den Kontrollwerten ergaben. Dennoch ergab sich mithilfe des Mann-Whitney-Tests ein sehr signifikanter Unterschied mit p-Werten < 0,0001 zwischen der SVE- und K-Gruppe (Abb. 4.19).

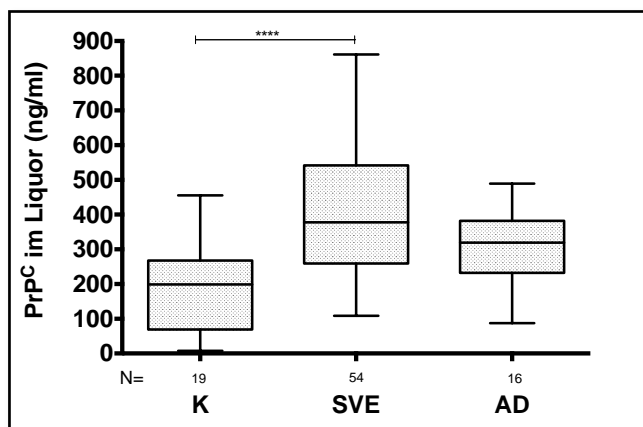


Abb. 4.19: PrP^C-Konzentrationswerte im Liquor von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppe. Es ergab sich eine hochsignifikante Zunahme in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K-Gruppe ($p < 0,0001$).

Zur Überprüfung des nachgewiesenen Effekts wurde eine statistisch relevante Anzahl von Liquorproben mittels des Roboscreen-ELISA erneut gemessen. Außer bei den AD-Proben ergab sich keine signifikant große Abweichung der bestimmten Werte zwischen den beiden Methoden (d.h., die signifikante Erhöhung der PrP^C-Konzentration im Liquor in den SVE-Proben ist auch mittels Roboscreen-ELISA erfassbar). Der beobachtete Effekt der signifikanten Erhöhung von PrP^C in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K-Gruppe wurde also auch mit einem anderen Test verifiziert.

4.6.2. Bestimmung der PrP^C-Konzentration im Liquor von SVE-Untergruppen

Die zweimalige Unterteilungen der SVE-Gruppe in Untergruppen anhand des MMST (Cut-off-Werte = 25) und des A β -Quotienten (Cut-off-Werte = 1) zeigten, dass, obwohl zwischen der SVE+D- und SVE-D-Untergruppe keine signifikante Abweichung vorkommt, die A β -R<1-Untergruppe signifikant erhöhte Werte im Vergleich zu der A β -R>1-Gruppe hatte. Der

tatsächliche Unterschied der Mediane lag bei 172,4 ng/ml mit einem p-Wert von 0,005 (Abb. 4.20).

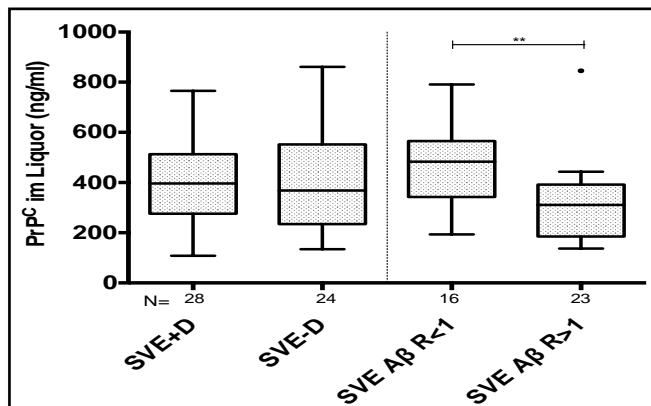


Abb. 4.20: PrP^C-Konzentrationswerte im Liquor von Patienten der Untergruppen. Es ergaben sich signifikant erhöhte Werte in der SVE-Aβ-R<1-Gruppe verglichen mit der SVE-Aβ-R>1-Gruppe (p = 0,005).

4.6.3. Korrelation der PrP^C-Konzentration im Liquor mit den klinischen Parametern und Demenzmarkern in der SVE-Gruppe

Anschließend wurden mögliche Zusammenhänge der PrP^C-Werte im Liquor mit den klinisch bestimmten Parametern der SVE-Patienten geprüft. Dies wurde mittels Rangkorrelationen nach Spearman untersucht. Die Ergebnisse werden in der Tabelle 7.11 im Anhang dargestellt. Am Anfang wurde festgestellt, dass die PrP^C-Werte weder mit dem Alter noch mit dem BMI der SVE-Patienten korrelieren. Darüber hinaus wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen der ARWML-Skala und den PrP^C-Werten im Liquor gefunden. Außerdem fand sich keine relevante Korrelation mit dem MMST. Allerdings konnte eine signifikante Korrelation mit den klinisch bestimmten Demenzmarkern festgestellt werden.

Die PrP^C-Werte zeigten eine signifikante positive Korrelation mit den Werten sowohl von Gesamt-Tau als auch von P-Tau (p < 0,0001). Dabei war der Korrelationskoeffizient für P-Tau höher (r = 0,776) als für Gesamt-Tau (r = 0,684) (Abb. 4.21; A und B). Hinsichtlich der Amyloid-β-Peptide wurde eine signifikante positive Korrelation mit Aβ 1–40 (r = 0,611; p < 0,0001), aber keine mit Aβ 1–42 herausgefunden (Abb. 4.21; C und D).

Nachfolgend zeigte der Aβ(1–42/1–40)-Quotient eine signifikante negative Korrelation mit den PrP^C-Werten (r = -0,577; p < 0,0001) (Abb. 4.21; E). Dies ist in Übereinstimmung mit den signifikant erhöhten PrP^C-Konzentrationswerten in der SVE-Aβ-R<1-Gruppe gegenüber der SVE-Aβ-R>1-Gruppe. Zuletzt wurde keine statistisch signifikante Beziehung zwischen den PrP^C-Werten im Liquor in den Q-Alb bei 47 Patienten der SVE-Gruppe. Dieser Befund

ist sehr wichtig, da er vermuten lässt, dass die Funktion der Blut-Hirn-Schranke keinen wesentlichen Einfluss auf den Spiegel von PrP^C im Liquor bei der SVE aufweist.

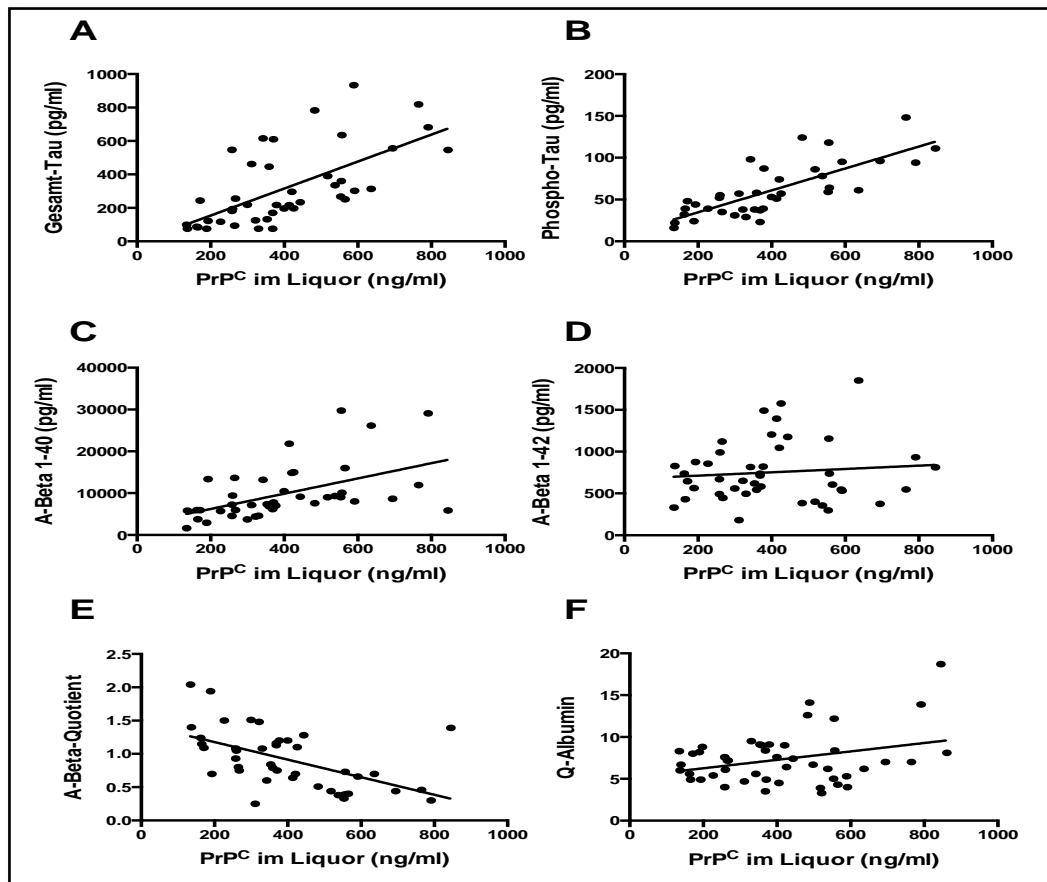


Abb. 4.21: Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von PrP^C und den verschiedenen Demenzmarkern im Liquor von Patienten mit SVE. Es ergaben sich die folgenden Korrelationen: A) Hochsignifikante positive Korrelation mit G-Tau ($r = 0,684$; $p < 0,0001$; $xyN = 43$). B) Hochsignifikante positive Korrelation mit P-Tau ($r = 0,776$; $p < 0,0001$; $xyN = 38$). C) Hochsignifikante positive Korrelation mit A β 1–40 ($r = 0,611$; $p < 0,0001$; $xyN = 42$). D) Keine relevante Korrelation mit A β 1–42 ($r = 0,06$; $p = 0,655$; $xyN = 44$). E) Hochsignifikante negative Korrelation mit dem A β (1–42/1–40)-Quotienten ($r = -0,577$; $p < 0,0001$; $xyN = 43$). F) Keine relevante Korrelation mit Q-Alb ($r = 0,09$; $p = 0,536$; $xyN = 47$).

4.6.4. Korrelation der PrP^C-Liquorwerte mit den Zytokinen und Chemokinen im Liquor

Hinterher wurde auch erforscht, ob ein Zusammenhang zwischen den PrP^C-Werten und den gemessenen Konzentrationswerten der Zytokine und Chemokine im Liquor von SVE-Patienten besteht. Interessanterweise fand sich, dass IL-2, IL-8 und MCP-1 mit PrP^C zusammenhängen. Eine signifikante negative Korrelation ($r = -0,406$; $p = 0,018$) konnte zwischen den IL-2- und PrP^C-Werten im Liquor bei 33 Patienten mit SVE festgestellt werden. Bei dem Chemokin IL-8 fand sich jedoch eine signifikante positive Korrelation ($r = 0,39$; $p = 0,0273$) bei 32 Patienten von der SVE-Gruppe. Im Gegensatz dazu zeigte sich eine

signifikante negative Korrelation ($r = -0,381$; $p = 0,031$) zwischen den Werten von MCP-1 und PrP^C im Liquor bei 38 Patienten mit SVE (Abb. 4.22). Wie erwartet, bestand kein relevanter Zusammenhang zwischen den PrP^C-Werten im Liquor und den Zytokin-Werten im Serum in der SVE-Gruppe.

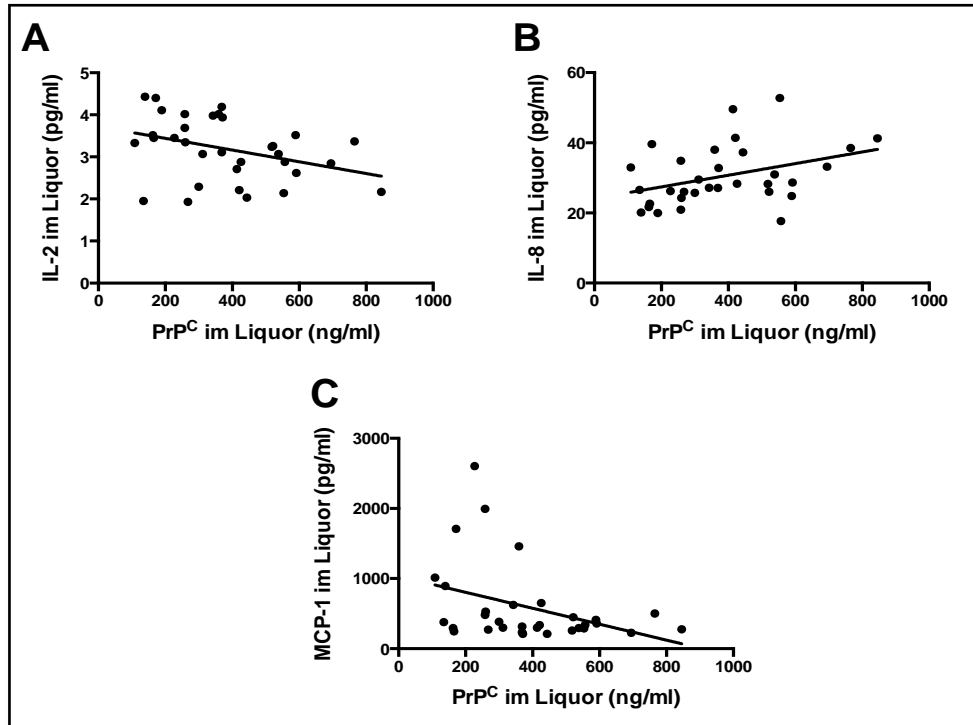


Abb. 4.22: Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von PrP^C und IL-2, IL-8 und MCP-1 im Liquor von Patienten mit SVE. Es zeigte sich: A) Signifikante negative Korrelation mit IL-2 ($r = -0,406$; $p = 0,018$; $xyN = 33$). B) Signifikante positive Korrelation mit IL-8 ($r = 0,39$; $p = 0,0273$; $xyN = 32$). C) Signifikante negative Korrelation mit MCP-1 ($r = -0,381$; $p = 0,031$; $xyN = 38$).

4.7. PrP^C-Bestimmung im Serum

Darüber hinaus wurde die PrP^C-Konzentration in Serumproben von eingeschlossenen Patienten der Studie auch mittels des Bio-Plex-Assays bestimmt. Es wurden 20 K-Proben, 38 AD-Proben und 55 SVE-Proben untersucht (siehe Tabelle 7.12 im Anhang).

Im Unterschied zu den Liquorproben ergab sich im Serum eine hochsignifikante Zunahme der PrP^C-Konzentrationswerte in der AD-Gruppe im Vergleich sowohl zu der K-Gruppe ($p = 0,0009$) als auch zu der SVE-Gruppe ($p < 0,0001$) gefunden, wobei der tatsächliche Unterschied der Mediane bei 22,2 ng/ml und 30,1 ng/ml nur gering ausgeprägt war (Abb. 4.23). Es wurde Zwischen den SVE- und K-Proben findete sich keine Abweichung.

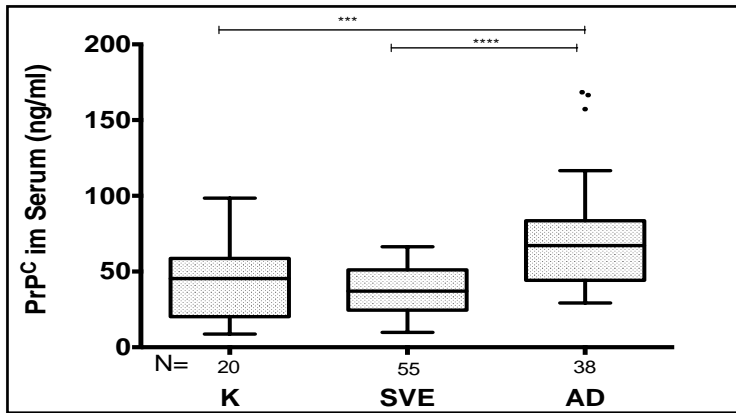


Abb. 4.23: PrP^C-Konzentrationswerte im Serum von Patienten der K-, SVE- und AD-Gruppe. Die Werte in der AD-Gruppe zeigten eine sehr signifikante Erhöhung im Vergleich zu der K- ($p = 0,0009$) und der SVE-Gruppe ($p < 0,0001$).

Die Werte von PrP^C im Serum zeigten weder mit den klinischen Parametern noch mit den gemessenen Zytokinen im Liquor eine Korrelation. Dennoch ergaben sich signifikante negative Zusammenhänge mit zwei Zytokinen, IL-13 und MIP-1 β mit jeweiligen r-Werten von 0,6008 ($p = 0,0025$) und 0,487 ($p = 0,037$) (Abb. 4.24).

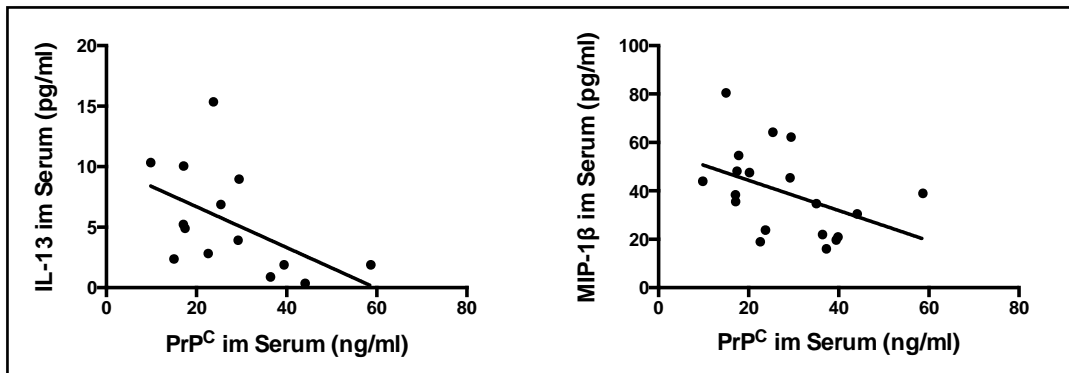


Abb. 4.24: Korrelationen zwischen den Konzentrationswerten von PrP^C und IL-13 sowie MIP-1 β im Serum von Patienten mit SVE. Es ergab sich eine signifikante negative Korrelation mit IL-13 ($r = -0,6$; $p = 0,025$; $xyN = 14$) und mit MCP-1 ($r = -0,487$; $p = 0,0342$; $xyN = 19$).

5. Diskussion

5.1. Studiendesign

Das zentrale Kriterium für die Rekrutierung der Patienten dieser Studie war der Nachweis vaskulär bedingter Marklagerveränderungen durch bildgebende diagnostische Verfahren (in den meisten Fällen cMRT und bei 7 Fällen cCT). Diese sogenannten WMLs wurden mithilfe der neuroradiologischen Skala ARWMC nach Wahlund et al. (2001) quantifiziert. Allerdings wurden mindestens zwei der folgenden Kriterien zum Einschluss benötigt, wie demenzielle Entwicklung, Gangstörungen und multiple vaskuläre Risikofaktoren in der medizinischen Anamnese, welche zum klinischen Bild der SVE gehören.

Die WMLs sind häufige Befunde in den bildgebenden Verfahren im klinischen Alltag. Allerdings ist nach einem Jahrzehnt in der LADIS-Studie davon ausgegangen worden, dass die Marklagerveränderungen als neuroradiologische Manifestationen der zerebralen Mikroangiopathie nicht mehr als ein Zufalls- oder harmloser Befund betrachtet werden dürfen, da diese mit einer schlechten Prognose sowohl in *cross-sectional surveys* wie der vorliegenden Studie als auch in Follow-up-Studien assoziiert sind (Poggesi et al. 2011). Die klinische Bedeutung der Marklagerveränderung in Form von Hyperintensitäten (WMHs) auf MRT, besonders als Risikofaktor für zerebrovaskuläre Ereignisse, Demenzen und Tod, wurde auch von einer systematischen Metaanalyse unterstützt (DeBette und Markus 2010). Wenn WMHs bzw. WMLs als Teil der diagnostischen Untersuchungen identifiziert werden, können sie als zwischenliegende Marker für die Einschlusskriterien in einer Forschungs-Einstellung verwendet werden (DeBette und Markus 2010). Wenn die genannten MRT-Befunde mit dem klinischen Bild der SVE und des VCI einhergehen, wie bei den Patienten der SVE-Hauptgruppe dieser Studie, bekommt die Forschung zunehmende Bedeutung.

In der SVE-Gruppe wurden auch Patienten eingeschlossen, obwohl Hinweise auf Neurodegeneration (Liquorwerte von Tau erhöht, A β 1–42 niedrig) bestanden. Die Rationalität bezieht sich auf folgende Tatsachen: Die klinischen Kriterien ICD-10, DSM-4, NINDS-AIREN10, ADDTC unterscheiden weder zwischen gemischter Demenz und vaskulärer Demenz noch dienen sie zur frühzeitigen Erkennung vaskulärer kognitiver Veränderungen. Keines dieser Kriterien wurde in ausreichendem Maße durch longitudinal prospektive Studien validiert. Daher haben die gegenwärtigen klinischen Kriterien für vaskuläre Demenz begrenzte Gültigkeit für das gesamte Kontinuum der vaskulären kognitiven Beeinträchtigungen (Wiederkehr et al. 2008a; Wiederkehr et al. 2008b). Obwohl im klinischen Alltag die ICD-10-Kriterien eine Unterscheidung der verschiedenen

Demenzformen (F00, F01, F02, F03) und Mischformen (F00.2) bieten, wird die klinische Differenzierung der AD von VaD im klinischen Alltag problematisch. Die vaskuläre Komponente der AD wird immer wieder diskutiert (De la Torre 2002). Darüber hinaus besteht eine wesentliche Überlappung zwischen Risikofaktoren für zerebrovaskuläre Erkrankungen und der Alzheimer-Krankheit, z.B. Diabetes mellitus, Hypertonie und Adipositas. Heutzutage ist es allgemein anerkannt, dass bei beträchtlichen Fällen von Alzheimer-Krankheit gemischte Pathologie und zerebrale Mikroangiopathie vorliegt, die das klinische Bild entscheidend verschlechtern können. Das wurde in den folgenden populationsbezogenen Studien nachgewiesen: *Adult Changes in Thought Study* (Sonnen et al. 2007), *the Honolulu Asia Aging Study* (Launer et al. 2011) und *the Religious Orders Study* (Schneider et al. 2005). Außerdem wurde auch aus molekularbiologischer Sicht diese Überlappung in Bezug auf die neurovaskuläre Einheit erklärt. Strukturelle und funktionelle Veränderungen der NVE führen zu gestörter Homöostase des zerebralen Mikromilieus und zu neuronaler Dysfunktion, die der kognitiven Beeinträchtigung zugrunde liegt (Iadecola 2010). Die strukturellen vaskulären Veränderungen umfassen die Lipohyalinose und die Ablagerung von β -Amyloid in der Gefäßwand der Arteriolen. Die funktionellen Veränderungen beinhalten hauptsächlich die Beeinträchtigung der Autoregulation der Hirndurchblutung und die Dysfunktion der Blut-Hirn-Schranke (BHS) (Iadecola 2010). Die pathologische Verbindung führt zu vaskulärer Dysfunktion, die durch oxidativen Stress und inflammatorische Mechanismen entsteht. Hereditäre monogenetische Erkrankungen wie CADASIL, familiäre CAA sowie Glut-1-, Dutch- und AAP-Mutation bieten viele Hinweise für eine feste Verbindung zwischen vaskulärer und neuronaler Dysfunktion (Zlokovic 2011). Es gibt auch die Spekulation, dass bei der AD die frühesten Läsionen in den kleinen Blutgefäßen lokalisiert sind (Marchesi 2011). Mit Berücksichtigung der oben erwähnten Informationen hätte eine strikte Klassifizierung der Patienten nach ICD-, DSM-, NINDS-AIREN10- und ADDTC-Kriterien weder wissenschaftlich noch pragmatisch gerechtfertigt werden können. Deshalb wurde für die Zwecke dieser Studie ein eher VCI- und SVE-orientiertes Design als geeigneter betrachtet.

Die zweimalige Dichotomisierung der SVE-Hauptgruppe anhand des MMST und der Ratio von $A\beta$ 1–42 und $A\beta$ 1–40 basierte auf folgender Überlegung: Obwohl der MMST nicht zur Früherkennung geeignet ist (Royall et al. 1998), bleibt er jedoch bis heute das am weitesten verbreitete, am leichtesten anwendbare und am besten standardisierte Instrument für die neuropsychologische Diagnose einer Demenz. Daher wurde in der vorliegenden Studie die Bezeichnung „ohne Demenz“ (SVE–D) für die Untergruppe der SVE-Patienten mit MMST-

Summenwerten über 25 und entsprechend „mit Demenz“ (SVE+D) für die anderen SVE-Patienten mit MMST-Summenwerten unter 25 als gewählt. Studien belegen, dass das Verhältnis aus A β 1-42 und A β 1-40 die Differenzierung zwischen Demenzen des Alzheimer-Typs von anderen Demenztypen verbessert (Spies et al. 2010). Ein Wert über 1 spricht eher für eine Beteiligung der vaskulären und ein Wert unter 1 eher für eine Alzheimer'sche Pathologie zum Zeitpunkt der Probengewinnung.

5.2. Analyse der Demenzmarker im Liquor und der klinischen Marker

5.2.1. Regulation der neurodegenerativen Demenzmarker in der SVE-Gruppe

Beim Vergleich der Werte der Liquordemenzmarker zwischen den Hauptgruppen wurde gezeigt, dass die SVE-Gruppe signifikant erniedrigte Werte von Gesamt-Tau und P-Tau und signifikant höhere Werte von A β 1-40 und A β 1-42 im Vergleich zu der AD-Gruppe aufwies (Abb. 4.1). Auf diese Weise konnten auch laborchemisch unsere SVE- von den AD-Patienten abgegrenzt werden. Das gefundene Abweichungsmuster dieser Biomarker steht im Einklang mit dem Stand der Literatur (Bjerke et al. 2011; Wallin et al. 2012).

5.2.2. Subklassifikation der SVE-Gruppen anhand von A β -R

Beim Vergleich der Liquordemenzmarker in den SVE-Untergruppen ergaben sich signifikante Unterschiede nur zwischen der SVE-A β -R>1- und der A β -R<1-Untergruppe, nicht jedoch bei der MMST-basierten Verteilung (SVE+D/SVE-D). Dabei waren die Werte von Gesamt-Tau, P-Tau und A β 1-40 signifikant erhöht, während A β 1-42 signifikant erniedrigte Werte in der SVE-A β -R<1-Untergruppe aufwies (Abb. 4.1).

Der Befund, dass die SVE-A β -R<1-Untergruppe ähnliche Abweichungen der Demenzmarker wie die AD-Gruppe außer den Werten von A β 1-40 aufwies, impliziert eine bedeutende Rolle von A β 1-40 bei der vaskulären Komponente der kognitiv beeinträchtigten Patienten. Dies wird auch von neuen Publikationen unterstützt. Eine Studie von Park et al. liefert Hinweise, dass A β 1-40 durch eine ausgeprägte schädliche Wirkung sowohl an der luminalen als auch an der abluminalen Seite der Gefäße zerebrovaskuläre Veränderungen (v. a. Dysregulation des CBF) verursacht (Park et al. 2007). Eine andere Studie stellt eine mögliche Rolle von A β 1-40 in Bezug auf seine Interaktion mit Kupfer in der Entstehung von vaskulärem oxidativen Stress dar (Lucas und Rifkind 2013). Darüber hinaus konnten Blaise et al. zeigen, dass A β 1-40 die Apoptose von *vascular smooth muscle cells* sogar unabhängig von Metalloproteasen veranlasst (Blaise et al. 2012). Die wichtige Rolle der BHS für die Homöostase, besonders zur Ausscheidung von A β , wurde auch detailliert beschrieben (Zlokovic 2011).

5.2.3. Negative signifikante Korrelation der ARWMC-Skala mit dem MMST in den SVE-Patienten

Bei 83 Patienten wurde gezeigt, dass eine signifikante Korrelation zwischen den Gesamtpunkten in der ARWMC-Skala und dem MMST besteht (Abb. 4.2; B), was auch in dem signifikanten Unterschied zwischen den Untergruppen reflektiert wird (Abb. 4.2; A). Eine große Anzahl von Studien belegt, dass WMLs stark mit kognitiven Einschränkungen, Demenz und Progression von leichter kognitiver Beeinträchtigung (MCI) bis AD assoziiert sind (Seiler et al. 2012). Hinsichtlich des MMST wurde in der longitudinalen *Cardiovascular Health Study* ein Zusammenhang zwischen erhöhter WML-Ausprägung und einer MMST-Abnahme gefunden (Longstreth et al. 2005). In der *Rotterdam Scan Study* wurden nur die periventrikulären WMLs einem Rückgang der MMST-Punktzahl zugeordnet (van Dijk et al. 2008). In einem systematischen Review wurde die Bedeutung der Lokalisation der WML für die Verschlechterung der kognitiven Funktionen betont (Bolanzadeh et al. 2012). Eine Analyse anhand der Lokalisation wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Hentschel et al. fanden zwar keinen signifikanten Unterschied zwischen dem globalen Score der WMLs und dem MMST bei 27 Patienten mit VaD, aber bei gesunden Patienten (Hentschel et al. 2003). Die Anzahl der untersuchten Patienten, die Rekrutierung auch von Patienten ohne Demenz und Unterschiede anhand der angewendeten neuroradiologischen Skalen erschweren den Vergleich der Ergebnisse unserer Studie mit anderen.

5.3. Regulation der pro-inflammatorischen Zytokine und Chemokine im Liquor

Die Mehrheit der publizierten Studien bezieht sich auf die alte Patientenklassifizierung (als vaskuläre Demenz oder Demenz vom Alzheimer-Typ) und nicht auf VCI. Obwohl die Zytokine als Blutbiomarker (Serum, Plasma) mehr Aufmerksamkeit als Liquorbiomarker erhalten haben (Fagan und Perrin 2012), wurden bei vielen hauptsächlich AD-bezogenen Studien und entsprechenden Metaanalysen Messungen von Zytokinen im Liquor berichtet (Swardfager et al. 2010; Olson und Humpel 2010). Ihre Ergebnisse sind teilweise inkonsistent (Galasko und Montine 2010). Es gibt Studien, die Liquormarker inklusive Zytokinen z. B. IL-13 und IL-1 α zur Differenzierung zwischen AD und Nicht-AD sowie anderen neurodegenerativen Demenzen untersuchten (Hu et al. 2010b). Darüber hinaus wurden IL-1 α , IL-7, IL-17 sowie der TNF-Rezeptor als Marker für die Prognose von AD und MCI berichtet (Hu et al. 2010a; Craig-Schapiro et al. 2011).

5.3.1. Erniedrigte Werte von IL-2 und IL-17 in den SVE-Liquorproben

Beim Vergleich der gemessenen Werte dieser Zytokine zwischen den Gruppen ergaben sich in den untersuchten SVE-Liquorproben signifikant erniedrigte Konzentrationswerte von IL-2 im Vergleich zu den K-Proben und den AD-Proben sowie von IL-17 verglichen mit den AD-Proben (Abb. 4.5).

IL-2 spielt eine zentrale Rolle bei der Regulierung des adaptiven Immunsystems durch Steuern des Überlebens und der Proliferation von regulatorischen T-Zellen (Treg-Zellen), die für die Aufrechterhaltung der Immuntoleranz erforderlich sind (Létourneau et al. 2009). Die erniedrigten Werte im Liquor in der SVE-Gruppe könnten als ein Zeichen der geschädigten Immunregulation bei den Patienten mit SVE durch die geschädigte Kontrolle der Treg-Zellen interpretiert werden. Sowohl experimentelle Arbeiten *in vitro*, *in situ* und *in vivo* als auch klinische Beobachtungen zeigten vermehrte Hinweise für die funktionelle Expression von IL-2-Rezeptoren (IL-2R) auf glialen und neuronalen Zellen, was eine immunregulatorische Wirkung auf ZNS bedeutet (Hanisch et al. 1995). IL-2-Knock-out-Mäuse zeigen eine schwere Autoimmunität und ein Wachstum des lymphatischen Gewebes (Boyman et al. 2006). Zunehmende Hinweise betonen also eine wichtige Rolle von IL-2 in der Aufrechterhaltung des Gleichgewichts zwischen dem Schutz vor Krankheitserregern und der Unterdrückung von selbstreaktiven T-Zellen mittels Expression von CD25 (Létourneau et al. 2009).

IL-17 wird von einer T_H -Subpopulation namens T_H17 produziert, welche ebenso eine wichtige Rolle in der Regulierung der Autoimmunität spielt (Létourneau et al. 2009). Studien belegen, dass eine erhöhte Aktivität der T_H17 -Lymphozyten in der AD beobachtet wurde (Saresella et al. 2011). Eine weitere Studie zeigte, dass Treg-Zellen in der Lage sind, IL-17 zu sezernieren. In diesem Sinne scheint IL-2 jedoch vorteilhaft für den Ausbau der T_H17 -Zellen zu sein (Beriou et al. 2009). In den SVE-Proben wurde wahrscheinlich dafür eine gemeinsame Unterregulation von IL-17 und von IL-2 beobachtet.

Die niedrigen Liquorwerte der SVE-Patienten in unserer Studie spiegeln die niedrige Konzentration im ZNS wider. Ob die vaskulär bedingte demenzielle Entwicklung bei den SVE-Patienten eine Manifestation der beginnenden Autoimmunität ist, wird sich in zukünftigen Studien zeigen. Hinweise auf das Vorhandensein eines immunologischen Mechanismus in der Pathogenese der vaskulären Demenz ergaben sich auch durch den Nachweis von Antikörpern gegen die vaskulären Endothelzellen (Tekin et al. 1996).

5.3.2. Erniedrigte Werte von G-CSF und erhöhte von GM-CSF in den AD-Liquorproben

Darüber hinaus wurden signifikante Unterschiede bei den Kolonie-stimulierenden Faktoren gefunden. Die G-CSF-Konzentrationswerte in der AD- im Vergleich zu der K- und der SVE-Gruppe waren signifikant erniedrigt, wobei die GM-CSF-Werte allerdings bei der AD-Gruppe signifikant erhöht im Vergleich zu der SVE-Gruppe waren (Abb. 4.7).

In einer Studie von Tarkowski et al. wurde die Konzentration von GM-CSF im Liquor von 20 Patienten mit AD, von 26 mit VaD und von 15 Kontrollen gemessen. Es wurde gezeigt, dass die Liquorwerte von GM-CSF bei AD im Vergleich zu den Kontrollen und zu VaD signifikant erhöht waren (Tarkowski et al. 2001). Auch in neuen Studien wurde gefunden, dass die Menge von GM-CSF in den AD-Patienten höher als in den VaD- und SVE-Patienten war (Marques et al. 2013). Diese Ergebnisse stimmen mit unseren Ergebnissen hinsichtlich des Unterschiedes zwischen der SVD- und AD-Gruppe überein. Der gefundene Unterschied zwischen G-CSF und GM-CSF könnte auf die Rolle der Monozyten in der differenzierten Neuroimmunantwort zwischen der SVE und der AD hinweisen. Interessanterweise wurde diesbezüglich gezeigt, dass der *Macrophage Migration Inhibitory Factor* (MIF) bei Patienten mit MCI und AD im Vergleich zu Kontrollen erhöht im Liquor vorliegt, was auf die Bedeutung der Makrophagen und Monozyten in der Pathogenese Alzheimer (neurodegenerativ) bedingter demenzieller Entwicklungen hindeutet (Popp et al. 2009). Die erhöhten Werte von GM-CSF konnten auch als Zeichen der Gliose, welche in den Gehirnen von AD-Patienten gefunden werden kann, interpretiert werden (Marques et al. 2013).

G-CSF ist ein Glykoprotein, welches in der Peripherie die Differenzierung der granulozytischen Linien fördert. Im ZNS werden G-CSF und sein Rezeptor von Neuronen in vielen Hirnregionen exprimiert und bei Schlaganfall hochreguliert. In Neuronen wirkt G-CSF anti-apoptotisch durch Aktivierung mehrerer protektiver molekularer Mechanismen (Schneider et al. 2005b). Das G-CSF wird auch wegen seiner anti-inflammatorischen Eigenschaften als neuroprotektiver Faktor betrachtet (Guillemin und Brew 2004). Die signifikant erniedrigten Werte von G-CSF bei AD könnten auf die fehlende neuroprotektive Funktion hindeuten. Daten sowohl aus Zellkulturen als auch in Tiermodellen ischämischer vaskulärer Schädigungen zeigten, dass G-CSF intakt die BHS übertritt und eine anti-apoptotische, neuroprotektive und neuroplastizität-fördernde Wirkung hat (Schneider et al. 2005a; Minnerup et al. 2009). Es wurde sogar ein therapeutischer Versuch mittels subkutaner G-CSF-Applikation bei Patienten nach ischämischem Schlaganfall und anderen vaskulären Erkrankungen mit positiven Ergebnissen durchgeführt. Dies deutet darauf hin, dass G-CSF

eine wichtige Rolle in der funktionellen Verbesserung nach ischämischer Schädigung spielt (Floel et al. 2011). Unsere SVE-Patienten zeigten keinen Unterschied der G-CSF-Werte im Vergleich zu den Kontrollen, vermutlich aufgrund unserer Ausschlusskriterien (z.B. Territorialinfarkte).

5.3.3. Erhöhte Werte von IL-6 bei dementen Patienten in den SVE-Liquorproben

Unsere Messungen erbrachten signifikant erhöhte Werte von IL-6 im Liquor der SVE-Patienten mit Demenz im Vergleich zu den Patienten ohne Demenz (Abb. 4.9). In der Studie von Wada-Isoe et al. wurde mittels ELISA die Konzentration von IL-6 im Liquor von Patienten mit AD (N = 26), mit ischämischer zerebrovaskulärer Erkrankung ohne Demenz und mit vaskulärer Demenz (N = 19) gemessen. Es wurde gezeigt, dass die IL-6-Werte im Liquor der VaD-Patienten im Vergleich mit den anderen Gruppen inklusive Kontrollen mit anderen neurologischen Erkrankungen erhöht sind (Wada-Isoe et al. 2004). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit unseren Ergebnissen, die ebenfalls erhöhte Werte von IL-6 bei Patienten mit Demenz ergaben.

Unsere Daten deuten auf eine wichtige Rolle von IL-6 in der Manifestation einer Demenz hin. Dies könnte bedeuten, dass IL-6 eine essenzielle Rolle für die Differenzialdiagnose der SVE spielen kann (Wada-Isoe et al. 2004). IL-6 wurde auch negativ mit vielen neurokognitiven Testungen, die Gedächtnis und exekutive Funktionen prüfen, korreliert (Rafnsson et al. 2007). In der gleichen Studie konnte IL-6 als prognostischer Faktor für den Rückgang der kognitiven Beeinträchtigung von Kohorten mit erhöhtem vaskulären Risikoprofil, wie den Patienten unserer Studie, angewendet werden (Rafnsson et al. 2007). Eine wichtige Rolle von IL-6 in der Entwicklung kognitiver Beeinträchtigung wurde auch von anderen Studien vorgeschlagen (Stoeck et al. 2014).

Es findet eine IL-6-Überexpression im ZNS statt, wenn eine Neuroinflammation zu erwarten ist, wie bei ZNS-Infektion oder -Schädigung (Erta et al. 2012). Viele Studien mit Tiermodellen nach Hirnverletzung zeigten, dass IL-6 hochreguliert ist und eine Vielzahl von Wirkungen wie kompromittierte Entzündungsreaktion, erhöhten oxidativen Stress, verringerte Lymphozyten-Rekrutierung und eine langsamere Heilung aufweist (Penkowa et al. 1999). Die ischämischen zerebralen Schädigungen in den SVE-Patienten beinhalten Entzündung, oxidativen Stress, Exzitotoxizität und Apoptose, sodass eine Beteiligung von IL-6 in den pathophysiologischen Mechanismen zu erwarten ist (Erta et al. 2012). Studien mit Patienten nach ischämischem Schlaganfall zeigten signifikant erhöhte IL-6-Werte im Liquor, welche in Korrelation mit dem Volumen des Infarktes waren (Tarkowski et al. 1999; Acalovschi et al. 2003). Erhöhte IL-6-Werte sind auch assoziiert mit dem Vorhandensein klinisch nicht

manifestierter Hirninfarkte sowie mit schlechterer Prognose nach Schlaganfall (Rothenburg et al. 2010). Unsere Daten zeigten jedoch keine signifikante Korrelation der IL-6-Liquorwerte mit der WML-Skala. Jedoch bestand ein Zusammenhang zwischen der ARWMC-Skala und dem MMST innerhalb der Gruppe der SVE-Patienten, welcher die Korrelation zwischen IL-6 und dem kognitiven Status der SVE-Patienten erklären könnte.

Es wurde auch eine Assoziation zwischen dem IL-6-Gen-Polymorphismus und der Multiinfarktdemenz gezeigt (Pola et al. 2002; Tso et al. 2007), was unsere Hypothese unterstützt, dass IL-6-bedingte inflammatorische Mechanismen durch vaskuläre Veränderung ein wichtiger Faktor für demenzielle Entwicklungen sein können.

Darüber hinaus ergab unsere Analyse, dass eine positive Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von IL-6 im Liquor und Q-Alb bei Patienten mit SVE besteht (Abb. 4.15; D). Q-Alb ist ein idealer Marker, um die Einflüsse und Einschränkungen für die Passage eines Proteins vom Blut in den lumbalen Liquor zu charakterisieren und gilt als ein Zeichen der Integrität der BHS (Steinberg et al. 2008). Die Rolle der BHS bei der Funktion der Zytokine ist wichtig und wird auch in den folgenden Abschnitten diskutiert (Lee et al. 2009). Unsere Daten könnten darauf hindeuten, dass der Beitrag von IL-6 zur demenziellen Entwicklung bei SVE-Patienten durch Schaden des BHS vermittelt werden kann.

5.3.4. Erhöhte Werte von IL-8 bei dementen Patienten in den SVE-Liquorproben

Unsere Untersuchungen ergaben ebenso signifikant erhöhte Werte von IL-8 im Liquor der SVE-Patienten mit Demenz im Vergleich zu den Patienten ohne Demenz anhand des MMST (Abb. 4.10).

Unseres Wissens wurde bis jetzt die Konzentration von IL-8 im Liquor von Patienten mit SVE noch nicht gemessen. Eine Studie untersuchte die intrathekale Produktion von IL-8, MCP-1 und anderen Chemokinen in Patienten mit MCI und AD und zeigte, dass IL-8 mit dem Alter korrelierte und dass die IL-8-Werte in Patienten mit niedrigem MMST herabgesetzt waren (Galimberti et al. 2006). Unsere Daten zeigten auch eine positive Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von IL-8 im Liquor und dem Alter in Jahren bei Patienten mit SVE (Abb. 4.14).

Genauso wie bei IL-6 weisen unsere Daten darauf hin, dass IL-8 eine Rolle in der demenziellen Entwicklung bei SVE-Patienten spielt. IL-8 ist ein Chemokin, das in Mikroglia als Antwort auf pro-inflammatorische Signale, wie amyloide Plaques und oxidativen Stress, für die Rekrutierung von aktivierten Mikrogliazellen in Bereichen des Gehirns durch Alzheimer'sche oder ischämische Pathologie wichtig sein könnte. Obwohl IL-8 selbst nicht im AD-Gehirn nachgewiesen wurde, ist eine Immunreaktivität gegen den IL-8-Rezeptor B,

auch bekannt als CXCR2, an dystrophischen Neuriten lokalisiert, was darauf hindeutet, dass IL-8 Interaktionen zwischen Glia und Neuronen vermittelt und damit zu neuronalen Schäden beitragen kann (Lee et al. 2009). Darüber hinaus zeigt IL-8 eine pro-atherogenetische Wirkung, indem es die Formierung von vaskulären Schädigungen durch die Beschleunigung der Leukozytenextravasation. Außerdem kann IL-8 zur Instabilität von Plaque durch die Aktivierung von TIMP-1 beitragen (Autieri 2012). Diese Zunahme von IL-8 bei SVE-Patienten mit Demenz könnte zusätzlich im Rahmen von kompensatorischen und reparierenden Mechanismen durch ihre potenzielle neuroprotektive Wirkung auftreten (Galimberti et al. 2006).

5.3.5. MIP-1 β erhöht bei Patienten ohne Demenz und mit A β -R>1 in den SVE-Liquorproben

Unseres Wissens wurde bis jetzt die Konzentration von MIP-1 β im Liquor von Patienten mit SVE auch noch nicht gemessen. Im Gegensatz zu IL-8 ist MIP-1 β signifikant erhöht in der SVE-D- und SVE-A β -R>1-Untergruppe im Vergleich zu den entsprechenden Untergruppen (Abb. 4.10).

Interessanterweise ergab unsere Analyse auch, dass MIP-1 β negativ mit dem kognitiven Status der SVE-Patienten, gemessen mit dem MMST, zusammenhängt (Abb. 4.16; C). Dies bedeutet, dass die Patienten mit SVE zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion umso besser kognitiv waren, je höher die Konzentration der MIP-1 β im Liquor war. Aus diesem Grund gehen wir davon aus, dass MIP-1 β im Kontrast zu den anderen Chemokinen eine eher anti-demenzielle und neuroprotektive Wirkung ausübt. Weitere über die Korrelation von MIP-1 β mit dem kognitiven Status und der A β -Pathologie bei Patienten mit SVE wird im Abschnitt 5.5 berichtet.

Das Chemokin MIP-1 β ist bedeutend für die Chemotaxis von T-Zellen in inflammatorischen Geweben sowie für die Migration von Monozyten, dendritischen Zellen und NK-Zellen, aber nicht für Neutrophile und Basophile (Maurer und von Stebut 2004). Im Gegensatz zu IL-8, welches hauptsächlich die Chemotaxis von Neutrophilen, Basophilen und T-Zell-Untergruppen induziert, lockt MIP-1 β zusätzlich Monozyten/Makrophagen und unreife dendritische Zellen an. Das könnte eine Erklärung für den diametralen Unterschied zwischen den Korrelationen mit dem MMST sein; so könnte die niedrige Konzentration von MIP1 β bei den dementen Patienten mit SVE auf eine fehlende monozytische Aggregation hindeuten.

In der Studie von Mulugeta et al. wurde die Konzentration der Zytokine und Chemokine vom Marklager des frontalen Hirngewebes von Patienten mit VaD und gemischten Formen von VaD und AD sowie Kontrollen gemessen. Es ergaben sich keine signifikanten

Unterschiede für IL-1 α , TNF- α , MIP-1 β und GM-CSF. Im Gegensatz dazu zeigten die MCP-1-Konzentrationen der grauen Substanz niedrige Werte, sowohl bei der VaD als auch bei den gemischten Formen (Mulugeta et al. 2008). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit unseren Daten, die keine Zunahme, sondern eine Abnahme des MIP-1 β bei SVE-Patienten mit Demenz zeigen.

5.4. Regulation der pro- und anti-inflammatorischen Zytokine und Chemokine im Serum

Um eine eventuell vorliegende systemische entzündliche Reaktion, welche die Werte der gemessenen Zytokine und Chemokine hätte beeinflussen können, auszuschließen, wurde das Akute-Phase-Protein CRP bestimmt. Die Messung der Konzentrationswerte von CRP im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppe erbrachte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (Abb. 4.18). Die meisten Werte liegen im normalen Bereich. Dieses Ergebnis unterstützt unsere Hypothese, dass die detektierbaren peripheren immunologischen Abweichungen, gemessen mittels der Zytokine und Chemokine, auf die vorliegende zerebrale Erkrankung zurückzuführen sind.

Die Mehrheit der Studien über Zytokine und Chemokine fokussiert sich auf die AD und es gibt nur wenige Studien, die bei Patienten mit SVE- und VaD Zytokine und Chemokine in der Peripherie gemessen haben. Die Ergebnisse von früheren Studien, die systemische inflammatorische Marker in AD-Patienten gemessen haben, sind unklar. Einige berichten über erhöhte und andere über normale Plasmaspiegel pro-inflammatorischer Zytokine (IL-1 β , TNF- α , IL-6) (Zuliani et al. 2007). Unsere Daten zeigen, dass die Konzentrationen der nachgewiesenen pro- und anti-inflammatorischen Zytokine sowie der Chemokine in den Serumproben sich zwischen der K-, AD- und SVE-Gruppe unterscheiden.

5.4.1. Erhöhte Werte der pro-inflammatorischen Zytokine IL-1 β , TNF- α und IFN- γ im Serum in der SVE-Gruppe verglichen mit der K- und AD-Gruppe

Unsere Analyse erbrachte signifikant erhöhte IL-1 β - und TNF- α Werte in der SVE-Gruppe im Vergleich zur K- und AD-Gruppe sowie ein hochsignifikantes Ansteigen der IFN- γ -Werte in den SVE- gegenüber den K- und AD-Serumproben (Abb. 4.11; A, D, C). Diese Ergebnisse werden durch die folgenden Studien unterstützt:

Die Studie von Zuliani et al. untersuchte die Werte der pro-inflammatorischen Zytokine IL-1 β , TNF- α sowie IL-6 in Plasmaproben von Patienten mit AD und VaD verglichen mit Patienten ohne Demenz und Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen. Die Studie zeigte, dass erhöhte Werte von IL-1 β und TNF- α mit der Möglichkeit an VaD oder AD zu leiden

zusammenhängen. Darüber hinaus fanden sich signifikant erhöhte TNF- α -Werte in der VaD-Patientengruppe verglichen mit der AD-Gruppe. Die Werte von IL-6 im Serum zeigten keine Unterschiede zwischen den Gruppen (Zuliani et al. 2007). Eine andere Studie von Paganelli et al. bestimmte die pro-inflammatorischen Zytokine im Serum von Patienten mit VaD sowie mit schwerer und leichter AD. Die Ergebnisse zeigten, dass TNF- α - sowie TNF- α /IL-1 β -Ratio-Werte signifikant erniedrigt bei Patienten mit leichter AD im Vergleich zu der VaD und der schweren AD waren. Als Schlussfolgerung berichtet diese Studie, dass pro-inflammatorische Zytokine wie TNF- α und IL-1 β erhöht in Patienten mit Demenz mit vaskulären Läsionen nachgewiesen mittels CT und MRT sind und dass die TNF- α /IL-1 β -Ratio hilfreich für die Diskriminierung zwischen degenerativen und vaskulären Erkrankungen ist (Paganelli et al. 2002). In der Studie von De Luigi et al. wurden sowohl die Konzentrationen von TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 im Blut von Patienten mit AD und mit MID als auch ihre Freigabe von Blutzellen stimuliert mit Lipopolysaccharid bestimmt (De Luigi et al. 2001). Es wurde festgestellt, dass die periphere Produktion von TNF- α in allen dementen Patienten im Vergleich zu den Kontrollen reduziert war. Bei MID-Patienten waren aber die verschiedenen Zytokine (zirkulierende TNF- α , stimuliert TNF- α , stimuliert IL-10) hoch- oder herunterreguliert, was auf eine breite pro- und anti-inflammatorische Beteiligung bei MID hindeutet (De Luigi et al. 2001). Diese Schlussfolgerungen sind mit unseren Daten bei SVE-Patienten übereinstimmend (siehe auch unten Abschnitt 5.4.2 und 5.4.3).

Im Gegensatz dazu berichtet eine andere Studie über erhöhte Werte von pro-inflammatorischen Zytokinen im Serum von AD-Patienten, insbesondere in Zusammenhang mit arterieller Hypertonie (van Exel et al. 2009). Uslu et al. untersuchten unter anderem die Werte von IL-6 und TNF- α im Serum und konnten zeigen, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen AD-Patienten, VaD-Patienten und der Kontrolle bestanden (Uslu et al. 2012). IL-1 β , TNF- α , IL-6 und IL-10 wurden auch im Serum von Patienten mit AD- und VaD sowie bei Kontrollpatienten gemessen. Es wurde gezeigt, dass IL-1 β und IL-6 bei dementen Patienten erhöht waren, jedoch konnte kein Unterschied zwischen AD und VaD-Patienten festgestellt werden (Angelopoulos et al. 2008). Offensichtliche methodische Unterschiede zwischen den Studien, einschließlich Blutentnahme-Protokollen oder Unterschieden in den verwendeten Techniken, um Zytokine zu messen (d.h. Immunoassays oder Biotests), haben sicherlich zur großen Variabilität der Daten beigetragen. AD kann nicht als ein einziger, einheitlicher klinischer Zustand angesehen werden, sondern vielmehr als ein komplexes Syndrom und es kann postuliert werden, dass das Vorhandensein verschiedener Krankheitsgruppen eine spezifische Beteiligung des Immunsystems impliziert. Die

Verwendung unterschiedlicher Kriterien, um AD-Subpopulationen zu identifizieren, d.h. des Erkrankungsalters oder des Schweregrades der Demenz, führt zu noch weniger Vergleichbarkeit zwischen den Studien (De Luigi et al. 2001).

Die gesteigerte Expression von IL-1 β und TNF- α in der Peripherie weist auf deren Beteiligung in der vaskulär bedingten Hirnschädigung bei SVE-Patienten hin. Pro-inflammatorische Zytokine wie TNF- α und IL-1 β im Serum sind in älteren Patienten mit vaskulären Läsionen in der zerebralen Bildgebung im Vergleich zu milder oder schwerer AD erhöht (Lee et al. 2009). Die Beteiligung von IL-1 bei der Vermittlung von Hirnschädigungen und neurologischen Auffälligkeiten nach zerebraler Ischämie wurde durch Studien unterstützt, die zeigen, dass Mäuse mit einem Mangel an IL-1 α /IL-1 β oder IL-1R1 weniger wichtige Infarkte, reduzierte Hirnödeme, verminderte vaskuläre Expression von Adhäsionsmolekülen, niedrigere Zahlen von Gehirn-Makrophagen, erhöhtes neuronales Überleben und Bewahren der neurologischen Funktion aufwiesen (Konsman et al. 2007). TNF- α wird von aktivierten Mikrogliazellen vor allem als Reaktion auf A β 1–40/A β 1–42 und oxidativen Stress exprimiert und induziert neuronalen Tod sowie motorische und kognitive Defizite in den ersten Tagen nach zerebraler Ischämie (Lee et al. 2009). Zu späteren Zeitpunkten scheint TNF- α die Infarktgröße mittels seiner Wirkung auf den p55-Rezeptor zu reduzieren (Konsman et al. 2007). Neben den hauptsächlich untersuchten Zytokinen IL-1 β und TNF- α konnten wir durch unsere Untersuchungen außerdem zeigen, dass auch andere pro-inflammatorische Zytokine bei der SVE angestiegen waren, im Einzelnen IFN- γ , IL-12, IL-7 und G-CSF (Abb. 4.11). Dies weist auf eine zusätzliche erhöhte Immunantwort hin. Über die Wirkung dieser oben erwähnten pro-inflammatorischen Zytokine in der Pathophysiologie der SVE berichteten Chaitanya et al., dass TNF- α , IL-1 β oder IFN- γ unter pathologischen Umständen die BHS-bildenden Zellen indirekt über die Aktivierung von Astrozyten mit Reorganisation von Verbindungen, Matrix, fokale Adhäsion oder Freigabe von Barriere-modulierenden Faktoren (z.B. Antioxidantien, MMPs) dysregulieren (Chaitanya et al. 2011). Unsere Daten liefern also Hinweise darauf, dass die erhöhten pro-inflammatorischen Zytokine im Serum von SVE-Patienten die gestörte zerebrovaskuläre Struktur und Funktion widerspiegeln.

5.4.2. Erhöhte Werte der anti-inflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-5 bei den SVE-Serumproben

Darüber hinaus zeigen unsere Daten, dass die Konzentrationswerte der nachgewiesenen B-Zell-aktivierenden T_H2-Zytokine in Serumproben sich zwischen der K-, AD- und SVE-Gruppe unterscheiden (Abb. 4.13). Unsere Messungen ergaben signifikant erhöhte IL-4-

Werte in der SVE-Gruppe im Vergleich zur K- und AD-Gruppe sowie ein signifikantes Ansteigen der IL-5-Konzentration in den SVE-Serumproben gegenüber den K- und AD-Serumproben. Der Anstieg der T_H2-Zytokine deutet auf eine allgemeine und unspezifische immunologische Aktivierung in der SVE-Patientengruppe hin. Die Erhöhung von IL-4 und IL-5, die zu den entzündungshemmenden Interleukinen gehören, könnte eine Art kompensatorischer Mechanismus sein. Beide Zytokine könnten demnach zu einer Reduktion der Entzündungsreaktion führen und somit protektiv wirken. Im Fall von IL-4 kann die Hochregulierung zur Entzündung durch die Antagonisierung der pro-inflammatorischen Aktivität von IL-1 β verknüpft werden (Lee et al. 2009).

5.4.3. Erhöhte Werte der Chemokine im Serum in der AD-Gruppe im Vergleich zur K- und SVE-Gruppe

Die Analyse der Konzentrationen der gemessenen Chemokine im Serum ergab signifikant erhöhte Werte von IL-8 in der AD-Gruppe im Vergleich zu den SVE- und K-Proben sowie signifikant erhöhte Werte von MIP-1 β in den AD- gegenüber den SVE-Serumproben und signifikant erniedrigte Werte von MCP-1 im Serum in der SVE- verglichen mit der K- und AD-Gruppe (Abb. 4.12).

In der Studie von Kim et al. wurden unter anderem die Konzentrationen von IL-8 und MCP-1 im Blut von Patienten mit AD und MCI sowie von Kontrollen gemessen und mit dem MMST der Patienten korreliert. Es konnte festgestellt werden, dass IL-8-Werte in der AD- und MCI-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt waren. Bei MCP-1 ergab sich kein signifikanter Unterschied (Kim et al. 2011). Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu unseren Daten. Eine Differenzierung besteht darin, dass es sich bei der oben erwähnten Studie um Plasmaproben und nicht um Serum, wie in unserer Studie, handelt sowie dass die Messungen mit anderen Methoden durchgeführt wurden. In Bezug auf IL-8 fand sich in einer anderen Studie kein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollen und Patienten mit AD oder zwischen Patienten mit AD mit leichten bis mittelschweren und schwereren Erkrankungsgraden (Bonotis et al. 2008).

MCP-1-Hochregulierung wurde bei neurodegenerativen Erkrankungen wie AD bereits bewiesen (Ray et al. 2007). Es gibt Hinweise darauf, dass der Plasmaspiegel von MCP-1 als Biomarker zur Überwachung der Entzündungsprozesse der AD wirken kann (Galimberti et al. 2003). Unsere Daten zeigten erhöhte Werte von MCP-1 im Serum von AD- gegenüber den SVE-Patienten. Dies deutet auf eine wichtige Rolle von MCP-1 in peripheren Körperflüssigkeiten von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen wie AD hin.

Unsere Daten deuten zudem darauf hin, dass bei beiden Demenz-Formen eine inflammatorische Aktivierung vorliegt. Abhängig von dem initialen und überwiegend pathophysiologischen Mechanismus (vaskulär oder neurodegenerativ) kommt es zu einer Erhöhung der Chemokin-Werte bei der AD-Pathologie. Dagegen sind in SVE-Patienten vorwiegend die pro- und anti-inflammatorischen Zytokine reguliert.

5.5. Korrelationen der Zytokine und Chemokine mit dem kognitiven Status in der SVE-Gruppe

Unsere Daten zeigten, dass innerhalb der SVE-Gruppe die Zytokine IL-6, IL-8 und MIP-1 β im Liquor signifikant mit dem allgemeinen kognitiven Status (definiert über den MMST) zusammenhängen. Der MMST-Wert korreliert demnach negativ mit dem IL-6- und IL-8-Level sowie positiv mit der MIP-1 β -Konzentration (Abb. 4.16). Wir interpretieren diese Befunde als mögliche Assoziation zwischen Neuroinflammation und kognitiver Beeinträchtigung bei den SVE-Patienten.

Frühere Studien lieferten bereits Hinweise auf eine Beteiligung der Neuroinflammation und kognitiven Beeinträchtigung in Demenzpatienten (Rubio-Perez und Morillas-Ruiz 2012). Es wurde gezeigt, dass die pathologischen Veränderungen in Binswanger-erkrankten Gehirnen regressive Veränderungen der Astroglia und eine Aktivierung der Mikroglia verursachen, die mit dem Abbau von sowohl Myelin als auch axonalen Komponenten zugeordnet werden können, was auf die Bedeutung der inflammatorischen bzw. immunologischen Mechanismen bei der SVE hinweisen (Akiguchi et al. 1999). Die Gedächtnis- und Lernleistungen sowie die Konzentrationsfähigkeiten können durch die Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen beeinflusst werden. Sowohl tier- als auch humanexperimentelle Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen Beeinträchtigung von kognitiven Fähigkeiten und Ausmaß der Zytokin-Antwort hin (Pollmächer et al. 2002). Durch die Beeinflussung der zellulären Antwort unter ischämischen Zuständen können Zytokine den kritischen Punkt bestimmen, bei dem die Last der ischämischen Insulte die Schwelle der kognitiven Reserve eines Individuums überwältigt. Darüber hinaus können die atherogenetischen und prothrombotischen Effekte von Zytokinen direkt Einfluss auf pathogene Ereignisse nehmen (Wilson et al. 2002). Des Weiteren wurde mittels MRT-Studie erniedrigtes hippocampales Volumen nicht nur in den AD- sondern auch in SVE-Patienten festgestellt (Sachdev et al. 2007), was einen Schlüsselfaktor für die kognitive Beeinträchtigung darstellen. Es wurde gezeigt, dass das hippocampale Volumen signifikant negativ mit den Werten von IL-6 in der Peripherie zusammenhängt (Marsland et al. 2008).

Die Korrelations-Analyse der gemessenen Zytokine im Liquor von SVE-Patienten mit den neurodegenerativen Demenzmarkern mittels Rangkorrelationen nach Spearman ergab eine negative Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von G-CSF und A β 1–42 (Abb. 4.15; B). Es wurde berichtet, dass von Mikrogliazellen, Astrozyten und Neuronen sezernierte Zytokine die Synthese bestimmter Akute-Phase-Proteine, einschließlich des Amyloid-Vorläuferproteins (A β PP) beeinflussen können (Blasko et al. 2000). Unsere Daten deuten darauf hin, dass G-CSF eine protektive Rolle bei der A β -Pathologie spielt, welche auf seine anti-inflammatorischen Eigenschaften zurückzuführen ist (Guillemin und Brew 2004), die wir oben erwähnt haben.

Die vorliegende Studie ergab zudem Korrelationen zwischen den Werten von IL-8 im Liquor mit den Liquordemenzmarkern für AD-Pathologie. Zum einen wurde eine signifikant positive Korrelation mit P-Tau und ein negativer A β (1–42/1–40)-Quotient festgestellt (Abb. 4.15; A, C). Diese Daten deuten auf eine unterstützende Wirkung von IL-8 in neurodegenerativer Richtung der zerebralen Pathologie hin. In der Tat scheint IL-8 in der AD-Pathogenese früh eine Rolle zu spielen (Galimberti et al. 2006). Die erhöhte Konzentration von IL-8 im Serum der AD-Patienten unterstützt zusätzlich diese Spekulation (Abb. 4.12; A).

Im Serum konnte ebenso eine signifikant positive Korrelation zwischen den Konzentrationswerten von MIP-1 β und dem MMST bei Patienten mit SVE beobachtet werden (Abb. 4.17; B). Diese Daten weisen auch darauf hin, dass möglicherweise in peripheren Körperflüssigkeiten die initialen Mechanismen der demenziellen Entwicklung bei SVE zu einer Überregulierung von MIP-1 β führen. In einer Studie von Passos et al. wurden MIP-Knock-out-Mäuse verwendet, um die Rolle dieses Chemokins bei den A β -1–40-induzierten kognitiven und verhalten Alterationen zu untersuchen. Die Studie zeigte, dass A β 1–40 zu einer Erhöhung der MIP-mRNA nach Akkumulation von aktivierender Mikroglia im Hippocampus der Mäuse führte und dass die Knock-out-Mäuse eine beeinträchtigte Chemotaxis zeigten. Diese Ergebnisse weisen deutlich darauf hin, dass der MIP-Signalweg für die Akkumulation von aktivierten Gliazellen im Hippocampus und daher für die Entzündung und kognitive Beeinträchtigung, induziert von A β 1–40, eine kritische Rolle spielt (Passos et al. 2009). Die wichtige Rolle von A β 1–40 bei der vaskulär bedingten zerebralen Schädigung wurde durch neue Studien belegt, wie oben bereits erwähnt (Park et al. 2007; Blaise et al. 2012).

Allerdings sind die genaue Rolle und der molekulare Mechanismus, wie eine Neuroinflammation den kognitiven Status beeinflussen kann, noch ungeklärt. Die Aufklärung

der Rolle der Zytokine und Chemokine bei Demenzerkrankungen bedarf weiterer intensiver Untersuchungen.

5.6. Regulation des PrP^C in den SVE-Patienten

5.6.1. Erhöhter PrP^C-Level im Liquor von SVE-Patienten

Die Analyse der Konzentrationswerte von PrP^C ergab eine hochsignifikante Zunahme in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K-Gruppe (Abb. 4.19), was auf eine mögliche Rolle von PrP^C bei SVE hindeutet.

In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass die PrP^C-Konzentrationen bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen signifikant erniedrigt waren, während in der Gruppe nicht neurodegenerativer Erkrankungen keine signifikanten Unterschiede verglichen mit der Kontrollgruppe dargestellt werden konnten (Meyne et al. 2009). Die Ergebnisse unserer Studie zeigten ebenso keine Erhöhung bei der neurodegenerativen Erkrankung (AD) im Vergleich zu den Kontrollen.

Hinsichtlich der Pathologie der SVE führen die Lipohyalinose und die Verdickung der kleinen Gefäßwände im Rahmen der zerebralen Mikroangiopathie zu Minderdurchblutung von vielen subkortikalen Regionen. Die zerebrale Ischämie spielt daher eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der SVE. Es gibt einige tierexperimentelle Studien, die nachweisen konnten, dass PrP^C unter ischämischen Zuständen hochreguliert wird, was im Einklang mit unseren Ergebnissen ist (Hoshino et al. 2003; McLennan et al. 2004; Weise et al. 2004).

Außerdem ist PrP^C als Teil der adaptiven zellulären Antwort nach hypoxischer Hirnschädigung in der Regulierung des Ischämie-induzierten Zelltods beteiligt (Weise et al. 2006). Des Weiteren wurde in der Studie von McLennan et al. immunologisch eine Akkumulation von PrP^C in der Penumbra von adultem hypoxischem Gewebe sowie in neuronalen Zellkörpern von perinatalem hypoxischem Gewebe nachgewiesen. Dies könnte eine Folge des gestörten axonalen Proteintransports und der Proteinsynthesesteigerung nach der hypoxischen Hirnschädigung sein. Es konnte durch In-vitro-Studien aber festgestellt werden, dass sowohl die inflammatorische Zytokine als auch die Sauerstoffradikale, erhöhte PrP^C-Expression induzieren können (McLennan et al. 2004). Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der Korrelation der PrP^C-Werte im Liquor mit einigen Zytokinen und Chemokinen (IL-2, IL-8, MCP-1), was im folgenden Kapitel diskutiert wird.

In der Studie von Shyu et al. (2005) wurde auch gezeigt, dass PrP^C-immunreaktive Zellen in der Penumbra ischämischer Rattenhirne im Vergleich mit dem unbehandelten Gehirn deutlich

erhöht sind. Die gesteigerte PrP^C-Expression nach zerebraler Ischämie und Hypoxie übt eine neuroprotektive Wirkung aus (Shyu et al. 2005).

Neuronal exprimiertes PrP^C wird axonal transportiert und somit kann eine Beteiligung an der Reaktion der weißen Substanz bei hypoxischen Ereignissen bestehen. In den SVE-Patienten ist durch die ausgeprägte Marklagerveränderung eine erhöhte Konzentration von PrP^C im Liquor als Resultat auf die axonale Schädigung in der Stelle der WML zu erwarten. Es bleibt jedoch unklar, ob die erhöhte PrP^C-Konzentration im Liquor der SVE-Patienten die Folge einer durch oxidativen Stress induzierten Hochregulation der PrP^C ist. Eine andere Hypothese ist, dass eine erhöhte Aktivität von einem verlangsamten Abbau von PrP^C hervorgerufen wird. Darüber hinaus kann auch eine Blockierung des intrazellulären Transports von PrP^C an die Zelloberfläche für die erhöhte Konzentration verantwortlich sein.

Generell kann die nachgewiesene Konzentrationserhöhung von PrP^C im Liquor der SVE-Patienten auf eine wichtige Rolle von PrP^C in den Mechanismen der zerebralen Ischämie im Marklager hindeuten.

5.6.2. Assoziation des PrP^C-Levels mit der Zytokin- und Chemokin-Konzentration im Liquor von SVE-Patienten

Anschließend wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen den PrP^C-Werten und den gemessenen Konzentrationswerten der Zytokine und Chemokine im Liquor von SVE-Patienten besteht. Dabei handelte es sich bei den IL-2- und PrP^C-Werten im Liquor der SVE-Patienten um eine negative Korrelation. Bei IL-8 fand sich dagegen eine signifikant positive Korrelation in der SVE-Gruppe. Im Gegensatz dazu zeigte sich eine signifikant negative Korrelation zwischen den Werten von MCP-1 und PrP^C im Liquor der SVE-Patienten (Abb. 4.22). Dies weist darauf hin, dass PrP^C mit der Immunantwort in SVE-Patienten assoziiert ist. Die kausalen Mechanismen jedoch sind noch nicht hinreichend verstanden.

Frühere Studien unterstützen die These, dass PrP^C wichtige immunmodulatorische Funktionen (Isaacs et al. 2006; Linden et al. 2008), insbesondere in Bezug auf T-Zellen (T_H1-, T_H2- und T_H17-Zytokine), ausübt (Ingram et al. 2009). Darüber hinaus geht eine Depletion von PrP^C mit einer Aktivierung von T-Zellen und einer erhöhten T-Zell-Rezeptor-Signalgebung einher (Hu et al. 2010). Dies führt zu einer deutlichen Verschlechterung der klinischen Autoimmun-Enzephalopathien (EAE), während die Überexpression von PrP^C zu einer verminderten Autoimmunität bei Mäusen führt (Hu et al. 2010).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Werte von IL-2 und MCP-1 umso niedriger und die Werte von IL-8 umso höher sind, je höher die Konzentration von PrP^C im Liquor ist. Es gibt keine

andere Studie, die diese Parameter im Liquor von Patienten mit SVE gemessen und korreliert hat.

Die Hochexpression von PrP^C könnte also im Liquor der SVE-Patienten eine regulatorische Rolle in der Mikroglia spielen und somit die immunologische Antwort beeinflussen. Infolgedessen kommt es zu den signifikanten Korrelationen sowohl mit dem unterregulierten IL-2 als auch mit den Chemokinen IL-8 und MCP-1.

5.6.3. Regulation des PrP^C-Spiegels im Serum von SVE-Patienten

Um die Rolle von PrP^C bei SVE-Patienten besser zu verstehen, wurde die PrP^C-Konzentration in Serumproben von SVE-Patienten gemessen. Im Gegensatz zu den Liquorproben zeigt sich im Serum in der AD-Gruppe eine signifikante Erhöhung der PrP^C-Werte im Vergleich zu der K- und der SVE-Gruppe (Abb. 4.23).

Die Studie von Mitsios et al. ergab, dass Patienten in der akuten Phase eines ischämischen Schlaganfalls erhöhte Plasmaspiegel von zirkulierendem PrP^C im Vergleich zu gesunden Kontrollen aufweisen (Mitsios et al. 2007). In der Studie von Schmidt et al. wurde die PrP^C-Konzentration im Plasma von Patienten mit AD bestimmt. Hierbei wurde keine Korrelation zwischen den PrP^C-Werten und der AD-Progression festgestellt (Schmidt et al. 2014). Die SVE-Patienten unserer Studie hatten im Prinzip keinen territorialen Infarkt und waren nicht in der akuten Phase eines ischämischen Schlaganfalls. Im Gegensatz hierzu wiesen die AD-Patienten anscheinend eine Pathologie auf, welche mit der peripheren Zunahme von PrP^C einhergeht. Die potenzielle Rolle von PrP^C in der Pathogenese von AD wurde kürzlich zum Vorschein kommen. PrP^C-Polymorphismus, entweder Methionin (M) oder Valin (V) am Rest 129 (129M oder 129V), kann die Anzahl der A β -Ablagerungen während des Alters beeinflussen. Bemerkenswert ist, dass nur PrP^C-exprimierende Zellen gefunden wurden, welche die Bindung von löslichen A β -1–42-Oligomeren stark unterstützen (Zou et al. 2011). Eine klare Interpretation der festgestellten Erhöhung ist jedoch nicht möglich.

Eine Analyse der Serum-PrP^C-Werte von einer kleinen Anzahl SVE-Patienten ergab eine signifikante negative Korrelation mit IL-13 und mit MCP-1 (Abb 4.24). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass PrP^C auch in der Peripherie eine Rolle in der immunologischen Antwort der Patienten mit SVE spielt.

5.6.4. PrP^C im Liquor korreliert mit den Demenzmarkern in den SVE-Patienten

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen PrP^C und den neurodegenerativen Markern zu untersuchen, korrelierten wir die Konzentration von PrP^C mit der Konzentration von

neurodegenerativen Demenzmarkern. Dabei wiesen die PrP^C-Werte eine signifikante positive Korrelation mit den Werten von Gesamt-Tau und von P-Tau auf.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Konzentration von Gesamt-Tau und P-Tau bei den Patienten mit SVE umso höher ist, je höher die Konzentration von PrP^C im Liquor ist (Abb. 4.21; A, B). In der Studie von Hesse et al. wurde Gesamt-Tau im Liquor bei Patienten mit AD nach akutem ischämischen Schlaganfall gemessen. Es konnten eine erhöhte Konzentration sowie eine positive Korrelation mit der Größe des Infarktes gezeigt werden (Hesse et al. 2000). Wenn wir auch das PrP^C als Membranprotein und als Destruktionsmarker nach zellulärem Untergang betrachten, dann könnte eine positive Korrelation von PrP^C und Tau-Protein durch diesen Effekt erklärt werden. Die Rolle einer möglichen PrP^C-Tau-Interaktion ist noch nicht klar. Es bleibt spekulativ, ob Veränderungen der Tau-Protein-Konzentrationen und Veränderungen der PrP^C-Konzentrationen im Liquor zu unterschiedlichen Zeitpunkten stattfinden.

Bei Amyloid- β wurde ein signifikant positiver Zusammenhang von PrP^C mit A β 1–40 festgestellt. Zudem konnte eine signifikante negative Korrelation des A β (1–42/1–40)-Quotienten mit den PrP^C-Werten gefunden werden (Abb. 4.21; C, E). In der Arbeit von Ferrer et al. wurde gezeigt, dass PrP^C in senilen Plaques bei Alzheimer-Krankheit ko-lokalisiert ist (Ferrer et al. 2001). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass PrP^C einen regulativen Effekt auf die β -Sekretase-vermittelte Spaltung des Amyloidvorläuferproteins ausübt und auf diese Weise die Produktion von β -Amyloid-Oligomeren beeinflusst (Parkin et al. 2007). Im Gegensatz zu den AD-bezogenen Studien zeigten wir, dass im Liquor der SVE-Patienten PrP^C signifikant positiv mit A β 1–40 korrelierte, was Ausdruck einer möglichen Interaktion von PrP^C mit A β 1–40 bei dieser Erkrankung sein kann.

Schließlich deuten unsere Daten darauf hin, dass PrP^C mit der zellulären immunologischen Homöostase assoziiert ist und an neurodegenerativen Prozessen nach hypoxisch-ischämischen Schädigungen in SVE-Patienten beteiligt sein kann.

6. Zusammenfassung

Die Bedeutung der vaskulär bedingten kognitiven Beeinträchtigung (VCI) in der Gesellschaft nimmt zu. Außerdem fördert eine mikrovaskuläre Schädigung Neurodegeneration und umgekehrt. Die subkortikale vaskuläre Enzephalopathie (SVE) ist die häufigste Ursache des VCI und manifestiert sich durch *White Matter Lesions* (WMLs), lakunäre Infarkte, Mikroblutungen und klinische Symptome (u. a. kognitive Einschränkung, Gangstörungen, Miktionsstörungen). Inflammatorische und oxidative Stressmechanismen wurden als wichtige Faktoren in der Pathophysiologie der SVE vorgeschlagen. Außerdem existieren Hinweise darauf, dass die Zytokin-vermittelte Interaktion zwischen Neuronen und Gliazellen zur kognitiven Beeinträchtigung beitragen kann. Eine potenzielle neuroprotektive sowie immunmodulatorische Funktion von PrP^C wurde durch zelluläre Studien sowie Tierstudien belegt.

Zu den Patienten der Studie gehörten: 87 mit SVE, 52 mit AD und 41 Kontrollen ohne nachweisbare neurodegenerative Erkrankung. Es erfolgte die Untergruppierung der SVE-Gruppe anhand des MMST ($\leq 25 = +D$; $> 25 = -D$) und der A β -Ratio (< 1 ; > 1). Es wurden 15 Zytokine (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, TNF- α , IFN- γ), 3 Chemokine (IL-8, MCP-1, MIP-1 β) und PrP^C im Liquor und Serum gemessen.

Im Liquor konnten bei fast allen untersuchten K-, SVE- und AD-Proben die proinflammatorischen Zytokine IL-2, IL-6, IL-17, G-CSF, GM-CSF und TNF- α sowie die Chemokine IL-8 (CXCL8), MCP-1 (CCL2) und MIP-1 β (CCL3) nachgewiesen werden. Beim Vergleich zwischen den Gruppen ergaben sich bei IL-2, IL-17, G-CSF und GM-CSF signifikante Unterschiede. Die SVE-Liquorproben zeigten signifikant erniedrigte Konzentrationswerte von IL-2 im Vergleich zu den K-Proben und den AD-Proben sowie von IL-17 im Vergleich zu den AD-Proben. Erniedrigte Werte von G-CSF und erhöhte von GM-CSF wurden zudem in den AD-Liquorproben gefunden. Bei den anderen wurde keine signifikante Abweichung zwischen der SVE- und K-Gruppe gefunden.

Bei den Messungen im Serum konnte auch eine signifikante Erhöhung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-12, IL-7 und G-CSF in der SVE-Gruppe im Vergleich zu der K- und (außer IL-12) zu der AD-Gruppe gefunden werden. Im Gegensatz dazu waren die Chemokin-Serumwerte (IL-8, MCP-1, MIP-1 β) in der SVE- gegenüber der K- und AD-Gruppe erniedrigt.

Der MMST der SVE-Patienten zeigte eine signifikante positive Korrelation mit den Werten von IL-6 und IL-8 im Liquor und eine signifikante negative Korrelation mit den Werten von MIP-1 β im Liquor und im Serum zum Zeitpunkt der Probengewinnung.

Die PrP^C-Konzentrationsbestimmung zeigte im Liquor sehr signifikant erhöhte Werte der SVE-Patienten im Vergleich zu den K-Proben. Interessanterweise zeigten die Werte von PrP^C im Liquor eine hochsignifikante positive Korrelation mit den Werten von Gesamt-Tau, P-Tau, A β 1–42 und IL-8 sowie negative Korrelation mit den Werten von IL-2 und MCP-1.

Die signifikanten Alterationen der Werte von mehreren Zytokinen im Liquor und Serum von Patienten mit SVE reflektieren die Bedeutung dieser immunologischen Mediatoren bei der SVE. Unsere Daten deuten auf eine veränderte Immunantwort (zentral und peripher) in SVE-Patienten hin, mit einer eher pro-inflammatorischen Wirkung, aber unter Einbeziehung der T_H2-Zytokine im Serum. Außerdem weisen die gemessenen Korrelationen zwischen den Konzentrationen von IL-6, IL-8 und MIP-1 β im Liquor und dem kognitiven Status der Patienten mit SVE auf ihre wichtige Rolle bei dem VCI hin. Darüber hinaus zeigen unsere Daten, dass das hochregulierte PrP^C ein potenzieller Regulator der Immunantwort in SVE-Patienten sein kann.

7. Anhang

7.1. Ätiopathologische Klassifikation der zerebralen Mikroangiopathie

Die Ätiopathologische Klassifikation der zerebralen Mikroangiopathie umfasst 5 allgemeine Typen mit der degenerativen (arteriosklerotischen) Form, die am häufigsten auftritt (Pantoni 2010).

1. Degenerative (arteriosklerotische) zerebrale Mikroangiopathie
2. Sporadisch und hereditäre zerebrale Amyloidangiopathie
3. Hereditäre zerebrale Mikroangiopathien
4. Inflammatorisch und immunologisch bedingte zerebrale Mikroangiopathien
5. Venöse Kollagenosen
6. Andere zerebrale Mikroangiopathien

7.2. Klinische Leitsymptome der SVE nach Bänzner et al. (2003)

Die klinischen Leitsymptome der SVE lassen sich nach Bänzner et al. (2003) in enger Anlehnung an die modifizierten NINDS-AIREN-Kriterien (Erkinjuntti 2002) folgendermaßen charakterisieren:

- Eine im Verlauf früh einsetzende Gangunsicherheit mit Störung der Posturalkontrolle
- Ein progredientes kognitives Syndrom, das mit komplexen sozialen Aktivitäten interferiert, bestehend aus: einem dysexekutivem Syndrom mit psychomotorischer Verlangsamung, Störung von Antrieb und Initiative, Störung der Handlungsplanung, Organisation, Abstraktionsfähigkeit und Urteilsvermögen, Konzentrations- und Gedächtnisstörungen (können mild ausgeprägt sein) mit gestörtem Gedächtnisabruf und relativ intaktem Wiedererkennen
- Störungen der Harnkontinenz
- Affektive Symptome (vorwiegend Depression)
- Anamnestisch oft nur seltene distinkte Schlaganfallerepisoden mit eher milden fokalen neurologischen Ausfälle

7.3. Liquorparameter innerhalb der SVE- und der AD-Gruppe

Gruppen Untergruppen		AD	SVE	SVE		SVE	
				+D	-D	A β R <1	A β R >1
Gesamt-Tau (pg/ml)	N	44	72	37	32	34	28
	Mittelwert \pm SD	552 \pm 408	302 \pm 232	324 \pm 244	279 \pm 223	391 \pm 231	222 \pm 187
	Median	417	226	244	194	311	165
	[Min- Max]	[75- 1659]	[75-970]	[75- 970]	[75- 915]	[94- 970]	[75- 915]
Phospho-Tau (pg/ml)	N	43	66	32	30	31	26
	Mittelwert \pm SD	102 \pm 61.4	59.12 \pm 31.63	65 \pm 32.54	53.60 \pm 30.52	75 \pm 34.2	46.4 \pm 20.5
	Median	85	52.50	57	45	64	39
	[Min- Max]	[16- 295]	[16- 163]	[24- 148]	[16-163]	[30- 163]	[22- 111]
A-Beta 1-40 (pg/ml)	N	43	63	33	30	34	29
	Mittelwert \pm SD	6251 \pm 2737	9235 \pm 6130	10086 \pm 7295	8669 \pm 4789	12106 \pm 7081	6972 \pm 2881
	Median	5738	7683	7891	7070	9175	6325
	[Min- Max]	[626- 14033]	[1614- 29786]	[2076- 29786]	[1614- 2909]	[4943- 29786]	[1966- 14975]
A-Beta 1-42 (pg/ml)	N	44	63	33	30	34	29
	Mittelwert \pm SD	408 \pm 153	755 \pm 354	762.1 \pm 390.6	767 \pm 319	654.5 \pm 366	853 \pm 321
	Median	367	721.5	601	746	569	841
	[Min- Max]	[216- 899]	[32-1851]	[297- 1851]	[32- 1293]	[32- 1851]	[275- 1575]
A-Beta- Quotient	N	43	63	33	30	34	29
	Mittelwert \pm SD	0.845 \pm 0.9	1.011 \pm 0.58	0.9812 \pm 0.717	1.037 \pm 0.44	0.59 \pm 0.18	1.24 \pm 0.16
	Median	0.66	0.99	0.75	1.110	0.65	1.2
	[Min- Max]	[0.2- 0.83]	[0.24- 4.1]	[0.24-4.1]	[0.25-2.040]	[0.24-0.93]	[1.05- 4.1]
Gesamtprotein (pg/ml)	N	keine Daten	75	35	37	32	25
	Mittelwert \pm SD	keine Daten	455 \pm 183	443 \pm 143	477 \pm 221	462 \pm 217	448 \pm 160
	Median	keine Daten	416	431.5	416	407	420
	[Min- Max]	keine Daten	[189- 1184]	[233- 883]	[239- 1243]	[233- 1243]	[189- 845]

Gruppen Untergruppen		AD	SVE	SVE		SVE	
				+D	-D	Aß R <1	Aß R >1
Q-Albumin	N	keine Daten	75	35	37	32	25
	Mittelwert ±SD	keine Daten	7.18 ±2.84	7.2 ±2.358	7.13 ±2.830	7.18 ± 2.69	6.78 ±2.14
	Median [Min-Max]	keine Daten	6.7 [3.3- 18.7]	7.00 [3.90-14.10]	6.200 [3.3- 14.10]	5 [3.9- 6.8]	6.20 [3.3- 12]

7.4. ARWML-Skala und MMST innerhalb der SVE-Gruppe

Gruppen Untergruppen		SVE	SVE		SVE	
			+D	-D	Aß R <1	Aß R >1
ARWML	N	87	41	41	34	29
	Mittelwert ±SD	8,8 ±5,1	10,2 ±5,1	6,7 ±4,1	8,7 ±4,1	9,1 ±6
	Median [Min-Max]	8 [1- 22]	10,5 [1- 22]	6 [1- 19]	8 [1- 16]	9 [1- 22]
MMST	N	82	41	41	33	26
	Mittelwert ±SD	23,6 ±5,4	19,3 ±4,6	27,8 ±1,3	21,4 ±5,9	25,6 ±3,6
	Median [Min-Max]	25,5 [4-30]	21 [4-25]	28 [26-30]	23 [4-30]	27 [16-30]

7.5. Konzentration der Zytokine und Chemokine in den Liquorproben der K-, AD- und SVE-Gruppe.

Gruppen Untergruppen		K	AD	SVE	SVE		SVE	
					+D	-D	Aß R <1	Aß R >1
IL-2	N	20	18	34	18	15	15	12
	Mittelwert ±SD	4,01 ±0,73	3,65 ±0,96	3,19 ±0,72	3,12 ±0,79	3,3 ±0,66	3,04 ±0,67	3,23 ±0,78
	Median [Min- Max]	3,82 [2,73- 5,58]	3,72 [1,36- 4,97]	3,29 [1,93- 4,43]	3,28 [1,93- 4,4]	3,35 [1,95- 4,43]	3,07 [1,93- 4,02]	3,4 [2,03- 4,4]

Gruppen Untergruppen		K	AD	SVE	SVE		SVE	
					+D	-D	Aß R<1	Aß R>1
IL-6	N	18	18	34	18	15	15	12
	Mittelwert ±SD	6,06 ±5,08	7,42 ±7,34	6,88 ±4,31	8,08 ±4,32	5,64 ±4,13	7,18 ±4,42	7,2 ±4,57
	Median [Min- Max]	4,72 [1,58- 20,91]	4,82 [1,75- 27,1]	5,63 [2,28- 19,24]	7,17 [2,28 - 16,68]	4,21 [2,28 - 19,24]	5,58 [2,28- 16,68]	6,74 [2,28- 19,24]
IL-7	N	11	6	22	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl
	Mittelwert ±SD	4,681 ±3,711	2,278 ±1,656	4,185 ±5,33				
	Median [Min-Max]	3,63 [0,38- 13,35]	2,745 [0,22- 4,34]	1,84 [0,22- 19,94]				
IL-13	N	14	15	20	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl
	Mittelwert ±SD	11,5 ±7,458	12,31 ±7,87	9,175 ±5,47				
	Median [Min-Max]	10,01 [1,65- 24,61]	11,46 [1- 28,08]	7,95 [1,53- 20,46]				
IL-17	N	10	14	16	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl	Kleine Anzahl
	Mittelwert ±SD	4,54 ±2,99	3,92 ±2,23	2,28 ±1,67				
	Median [Min-Max]	4,66 [0,33- 9,09]	3,74 [0,33 7,47]	2,23 [0,33- 6,41]				
G-CSF	N	20	18	34	18	15	15	12
	Mittelwert ±SD	7,83 ±3,89	5,43 ±2,3	7,31 ±2,95	7,51 ±3,02	6,98 ±3,02	7,59 ±2,91	6,86 ±3,25
	Median [Min-Max]	6,83 [2,49- 16,59]	4,78 [2,76- 11]	7,15 [1,85- 13,6]	7,41 [1,85- 13,6]	6,98 [3,69- 13,6]	7,59 [3,28- 13,6]	6,86 [1,85- 13,68]
GM-CSF	N	19	18	34	18	15	15	12
	Mittelwert ±SD	19,21 ±10,9	24,03 ±5,85	19,38 ±7,03	18,83 ±7,68	20,03 ±6,65	20,16 ±5,66	20,93 ±7,62
	Median [Min-Max]	21,01 [1,52 - 35,7]	25,36 [4,63- 31,5]	22,54 [3,11- 28,53]	22,39 [3,11- 26,05]	22,85 [6,64- 28,53]	21,07 [6,96- 28,53]	23,25 [3,11- 26,74]
TNF-α	N	19	17	34	18	15	15	12
	Mittelwert ±SD	2,49 ± 0,99	2,42 ±1,35	1,99 ±1,04	1,89 ±0,91	2,17 ±1,17	2,15 ±1,05	1,69 ±1,12
	Median [Min-Max]	2,6 [1,1- 4,3]	2,45 [0,19- 5,3]	1,79 [0,39- 4,37]	1,79 [0,57- 4,37]	2,45 [0,39- 3,9]	2,12 [0,75- 4,37]	3,74 [0,39- 3,74]

Gruppen Untergruppen		K	AD	SVE	SVE		SVE	
					+D	-D	A β R<1	A β R>1
IL-8	N	19	17	34	18	15	15	12
	Mittelwert \pm SD	32,67 \pm 14,42	35,76 \pm 16,07	29,8 \pm 9,14	33,03 \pm 9,06	25,69 \pm 8,071	33,04 \pm 9,68	27,97 \pm 9,52
	Median [Min-Max]	28,28 [11,41- 60,15]	32,67 [19,49- 71,83]	28,3 [6,52- 52,79]	30,75 [19,97- 52,79]	26,24 [6,52- 41,3]	30,98 [17,68- 52,79]	26,69 [6,52- 41,3]
MCP-1	N	19	17	34	17	16	15	13
	Mittelwert \pm SD	376 \pm 214	578 \pm 451	580 \pm 563	543 \pm 443	642 \pm 688	517 \pm 512	615 \pm 723
	Median [Min-Max]	321 [70,5- 904]	402 [231- 2027]	348 [61- 2603]	358 [211- 1709]	358 [61- 2603]	299 [211 - 1994]	316 [61 - 2603]
MIP-1 β	N	20	17	36	18	17	15	14
	Mittelwert \pm SD	14,37 \pm 3,82	14,12 \pm 3,65	13,77 \pm 2,64	12,93 \pm 2,51	14,73 \pm 2,59	12,86 \pm 1,95	14,71 \pm 2,79
	Median [Min-Max]	14,05 [7,95- 25,86]	14,21 [7,12- 20,14]	13,73 [7,71- 19,41]	13,07 [7,71- 17,65]	14,53 [9,07 - 19,41]	13,10 [9,14- 17,65]	14,93 [7,71- 19,4]

7.6. Rangkorrelationen nach Spearman zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Liquor und den verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe.

Der Koeffizient wird als r (spearman r) und das Niveau der Signifikanz mit dem p-Wert ausgedrückt. Die statistisch signifikanten Korrelationen werden mit grauer Farbe markiert.

		IL-2	IL-6	IL-8	G- CSF	GM-CSF	MCP-1	MIP-1 β	TNF- α
Alter	r	-0.326	0.278	0.373	0.054	-0.215	-0.058	-0.150	0.169
	p	0.059	0.111	0.029	0.758	0.22	0.741	0.381	0.339
ARWML- Skala	r	-0.111	0.18	0.112	0.099	-0.108	0.265	-0.022	0.339
	p	0.528	0.307	0.526	0.575	0.540	0.129	0.895	0.050
Gesamt-Tau	r	-0.058	0.062	0.35	0.058	-0.104	-0.043	-0.120	0.054
	p	0.753	0.737	0.053	0.755	0.574	0.816	0.503	0.773
Phospho-Tau	r	-0.231	-0.002	0.534	0.119	-0.042	-0.049	-0.134	0.046
	p	0.254	0.99	0.004	0.56	0.838	0.809	0.495	0.825

		IL-2	IL-6	IL-8	G-CSF	GM-CSF	MCP-1	MIP-1 β	TNF- α
A-Beta 1-40	r	-0.184	0.016	0.311	-0.228	-0.296	-0.011	-0.017	-0.005
	p	0.337	0.934	0.099	0.232	0.118	0.951	0.926	0.979
A-Beta 1-42	r	0.072	0.104	-0.027	-0.356	-0.213	0.209	0.281	-0.109
	p	0.699	0.574	0.884	0.049	0.248	0.258	0.112	0.558
A-Beta-Quotient	r	0.103	0.0735	-0.409	-0.005	0.118	0.078	0.142	-0.145
	p	0.594	0.704	0.027	0.978	0.542	0.687	0.446	0.453
Q-Albumin	r	-0.181	0.35	0.236	0.206	0.191	0.079	0.016	0.118
	p	0.329	0.048	0.2	0.265	0.302	0.670	0.926	0.527
MMST	r	0.132	-0.358	-0.372	-0.106	0.195	0.057	0.437	0.107
	p	0.46	0.040	0.032	0.555	0.276	0.749	0.008	0.552

7.7. Untere Detektionsgrenze von den gemessenen Zytokinen und Chemokinen im Serum sowie Anzahl und Anteil der untersuchten Proben mit detektierbaren Werten von den jeweiligen Zytokinen und Chemokinen.

		Untere Detektionsgrenze (pg/ml)	K N/20	%	AD N/39	%	SVE N/20	%
1	IL-1 β	2,72	20	100	37	94.87	19	95
2	IL-2	3,18	3	15	3	7.69		0
3	IL-4	0,36	13	65	20	51.28	19	95
4	IL-5	2,44	20	100	38	97.43	20	100
5	IL-6	2,26	20	100	37	94.87	20	100
6	IL-7	2,69	20	100	39	100	20	100
7	IL-8	1,56	20	100	39	100	20	100
8	IL-10	1,32	7	35	7	17.94	1	5
9	IL-12(p70)	3,14	14	70	26	66.66	16	80
10	IL-13	2,90	16	80	32	82.05	16	80
11	IL-17	0,94	7	35	7	17.94	4	20
12	G-CSF	1,86	17	85	26	66.66	18	90
13	GM-CSF	0,21	9	45	10	25.64	0	0
14	IFN- γ	6,92	16	80	28	71.79	19	95
15	MCP-1	1,98	19	95	37	94.87	20	100
16	MIP-1 β	1,40	19	95	37	94.87	19	95
17	TNF- α	7,33	12	60	15	38.46	16	80

7.8. Konzentrationswerte von den gemessenen Werten von Zytokinen und Chemokinen im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe

		K	AD	SVE			K	AD	SVE	
IL-1β	N	20	37	19	IL-13	N	16	32	15	
	Mittelwert \pm SD	2,19 \pm 0,47	2,72 \pm 0,86	3,66 \pm 1,36		Mittelwert \pm SD	4,07 \pm 3,29	6,69 \pm 7,01	5,34 \pm 4,22	
	Median [Min- Max]	2,05 [1,39- 3,47]	2,56 [1,61- 4,99]	3,35 [1,36- 6,13]		Median [Min- Max]	3,26 [0,04- 11,21]	3,93 [0,21- 26,67]	4,26 [0,36- 15,35]	
IL-4	N	13	20	19	TNF-α	N	12	15	16	
	Mittelwert \pm SD	1,56 \pm 1,53	1,59 \pm 1,59	4,83 \pm 2,73		Mittelwert \pm SD	9,25 \pm 7,09	10,65 \pm 7,46	37,57 \pm 39,6	
	Median [Min- Max]	0,83 [0,14- 5,35]	0,92 [0,14- 6,01]	5,12 [0,41- 9,18]		Median [Min- Max]	8,15 [0,02- 21,78]	8,76 [3,26- 31,07]	26,43 [2,63- 161,4]	
IL-5	N	20	38	20	IFN-γ	N	16	28	19	
	Mittelwert \pm SD	4,62 \pm 1,25	4,85 \pm 1,16	7,38 \pm 2,13		Mittelwert \pm SD	92,6 \pm 64,6	89,82 \pm 78,06	280 \pm 161	
	Median [Min- Max]	4,34 [3,07- 7,65]	4,65 [3,64- 10,11]	7,46 [3,81- 11,93]		Median [Min- Max]	74 [17,4- 258]	67,47 [10,5- 369,4]	223,6 [64,2- 694,2]	
IL-6	N	20	37	19	IL-8	N	18	36	20	
	Mittelwert \pm SD	10,32 \pm 7,41	10,7 \pm 9,67	11,93 \pm 7,09		Mittelwert \pm SD	24,75 \pm 26,45	72,28 \pm 69,3	31,68 \pm 13,23	
	Median [Min- Max]	7,89 [3,12- 30,42]	7,54 [2,89- 49,42]	11,34 [2,29- 31,39]		Median [Min- Max]	17,15 [8,81- 118,4]	40,16 [9,24- 297,3]	32,67 [7,52- 55,37]	
IL-7	N	20	39	20	MCP-1	N	19	37	20	
	Mittelwert \pm SD	12,8 \pm 5,85	9,44 \pm 4,45	16,31 \pm 6,13		Mittelwert \pm SD	128,4 \pm 66,31	110 \pm 74,46	10,08 \pm 17,58	
	Median [Min- Max]	11,5 [4,92- 26,38]	8,67 [2,96- 24,47]	15,91 [6,31- 27,33]		Median [Min- Max]	107,1 [47,07 - 265,8]	84,9 [34,68 - 394]	38,66 [16,06 - 80,43]	
IL-12	N	14	26	16	MIP-1β	N	19	37	19	
	Mittelwert \pm SD	10,78 \pm 22,27	14,3 \pm 14,49	33,25 \pm 39,64		Mittelwert \pm SD	311 \pm 208,1	371,7 \pm 210,4	216,6 \pm 92,69	
	Median [Min- Max]	5,82 [0,13- 87,45]	9,09 [0,57- 49,25]	19,36 [0,34- 141,1]		Median [Min- Max]	212,6 [85,84 - 891,3]	303,7 [129,2 - 1081]	212,2 [77,11 - 447,5]	
G-CSF	N	17	26	17	SVE+D	SVE-D				
	Mittelwert \pm SD	20,66 \pm 12,21	16,25 \pm 13,57	57,35 \pm 32,72	8	9	74,44 \pm 30,75	42,16 \pm 27,6		
	Median [Min- Max]	18,1 [8,27- 55,78]	10,79 [1,09- 49,95]	63,01 [13,26- 107,9]	79,01 [26,71- 107,9]	29,02 [13,26 - 81,49]				

7.9. Rangkorrelationen nach Spearman zwischen den detektierbaren Zytokinen und Chemokinen im Serum und verschiedenen klinischen Parametern in der SVE-Gruppe.

Der Koeffizient wird als r (spearman r) und das Niveau der Signifikanz mit dem p Werte ausgedrückt. Die statistisch signifikanten Korrelationen werden mit grauer Farbe markiert.

	Alter		ARWML		MMST	
	r	p	r	p	r	p
IL-1β	-0.23	0.32	-0.09	0.70	0.31	0.18
IL-4	-0.08	0.76	-0.15	0.54	0.23	0.35
IL-5	0.05	0.84	-0.22	0.34	0.27	0.26
IL-6	0.20	0.40	-0.18	0.46	0.17	0.49
IL-7	-0.25	0.29	-0.22	0.36	0.31	0.19
IL-8	0.18	0.45	-0.33	0.15	0.29	0.21
IL-12(p70)	0.02	0.94	0.02	0.94	-0.01	0.95
IL-13	-0.16	0.53	-0.08	0.76	0.06	0.84
IL-17	1.00	0.08	0.95	0.17	-1.00	0.08
G-CSF	-0.05	0.83	-0.25	0.31	0.35	0.15
IFN-γ	-0.14	0.56	-0.02	0.92	0.23	0.32
MCP-1	-0.45	0.05	0.04	0.87	0.39	0.09
MIP-1β	0.01	0.96	0.07	0.78	0.53	0.02
TNF-α	-0.19	0.45	0.14	0.59	-0.03	0.91

7.10. PrP^C-Konzentrationswerte im Liquor von Patienten der K-, AD- und SVE-Gruppe

PrP ^C im Liquor (ng/ml)	K	AD	SVE	SVE		SVE	
				+D	-D	A β R <1	A β R >1
N	19	19	54	28	24	23	16
Mittelwert \pmSD	194 \pm 125	268 \pm 87,6	410 \pm 195	397 \pm 159	415 \pm 233	469 \pm 166	324 \pm 170
Median [Min-Max]	198 [7,8-455]	278 [110-427]	377 [108-861]	396 [108-765]	368 [134-861]	483 [193-791]	310 [137-845]

7.11. Rangkorrelationen nach Spearman zwischen PrP^C-Konzentrationswerten im Liquor und klinischen Parametern in der SVE- Gruppe

	Alter	MMST	ARWML	G-Tau	P-Tau	A β 1-40	A β 1-42	A β -Q	Q- Alb
PrP ^C r	0,249	-0,082	-0,06	0,684	0,776	0,611	0,06	-0,577	0,09
p	0,695	0,542	0,616	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,655	<0,0001	0,536

7.12. PrP^C-Konzentrationswerte im Serum von Patienten der K-, AD- und SVE- Gruppe

PrP ^C im Serum (ng/ml)	K	AD	SVE	SVE		SVE	
				+D	-D	A β R<1	A β R>1
N	20	38	55	25	28	24	20
Mittelwert \pm SD	43,2 \pm 23,7	71,1 \pm 34,3	37,7 \pm 14,9	36,4 \pm 13	38,1 \pm 16,7	35,66 \pm 13,82	33,64 \pm 15,44
Median	45	67,1	37	36,4	35,9	35,73	29,05
[Min-Max]	[8,7-98,4]	[29-168]	[9,8-66,4]	[15,9-62,1]	[9,8-66,4]	[9,87-62,13]	[15,01-63,21]

8. Bibliografie

- Acalovschi D, Wiest T, Hartmann M, Farahmi M, Mansmann U, Auffarth GU, Grau AJ, Green FR, Grond-Ginsbach C, Schwaninger M (2003): Multiple levels of regulation of the interleukin-6 system in stroke. *Stroke* 34(8):1864-9
- Aguzzi A, Haass C. (2003): Games played by rogue proteins in prion disorders and Alzheimer's disease. *Science* 302(5646):814-8. Review
- Aguzzi A, Polymenidou M (2004): Mammalian prion biology. One century of evolving concepts. *Cell* 116, 313–327
- Aguzzi A, Heikenwalder M. (2006): Pathogenesis of prion diseases: current status and future outlook. *Nat Rev Microbiol* 4(10):765-75
- Akiguchi I, Tomimoto H, Wakita H, Yamamoto Y, Suenaga T, Ueno M, Budka H (1999): Cytopathological alterations and therapeutic approaches in Binswanger's disease *Neuropathology* 19(1):119-28
- Amor S, Puentes F, Baker D, van der Valk P (2010): Inflammation in neurodegenerative diseases. *Immunology* 129(2):154-69
- Angelopoulos P, Agouridaki H, Vaiopoulos H, Siskou E, Doutsou K, Costa V, Baloyiannis SI (2008): Cytokines in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Int J Neurosci* 118(12):1659-72
- Autieri MV (2012): Pro- and Anti-Inflammatory Cytokine Networks in Atherosclerosis. *ISRN Vascular Medicine* 2012(2012):1–17
- Bänzner H, Daffertshofer M, Hennerici M (2003): Subkortikale Vaskuläre Enzephalopathie. *Act Neurol* 30: 266-280
- Bagnoli S, Failli Y, Piaceri I, Rinnoci V, Bessi V, Tedde A, Nacmias B, Sorbi S (2012): Suitability of neuropsychological tests in patients with vascular dementia (VaD). *J Neurol Sci.* 322(1-2):41-5
- Barclay GR, Hope J, Birkett CR, Turner ML (1999). Distribution of cell-associated prion protein in normal adult blood determined by flow cytometry. *Br J Haematol* 107: 804-14
- Beriou G, Costantino CM, Ashley CW, Yang L, Kuchroo VK, Baecher-Allan C, Hafler DA (2009): IL-17-producing human peripheral regulatory T cells retain suppressive function. *Blood* 113(18):4240-9
- Berlin- Institut für Bevölkerung und Entwicklung (Hrsg.): Demenz-Report. Berlin 2011 [http://www.berlin-institut.org/fileadmin/user_upload/Demenz/Demenz_online.pdf]
- Bjerke M, Zetterberg H, Edman Å, Blennow K, Wallin A, Andreasson U (2011): Cerebrospinal fluid matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in combination with subcortical and cortical biomarkers in vascular dementia and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 27(3):665-76
- Bio-Rad Laboratories, Inc. (2012): Bio-Plex Pro™, Instruction Manual [<http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10024929.pdf>]
- Blaise R, Mateo V, Rouxel C, Zaccarini F, Glorian M, Béréziat G, Golubkov VS, Limon I (2012): Wild-type amyloid beta 1-40 peptide induces vascular smooth muscle cell death independently from matrix metalloprotease activity. *Aging Cell* 11(3):384-93
- Blasko I, Veerhuis R, Stampfer-Kountchev M, Saurwein-Teissl M, Eikelenboom P, Grubeck-Loebenstein B (2000): Costimulatory effects of interferon-gamma and interleukin-1beta

- or tumor necrosis factor alpha on the synthesis of Abeta1-40 and Abeta1-42 by human astrocytes. *Neurobiol Dis* 7(6 Pt B):682-9
- Blennow K, Zetterberg H (2009): Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 18(2):413-7
- Blennow K, Zetterberg H: (2010). Is it time for biomarker-based diagnostic criteria for prodromal Alzheimer's disease? *Alzheimers Res Ther* 30;2(2):8
- Bolanzadeh N, Davis JC, Tam R, Handy TC, Liu-Ambrose T (2012): The association between cognitive function and white matter lesion location in older adults: a systematic review. *BMC Neurol* 12:126
- Bonotis K, Krikki E, Holeva V, Aggouridaki C, Costa V, Baloyannis S (2008): Systemic immune aberrations in Alzheimer's disease patients. *J Neuroimmunol* 193(1-2):183-7
- Bounhar Y, Zhang Y, Goodyer CG, LeBlanc A (2001): Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 276(42):39145-9
- Boyman O, Surh CD, Sprent J (2006): Potential use of IL-2/anti-IL-2 antibody immune complexes for the treatment of cancer and autoimmune disease. *Expert Opin Biol Ther* 6(12):1323-31
- Bowler JV (2007): Modern concept of vascular cognitive impairment. *Br Med Bull.*;83:291-305.
- Brown DR, Nicholas RS, Canevari L (2002): Lack of prion protein expression results in a neuronal phenotype sensitive to stress. *J Neurosci Res* 67(2):211-24
- Brown KL, Ritchie DL, McBride PA, Bruce ME (2000): Detection of PrP in extraneural tissues. *Microsc Res Tech* 50: 40-45
- Brown WR, Moody DM, Thore CR, Challa VR, Anstrom JA (2007): Vascular dementia in leukoaraiosis may be a consequence of capillary loss not only in the lesions, but in normal-appearing white matter and cortex as well. *J Neurol Sci* 257(1-2):62-6
- 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(6370):577-82
- Cardona AE, Li M, Liu L, Savarin C, Ransohoff RM (2008): Chemokines in and out of the central nervous system: much more than chemotaxis and inflammation. *J Leukoc Biol* 84(3):587– 94
- Chaitanya GV, Cromer WE, Wells SR, Jennings MH, Couraud PO, Romero IA, Weksler B, Erdreich-Epstein A, Mathis JM, Minagar A, Alexander JS (2011): Gliovascular and cytokine interactions modulate brain endothelial barrier in vitro. *J Neuroinflammation* 8:162
- Chen R, Lowe L, Wilson JD, Crowther E, Tzeggai K, Bishop JE, Varro R (1999): Simultaneous Quantification of Six Human Cytokines in a Single Sample Using Microparticle-based Flow Cytometric Technology. *Clin Chem* 45(9):1693-1694
- Chiarini LB, Freitas AR, Zanata SM, Brentani RR, Martins VR, Linden R (2002): Cellular prion protein transduces neuroprotective signals. *EMBO J* 21(13):3317-26
- Chui H (2001): Dementia due to subcortical ischemic vascular disease. *Clin Cornerstone*. 3(4):40-51. Review
- Collinge J (2001): Prion Disease of humans and animals: their causes and molecular basis. *Annu Rev Neurosci* 24:519–50

- Collinge J, Whittington MA, Sidle KC, Smith CJ, Palmer MS, Clarke AR, Jefferys JG (1994): Prion protein is necessary for normal synaptic function. *Nature* 370(6487):295-7.
- Craig-Schapiro R, Kuhn M, Xiong C, Pickering EH, Liu J, Misko TP, Perrin RJ, Bales KR, Soares H, Fagan AM et al. (2011): Multiplexed immunoassay panel identifies novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis and prognosis. *PLoS One*. 6(4):e18850
- Debette S, Markus HS (2010): The Clinical Importance of White Matter Hyperintensities on Brain Magnetic Resonance Imaging: Systematic Review and Meta-Analysis. *Bmj* 341:c3666
- De la Torre JC (2002): Vascular basis of Alzheimer's pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 977:196-215. Review
- De Luigi A, Fragiaco C, Lucca U, Quadri P, Tettamanti M, Grazia De Simoni M (2001): Inflammatory markers in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Mech Ageing Dev* 122(16):1985-95
- DGPPN, DGN (2015): S3-Leitlinie "Demenzen". Hrg. Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde (DGPPN), Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN) [https://www.dgppn.de/fileadmin/user_upload/_medien/download/pdf/kurzversion-leitlinien/REV_S3-leitlinie-demenzen.pdf]
- Erkinjuntti T (2002): Subcortical vascular dementia. *Cerebrovasc Dis* 13, Suppl. 2, 58-60
- Erkinjuntti T, Inzitari D, Pantoni L, Wallin A, Scheltens P, Rockwood K, Román GC, Chui H, Desmond DW (2000): Research criteria for subcortical vascular dementia in clinical trials. *J Neural Transm (Suppl.)* 59, 23-30
- Erta M, Quintana A, Hidalgo J (2012): Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *Int J Biol Sci* 8(9):1254-66
- Esiri MM, Carter J, Ironside JW (2000): Prion protein immunoreactivity in brain samples from an unselected autopsy population: findings in 200 consecutive cases. *Neuropathol Appl Neurobiol* 26(3):273-84
- Fagan AM, Perrin RJ (2012): Upcoming Candidate Cerebrospinal Fluid Biomarkers of Alzheimer's Disease. *Biomarkers in medicine* 6(4):455–76
- Fazekas F, Barkhof F, Wahlund LO, Pantoni L, Erkinjuntti T, Scheltens P, Schmidt R (2002): CT and MRI rating of white matter lesions. *Cerebrovasc Dis* 13 Suppl 2:31-6
- 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 Neuropathologica* 101:49-56
- Floel A, Warnecke T, Duning T, Lating Y, Uhlenbrock J, Schneider A, Vogt G, Laage R, Koch W, Knecht S et al. (2011): Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) in stroke patients with concomitant vascular disease--a randomized controlled trial. *PLoS One* 6(5):e19767
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975): Mini-Mental State (a practical method for grading the state of patients for the clinician). *Journal of Psychiatric Research* 12(13) 189–98
- Fratiglioni L, Launer LJ, Andersen K, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, Lobo A, Martinez-Lage J, Soininen H, Hofman A (2000): Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. Neurology* 54(11 Suppl 5): S10-5
- Galasko D, Montine TJ (2010): Biomarkers of oxidative damage and inflammation in Alzheimer's disease. *Biomark Med* 24(1): 27–36

- Galimberti D, Schoonenboom N, Scarpini E, Scheltens P; Dutch-Italian Alzheimer Research Group (2003): Chemokines in serum and cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Ann Neurol* 53(4):547-8
- Galimberti D, Schoonenboom N, Scheltens P, Fenoglio C, Bouwman F, Venturelli E, Guidi I, Blankenstein MA, Bresolin N, Scarpini E (2006): Intrathecal chemokine synthesis in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 63(4):538-43
- Geng W, Ma LY, Roen D (2012): Multiplex Analysis of Inflammatory Markers Using Bio-Plex Pro™ Human Th17 Cytokine Assays Bioradiations. Hercules, CA, USA, Bio-Rad Laboratories.
- Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, Decarli C, Greenberg SM, Iadecola C, Launer LJ, Laurent S, Lopez OL, Nyenhuis D et al. (2011): Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association. *Stroke*. 42(9): 2672–2713
- Grammas P (2011): Neurovascular Dysfunction, Inflammation and Endothelial Activation: Implications for the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *J Neuroinflammation* 8:26
- Guillemin GJ, Brew BJ (2004): Microglia, macrophages, perivascular macrophages, and pericytes: a review of function and identification. *J Leukoc Biol* 75(3):388-97
- Hachinski V, Iadecola C, Petersen RC, Breteler MM, Nyenhuis DL, Black SE, Powers WJ, DeCarli C, Merino JG, Kalaria RN et al. (2006): National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network vascular cognitive impairment harmonization standards [published correction appears in *Stroke*. 2007; 38:1118]. *Stroke*. 37(9),_2220–2241
- Hainfellner JA, Wanschitz J, Jellinger K, Liberski PP, Gullotta F, Budka H (1998): Coexistence of Alzheimer-type neuropathology in Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neuropathol* 96:116-122
- Hanisch UK, Quirion R (1995): Interleukin-2 as a neuroregulatory cytokine. *Brain Res Brain Res Rev* 21(3):246-84
- Hentschel F, Kreis M, Damian M, Krumm B (2003): Mikroangiopathische Läsionen der weißen Hirnsubstanz. Quantifizierung im MRT und Korrelation mit psychologischen Testergebnissen. *Der Nervenarzt* 74(4):355–61
- 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(3-4):199-206
- Hoshino S, Inoue K, Yokoyama T, Kobayashi S, Asakura T, Teramoto A, Itohara S (2003): Prions prevent brain damage after experimental brain injury: a preliminary report. *Acta Neurochir Suppl* 86:297-9
- Hu W, Nessler S, Hemmer B, Eagar TN, Kane LP, Leliveld SR, Müller-Schiffmann A, Gocke AR, Lovett-Racke A, Ben LH et al. (2010): Pharmacological prion protein silencing accelerates central nervous system autoimmune disease via T cell receptor signalling. *Brain* 133(Pt 2):375-88
- Hu WT, Chen-Plotkin A, Arnold SE, Grossman M, Clark CM, Shaw LM, Pickering E, Kuhn M, Chen Y, McCluskey L, Elman L, Karlawish J, Hurtig HI, Siderowf A, Lee VM, Soares H, Trojanowski JQ (2010a): Novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Acta Neuropathol* 119(6):669-78
- Hu WT, Chen-Plotkin A, Arnold SE, Grossman M, Clark CM, Shaw LM, McCluskey L, Elman L, Karlawish J, Hurtig HI, Siderowf A, Lee VM, Soares H, Trojanowski JQ

- (2010b): Biomarker discovery for Alzheimer's disease, frontotemporal lobar degeneration, and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 120(3):385-99
- Iadecola C (2004): Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 5, 347-360
- Iadecola C (2010): The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol.* 120(3):287-96
- Iemolo F, Duro G, Rizzo C, Castiglia L, Hachinski V, Caruso C (2009): Pathophysiology of vascular dementia. *Immun Ageing* 6:13
- Ingram RJ, Isaacs JD, Kaur G, Lowther DE, Reynolds CJ, Boyton RJ, Collinge J, Jackson GS, Altmann DM (2009): A role of cellular prion protein in programming T-cell cytokine responses in disease. *FASEB J* 23(6):1672-84
- Isaacs JD, Jackson GS, Altmann DM (2006): The role of the cellular prion protein in the immune system. *Clin Exp Immunol* 146(1):1-8. Review
- Jefferson AL, Cosentino SA, Ball SK, Bogdanoff B, Leopold N, Kaplan E, Libon DJ (2002): Errors produced on the mini-mental state examination and neuropsychological test performance in Alzheimer's disease, ischemic vascular dementia, and Parkinson's disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 14(3):311-20
- Jeong BH, Lee KH, Lee YJ, Kim YJ, Choi EK, Kim YH, Cho YS, Carp RI, Kim YS (2009): Lack of association between PRNP 1368 polymorphism and Alzheimer's disease or vascular dementia. *BMC Med Genet* 10:32
- Jiwa NS, Garrard P, Hainsworth AH (2010): Experimental Models of Vascular Dementia and Vascular Cognitive Impairment: A Systematic Review. *Journal of neurochemistry* 115(4):814–28
- Kaffashian S, Dugravot A, Nabi H, G. Batty D, Brunner E, Kivimäki M, Singh-Manoux A: (2011) Predictive utility of the Framingham general cardiovascular disease risk profile for cognitive function: evidence from the Whitehall II study. *Eur Heart J* 32(18): 2326–2332
- Kalaria RN (2000): The role of cerebral ischemia in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 21(2):321-30
- Kang JH, Vanderstichele H, Trojanowski JQ, Shaw LM (2012): Simultaneous analysis of cerebrospinal fluid biomarkers using microsphere-based xMAP multiplex technology for early detection of Alzheimer's disease. *Methods* 56(4):484-93
- Khan U, Porteous L, Hassan A, Markus HS (2007): Risk factor profile of cerebral small vessel disease and its subtypes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78(7):702-6
- Kim SM1, Song J, Kim S, Han C, Park MH, Koh Y, Jo SA, Kim YY (2011): Identification of peripheral inflammatory markers between normal control and Alzheimer's disease. *BMC Neurol* 11:51
- Knudsen KA, Rosand J, Karluk D, Greenberg SM (2001): Clinical diagnosis of cerebral amyloid angiopathy: validation of the Boston criteria. *Neurology* 56(4):537-9
- Konsman JP, Drukarch B, Van Dam AM (2007): (Peri)vascular production and action of pro-inflammatory cytokines in brain pathology. *Clin Sci (Lond)* 112(1):1-25
- Konturek PC, Bazela K, Kukharskyy V, Bauer M, Hahn EG, Schuppan D (2005): *Helicobacter pylori* upregulates prion protein expression in gastric mucosa: a possible link to prion disease. *World J Gastroenterol* 11(48):7651-6

- Kuwahara C, Takeuchi AM, Nishimura T, Haraguchi K, Kubosaki A, Matsumoto Y, Saeki K, Matsumoto Y, Yokoyama T, Itohara S et al. (1999): Prions prevent neuronal cell-line death. *Nature* 400(6741):225-6
- Launer LJ, Petrovitch H, Ross GW, Markesbery W, White LR (2008): AD brain pathology: vascular origins? Results from the HAAS autopsy study. *Neurobiol Aging* 9(10):1587-90.
- Launer LJ, Hughes TM, White LR (2011): Microinfarcts, brain atrophy, and cognitive function: the Honolulu Asia Aging Study Autopsy Study. *Ann Neurol* 70(5):774-80
- Laurén J, Gimbel DA, Nygaard HB, Gilbert JW, Stephen M (2009). Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 28(4):281-7
- Lee KJ, Panzera A, Rogawski D, Greene LE, Eisenberg E (2007): Cellular prion protein (PrPC) protects neuronal cells from the effect of huntingtin aggregation. *J Cell Sci* 120(Pt 15):2663-71
- Lee KS, Chung JH, Choi TK, Suh SY, Oh BH, Hong CH (2009): Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 28(4):281-7
- Létourneau S, Krieg C, Pantaleo G, Boyman O (2009): IL-2- and CD25-dependent immunoregulatory mechanisms in the homeostasis of T-cell subsets. *J Allergy Clin Immunol* 123(4):758-62
- Lewczuk P, Esselmann H, Otto M, Maler JM, Henkel AW, Henkel MK, Eikenberg O, Antz C, Krause WR, Reulbach U et al. (2004): Neurochemical diagnosis of Alzheimer's dementia by CSF Aβ₄₂, Aβ₄₂/Aβ₄₀ ratio and total tau. *Neurobiol Aging* 25(3):273-81
- Li A, Harris DA (2005): Mammalian prion protein suppresses Bax-induced cell death in yeast. *J Biol Chem* 280(17):17430-4
- Lienert C, Sturzenegger M (2008): Cerebral vasculitis. *Ther Umsch* 65(5):259-63.
- Linden R, Martins VR, Prado MA, Cammarota M, Izquierdo I, Brentani RR (2008): Physiology of the prion protein. *Physiol Rev* 88: 673-728
- Longstreth WT Jr, Manolio TA, Arnold A, Burke GL, Bryan N, Jungreis CA, Enright PL, O'Leary D, Fried L (1996). Clinical correlates of white matter findings on cranial magnetic resonance imaging of 3301 elderly people. The Cardiovascular Health Study. *Stroke* 27(8):1274-82
- Longstreth WT Jr, Bernick C, Manolio TA, Bryan N, Jungreis CA, Price TR (1998): Lacunar infarcts defined by magnetic resonance imaging of 3660 elderly people: the Cardiovascular Health Study. *Arch Neurol* 55(9):1217-25
- Longstreth WT Jr, Arnold AM, Beauchamp NJ Jr, Manolio TA, Lefkowitz D, Jungreis C, Hirsch CH, O'Leary DH, Furberg CD (2005): Incidence, manifestations, and predictors of worsening white matter on serial cranial magnetic resonance imaging in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Stroke* 36(1):56-61
- Lucas HR, Rifkind JM (2013): Considering the vascular hypothesis of Alzheimer's disease: effect of copper associated amyloid on red blood cells. *Adv Exp Med Biol* 765:131-8
- Mabbott NA, Brown KL, Manson J, Bruce ME (1997): T-lymphocyte activation and the cellular form of the prion protein. *Immunology* 92(2):161-5
- Marchesi VT (2011): Alzheimer's Dementia Begins as a Disease of Small Blood Vessels, Damaged by Oxidative-Induced Inflammation and Dysregulated Amyloid Metabolism:

- Implications for Early Detection and Therapy. *FASEB journal* : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 25(1):5–13
- Marques F, Sousa JC, Sousa N, Palha JA (2013): Blood-brain-barriers in aging and in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 8: 38
- Marsland AL, Gianaros PJ, Abramowitch SM, Manuck SB, Hariri AR (2008): Interleukin-6 covaries inversely with hippocampal grey matter volume in middle-aged adults. *Biol Psychiatry* 64(6):484-90
- Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, Herukka SK, van der Flier WM, Blankenstein MA, Ewers M et al. (2009): CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 302(4):385-93
- Maurer M, von Stebut E (2004): Macrophage Inflammatory Protein-1. *The international journal of biochemistry & cell biology* 36(10):1882–86
- McLennan NF, Brennan PM, McNeill A, Davies I, Fotheringham A, Rennison KA, Ritchie D, Brannan F, Head MW, Ironside JW et al. (2004): Prion protein accumulation and neuroprotection in hypoxic brain damage. *Am J Pathol* 165(1):227-35
- Meyne F, Gloeckner SF, Ciesielczyk B, Heinemann U, Krasnianski A, Meissner B, Zerr I (2009): Total prion protein levels in the cerebrospinal fluid are reduced in patients with various neurological disorders. *J Alzheimers Dis* 17(4):863-73
- Mines M, Ding Y, Fan GH (2007): The many roles of chemokine receptors in neurodegenerative disorders: emerging new therapeutical strategies. *Curr Med Chem* 4(23):2456-70
- Minnerup J, Sevimli S, Schäbitz WR (2009): Granulocyte-Colony Stimulating Factor for Stroke Treatment: Mechanisms of Action and Efficacy in Preclinical Studies. *Exp Transl Stroke Med* 1:2
- Mitchell R and Cotran R (2003): Acute and chronic inflammation. *Robbins Basic Pathology*, V. Kumar, R. Cotran, und S. Robbins, Eds, Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 2003
- Mitsios N, Saka M, Krupinski J, Pennucci R, Sanfeliu C, Miguel Turu M, Gaffney J, Kumar P, Kumar S, Sullivan M et al. (2007): Cellular prion protein is increased in the plasma and peri-infarcted brain tissue after acute stroke. *J Neurosci Res* 85(3):602-11
- Mitteregger G, Vosko M, Krebs B, Xiang W, Kohlmansperger V, Nölting S, Hamann GF, Kretschmar HA (2007): The role of the octarepeat region in neuroprotective function of the cellular prion protein. *Brain Pathol* 17(2):174-83
- Moorhouse P, Rockwood K (2008): Vascular Cognitive Impairment: Current Concepts and Clinical Developments. *Lancet Neurol* 7(3):246–55
- Mulugeta E, Molina-Holgado F, Elliott MS, Hortobagyi T, Perry R, Kalaria RN, Ballard CG, Francis PT (2008): Inflammatory mediators in the frontal lobe of patients with mixed and vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 25(3):278-86
- Murphy KM, Travers P, Walport M: *Janeway Immunologie*. 7 Auflage; Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009
- Ning ZY, Zhao DM, Yang JM, Cui YL, Meng LP, Wu CD, Liu HX (2005): Quantification of prion gene expression in brain and peripheral organs of golden hamster by real-time RT-PCR. *Anim Biotechnol* 16(1):55-65
- Nishida N, Katamine S, Shigematsu K, Nakatani A, Sakamoto N, Hasegawa S, Nakaoka R, Atarashi R, Kataoka Y, Miyamoto T (1997): Prion protein is necessary for latent learning and long-term memory retention. *Cell Mol Neurobiol* 17(5):537-45

- Nolan JP, Sklar LA (2002): Suspension array technology: evolution of the flat-array paradigm. *Trends Biotechnol* 20(1):9-12
- Nunziante M, Gilch S, Schätzl HM (2003): Prion diseases: from molecular biology to intervention strategies. *Chembiochem* 4(12):1268-84
- Nybo L, Nielsen B, Pedersen BK, Møller K, Secher NH (2002): Interleukin-6 release from the human brain during prolonged exercise. *J Physiol* 542(Pt 3):991-5
- O'Brien JT, Wiseman R, Burton EJ, Barber B, Wesnes K, Saxby B, Ford GA (2002): Cognitive associations of subcortical white matter lesions in older people. *Ann N Y Acad Sci.* 977: 436–444
- O'Brien JT, Erkinjuntti T, Reisberg B, Roman G, Sawada T, Pantoni L, Bowler JV, Ballard C, DeCarli C, Gorelick PB, Rockwood K, Burns A, Gauthier S, DeKosky ST (2003): Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurol* 2(2):89-98
- Oesch B, Westaway D, Walchli M, McKinley MP, Kent SB, Aebersold R, Barry RA, Tempst P, Teplow DB, Hood LE (1985): A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* 40, 735-46
- Olson L, Humpel C (2010): Growth Factors and Cytokines/chemokines as Surrogate Biomarkers in Cerebrospinal Fluid and Blood for Diagnosing Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Experimental gerontology* 45(1):41–46
- Olsson E, Klasson N, Berge J, Eckerström C, Edman A, Malmgren H, Wallin A (2013): White Matter Lesion Assessment in Patients with Cognitive Impairment and Healthy Controls: Reliability Comparisons between Visual Rating, a Manual, and an Automatic Volumetrical MRI Method—The Gothenburg MCI Study. *J Aging Res* 2013: 198471
- Otto M, Lewczuk P, Wiltfang J (2008): Neurochemical approaches of cerebrospinal fluid diagnostics in neurodegenerative diseases. *Methods* 44(4):289-98
- Paganelli R, Di Iorio A, Patricelli L, Ripani F, Sparvieri E, Faricelli R, Iarlori C, Porreca E, Di Gioacchino M, Abate G (2002): Proinflammatory cytokines in sera of elderly patients with dementia: levels in vascular injury are higher than those of mild-moderate Alzheimer's disease patients. *Exp Gerontol* 37(2-3):257-63
- Palmqvist S, Hansson O, Minthon L, Londos E (2009): Practical suggestions on how to differentiate dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease with common cognitive tests. *International journal of geriatric psychiatry* 24(12), 1405–12
- Pantoni L (2010). Cerebral Small Vessel Disease: From Pathogenesis and Clinical Characteristics to Therapeutic Challenges. *Lancet neurology* 9(7), 689–701
- Park L, Zhou P, Koizumi K, El Jamal S, Previti ML, Van Nostrand WE, Carlson G, Iadecola C (2007): Brain and circulating levels of Aβ1-40 differentially contribute to vasomotor dysfunction in the mouse brain. *Stroke* 44(1)198-204
- 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(26):11062-7
- Passos GF, Figueiredo CP, Prediger RD, Pandolfo P, Duarte FS, Medeiros R, Calixto JB (2009): Role of the macrophage inflammatory protein-1alpha/CC chemokine receptor 5 signaling pathway in the neuroinflammatory response and cognitive deficits induced by beta-amyloid peptide. *Am J Pathol* 175(4):1586-97
- Pendlebury ST, Rothwell PM (2009): Risk of recurrent stroke, other vascular events and dementia after transient ischaemic attack and stroke. *Cerebrovasc Dis* 27 Suppl 3:1-11

- Penkowa M, Moos T, Carrasco J, Hadberg H, Molinero A, Bluethmann H, Hidalgo J (1999): Strongly compromised inflammatory response to brain injury in interleukin-6-deficient mice. *Glia* 25(4):343-57
- Perren F, Clarke S, Bogousslavsky J (2005): The Syndrome of Combined Polar and Paramedian Thalamic Infarction. *Archives of neurology* 62(8):1212–16
- Poggesi A, Pantoni L, Inzitari D, Fazekas F, Ferro J, O'Brien J, Hennerici M, Scheltens P, Erkinjuntti T, Visser M et al. The LADIS Study Group (2011): 2001-2011: A Decade of the LADIS (Leukoaraiosis And DISability) Study: What Have We Learned about White Matter Changes and Small-Vessel Disease? *Cerebrovasc Dis* 32(6):577-588
- Pola R, Gaetani E, Flex A, Aloï F, Papaleo P, Gerardino L, De Martini D, Flore R, Pola P, Bernabei R (2002): -174 G/C interleukin-6 gene polymorphism and increased risk of multi-infarct dementia: a case-control study 37(7):949-55
- Pollmächer T, Haack M, Schuld A, Reichenberg A, Yirmiya R (2002): Low levels of circulating inflammatory cytokines--do they affect human brain functions? *Brain Behav Immun* 16(5):525-32. Review
- Popp J, Bacher M, Kölsch H, Noelker C, Deuster O, Dodel R, Jessen F (2009): Macrophage migration inhibitory factor in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res* 43(8):749-53
- Prusiner SB (1982): Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216, 136-44
- Prusiner SB, Groth D, Serban A, Koehler R, Foster D, Torchia M, Burton D, Yang SL, DeArmond SJ (1993): Ablation of the prion protein (PrP) gene in mice prevents scrapie and facilitates production of anti-PrP antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90(22):10608-12
- Prusiner SB (1994): Molecular biology and genetics of prion diseases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 343(1306):447-63
- Prusiner SB (1998): Prions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(23):13363-83. Review.
- Puckett C, Concannon P, Casey C, Hood L (1991): Genomic structure of the human prion protein gene. *Am J Hum Genet* 49, 320-9
- Qiu C, De Ronchi D, Fratiglioni L (2007): The epidemiology of the dementias: an update. Review. *Curr Opin Psychiatry* 20(4):380-5
- Rafnsson SB, Deary IJ, Smith FB, Whiteman MC, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG (2007): Cognitive decline and markers of inflammation and hemostasis: the Edinburgh Artery Study. *J Am Geriatr Soc* 55(5):700-7
- Ramljak S, Schmitz M, Zafar S, Wrede A, Schenkel S, Asif AR, Carimalo J, Doeppner TR, Schulz-Schaeffer WJ, Weise J, Zerr I (2015): Cellular prion protein directly interacts with and enhances lactate dehydrogenase expression under hypoxic conditions. *Exp Neurol* 271:155-67
- Ramos-Estébanez C, Moral-Arce I, Muñoz-Arrondo R, González-Mandly A, Matorras-Galán P, González-Macias J, Hernández-Hernández JL (2008): Vascular cognitive impairment: prodromal stages of ischemic vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 25(5):451-60
- Ray S, Britschgi M, Herbert C, Takeda-Uchimura Y, Boxer A, Blennow K, Friedman LF, Galasko DR, Jutel M, Karydas A et al. (2007): Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nat Med* 13(11):1359-62

- Riek R, Hornemann S, Wider G, Billeter M, Glockshuber R, Wüthrich K (1996): NMR structure of the mouse prion protein domain PrP(121-231). *Nature* 382(6587):180-2
- Riesner D (2003): Biochemistry and structure of PrP^C and PrP^{Sc}. *British Medical Bulletin* 66: 21–33
- Rincon F, Wright CB (2013): Vascular Cognitive Impairment. *Current opinion in neurology* 26(1):29–36
- Ringelstein EB, Kuhlenbäumer G (2004): Zerebrale Mikroangiopathien. *Klin Neuroradiol* 14, 64-76
- Rivera-Milla E, Oidtmann B, Panagiotidis CH, Baier M, Sklaviadis T, Hoffmann R, Zhou Y, Solis GP, Stuermer CA, Málaga-Trillo E (2006): Disparate evolution of prion protein domains and the distinct origin of Doppel- and prion-related loci revealed by fish-to-mammal comparisons. *FASEB J* 20(2):317-9
- Reuser M, Bonneux L, Willekens F (2010): The Effect of Risk Factors on the Duration of Cognitive Impairment: A Multistate Life Table Analysis of the U.S. Health and Retirement Survey. *Netspar discussion Paper* 01/2010-036
- Roberts TK, Eugenin EA, Morgello S, Clements JE, Zink MC, Berman JW (2010): PrP^C, the cellular isoform of the human prion protein, is a novel biomarker of HIV-associated neurocognitive impairment and mediates neuroinflammation. *Am J Pathol* 177(4):1848-60
- Rockwood K, Black SE, Song X, Hogan DB, Gauthier S, MacKnight C, Vanderp R, Guzman A, Montgomery P, Kertesz A, Bouchard RW, Feldman H (2006): Clinical and radiographic subtypes of vascular cognitive impairment in a clinic-based cohort study. *J Neurol Sci* 240(1-2):7-14
- Román GC, Erkinjuntti T, Wallin A, Pantoni L, Chui HC (2002): Subcortical ischaemic vascular dementia. *Lancet Neurol* 1(7), 426-36
- Román GC, Sachdev PS, Royall D, Bullock R, Orgogozo JM, Lopez-Posa S (2004): Vascular Cognitive Disorder: A New Diagnostic Category Updating Vascular Cognitive Impairment and Vascular Dementia. *Journal of the neurological sciences* 226(1-2), 81–87
- Ronga L, Tizzano B, Palladino P, Ragone R, Urso E, Maffia M, Ruvo M, Benedetti E, Rossi F (2006): The prion protein: Structural features and related toxic peptides. *Chem Biol Drug Des* 68(3):139-47. Review
- Rossi D (2000): The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 18:217–242
- Rothenburg LS, Herrmann N, Swardfager W, Black SE, Tennen G, Kiss A, Gladstone DJ, Ween J, Sniderman A, Lanctôt KL (2010): The relationship between inflammatory markers and post stroke cognitive impairment. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 23(3):199-205
- Roucou X, LeBlanc AC (2005): Cellular prion protein neuroprotective function: implications in prion diseases *J Mol Med (Berl)* 83(1):3-11. Review
- Royall DR, Cordes JA, Polk M (1998): CLOX: an executive clock drawing task. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 64(5):588-94
- Rubio-Perez JM, Morillas-Ruiz JM (2012): A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. *ScientificWorldJournal* 2012:756357

- Sachdev PS, Chen X, Joscelyne A, Wen W, Altendorf A, Brodaty H (2007): Hippocampal size and dementia in stroke patients: the Sydney stroke study. *J Neurol Sci* 260(1-2):71-7
- Salka SS, van der Flier WM, van Straaten ECW, Lane R, Barkhof F, Scheltens P (2008). Neurological Signs in Relation to Type of Cerebrovascular Disease in Vascular Dementia. *Stroke* 39: 317-322
- Sallam K, Amr M (2013): The Use of the Mini-Mental State Examination and the Clock-Drawing Test for Dementia in a Tertiary Hospital. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR* 7(3):484–88
- Saresella M, Calabrese E, Marventano I, Piancone F, Gatti A, Alberoni M, Nemni R, Clerici M (2011): Increased activity of Th-17 and Th-9 lymphocytes and a skewing of the post-thymic differentiation pathway are seen in Alzheimer's disease. *Brain Behav Immun* 25(3):539-47
- Sauer H, Wefer K, Vetrugno V, Pocchiari M, Gissel C, Sachinidis A, Hescheler J, Wartenberg M (2003): Regulation of intrinsic prion protein by growth factors and TNF-alpha: the role of intracellular reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med* 35(6):586-94
- Schmidt C, Becker H, Peter C, Lange K, Friede T, Zerr I (2014): Plasma prion protein concentration and progression of Alzheimer disease. *Prion* 8(2)
- Schmitz G, Endres S, Götte S (2008): Biomarker - Bedeutung für den medizinischen Fortschritt und Nutzenbewertung. Schattauer Verlag, Stuttgart 2008
- Schmitz M, Schlomm M, Hasan B, Beekes M, Mitrova E, Korth C, Breil A, Carimalo J, Gawinecka J, Varges D, Zerr I (2010): Codon 129 polymorphism and the E200K mutation do not affect the cellular prion protein isoform composition in the cerebrospinal fluid from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Eur J Neurosci* 31(11):2024-31
- Schmitz M, Lüllmann K, Zafar S, Ebert E, Wohlhage M, Oikonomou P, Schlomm M, Mitrova E, Beekes M, Zerr I (2014): Association of prion protein genotype and scrapie prion protein type with cellular prion protein charge isoform profiles in cerebrospinal fluid of humans with sporadic or familial prion diseases. *Neurobiol Aging* 35(5):1177-88
- Schmitz M, Hermann P, Oikonomou P, Stoeck K, Ebert E, Poliakova T, Schmidt C, Llorens F, Zafar S, Zerr I (2015): Cytokine profiles and the role of cellular prion protein in patients with vascular dementia and vascular encephalopathy. *Neurobiol Aging* 36(9):2597-606
- Schneider A, Krüger C, Steigleder T, Weber D, Pitzer C, Laage R, Aronowski J, Maurer MH, Gassler N, Mier W, Hasselblatt M, Kollmar R, Schwab S, Sommer C, Bach A, Kuhn HG, Schäbitz WR (2005a): The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis. *J Clin Invest* 115(8):2083-98
- Schneider A, Kuhn HG, Schäbitz WR (2005b): A role for G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) in the central nervous system. *Cell Cycle* 4(12): 1753-7
- Schneider JA, Bienias JL, Wilson RS, Berry-Kravis E, Evans DA, Bennett DA (2005): The apolipoprotein E epsilon4 allele increases the odds of chronic cerebral infarction [corrected] detected at autopsy in older person. *Stroke* 36(5):954-9.
- Schütt C, Bröker B (2009). Zytokine und Zytokinrezeptoren. *Grundwissen Immunologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg* 2009

- Seiler S, Cavalieri M, Schmidt R (2012): Vascular Cognitive Impairment - an Ill-Defined Concept with the Need to Define Its Vascular Component. *Journal of the neurological sciences* 322(1-2):11–16
- Selnes OA, Vinters HV (2006). Vascular cognitive impairment. *Nat Clin Pr. Neuro* 2, 538–547
- Shyu WC, Lin SZ, Chiang MF, Ding DC, Li KW, Chen SF, Yang HI, Li H (2005): Overexpression of PrPC by adenovirus-mediated gene targeting reduces ischemic injury in a stroke rat model. *J Neurosci* 25(39):8967-77
- Sjögren M, Blomberg M, Jonsson M, Wahlund LO, Edman A, Lind K, Rosengren L, Blennow K, Wallin A (2001): Neurofilament protein in cerebrospinal fluid: a marker of white matter changes. *J Neurosci Res* 66(3):510-6
- Smith EE, Greenberg SM (2009): Beta-amyloid, blood vessels, and brain function. *Stroke* 40(7):2601-6
- Sonnen JA, Larson EB, Crane PK, Haneuse S, Li G, Schellenberg GD, Craft S, Leverenz JB, Montine TJ (2007): Pathological correlates of dementia in a longitudinal, population-based sample of aging. *Ann Neurol* 62(4):406-13
- Spies PE, Slats D, Sjögren JM, Kremer BP, Verhey FR, Rikkert MG, Verbeek MM (2010): The cerebrospinal fluid amyloid beta_{42/40} ratio in the differentiation of Alzheimer's disease from non-Alzheimer's dementia. *Curr Alzheimer Res* 7(5):470-6
- Spitzer P, Klafki HW, Blennow K, Buée L, Esselmann H, Herruka SK, Jimenez C, Klivenyi P, Lewczuk P, Maler JM et al. (2010): cNEUPRO: Novel Biomarkers for Neurodegenerative Diseases. *Int J Alzheimers Dis* 2010: 548145
- Spudich A, Frigg R, Kilic E, Kilic U, Oesch B, Raeber A, Bassetti CL, Hermann DM (2005): Aggravation of ischemic brain injury by prion protein deficiency: role of ERK-1/-2 and STAT-1. *Neurobiol Dis* 20(2):442-9
- Starke R, Drummond O, MacGregor I, Biggersta VJ, Gale R, Camilleri R, Mackie I, Machin S, Harrison P (2002): The expression of prion protein by endothelial cells: a source of the plasma form of prion 568 protein? *Br J Haematol* 119: 863-873
- Steinberg TA, Boettcher IC, Matiasek K, Hirschvogel K, Hartmann K, Kunz A, Fischer A (2008): Use of albumin quotient and IgG index to differentiate blood- vs brain-derived proteins in the cerebrospinal fluid of cats with feline infectious peritonitis. *Vet Clin Pathol* 37(2):207-16
- Steinman L (2007): A brief history of TH17, the first major revision in the T H1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nature Medicine*, vol. 13, no. 2, 139–145
- Streifler JY, Eliasziw M, Benavente OR, Alamowitch S, Fox AJ, Hachinski V, Barnett HJ (2003): North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Group: Development and progression of leukoaraiosis in patients with brain ischemia and carotid artery disease. *Stroke*. 34(8):1913-6
- Stoeck K, Schmitz M, Ebert E, Schmidt C, Zerr I (2014): Immune responses in rapidly progressive dementia: a comparative study of neuroinflammatory markers in Creutzfeldt-Jakob disease, Alzheimer's disease and multiple sclerosis. *J Neuroinflammation* 11: 577 170
- Sunyach C, Jen A, Deng J, Fitzgerald KT, Frobert Y, Grassi J, McCaffrey MW, Morris R (2003): The mechanism of internalization of glycosylphosphatidylinositol-anchored prion protein. *EMBO J* 22(14):3591-601

- Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N (2010): A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 68(10):930-41
- Tarkowski E, Rosengren L, Blomstrand C, Jensen C, Ekholm S, Tarkowski A (1999): Intrathecal expression of proteins regulating apoptosis in acute stroke. *Stroke* 30(2):321-7
- Tarkowski E, Wallin A, Regland B, Blennow K, Tarkowski A (2001): Local and systemic GM-CSF increase in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Acta Neurol Scand* 103(3):166-74
- Taylor WD, Aizenstein HJ, Alexopoulos GS (2013): The Vascular Depression Hypothesis: Mechanisms Linking Vascular Disease with Depression. *Molecular psychiatry* 18(9):963-74.
- Tekin S, Aykut C, Ozgün S, Aktan S (1996): The role of autoimmunity in vascular dementia. *Dementia* 7(2):91-4
- Tobler I, Gaus SE, Deboer T, Achermann P, Fischer M, Rülicke T, Moser M, Oesch B, McBride PA, Manson JC (1996): Altered circadian activity rhythms and sleep in mice devoid of prion protein. *Nature* 380(6575):639-42
- Tso AR, Merino JG, Warach S. (2007): Interleukin-6 174G/C polymorphism and ischemic stroke: a systematic review 38(11):3070-5
- Uslu S, Akarkarasu ZE, Ozbabalik D, Ozkan S, Colak O, Demirkan ES, Ozkiris A, Demirustu C, Alatas O (2012): Levels of amyloid beta-42, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurochem Res* 37(7):1554-9
- van Dijk EJ, Prins ND, Vrooman HA, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM (2008): Progression of cerebral small vessel disease in relation to risk factors and cognitive consequences: Rotterdam Scan study. *Stroke* 39(10):2712-9
- van Exel E, Eikelenboom P, Comijs H, Frölich M, Smit JH, Stek ML, Scheltens P, Eefsting JE, Westendorp RG (2009): Vascular factors and markers of inflammation in offspring with a parental history of late-onset Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* 66(11):1263-70
- Vassallo N, Herms J (2003): Cellular prion protein function in copper homeostasis and redox signalling at the synapse. *J Neurochem* 86(3):538-44. Review
- Vassallo N, Herms J, Behrens C, Krebs B, Saeki K, Onodera T, Windl O, Kretschmar HA (2005): Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by cellular prion protein and its role in cell survival. *Biochem Biophys Res Commun* 332(1):75-82
- Vermeer SE, Prins ND, den Heijer T, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM (2003): Silent brain infarcts and the risk of dementia and cognitive decline. *N Engl J Med* 27;348(13):1215-22
- Wada-Isoe K, Wakutani Y, Urakami K, Nakashima K (2004): Elevated interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid of vascular dementia patients. *Acta Neurol Scand* 110(2):124-7
- Wahlund LO, Barkhof F, Fazekas F, Bronge L, Augustin M, Sjögren M, Wallin A, Ader H, Leys D, Pantoni L et al. European Task Force on Age-Related White Matter Changes (2001): A new rating scale for age-related white matter changes applicable to MRI and CT. *Stroke* 32(6):1318-22
- Wallesch CW, Först H (2012): *Demenzen*. 2 Auflage; Thieme Verlag, Stuttgart.
- Wallin A, Ohrfelt A, Bjerke M (2012): Characteristic Clinical Presentation and CSF Biomarker Pattern in Cerebral Small Vessel Disease. *J Neurol Sci* 322(1-2):192–96

- Weise J, Crome O, Sandau R, Schulz-Schaeffer W, Bähr M, Zerr I (2004): Upregulation of cellular prion protein (PrP^C) after focal cerebral ischemia and influence of lesion severity. *Neurosci Lett* 372:146-150
- 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(5):1296-300
- Weise J, Doeppner TR, Müller T, Wrede A, Schulz-Schaeffer W, Zerr I, Witte OW, Bähr M (2008): Overexpression of cellular prion protein alters postischemic Erk1/2 phosphorylation but not Akt phosphorylation and protects against focal cerebral ischemia. *Restor Neurol Neurosci* 26(1):57-64
- WHO (1998): Human transmissible spongiform encephalopathies. *Wkly Epidemiol Rec* 47, 361-365
- WHO (2013): The European health report 2012 : charting the way to well-being. WHO Library Cataloguing in Publication Data. WHO Regional Office for Europe
- Wiederkehr S, Simard M, Fortin C, van Reekum R (2008a): Comparability of the clinical diagnostic criteria for vascular dementia: a critical review. Part I. *Neuropsychiatry Clin Neurosci* 20(2):150-61
- Wiederkehr S, Simard M, Fortin C, van Reekum R (2008b): Validity of the clinical diagnostic criteria for vascular dementia: a critical review. Part II. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 20(2):162-77
- Wilson CJ, Finch CE, Cohen HJ (2002): Cytokines and cognition--the case for a head-to-toe inflammatory paradigm. *J Am Geriatr Soc* 50(12):2041-56
- Wiltfang J1, Esselmann H, Bibl M, Hüll M, Hampel H, Kessler H, Frölich L, Schröder J, Peters O, Jessen F, Luckhaus C, Pernecky R, Jahn H, Fiszer M, Maler JM, Zimmermann R, Bruckmoser R, Kornhuber J, Lewczuk P. (2007): Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load. *J Neurochem.* 101(4):1053-9
- Zahn R, Liu A, Lührs T, Riek R, von Schroetter C, López García F, Billeter M, Calzolari L, Wider G, Wüthrich K (2000): NMR solution structure of the human prion protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(1):145-50
- Zanata SM, Lopes MH, Mercadante AF, Hajj GN, Chiarini LB, Nomizo R, Freitas AR, Cabral AL, Lee KS, Juliano MA et al. (2002): Stress-inducible protein 1 is a cell surface ligand for cellular prion that triggers neuroprotection. *EMBO J* 21(13):3307-16
- Zhang AJ, Yu XJ, Wang M (2010): The clinical manifestations and pathophysiology of cerebral small vessel disease. *Neurosci Bull.* 26(3):257-64
- Zlokovic BV (2011): Neurovascular Pathways to Neurodegeneration in Alzheimer's Disease and Other Disorders. *Nat Rev Neurosci* 12(12):723–38
- Zomosa-Signoret V, Arnaud JD, Fontes P, Alvarez-Martinez MT, Liautard JP (2008): Physiological role of the cellular prion protein. *Vet Res* 39(4):9
- Zou WQ, Zhou X, Yuan J, Xiao X (2011): Insoluble cellular prion protein and its association with prion and Alzheimer diseases. *Prion* 5(3):172-8
- Zuliani G, Ranzini M, Guerra G, Rossi L, Munari MR, Zurlo A, Volpato S, Atti AR, Blè A, Fellin R (2007): Plasma cytokines profile in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Psychiatr Res* 41(8):686-93

Publikation und Poster der vorgelegten Dissertationsschrift

- Schmitz M, Hermann P, Oikonomou P, Stoeck K, Ebert E, Poliakova T, Schmidt C, Llorens F, Zafar S, Zerr I (2015): Cytokine profiles and the role of cellular prion protein in patients with vascular dementia and vascular encephalopathy. *Neurobiol Aging* 36(9):2597-606
- P. Oikonomou, M. Schmitz, E. Ebert, P. Hermann, I. Zerr (2014): Analyse von Entzündungsmarkern und einer möglichen Funktion des zellulären Prion Proteins in Patienten mit Subkortikaler Vaskulärer Enzephalopathie und Vaskulärer Demenz. *Neuro Woche 2014 und 87 Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie*, September 2014
- P. Oikonomou, M. Schmitz, E. Ebert, K. Stoeck, P. Hermann, I. Zerr (2013): Cytokines profile in patients with Subcortical Vascular Encephalopathy (SVE) and Vascular Cognitive Impairment (VCI). *8th international Congress of Vascular dementia*, Oktober 2013.

Danksagung

Ich danke herzlich Frau Professor Dr. med. I Zerr für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Betreuung der vorliegenden Arbeit sowie Herrn Dr. rer. nat. Mathias Schmitz für die enge Betreuung und Motivation. Darüber hinaus danke ich dem ganzen Team im Labor des nationalen Referenzzentrums für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien für die hilfreiche Unterstützung und die angenehmere Atmosphäre. Schließlich danke ich allen Mitarbeitern der medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität, die meine Promotion ermöglichten.

Lebenslauf

Am 29. Dezember 1988 wurde ich als zweites Kind vom Ilias Oikonomou und Maria Panahlidou in Thessaloniki, Griechenland geboren. Vom 1994 bis 2000 besuchte ich die Grundschule in Ioannina und in Xanthi, Griechenland. Vom 2000 bis 2006 ging ich ins erste Gymnasium und Lyzeum in Xanthi und 2006 absolvierte ich das Abitur und bekam die Zulassung zu der Medizinischen Fakultät der Aristoteles- Universität- Thessaloniki (AUTH). Mein Studium an der AUTH begann ich im Wintersemester 2006/2007. Im vierten Jahr des Studiums (2009/2010) bekam ich ein Stipendium wegen herausragender Leistungen durch die staatliche Stipendienstiftung. Mein praktisches Jahr (2011/2012) absolvierte ich im Rahmen des Erasmus-Programms im Klinikum der Georg-August-Universität Göttingen. Ab Oktober 2012 habe ich meine Promotion unter Betreuung vom Prof. Dr. I. Zerr begonnen und war bis September 2013 als Stipendiat im Labor des Nationalen Referenz- Zentrums für TSE tätig. Im Februar 2013 habe ich meine Approbation als Arzt von der Ärztekammer Niedersachsen bekommen. Ab Oktober 2013 begann ich meine Facharztausbildung für Neurologie im Uniklinikum Göttingen. Dort war ich auf einer neurologischen Normalstation tätig. Ab April 2014 wechselte ich ins Neurologische Zentrum der Asklepios Kliniken Schilautal in Seesen. Dort war ich in der Klinik für neurologische Rehabilitation und Frührehabilitation tätig. Ab Dezember 2015 führe ich meine Facharztausbildung für Neurologie im Klinikum Stuttgart fort und seitdem bin ich auf der neurologischen Intensivstation tätig.