

**Aus der  
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Direktor: Herr Prof. Dr. med. H.- J. Möller**

**Blutbasierte Mikrozirkulationsmarker bei der  
Alzheimer-Demenz**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Maria Katharina Laura Knauer

aus

München

2010

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Katharina Bürger

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Adrian Danek  
Priv. Doz. Dr. Regina Fluhner

Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: Priv. Doz. Dr. med. Katharina Bürger

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 18.11.2010

*für*

*H. und M. Knauer*

# INHALTSVERZEICHNIS

1 Zusammenfassung	3
2 Einleitung	5
2.1 Grundlagen	5
2.1.1 Einführung	5
2.1.2 Epidemiologie	5
2.1.3 Neuropathologie der AD	6
2.1.3.1 Amyloidplaques	7
2.1.3.2 Neurofibrilläre Bündel	8
2.1.4 Pathogenese	10
2.1.5 Risikofaktoren der sporadischen AD	11
2.1.5.1 Alter und Vorliegen leicht- bis mäßiggradiger kognitiver Störungen	12
2.1.5.2 Genetische Risikofaktoren und ApoE $\epsilon$ 4	12
2.1.5.3 Kardio- und zerebrovaskuläre Risikofaktoren	13
2.1.6 Klinik, Verlauf und Prognose	14
2.1.7 Diagnose und Differentialdiagnose der AD	15
2.1.7.1 Diagnosestellung	15
2.1.7.2 Differentialdiagnose	16
2.1.8 Therapie	17
2.2 Biomarker	19
2.2.1 Endothelin-1/C-terminales Endothelin-1 (CT-proET-1)	20
2.2.2 Adrenomedullin/Mittelregionales pro-Adrenomedullin (MR-proADM)	22
2.2.3 Atriales natriuretisches Peptid/ Mittelregionales pro-atriales natriuretisches Peptid (MR-proANP)	23
2.3 Zielsetzung	25
3. Material- und Methodenteil	26
3.1. Kollektiv	26
3.1.1 Patienten	26
3.1.2 Kontrollen	26
3.2 Methodik	28
3.2.1. Anamnese, körperliche und neurologische Untersuchung	28
3.2.2. Psychometrische Testung	29
3.2.2.1. CERAD-Testung	29

3.2.2.2 Uhrzeichentest _____	31
3.2.3. Labormethoden _____	32
3.2.3.1. Blutentnahme und Probengewinnung _____	32
3.2.3.2 Biomarker-Messungen _____	32
3.2.4 Statistische Verfahren _____	37
4 Ergebnisse _____	40
4.1 Deskriptive Übersicht über Studienkollektiv und Biomarker _____	40
4.1.1 Übersicht über das Studienkollektiv _____	40
4.1.2 Übersicht über die Biomarker _____	43
4.1.3 Übersicht über das Trainings- /Testset _____	46
4.2 Spezifität und Sensitivität der Einzelmarker und der Ratio Indices _____	48
4.3 Diagnostische Vorhersagegenauigkeit der Ratio Indices _____	49
4.3.1 Diagnostische Vorhersagegenauigkeit des Ratio Indices MR-proANP/CT-proET-1 _	49
4.3.2 Diagnostische Vorhersagegenauigkeit des Ratio Indices MR-proADM/CT-proET-1 _	51
5. Diskussion _____	54
5.1 Pathophysiologischer/neuropathologischer Hintergrund der untersuchten Peptide CT-proET-1, MR-proADM und MR-proANP _____	54
5.1.1 CT-proET-1 _____	55
5.1.2. MR-proADM _____	56
5.1.3. MR-proANP _____	56
5.2 CT-proET-1, MR-proANP, MR-proADM und die Ratio indices Vasodilatoren/Vasokonstriktor als Blutbiomarker der AD _____	58
5.2.1 CT-proET-1, MR-proANP, MR-proADM als Blutbiomarker der AD _____	58
5.2.2. Ratio indices der Vasodilatoren/Vasokonstriktor als Blutbiomarker der AD _____	58
5.2.3 Wertigkeit der Marker und des Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 als Blutbiomarker der AD _____	59
5.2.4 Erfüllen die Marker und der Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 die Kriterien eines „idealen“ Blutbiomarker der AD? _____	61
6 Abkürzungen und Fachbegriffe _____	64
7 Anhang _____	66
8 Literaturverzeichnis _____	70
9 Publikationen und Vorträge _____	80
10 Danksagung _____	81
11 Curriculum vitae _____	82

# 1 Zusammenfassung

Die Alzheimer-Demenz (AD) ist eine fortschreitende neurodegenerative Erkrankung und durch den demographischen Wandel ein weltweit wachsendes Problem. Eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der AD nehmen vaskuläre Risikofaktoren ein, die zu einer Veränderung der zerebralen Mikrozirkulation führen. Trotz innovativer Fortschritte im Bereich der Diagnostik und insbesondere im Bereich der Biomarkerforschung gibt es bislang keinen Biomarker, der bereits in einem frühen Stadium der AD die Diagnosestellung mit hinreichend hoher Wahrscheinlichkeit unterstützt.

In der vorliegenden Arbeit wurden prospektiv im Blut von 94 Patienten mit einer AD und 53 gesunden Kontrollen die (Mikro-) Zirkulationsmarker CT-proET-1, MR-proADM und MR-proANP als potentielle Biomarker einer AD untersucht. Die Analysen des Blutplasmas erfolgten verblindet mit Sandwich-Immunoassaysystemen. Zuerst wurden die Konzentrationen der Einzelmarker und ihrer Ratio Indices (Vasodilatator/Vasokonstriktor) zwischen beiden Diagnosegruppen verglichen. In einem zweiten Schritt wurde zur Untersuchung der Vorhersagegenauigkeit der Marker das Gesamtkollektiv in ein Trainings- und ein Testset unterteilt, das jeweils aus der Hälfte der AD-Patienten und gesunden Kontrollen bestand. Der im Trainingsset errechnete optimale Cut off Wert wurde auf das Testset übertragen und daraus die Sensitivität und Spezifität ermittelt.

In der Gruppe der AD-Patienten waren die Konzentrationen der Marker MR-proADM und MR-proANP gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht, dagegen die Konzentration von CT-proET-1 signifikant erniedrigt. Die errechneten Ratio Indices der Vasodilatoren/Vasokonstriktoren konnten in einer logistischen Regressionsanalyse signifikant zwischen den Diagnosegruppen unterscheiden. Der höchste diagnostische Voraussagewert wurde hierbei mit dem Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 mit einer Spezifität von 82% und einer Sensitivität von 81% beim Trainingsset und einer Spezifität von 80% und einer Sensitivität von 72% beim Testset erreicht.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen stützt die Hypothese einer gestörten mikrovaskulären Homöostase bei der AD. Die Kombination der Blutmarker MR-proANP und CT-proET-1 könnte eine vielversprechende Ergänzung der diagnostischen Marker der AD sein. Dieser Befund bedarf einer Bestätigung durch weitere klinische Untersuchungen.



# 2 Einleitung

## 2.1 Grundlagen

### 2.1.1 Einführung

Die Demenz vom Alzheimer-Typ wurde 1906 von dem deutschen Nervenarzt Alois Alzheimer (1864-1915) erstmals klinisch an dem Fall seiner Patientin Auguste D. beschrieben, die fünf Jahre lang an fortschreitenden kognitiven Defiziten litt. Nach deren Tod im April 1906 untersuchte Alois Alzheimer das Gehirn seiner Patientin. Er fand in ihrem Gehirn Amyloidablagerungen, neurofibrilläre Bündel und arteriosklerotische Veränderungen. 1911 wurde der Begriff „Alzheimer-Demenz“ (AD) von Kraepelin für die präsenile Demenz eingeführt.<sup>1</sup> Zunächst bezog sich der Begriff der AD also nur auf diejenigen Demenzen, die vor dem 65. Lebensjahr auftraten und durch die Trias der Amyloidplaques, der neurofibrillären Bündel und der Zellatrophie gekennzeichnet waren.<sup>2</sup> Seit den 70er Jahren werden auch alle senilen Demenzen, die weder klinisch noch pathologisch oder anatomisch Unterschiede zur AD aufweisen, dieser Gruppe zugeordnet.<sup>3</sup>

Heute klassifiziert man die Erkrankung insbesondere nach pathogenetischen Gesichtspunkten und unterscheidet in erster Linie die familiäre und damit genetische Form von der sporadischen Form der AD, die in der Regel im Senium auftritt und polyätiologischer Genese ist.

### 2.1.2 Epidemiologie

Die Alzheimer-Erkrankung ist weltweit ein großes und durch den demographischen Wandel wachsendes Problem.

Die Delphi Consensus Studie aus dem Jahr 2005 schätzt die weltweite Zahl an Demenzerkrankten auf 24,3 Millionen Menschen mit einer Neuerkrankungsrate von 4,6 Millionen pro Jahr und erwartet 81,1 Millionen Erkrankte im Jahre 2040.<sup>4</sup>

In Deutschland wird aktuell von 1,0-1,5 Millionen Demenzkranker ausgegangen, von denen 765 000 bis 1,1 Millionen Patienten an einer AD leiden.

Die AD, die circa zwei Drittel aller Demenzen bedingt, ist die wichtigste Ursache dementieller Störungen. Die Prävalenz der AD ist deutlich altersabhängig und steigt von



weniger als 1% in der Altersgruppe der 65-75 Jährigen auf fast 30% bei den über 85-jährigen an.<sup>5</sup> Eine Metaanalyse, basierend auf elf europäischen Studien aus dem Jahr 2000, ergab bei über 65-jährigen eine durchschnittliche Prävalenz von 4,4% und zeigt eine Verdopplung der Prävalenzrate alle 4-5 Lebensjahre.<sup>6</sup>

Der weitaus überwiegende Teil der Erkrankten ist der Gruppe der sporadischen AD zuzuordnen. Weniger als 5 % der Patienten ist von der familiären AD betroffen.

### 2.1.3 Neuropathologie der AD

Die von Alois Alzheimer vor über einem Jahrhundert beschriebenen morphologischen Veränderungen finden sich in unterschiedlichem Ausmaß in allen Gehirnen von Patienten mit einer AD.

Makroskopisch ist die AD durch eine ausgeprägte Gehirnatrophie charakterisiert, wobei der temporoparietale und frontale Kortex, sowie die Hippokampusformationen besonders betroffen sind.<sup>7</sup>



Abb. 1: Gehirn bei M. Alzheimer mit typischer temporoparietaler Atrophie (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. H. Braak)

Mikroskopisch kennzeichnend sind umfangreiche Ablagerungen durch extrazelluläre Amyloidplaques und intrazelluläre neurofibrilläre Bündel.

Das Verteilungsmuster der Amyloidablagerungen unterscheidet sich allerdings von dem

der neurofibrillären Bündel. Auch treten erst im Endstadium der AD beide Läsionen gleichermaßen auf.

### 2.1.3.1 Amyloidplaques

Die zentralen neuropathologischen Veränderungen sind zum einen die Amyloidplaques<sup>8</sup>, wobei bei den Patienten Plaques verschiedener Stadien gefunden werden können.<sup>9, 10</sup> Man unterscheidet nach ihrer Struktur diffuse, primitive, neuritische und „burned out“ Plaques.<sup>11</sup>

Die extrazellulär liegenden Plaques bestehen aus einer verdichteten Proteinablagerung und haben einen Durchmesser von 10 bis 150  $\mu\text{m}$ . Die Proteinablagerungen bestehen hauptsächlich aus einem 39 bis 43 Aminosäuren umfassenden Peptid das fibrillär angeordnet ist und auf Grund seiner  $\beta$ -Faltblatt Struktur A $\beta$ -Peptid oder  $\beta$ -Amyloid genannt wird. A $\beta$  entsteht nach Spaltung durch die  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase aus dem Vorläuferprotein Amyloid Precursor Protein (APP), einem Transmembranprotein. Je nach Schnittstelle resultieren unterschiedliche A $\beta$ -Peptide. Ein geringer Anteil ist N- und C-terminal verkürzt, der vorherrschende Teil der A $\beta$ -Peptide ist 40-43 Aminosäuren lang (A $\beta_{40}$ , A $\beta_{42}$ , A $\beta_{43}$ ) und besitzt je nach Schnittstelle und Länge unterschiedliches biochemisches und biophysikalisches Verhalten.<sup>12, 13</sup>

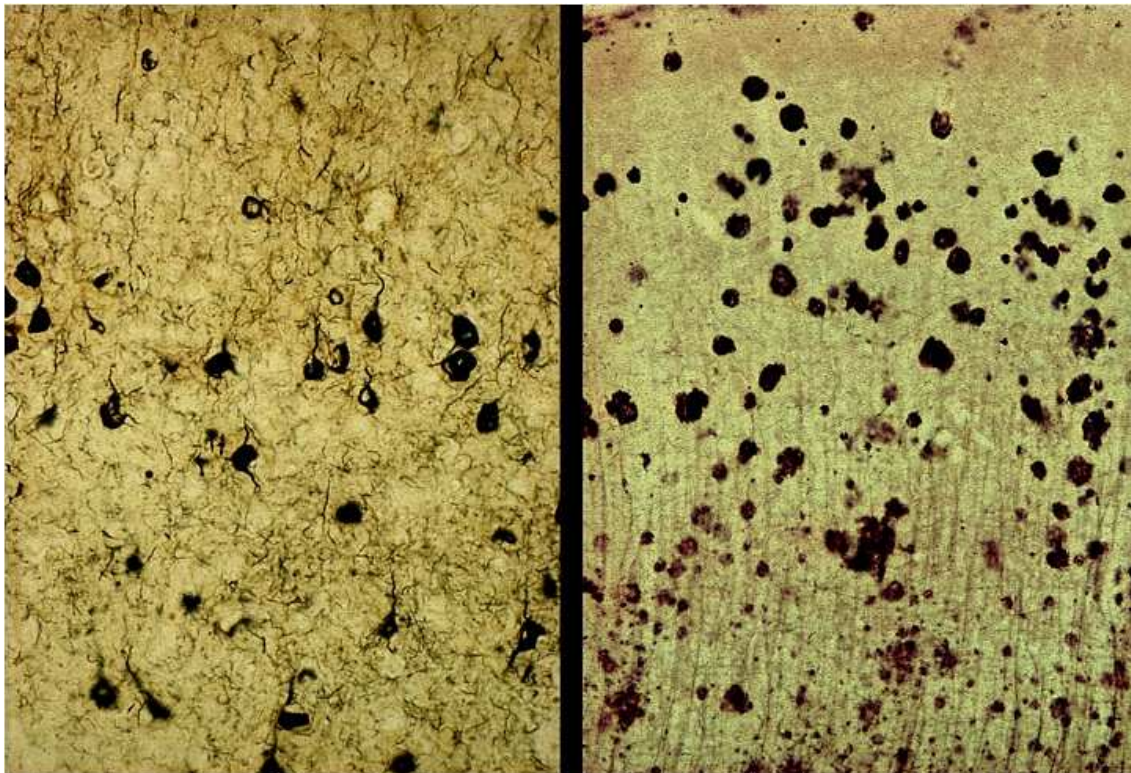


Abb.2:  $\beta$ -Amyloidplaques, Versilberung, (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. H. Braak)

Die neurotoxische Wirkung von A $\beta$  scheint maßgeblich durch den Aggregationszustand bestimmt zu werden.<sup>14</sup> Das längere A $\beta$ <sub>42</sub>, das den überwiegenden Anteil in den AD-Plaques ausmacht, zeigt eine sehr hohe Aggregationsneigung und lagert sich mit weiteren A $\beta$ -Peptiden zu löslichen, toxischen Oligomeren zusammen.<sup>15</sup> Diese Oligomere scheinen inhibitorischen Einfluss auf die synaptische Plastizität zu haben und führen somit höchstwahrscheinlich zu einem progredienten Synapsenverlust.<sup>16, 17</sup>

Lange ging man davon aus, dass erst die Plaques selbst krankheitsverursachend sind. In den letzten Jahren konnte aber gezeigt werden, dass es bereits vor Auftreten von A $\beta$ -Plaques zu Einbußen der kognitiven Leistungen kommt und vielmehr die im Liquor frei zirkulierenden, toxischen Oligomere pathogen sind und mit dem Krankheitsausmaß korrelieren.<sup>18, 19</sup> Die Plaques scheinen möglicherweise durch eine immunvermittelte Entzündungsreaktion zur Neutralisation der toxischen Oligomere zu entstehen.<sup>20</sup> Sie treten überwiegend in der Entorhinalrinde, dem Hippocampus sowie der Großhirnrinde auf, sind in fortgeschrittenen Stadien zudem in den Stammganglien, der Kleinhirnrinde und anderen subkortikalen Strukturen zu finden.<sup>21</sup> und korrelieren nicht mit dem Schweregrad der kortikalen Dysfunktion.<sup>22</sup>

### **2.1.3.2 Neurofibrilläre Bündel**

Die aus abnorm hyperphosphoryliertem Tau-Protein bestehenden neurofibrillären Bündel (neurofibrilläre Tangles, NFT's) sind das zweite wesentliche Merkmal der AD.<sup>23</sup> Diese treten insbesondere in den Neuronen, aber auch in Gliazellen auf<sup>24</sup> und korrelieren mit dem Erkrankungsgrad der Patienten.<sup>25</sup>

Das normale Tau-Protein fungiert im Gegensatz zum pathologischen Tau-Protein als Stabilisator der intrazellulären Mikrotubuli. Diese spielen im Bereich der axonalen Transportvorgänge und der zellulären Regulationsvorgänge eine entscheidende Rolle.<sup>26</sup> Das hyperphosphorylierte Tau entsteht durch die Phosphorylierung des Tau-Proteins an verschiedenen Epitopen.<sup>27</sup> Dieses pathologische Tau-Protein akkumuliert intrazellulär und bildet neurofibrilläre Tangles aus. Durch den Funktionsverlust des hyperphosphorylierten Tau-Proteins als Stabilisator der intrazellulären Mikrotubuli, entsteht eine Unterbrechung des axonalen Transports und damit eine Dysfunktion mit konsekutiver irreversibler neuronaler Degeneration.<sup>28</sup>

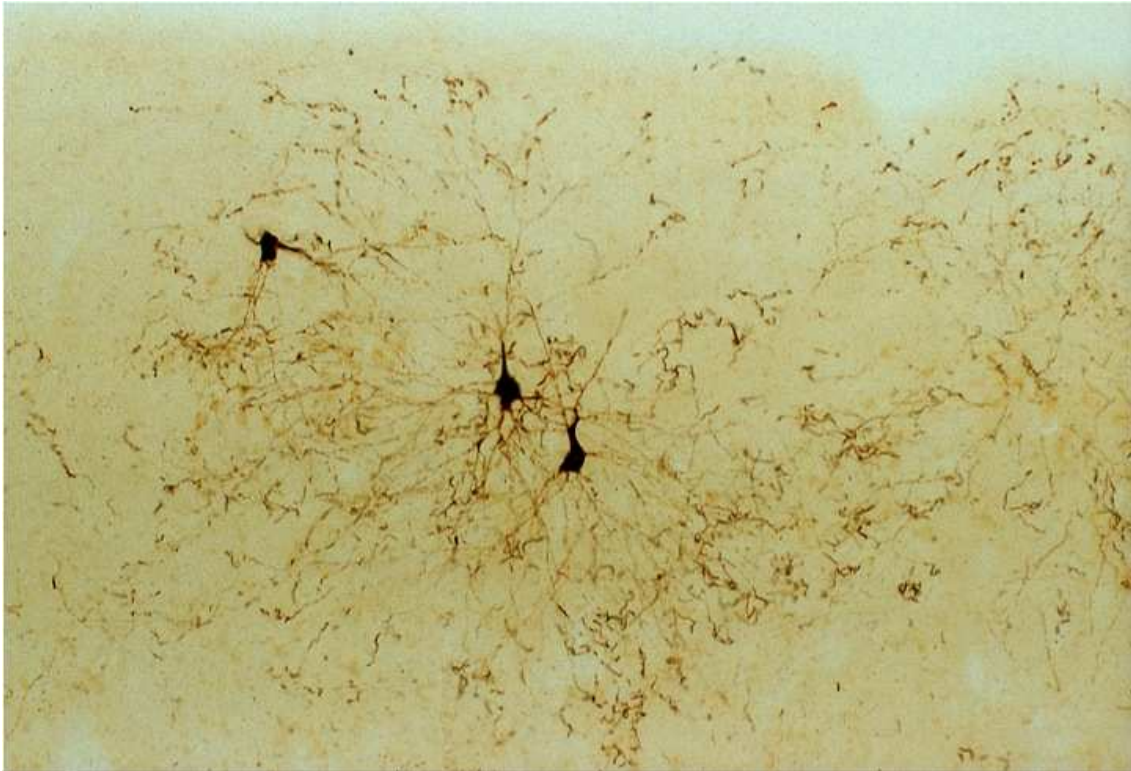


Abb.3: Neurofibrilläre Bündel (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. H. Braak)

Die Ursache für die abnorme Hyperphosphorylierung und Aggregation des Tau-Proteins konnte bisher nicht abschließend geklärt werden. Nach aktuell herrschender Meinung scheint A $\beta$ , wie später weiter ausgeführt, eine Schlüsselrolle in der Genese der Hyperphosphorylierung zu spielen.<sup>29</sup>

Man unterteilt die neurofibrillären Bündel in drei Gruppen. Im frühen Stadium, dem „pretangle stage“, findet man eine gleichmäßige Anhäufung von hyperphosphoryliertem Tau in allen Teilen des Perikaryons und der Zellfortsätze. Im folgenden Stadium kommt es durch Akkumulation des hyperphosphoryliertem Tau zur Ausbildung der „klassischen“ neurofibrillären Tangles. Zwischen diesen Bündeln kommt es wiederum zu einer Quervernetzung die vermutlich die Ursache für die Unlöslichkeit der NFT's darstellt. Letztlich gehen die Zellen zugrunde, wodurch die zuvor intrazellulär gelegenen neurofibrillären Bündel extrazellulär als sog. „ghost tangles“ gefunden werden können.<sup>30</sup>

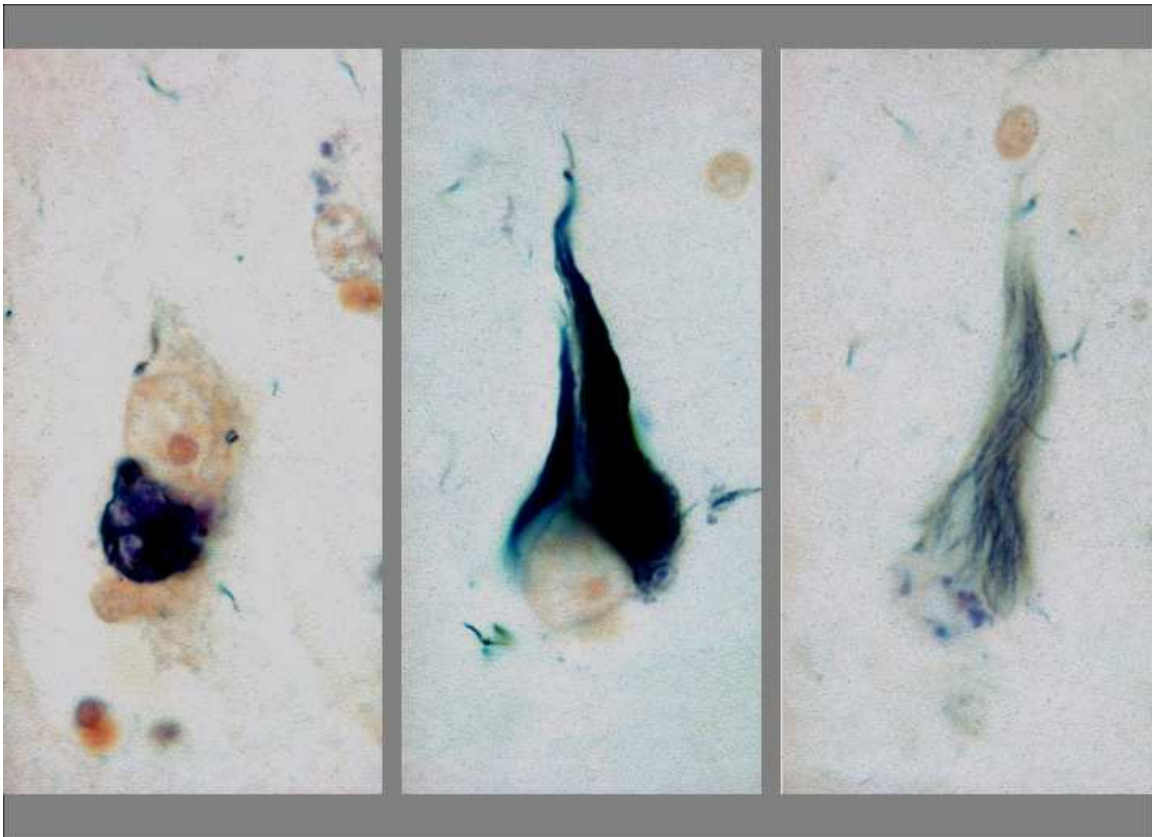


Abb.4: Drei Stadien der neurofibrillären Bündel mit „pretangle“ Stadium (links), „klassischen“ Bündeln (Mitte) und „ghost tangles“ (rechts) (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. H. Braak)

Die charakteristische zeitliche und räumliche Ausbreitung wurde durch Braak et al. in sechs Stadien eingeteilt.<sup>31</sup> In den klinisch stummen Stadien I und II, den „transentorhinalen Stadien“, sind nur die  $\alpha$ -Zellschichten der Lamina principalis externa der Regio transentorhinalis betroffen. Die „limbischen Stadien“ III und IV sind durch Veränderungen im Allokortex und auch in geringerem Ausmaß im Neokortex charakterisiert. Es kommt zur Zerstörung der  $\alpha$ -Zellschichten der Lamina principalis externa und interna der Regio transentorhinalis und der Regio entorhinalis mit ersten Veränderungen im Hippocampus. Hiermit kommt es zur Störung und Zerstörung des limbischen Kreislaufs und folglich zu ersten kognitiven Störungen. Die „neokortikalen Stadien“ V und VI zeichnen sich durch ausgeprägte Ablagerungen neurofibrillärer Tangles im nahezu gesamten Kortex aus. Klinisch zeigt sich hier das Vollbild der AD.

### 2.1.4 Pathogenese

Pathogenetisch kann man die AD in zwei Untergruppen, die familiäre und somit genetisch bedingte Form und die sporadische Form unterteilen. Der sporadische Typ macht über 95% aller AD-Erkrankungen aus, die familiäre Form der AD (FAD) weniger

als 5%.<sup>32</sup> Bei der sporadischen Form der AD ist die Pathogenese nicht abschließend geklärt. Man geht von einer multifaktoriellen Genese aus, bei der sowohl genetische Faktoren als auch Konstitution oder Umwelteinflüsse eine Rolle spielen.

Aus den Erkenntnissen der Forschung an der familiären Form der Alzheimer-Erkrankung leitet sich die populärste pathogenetische Hypothese der sporadischen Form ab - die Amyloid-Hypothese. Mutationen des Amyloid Precursor Protein Gens (APP), des Präsenilin-1 Gens (PS1) sowie des Präsenilin-2 Gens (PS2), die bei Vorliegen immer in einer Manifestation der familiären Form der AD resultieren, führen zu einer gesteigerten Produktion von A $\beta$ <sub>42</sub>, welches zu senilen Plaques akkumulieren und aggregieren kann. Durch voranschreitende neuritische und synaptische Schädigungen kommt es zu einer Beeinträchtigung der neuronalen Regulationsvorgänge und zu einer gestörten Kinase- und Phosphataseaktivität. Dies führt zu einer Hyperphosphorylierung von Tau und damit zu neurofibrillären Ablagerungen, die wiederum in einer progredienten Neurodegeneration resultieren.<sup>33, 34</sup>

Als ein weiterer bedeutender pathogenetischer Faktor für die Entstehung der sporadischen AD wird oxidativer Stress diskutiert.

Gefäßendothelzellen, Neurone und Gliazellen sind in der Lage auf bestimmte Stimuli, wie sie vor allem auch durch chronische Hypoperfusion und Hypoxie entstehen, reaktive Sauerstoffmoleküle (reactive oxygen species; ROS) und vasoaktive Substanzen zu synthetisieren.<sup>35</sup> Immunhistochemische post mortem Studien an Gehirnen von AD-Patienten konnten zeigen, dass Neurone durch Apoptose zugrunde gehen.<sup>36</sup> Die „oxidative Stress Hypothese“ geht davon aus, dass durch die reaktiven Sauerstoffradikale der apoptotische Zelluntergang aktiviert wird und es damit zum neuronalen Zelluntergang kommt.<sup>37</sup> Gerade die zerebrovaskulären Risikofaktoren spielen hierbei eine Rolle.

### **2.1.5 Risikofaktoren der sporadischen AD**

In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl von Risikofaktoren diskutiert. Gesicherte Risikofaktoren sind das Alter, das Vorliegen leicht- bis mäßiggradiger kognitiver Störungen, eine genetische Disposition und das Vorhandensein des ApoE  $\epsilon$ 4 Allels.<sup>38, 39</sup> Zudem manifestiert sich, dass vaskuläre Risikofaktoren eine bedeutende Stellung in der Pathogenese der sporadischen AD einnehmen.<sup>40</sup>

### 2.1.5.1 Alter und Vorliegen leicht- bis mäßiggradiger kognitiver Störungen

Das Alter gilt derzeit als wichtigster Risikofaktor an einer sporadischen AD zu erkranken. Zahlreiche Untersuchungen konnten einen eindeutigen Zusammenhang zwischen Lebensalter und Auftreten einer AD nachweisen.<sup>4, 6, 41</sup>

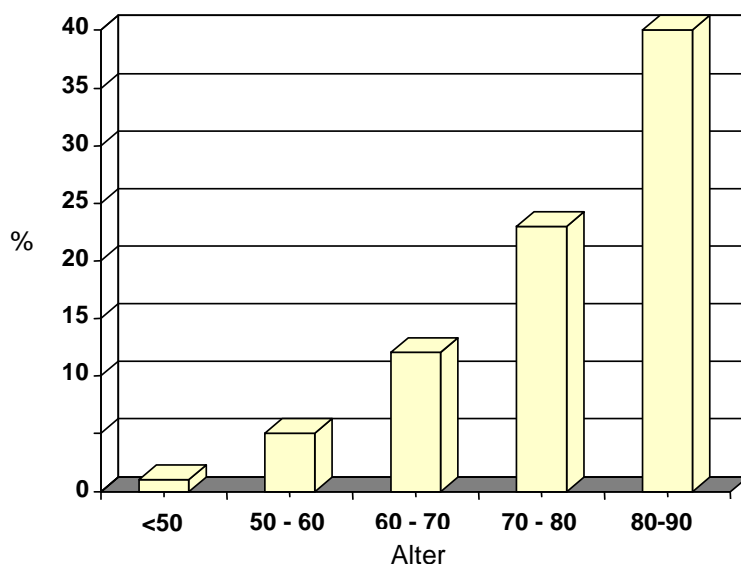


Abb. 5: Prozentualer Anteil der Gesamtbevölkerung mit einer AD nach H. Bickel<sup>42</sup>

Die zweite Risikogruppe umfasst Menschen mit kognitiven Defiziten, die jedoch nicht dem Schweregrad einer dementiellen Erkrankung entsprechen. Die Prävalenz dieser Gruppe mit leichten- bis mäßiggradigen kognitiven Störungen ist in älteren Bevölkerungsgruppen sehr hoch und liegt je nach Alter bei 11-30% der Gesamtbevölkerung.<sup>43</sup> Prospektive Studien ergaben, dass 15% davon innerhalb eines Jahres an einer Demenz erkranken und damit deren Risiko deutlich höher liegt als mit 2% in der altersgleichen Normalbevölkerung.<sup>44, 45</sup>

### 2.1.5.2 Genetische Risikofaktoren und ApoE ε4

Neben der familiären Form der AD, bei der es durch Vorliegen genetischer Mutationen zu einer sicheren Erkrankung kommt, ist auch bei der sporadischen Form der Alzheimer-Erkrankung eine genetische Disposition festzustellen. So steigt das relative Risiko an einer AD zu erkranken bei Angehörigen ersten Grades bereits um das 3,5-fache, bei zwei an AD erkrankten Angehörigen ersten Grades sogar um das 7,5-fache.<sup>46</sup> In einer anderen Untersuchung lag das Lebenszeitrisiko an einer AD zu erkranken bei

erstgradigen Verwandten eines AD Patienten bei 52,8% bis zum 94. Lebensjahr, jedoch nur bei 22,1% bei Personen ohne positive Familienanamnese.<sup>47</sup>

Daneben wurden eine Vielzahl von Genloci beschrieben, die für die Pathogenese der sporadischen AD relevant erscheinen. Der bisher am besten untersuchte Risikofaktor ist das Apolipoprotein E.

Apolipoprotein E (Apo E) ist ein auf Chromosom 19 kodiertes Plasmaprotein für den Transport von Triglyceriden und Cholesterin. Im ZNS wird es von Astrozyten exprimiert. Von diesem Gen existieren drei unterschiedliche Allele ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ ), aus denen sechs verschiedene Phänotypen resultieren. Das  $\epsilon 4$ -Allel ist bei Patienten mit sporadischer AD besonders häufig ausgeprägt und gilt als Risikofaktor für eine sporadische AD,<sup>48</sup> wobei durch das Vorliegen wohl mehr das Erkrankungsalter herabgesetzt wird, als dass das allgemeine Risiko an einer AD zu erkranken steigt.<sup>49, 50</sup>

### **2.1.5.3 Kardio- und zerebrovaskuläre Risikofaktoren**

Eine Vielzahl von Untersuchungen lassen einen Zusammenhang zwischen der sporadischen AD und vaskulären Erkrankungen vermuten. Einige Autoren spekulieren sogar, dass die Genese der AD auf dem Boden einer vaskulären Grunderkrankung beruht.<sup>51</sup>

Bereits Anfang der 90er Jahre konnte gezeigt werden, dass es bei der AD zu einer chronischen zerebralen Minderperfusion mit Störung der vaskulären Homöostase kommt.<sup>52, 53</sup> In den folgenden Jahren erschien eine beträchtliche Anzahl von Veröffentlichungen, die eine zerebrovaskuläre Minderdurchblutung als Hauptursache der AD annehmen lassen.

In epidemiologische Studien konnte ein überzufällig häufiges Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen in Koinzidenz mit einer Alzheimer-Demenz gezeigt werden.<sup>54, 55, 56</sup> Eine klinische Longitudinalstudie berichtet eine schnellere Krankheitsprogression bei AD-Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren.<sup>57</sup> Weiterhin fand sich in einer histopathologischen Untersuchung an 244 Gehirnen mit gesicherter AD eine signifikant höhere Anzahl cerebrovaskulärer Läsionen, verglichen mit 230 Kontrollgehirnen.<sup>58</sup>

Es scheint, dass ein positiver Zusammenhang zwischen arterieller Hypertonie wie auch



einer Hypercholesterinämie und der Entwicklung einer AD besteht.<sup>59, 60</sup> Die Ergebnisse einiger epidemiologischer Untersuchungen lassen vermuten, dass Statine als medikamentöses Therapeutikum der Hypercholesterinämie einen positiven Einfluss auf die Entwicklung einer AD zu haben scheinen,<sup>61, 62</sup> auch wenn diese Vermutung bisher in klinisch-pharmakologischen Studien nicht bestätigt werden konnte.<sup>63</sup> Als weitere Risikofaktoren gelten das Vorliegen eines Diabetes mellitus oder eines metabolischen Syndroms, das durch einen gestörten Insulin-, Glucose- und Lipoproteinmetabolismus, eines arteriellen Hypertonus und Adipositas gekennzeichnet ist.<sup>64, 65</sup>

Als weitere Cofaktoren, die zu einer Entwicklung oder zumindest Verschlechterung der AD führen, gelten ein stattgehabter Schlaganfall, insbesondere lakunäre Infarkte sowie eine Herzinsuffizienz in der Anamnese.<sup>66, 67, 68</sup>

Es scheint, dass es - insbesondere bei Vorliegen dieser vaskulären Risikofaktoren - durch eine zerebrale Mangeldurchblutung zu einer neuronalen Minderversorgung kommt, aus der eine fehlerhafte Protein-Synthese resultiert. Durch diese fehlerhafte Synthese kommt es potentiell zu den klassischen histopathologischen Veränderungen, wie den Amyloidplaques oder den neurofibrillären Bündeln.<sup>69, 70</sup>

### **2.1.6 Klinik, Verlauf und Prognose**

Typisch für die sporadische Form der AD sind kognitive Störungen, die meist bei Patienten ab dem 65 Jahre schleichend beginnen.<sup>71</sup> Charakteristischerweise ist der Verlauf gleichförmig progredient und zeigt sich besonders in einem weiteren Abbau der mnestischen Fähigkeiten wie Gedächtnis und Denkvermögen, zudem in Symptomen wie Orientierungsstörung, eingeschränkter visuokonstruktiver Fähigkeit, Aphasie, Apraxie, Agnosie und Verlust der Selbstständigkeit und Alltagskompetenz.<sup>72</sup> Nicht selten treten bei den Patienten zusätzliche psychopathologische Symptome auf, häufig in Form einer depressiven Symptomatik. In späteren Stadien zeigen sich schwere Beeinträchtigungen in allen Lebensbereichen, bis die Patienten bettlägerig und schwerst pflegebedürftig werden und meist in Folge von Infektionskrankheiten oder anderen unspezifischen Ursachen versterben.<sup>73</sup>

In einer Studie von 1991 konvertierten über 50% als leichtgradig dement eingestufte Patienten innerhalb von fünfzehn Monaten in ein Stadium mittelgradiger oder schwerer Demenz.<sup>74</sup> Als ungünstig für die Krankheitsprogression gelten ein früher Krankheits-

beginn sowie das Vorliegen extrapyramidalen und psychotischer Symptome.<sup>75, 76</sup>

Die durchschnittliche Überlebenszeit bei Diagnosestellung der AD liegt in großen epidemiologischen Untersuchungen im Mittel bei 6-7 Jahren, wobei männliche AD-Patienten früher versterben.<sup>77, 78</sup>

## **2.1.7 Diagnose und Differentialdiagnose der AD**

### **2.1.7.1 Diagnosestellung**

Die Diagnose der AD entwickelt sich in den letzten Jahren bei Vorliegen eines typischen klinischen Profils mit führender Gedächtnisstörung unter Berücksichtigung von Liquormarkern (Tau-Protein oder  $\beta$ -Amyloid<sub>42</sub>) und spezieller Bildgebungsverfahren wie MRT oder PET deutlich in Richtung einer Positivdiagnose.

Eine eindeutige Diagnosestellung kann allerdings weiterhin erst post mortem durch Analyse der histopathologischen Veränderungen im Gehirn gestellt werden.

In spezialisierten Zentren beträgt die Genauigkeit der Diagnosestellung 80-90% relativ zur Autopsie, doch wird diese meist erst in weit fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung gestellt, wenn die Patienten schon sehr deutliche Symptome zeigen.<sup>79</sup>

Im Frühstadium der AD ist eine Diagnosestellung sehr viel schwieriger. Aber gerade in diesem frühen Stadium scheinen Therapieansätze deutlich effektiver zu sein, als bei einer lang bestehenden ausgeprägten Neurodegeneration.<sup>80</sup>

Die Diagnosestellung erfolgt klinisch nach den DSM-IV-Kriterien (Diagnostisches und statistisches Manual Mentaler Störungen) der American Psychiatric Association oder wie in Deutschland nach den ICD-10 Kriterien (International statistical classification of diseases and related health problems) (Anhang). In Wissenschaft und Forschung erfolgt die Diagnosestellung primär nach den NINCDS-ADRDA Kriterien von McKhann et al., die im Gegensatz zu den anderen beiden Diagnosesystemen in absteigender Reihenfolge nach Diagnosesicherheit unterscheidet: eine „sichere“ (autoptisch), eine „wahrscheinliche“ (höchster klinisch erreichbarer Sicherheitsgrad) sowie eine „mögliche“ (bei Vorliegen atypischer Faktoren hinsichtlich Verlauf, klinischem Bild oder Ausprägungsgrad) Demenz vom Alzheimer-Typ (Anhang).<sup>81</sup>

### 2.1.7.2 Differentialdiagnose

Eine multidimensionale diagnostische und differentialdiagnostische Demenzabklärung ist vor allem in Hinblick auf die vielen möglichen Differentialdiagnosen sehr aufwendig.

So findet man in der Literatur ca. 70 Erkrankungen, die zu einem dementiellen Syndrom führen können.<sup>82</sup> Die Hirnleistungsstörungen können entweder in einer primären Demenz begründet sein, zu denen die primäre neurodegenerative, vaskuläre oder einer gemischt neurodegenerative-vaskuläre Genese gezählt wird, oder auch sekundär als Folge einer anderen Erkrankung (sekundäre Demenz) auftreten, die bei rechtzeitiger Diagnosestellung und Therapie potentiell reversibel sind. Unter den primären Demenzen nimmt die AD mit ca. 70% aller Fälle den mit Abstand größten Stellenwert ein, gefolgt von der vaskulären Demenz mit einem geschätzten Anteil von etwa 15-25%.<sup>83</sup>

<b>Primäre Demenzen</b>	<b>Sekundäre Demenzen</b>
Alzheimer-Demenz	Depression
Vaskuläre Demenz	Schlaf-Apnoe-Syndrom
Demenz mit Lewy-Körperchen	Infektiöse Erkrankungen (Lues, HIV)
Frontotemporale Demenz	Zerebrale Raumforderungen (z.B.
Kortikobasale Degeneration	Tumore)
Progressive supranukleäre Blickparese	Aresorptiver Hydrocephalus
Morbus Parkinson	Metabolische Ursachen (z.B.
Creutzfeld-Jakob-Krankheit	Hypothyreose,
Down-Syndrom	Diabetes mellitus)
Chorea Huntington	Toxische Ursachen (z.B. Alkohol,
Multiple Sklerose	Medikamente)
Demenz mit Silberkörnern	Mangelerkrankungen (z.B. Vitamin-B <sub>12</sub> -
	Mangel)
	Traumatische Ursachen
	Epilepsien
	Delir

Abb. 6: Übersicht über die wichtigsten primären und sekundären Demenzen

Klinisch erfolgt, insbesondere auch im Hinblick auf die möglichen Differentialdiagnosen, eine ausführliche Diagnostik inklusive neurologischer und psychiatrischer Untersuchung, psychometrischer Testung, Blut- und Liquoruntersuchung sowie eine cerebrale Bildgebung.

### **2.1.8 Therapie**

Um Patienten bei variabler Symptom- und Problemkonstellation der Erkrankung gerecht zu werden, sollte die Therapie individuell und multimodal gestaltet werden.

Zugelassen für die Behandlung der Alzheimer-Erkrankung sind derzeit im früh- und mittelgradigen Stadium Acetylcholinesterase-Inhibitoren (AChE-Hemmer) und Nootropika. Den Acetylcholinesterase-Inhibitoren liegt die „Acetylcholinmangelhypothese“ zu Grunde, der zufolge im Rahmen der neuronalen Degeneration die Ausschüttung des an Lern- und Erinnerungsprozessen beteiligten Acetylcholins abnimmt.<sup>84</sup> Diese AChE-Hemmer zeigen in multiplen doppelblinden, placebokontrollierten Studien positive Effekte auf den Erkrankungsverlauf mit Stabilisierung der kognitiven Leistungen der Patienten und Stabilisierung oder sogar Verbesserung der Alltagskompetenz.<sup>85</sup> Bei umstrittener Wirksamkeit von Nootropika wie Gingko biloba geht man von einer Verbesserung des Zellmetabolismus aus, sowie von einer zellprotektiven Wirkung durch Schutz vor Schädigungen durch endo- oder exogene Noxen.

In mittelschweren bis schwergradigen Stadien der AD ist der Glutamatmodulator Memantine zugelassen, der am NMDA-Rezeptor antagonistisch wirkt, hier vor glutamatinduzierten pathologisch hohen Kalziumkonzentrationen schützt und somit neuroprotektive Wirkung besitzt.<sup>86</sup>

Zur Behandlung der nicht-kognitiven Begleitsymptome wie Angst, depressiver Verstimmung oder motorischer Unruhe stehen einige Medikamente aus dem Bereich der Psychopharmaka und Neuroleptika zur Verfügung. Neben der Wirkung auf die Begleitsymptome konnte eine Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten beobachtet werden. Dies wurde insbesondere bei Pharmaka, die das serotonerge System beeinflussen, festgestellt.<sup>87</sup>

Neben der medikamentösen Therapie sind nicht-pharmakologische Interventionen eine

wesentliche Ergänzung. Ziel dieser Therapien ist vor allem die Erleichterung des Umgangs mit der Krankheit und eine Förderung der noch vorhandenen Fähigkeiten. Als therapeutische Strategien stehen insbesondere kognitive Verfahren wie Gedächtnistraining oder Erlernen von Memotechniken, sowie psychosoziale Interventionen zur Verfügung.<sup>88</sup>

In der Entwicklung befinden sich insbesondere immuntherapeutische Ansätze mittels aktiver und passiver Immunisierung sowie Hemmer der Sekretasen, um direkt die Entstehung des A $\beta$ -Peptides oder die Bildung der toxischen Oligomere zu verhindern oder bestehendes A $\beta$  abzubauen.<sup>89</sup> Einige der vielversprechenden Immunansätze befinden sich derzeit in klinischer Studie.<sup>90,91</sup>

## 2.2 Biomarker

Insbesondere zur Krankheitsfrühdagnostik und Einleitung einer raschen Therapie als auch zur Differentialdiagnostik und Therapiekontrolle sind zuverlässige und spezifische Biomarker notwendig.

Bis heute hat sich die Biomarkerforschung insbesondere auf den Liquor cerebrospinalis, die das zentrale Nervensystem (ZNS) umgebende Flüssigkeit, konzentriert. Hier konnten bereits mit  $\beta$ -Amyloid<sub>42</sub>, Gesamt-Tau und Phospho-Tau (pTau) vielversprechende und bereits klinisch relevante Marker etabliert werden, die insbesondere in Kombination gut zwischen Patienten mit AD und gesunden Personen abgrenzen können.<sup>92, 93</sup> Die differenzialdiagnostische Trennschärfe zwischen verschiedenen Demenzformen als auch ihre Eignung als Verlaufsmarker der Erkrankung ist heute allerdings noch unzureichend.<sup>94</sup>

Biomarker aus dem Blutplasma wären auf Grund ihrer einfachen und wenig invasiven Gewinnung ideal. Im Plasma sind Proteine aller peripher Organsysteme wie auch dem ZNS selbst enthalten. Die im Liquor gut untersuchten Proteine  $\beta$ -Amyloid<sub>42</sub>, Gesamt-Tau und pTau haben im Blut leider keine diagnostische Aussagekraft. Weiterhin wurden insbesondere über den methodischen Ansatz der Proteomik einige Proteine wie z.B. alpha-1-Antitrypsin, Komplementfaktor H, alpha-2-Makroglobulin, Apolipoproteine J und A-I gefunden, allerdings zeigten diese Proteine bisher keine konstante Aussagekraft.<sup>95</sup>

Das Ronald und Nancy Reagan Institut der Alzheimer Association und die NIA-Working Group veröffentlichten 1998 Richtlinien über die Kriterien, die der „ideale“ Biomarker zur Detektion der AD erfüllen soll:<sup>96</sup>

1. Er soll ein grundsätzliches Merkmal der Neuropathologie der Erkrankung detektieren,
2. seine Gültigkeit soll in neuropathologisch bestätigten AD Fällen bewiesen sein,
3. eine hohe Präzision besitzen, d.h. er soll die AD in einem frühen Stadium nachweisen und von anderen Demenzformen unterscheiden können,
4. eine hohe Reliabilität haben,
5. nicht invasiv sein,
6. einfach nachzuvollziehen und
7. kostengünstig sein.

Man einigte sich darauf, dass dieser „ideale“ Biomarker eine diagnostische Sensitivität und Spezifität von mindestens 80% aufweisen soll.

Keiner der bisher etablierten Biomarker erfüllt alle hier geforderten Eigenschaften.

Die vorliegende Untersuchung einen Biomarker zur Detektion der AD zu finden, erfolgt mit dem Ziel diese geforderten Kriterien möglichst weitgehend zu erfüllen.

Primär sollen die Proteine den neuropathologischen Hintergrund widerspiegeln, präzise und reliabel sein, gut zu gewinnen, kostengünstig und einfach in der Analytik sein.

Die hier untersuchten Marker Endothelin-1, Adrenomedullin und das Atriale Natriuretische Peptid sind Peptidhormone, die bereits gut als Regulatoren der Mikrozirkulation und Herzfunktion untersucht wurden. Die Konzentrationen dieser Peptide sind bei einigen vaskulären und kardiovaskulären Erkrankungen verändert. Eine zusätzliche Aufgabe scheinen sie als potentielle Neurotransmitter, Neuromodulatoren und Neurohormone zu haben.<sup>97</sup>

Wie oben ausgeführt scheint die zerebrovaskuläre Minderdurchblutung und die Veränderung der vaskulären Homöostase, über eine neuronale Minderversorgung und daraus resultierende fehlerhafte Protein-Synthese, eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der sporadischen AD zu spielen.

Es wurde vermutet, dass Endothelin-1, Adrenomedullin und das Atriale Natriuretische Peptid bei der AD durch eine gestörte zerebrovaskuläre Homöostase verändert sind. Da die untersuchten Peptidhormone in vivo und ex vivo instabil und somit für die klinische Diagnostik unbrauchbar sind, wurden deren korrespondierende Prohormone verwendet, welche stabile und zuverlässige Vertreter der reifen, aktiven Hormone sind.

### **2.2.1 Endothelin-1/C-terminales Endothelin-1 (CT-proET-1)**

Endothelin-1 ist ein 21 Aminosäuren umfassendes Peptid, das sowohl autokrin als auch parakrin als ein potenter Vasokonstriktor fungiert. Es ist das in der Familie des Endothelins (ET-1, ET-2 und ET-3) am häufigsten vorkommende Peptid. Eine Synthese findet im Gefäßendothel und den glatten Muskelzellen der Arterien, dem Herzen, der Lunge, den Nieren wie auch im ZNS in Astrozyten und Neuronen statt.<sup>98</sup>

ET-1 ist an einer Vielzahl von pathologischen und physiologischen Prozessen im

Körper, vor allem im kardiovaskulären System, beteiligt. Ein Anstieg des Endothelin-1 konnte bereits bei arterieller und pulmonaler Hypertonie,<sup>99, 100</sup> bei Vorliegen einer Herzinsuffizienz,<sup>101</sup> beim akuten Myokardinfarkt<sup>102</sup> und bei septischen Geschehen<sup>103</sup> nachgewiesen werden. Auf die glatten Muskelzellen der Gefäße wirkt es über die Bindung und Aktivierung der ETA- und ETB-Rezeptoren, wodurch es zu einer Calziumausschüttung intrazellulär und konsekutiv zur Vasokonstriktion kommt.<sup>104</sup>

ET-1 stammt von dem Vorläuferprotein pre-proET-1 ab, einem aus 212 Aminosäuren bestehenden Peptid. Nach Abspaltung der Signalsequenz und weiteren proteolytischen Umbauten entsteht das „big“ ET-1, bestehend aus 38 Aminosäuren. Erst nach Spaltung durch das Endothelin Converting Enzym (ECE-1) entsteht das reife 21 Aminosäuren umfassende ET-1.<sup>105</sup>

Wegen der Instabilität des ET-1 und seiner Bindung an Rezeptoren und Plasmaproteine messen wir das ET-1 auf indirekte Weise über das stabile CT-proET-1, dem abgespaltenen C-terminalen Ende des pre-proET-1 bestehend aus den Aminosäuren 168-212.<sup>106</sup>

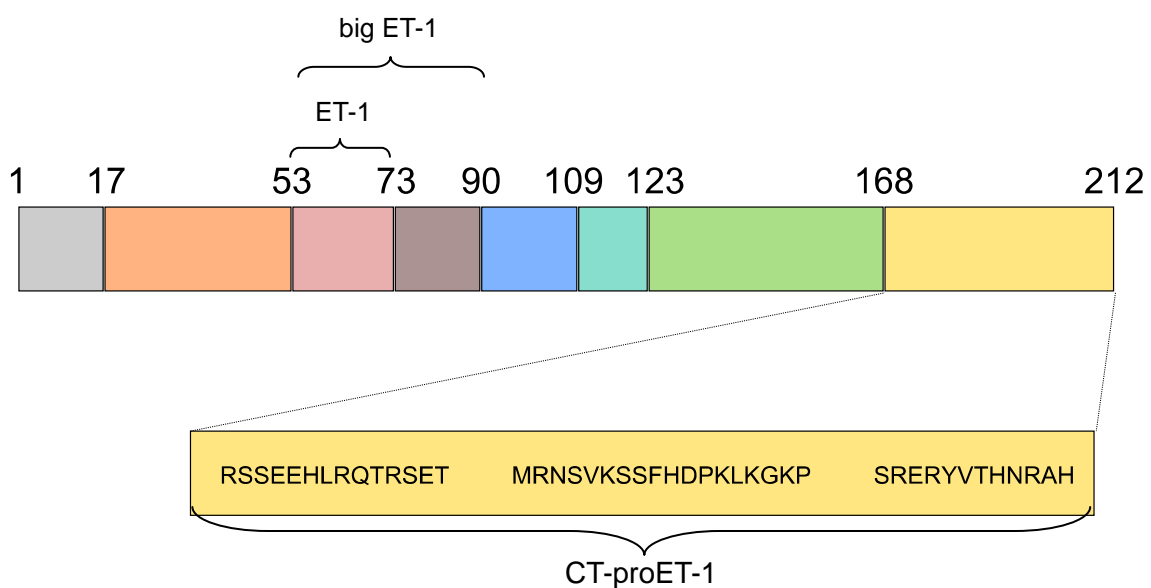


Abb. 7: Sequenz von pre-pro-ET-1 vor proteolytischer Spaltung mit den Untereinheiten big-ET-1, ET-1 und CT-proET-1



### 2.2.2. Adrenomedullin/Mittelregionales pro-Adrenomedullin (MR-proADM)

MR-proADM ist das korrespondierende Prohormon zu ADM, einem 52 Aminosäuren umfassendes Protein, das ein Derivat von pre-proADM, einem aus 185 Aminosäuren bestehenden Vorläuferpeptid, ist.<sup>107</sup>

Beim posttranslationalen Umbau des pre-proADM entstehen neue Peptide, das biologisch aktive PAMP (proadrenomedullines N-terminales 20 Peptid) und zwei das ADM umgebende Peptide, das proADM<sub>45-92</sub> (mittelregionaler Teil von pro ADM) und das proADM<sub>153-185</sub> (C-terminaler Teil von proADM).

Das hier untersuchte ADM ist das proADM<sub>45-92</sub>, das so genannte mittelregionale proADM (MR-proADM).

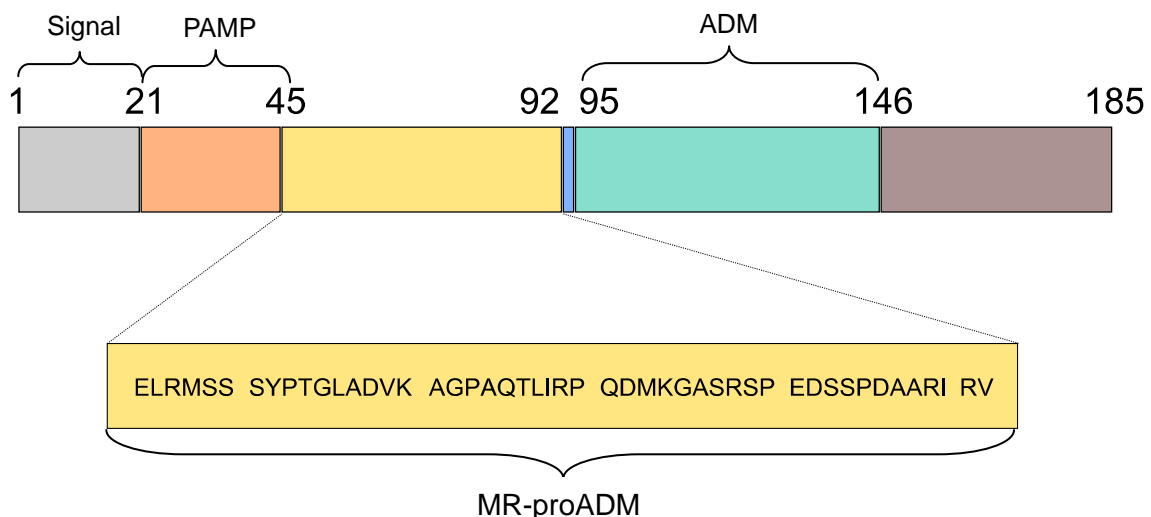


Abb. 8: Sequenz von pre-pro-ADM vor proteolytischer Spaltung mit den Untereinheiten PAMP, ADM und MR-proADM

ADM ist sowohl ein zirkulierendes Hormon als auch lokaler parakriner Mediator mit einer Vielzahl biologischer Funktionen.

Zum einen ist es ein potenter Vasodilatator und sichert damit eine ausreichende Blut- und damit Sauerstoffzufuhr zum jeweiligen Zielorgan. Zum anderen wirkt es intrarenal über tubuläre und vaskuläre Mechanismen pronatriuretisch und ist somit ein potenter Blutdrucksenker.<sup>108, 109, 110</sup>

Adrenomedullin wird in vielen verschiedenen Geweben, besonders im

Nebennierenmark aber auch in der Niere, der Lunge, dem Gefäßendothel, den glatten Gefäßmuskelzellen, dem Myokard und dem zentralen Nervensystem (ZNS) synthetisiert.

Im ZNS findet man die größten Mengen im Thalamus, im Hypothalamus und in der Adeno- und Neurohypophyse.<sup>97</sup> Hier wird es sowohl in den Neuronen als auch in den Gliazellen exprimiert.<sup>111</sup>

Die höchsten Plasmakonzentrationen des Adrenomedullins sind bei arteriellem Hypertonus, dem akuten Koronarsyndrom, bei Herzinsuffizienz und beim septischen Schock zu messen.<sup>112</sup>

### 2.2.3 Atriales natriuretisches Peptid/ Mittelregionales pro-atriales natriuretisches Peptid (MR-proANP)

Das Prohormon des atrialen natriuretischen Peptids (proANP) ist ein 126 Aminosäuren umfassendes Polypeptid. Das davon abgespaltene atriale natriuretische Peptid (ANP) besteht aus den Aminosäuren 99-126 und macht mit 98% den Hauptanteil der im Blut zirkulierenden natriuretischen Peptide aus.<sup>113, 114</sup> Das N-terminale Ende des proANP, das proANP<sub>1-98</sub> auch NT-proANP genannt, ist deutlich stabiler als das ANP und somit besser messbar. Durch die Entwicklung neuer Assays kann man nun auch das davon abstammende mittelregionale proANP (MR-proANP) messen, welches die Aminosäuren 53-90 des proANP umfasst.

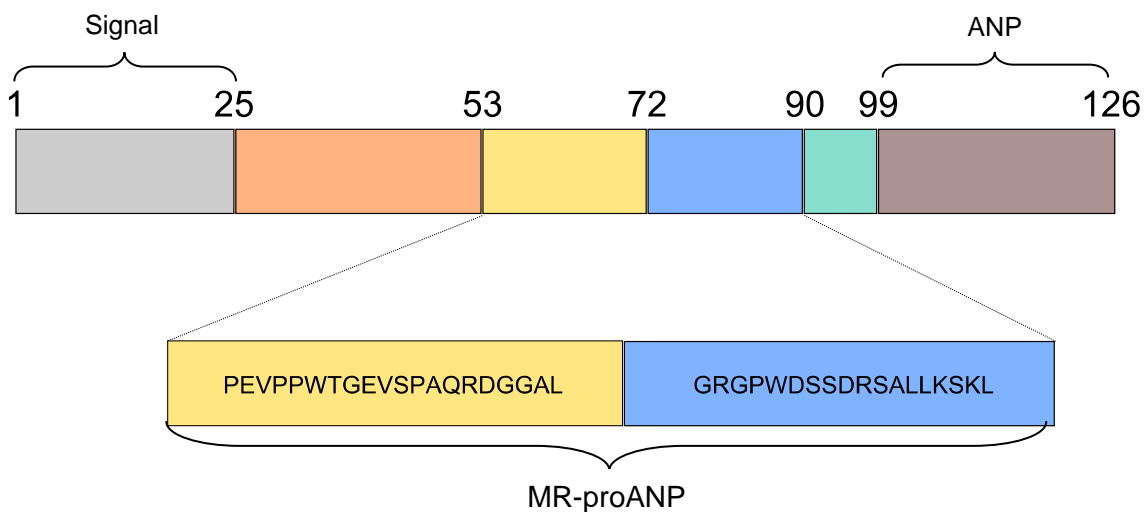


Abb. 9: Sequenz von pro-ANP vor proteolytischer Spaltung mit den Untereinheiten ANP und MR-proANP

Hauptbildungsort des vasodilatatorischen ANPs sind die Myozyten im Vorhof des Herzens, wo es vor allem bei kardialer Volumenbelastung und Herzerkrankungen sezerniert wird.<sup>115</sup> Zudem konnte im ZNS eine Synthese in Neuronen und Astrozyten, insbesondere im Hypothalamus nachgewiesen werden.<sup>116</sup> Es verfügt über eine hohe Bandbreite potenter biologischer Effekte und ist ebenso wie MR-proADM ein potenter Blutdrucksenker. Es steigert die Natriurese und Diurese, führt zur Vasodilatation, wirkt inhibierend auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und modulierend auf das sympathische Nervensystem.<sup>117</sup>

## 2.3 Zielsetzung

Die Diagnose einer AD bewegt sich heute zunehmend weg von einer Ausschlussdiagnose hin zu einer Positivdiagnose. In jedem Fall sind die notwendigen Untersuchungen kosten- und zeitintensiv.

Für den Patienten ist eine frühzeitige Diagnosestellung aus mehreren Gründen bedeutungsvoll. Zum einen erhalten der Patient und seine Angehörigen eine Erklärung für die Beschwerden, was eine vorausschauende Zukunftsplanung ermöglicht. Vor allem aber bietet eine frühzeitige Diagnose die Ausschöpfung aller Therapieoptionen zu einem Zeitpunkt, zu dem die Neurodegeneration noch nicht weit fortgeschritten ist. Dies ist umso bedeutungsvoller, als dass in den nächsten Jahren mit der Entwicklung neuer potenter Therapieoptionen gerechnet werden kann.

Des Weiteren wäre ein Marker ideal, der im Krankheitsverlauf zur Therapiekontrolle herangezogen werden könnte.

Trotz großer Fortschritte im Bereich der Biomarkerforschung, insbesondere im Bereich der Liquormarker, gibt es bislang keinen spezifischen, einfach zu bestimmenden und günstigen Biomarker, der bereits in einem frühen Stadium der AD eine mit hinreichend hoher Wahrscheinlichkeit sichere Diagnose möglich macht.<sup>118</sup>

Ziel dieser prospektiven Arbeit ist es einen Biomarker zu finden, der zum einen die Pathophysiologie der AD widerspiegelt, zum anderen wenig invasiv und in der Analytik einfach und kostengünstig ist.

Dieser Marker sollte möglichst die Kriterien eines „idealen“ Biomarkers nach dem Ronald and Nancy Reagan Institut der Alzheimer Association und der NIA-Working Group erfüllen.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir im Blut die (Mikro-)Zirkulationsmarker CT-proET-1, MR-proADM und MR-proANP als potentielle Biomarker einer eingeschränkten Mikrozirkulation und einer veränderten vaskulären Homöostase bei Patienten mit einer AD im Vergleich zu gesunden Kontrollen.

## **3. Material- und Methodenteil**

### **3.1. Kollektiv**

#### **3.1.1 Patienten**

Die AD-Patienten wurden aus dem Patientenkollektiv der Demenzsprechstunde und der gerontopsychiatrischen Forschungsstation D2 der Psychiatrischen Klinik der LMU München rekrutiert. Die Patienten und/oder deren gesetzliche Betreuer wurden über das Ausmaß, die Risiken und den Zweck der Untersuchung ausführlich aufgeklärt und erteilten ihr Einverständnis in schriftlicher Form. Die übliche Routinediagnostik und die Behandlung der Patienten wurden durch die freiwillige Teilnahme an der Studie nicht beeinflusst.

Die Untersuchung der Patienten erfolgte entweder direkt bei Vorstellung in der Gedächtnissprechstunde oder bei stationären Patienten im Laufe ihres Klinikaufenthaltes. Die Diagnose einer wahrscheinlichen AD erfolgte gemäß der NINCDS-ADRDA-Kriterien,<sup>82</sup> nach ausführlicher Anamneseerhebung, körperlicher und neurologischer Untersuchung, nach einer psychometrischen Testung mittels CERAD- und Uhrzeigentest, einer Blut- und Liquoruntersuchung (inklusive  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>, Gesamt-Tau-Protein und phosphoryliertes Tau-Protein), sowie Bildgebung mittels einem Standard 1,5 Tesla MRT oder einem CT. Als Ausschlusskriterium wurde vor Studienbeginn eine bestehende Herzinsuffizienz definiert. Da erfahrungsgemäß einige Patienten keine sichere Angabe über eine mögliche Herzinsuffizienz machen können, wurde zudem die Einnahme von Diuretika, einer Basis-Medikamentengruppe zur Therapie einer Herzinsuffizienz, dokumentiert.

Insgesamt wurden 96 AD-Patienten eingeschlossen, von denen zwei Patienten bei einem unvollständigem Datensatz (fehlende ApoE  $\epsilon$ 4-Genotypisierung) nicht in die Analyse einbezogen wurden.

#### **3.1.2 Kontrollen**

Die gesunden Kontrollen wurden in Kooperation mit der Firmen BRAHMS AG und in.vent in Hennigsdorf/Berlin rekrutiert und durch ärztliches Personal der

gerontopsychiatrischen Forschungsstation D2 der Psychiatrischen Klinik der LMU untersucht. Die Probanden wurden über Ausmaß, die Risiken und Zweck der Studie aufgeklärt und erteilten ihr Einverständnis in schriftlicher Form.

Der Einschluss erfolgte nach einer ausführlichen Anamneseerhebung, einer körperlichen und neurologischen Untersuchung, psychometrischen Testung mittels CERAD (“Consortium to establish a registry for Alzheimer’s disease”) und dem Uhrzeichentest, sowie einer Blutentnahme für laborchemische Untersuchungen.

Als Einschlusskriterien bei den gesunden Kontrollen wurden vor Studienbeginn folgende definiert:

- Alter 55 bis 90 Jahre
- unauffällige CERAD Testung (in allen Unterpunkten)
- unauffälliger Uhrzeichentest
- keine subjektive kognitive Störung
- keine Depression
- keine Herzinsuffizienz
- keine Einnahme von Diuretika
- keine Einnahme psychotroper Medikation

Von insgesamt 102 untersuchten Probanden erfüllten 54 Personen die Kriterien für gesunde Kontrollen. Bei den übrigen 48 untersuchten Probanden bestanden bei 27 eine pathologische neuropsychologische Testung (CERAD/Uhrzeichentest), 18 Probanden beklagten subjektive kognitive Defizite und 3 Probanden wurde bei Vorliegen einer Depression ausgeschlossen. Einer der als gesunde Kontrolle definierter Proband wurde bei Fehlen der ApoE ε4-Genotypisierung aus der Analyse exkludiert.

Insgesamt konnten somit 53 gesunde Kontrollen in die Analyse eingeschlossen werden.

Das Studienprotokoll wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität genehmigt.

## **3.2 Methodik**

### **3.2.1. Anamnese, körperliche und neurologische Untersuchung**

Sowohl Patienten als auch Probanden wurden ausführlich durch ärztliches Personal anamnestiziert. Bei AD-Patienten erfolgte zudem die Erhebung der Fremdanamnese durch Angehörige oder Betreuungspersonen der Patienten.

Folgende Punkte wurden genau erfasst und dokumentiert:

- Aktuelle Beschwerden und Symptome, insbesondere des Gedächtnisses
- Orientierung
- Sprache
- Interessen und soziales Leben
- Fähigkeit, alltägliche Anforderungen zu bewältigen
- Psychiatrische Vorerkrankungen
- Somatische Vorerkrankungen
- Aktuelle Medikation
- Sozialanamnese
- Familienanamnese bezüglich neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen
- Suchtmittelanamnese
- Erhebung des psychopathologischen Befunds.

Nach dem Anamnesegespräch folgten eine körperliche und neurologische Untersuchung zur Erfassung des allgemeinen körperlichen Status und zum Ausschluss anderer, eine Demenz verursachender Erkrankungen.

Die körperliche Untersuchung beinhaltete:

- Messung von Blutdruck und Puls
- Beurteilung des Allgemeinzustandes und Ernährungszustandes
- Auskultation des Herzens
- Auskultation und Perkussion der Lunge
- Auskultation und Palpation des Abdomens
- Untersuchung auf Ödeme.

Die neurologische Untersuchung umfasste:

- Untersuchung der Hirnnerven
- Körperhaltung, Bewegungsablauf, Gang- und Standbild
- Muskelkraft und Muskeltonus
- Reflexe (Eigen- und Fremdreﬂexe, pathologische Reflexe)
- Koordination
- Sensibilität
- Nervendehnungszeichen zum Ausschluss eines Meningismus
- Untersuchung von Artikulation und Sprache.

### **3.2.2. Psychometrische Testung**

Nach Anamneseerhebung und Untersuchung der Patienten und Probanden erfolgte die psychometrische Testung mittels der CERAD-Testbatterie inklusive des Mini Mental Status Tests und des Uhrzeigentests nach Shulman.

#### **3.2.2.1. CERAD-Testung**

Die neuropsychologische Testbatterie CERAD-NT<sup>119</sup> erfasst diejenigen Funktionsbereiche, die vor allem bei der Demenz des Alzheimer-Typs beeinträchtigt sind.

Es werden die für eine Demenzdiagnose zentralen kognitiven Bereiche, unter besonderer Berücksichtigung der Gedächtnisleistung, untersucht. Der Schwierigkeitsgrad der Aufgaben ist so gewählt, dass eine Untersuchung über den Krankheitsverlauf möglich ist.<sup>120</sup>



Die Testbatterie besteht aus acht verschiedenen Aufgabenbereichen:

1. *Verbale Flüssigkeit, Kategorie „Tiere“*<sup>121</sup>

Testung der Geschwindigkeit und Leichtigkeit der verbalen Produktionsfähigkeit, des semantischen Gedächtnisses, der Sprache, exekutiver Funktionen und der kognitive Flexibilität.

Hier wird der Patient/Proband aufgefordert, möglichst viele Tiere innerhalb einer Minute aufzuzählen.

2. *Modifizierter Boston Naming Test*<sup>122</sup>

Testung der visuellen Wahrnehmung und der Wortfindung.

Dem Patienten/Probanden werden 15 Strichzeichnungen von Gegenständen (fünf häufigen, fünf mittelhäufigen und fünf seltene) vorgelegt, die jeweils innerhalb von maximal 10 Sekunden zu benennen sind.

3. *Mini Mental Status Test MMST*<sup>123</sup>

Screeninginstrument zur Erfassung des Schweregrades einer Demenz.

Er enthält 22 Aufgaben zur Testung der Orientierung, der Merkfähigkeit, der Aufmerksamkeit, des Kurzzeitgedächtnisses, der Sprache und des Sprachverständnisses, der Lese- und Schreibfähigkeit und der konstruktiven Praxis. Maximal können 30 Punkte erreicht werden. Werte kleiner als 23 deuten auf das Vorliegen einer Demenz hin.

4. *Wortliste Gedächtnis*<sup>124</sup>

Testung der Merkfähigkeit neu gelernter Informationen.

Es werden dem Patienten/Probanden nacheinander 10 Karten mit jeweils einem gebräuchlichen Begriff für zwei Sekunden vorgelegt. Der Patient/Proband wird gebeten die Wörter einzeln vorzulesen und sich einzuprägen. Unmittelbar nach der Präsentation sollen möglichst viele der gezeigten Wörter genannt werden, wobei die Reihenfolge der Nennung keine Rolle spielt.

Es erfolgen drei Durchgänge, mit variierender Reihenfolge der Wörter.

5. *Konstruktive Praxis*

Untersuchung der konstruktiven Fähigkeiten.

Hier sind innerhalb von jeweils zwei Minuten vier geometrische Figuren mit zunehmender Komplexität abzuzeichnen (Kreis, Raute, zwei überschneidende Rechtecke, dreidimensionaler Würfel).

#### 6. *Wortliste Abrufen*

Testung des verbalen episodischen Gedächtnisses. Verzögerte freie Wiedergabe der zuvor gelernten Wörter.

Der Patient/Proband wird aufgefordert, möglichst viele der in Aufgabe vier gelernten Wörter aufzuzählen.

#### 7. *Wortliste Wiedererkennen*

Differenzierung der Gedächtnisstörungen in Abruf- oder Speicherdefizit.

Hier werden die 10 Wörter aus Aufgabe vier mit 10 neuen Wörtern vermischt und der Reihe nach dem Patienten/Probanden vorgelegt. Die „alten“ Wörter sollen aus den 20 Wörtern richtig identifiziert werden.

#### 8. *Konstruktive Praxis abrufen*

Testung der nonverbalen Modalität.

Die vier geometrischen Figuren aus Aufgabe fünf sollen aus dem Gedächtnis reproduziert werden.

Die Durchführung der Testbatterie erfordert je nach Können der getesteten Person 20 Minuten bis zu einer Stunde. Da gezeigt werden konnte, dass die Testergebnisse der CERAD-Testung durch das Alter, die Ausbildung und das Geschlecht beeinflusst werden,<sup>125</sup> wurden auch diese Parameter der Patienten und der gesunden Kontrollen erfasst und bei der Diagnosestellung beachtet.

### **3.2.2.2 Uhrzeichentest**

Dieser Test dient als Screening-Test zur Detektion visuokonstruktiver Störungen.<sup>126</sup>

Den Patienten/Probanden wird ein Blatt mit einem aufgezeichneten leeren Kreis vorgelegt und aufgefordert in diesen die Ziffern analog einer Uhr einzutragen. Im Anschluss sollen zwei Zeiger so eingezeichnet werden, dass sie die Uhrzeit „zehn Minuten nach elf“ anzeigen.

In der hier verwendeten modifizierten Form werden für die gezeichnete Uhr Punkte analog der Schulnoten von ein bis sechs vergeben (1 = sehr gut, bis 6 = keine Darstellung einer Uhr). Ein Score von > 3 Punkten weist auf eine deutliche Störung der visuokonstruktiven Fähigkeiten hin.

### **3.2.3. Labormethoden**

#### **3.2.3.1. Blutentnahme und Probengewinnung**

Den Patienten wurde parallel zu der routinemäßigen diagnostischen Blutentnahme zusätzlich 30 ml Blut in vier EDTA-Monovetten mit je 7,5 ml (SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen. Davon wurden 10 ml für die Untersuchung der Biomarker verwendet, 20 ml für die genetische Untersuchung (ApoE ε4) und die Bestimmung des Entzündungsmarkers CRP (C-reaktives Protein) zum Ausschluss einer aktuell vorliegenden Entzündung. Zudem wurde im Rahmen der Routinediagnostik TSH (Thyreoidea-stimulierendes Hormon; Thyreotropin), zum Ausschluss einer Schilddrüsenfunktionsstörung, bestimmt.

Den Probanden wurde ebenso 30 ml EDTA Blut und zusätzlich 7,5 ml Blut in Serum-Monovetten (SARSTEDT) zur Bestimmung von TSH abgenommen.

Das EDTA-Blut der Patienten wurde direkt im Anschluss an die Blutentnahme 10 Minuten bei 2000 g und +4°C zentrifugiert und Aliquots in Polycarbonat-Röhrchen bei – 80°C eingefroren.

Das Serum-TSH, sowie das CRP der Probanden wurde nach Blutabnahme durch die klinische Forschung der Firma BRAHMS AG (Hennigsdorf/Berlin, Deutschland) bestimmt, das TSH und CRP der Patienten durch das Zentrallabor im Institut für Klinische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität (München, Deutschland)

Die ApoE ε4 Genotypisierung der Patienten und Probanden erfolgte nach dem Standardverfahren unter Verwendung eines PCR Kit für den Light Cycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) durch die Abteilung Psychiatrische Genetik und Neurochemie der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Psychiatrischen Klinik der LMU in München.

#### **3.2.3.2 Biomarker-Messungen**

Die Bestimmung von CT-proET-1, MR-proADM und MR-proANP erfolgte verblindet mit kommerziellen Immunlumineszenz-Assaysystemen der Firma BRAHMS AG, die auf einer Coated-Tube- und Chemilumineszenztechnik basieren.

Für alle diese Testsysteme werden monoklonale und polyklonale Antikörper als Festphasen- bzw. Tracer-Antikörper verwendet. Diese Immunoassays stellen heterogene, nicht-kompetitive Assaysysteme, so genannte Sandwich-Immunoassays dar.

Das allgemeine Assayprinzip sieht wie folgt aus:

Ein spezifischer Festphasen-Antikörper bindet ein Epitop des jeweiligen Prohormons bzw. Prohormonfragments aus der Probe. Ein spezifischer Tracer-Antikörper, der mit einem Acridiniumester konjugiert ist, bindet ein weiteres Epitop des zu detektierenden Prohormons bzw. Prohormonfragments der Probe. Die Lichtemission der Acridiniumester-Konjugate wird ausgelöst durch Zugabe einer sauren  $H_2O_2$ -Lösung und anschließender Zugabe einer Natriumhydroxid-Lösung. Hierbei zerfällt der Acridiniumester in N-Methyl-Acridon, das Licht bei einer Wellenlänge von 430 nm emittiert und im Luminometer gemessen werden kann. Als Kalibratoren dienen entsprechende Standardpeptide, die synthetisch hergestellt wurden.

Die Intensität der gemessenen Lumineszenzsignale RLU (relative luminescence unit) ist direkt proportional zu der Konzentration der Prohormonfragmente in den Proben. Die computergesteuerte Auswertung der gemessenen Signale erfolgt basierend auf der Standardkurve, die aus einer definierten Antigenkonzentration der Standardproben errechnet wurde.

### **CT-proET-1:**

Der Marker CT-proET-1 wurde mittels des Lumineszenz-Immunoassays CT-proET-1 der Firma BRAHMS AG gemessen.

Vor Messbeginn wurden alle Komponenten und die Patientenproben auf Raumtemperatur gebracht. Als Testtubes wurden mit einem polyklonalen anti-proET-1-Antikörper (Schaf) beschichtete Röhrchen verwendet.

Die gefriergetrockneten (lyophilisierten) Standards und Kontrollen wurden in je 0,5 ml Nullserum rekonstituiert. In jedes Röhrchen wurde je 50  $\mu$ l der Standard- und Kontroll-Lösungen sowie der Patientenproben pipettiert.

Anschließend gab man 200  $\mu$ l der lumineszierenden Tracerlösung (polyklonale anti-CT-

proET-1 Antikörper von Schafen, mit Acridiumester markiert) in jedes Röhrchen. Diese wurden dann auf einem Horizontalschüttler für zwei Stunden bei Raumtemperatur mit 300 rpm inkubiert. Nach Inkubation wurden die Teströhrchen mit je 1 ml Waschlösung gespült und anschließend dekantiert. Nach dreimaliger Wiederholung zur Entfernung eventueller Proben- oder Tracerreste und zehnmütigem Abtropfen erfolgte die Vermessung der Proben im Luminometer (Berthold LB952T, Bad Wildbad, Deutschland). Nach automatischer Zugabe von je 300  $\mu$ I BRAHMS Basiskit LIA Reagenzien 1 und 2 wurden die Lumineszenzsignale gemessen. Die Detektionszeit pro Röhrchen betrug eine Sekunde. Die daraus erhaltenen Lichtsignale werden automatisch mit der Standardkurve verglichen und daraus eine Konzentration errechnet.

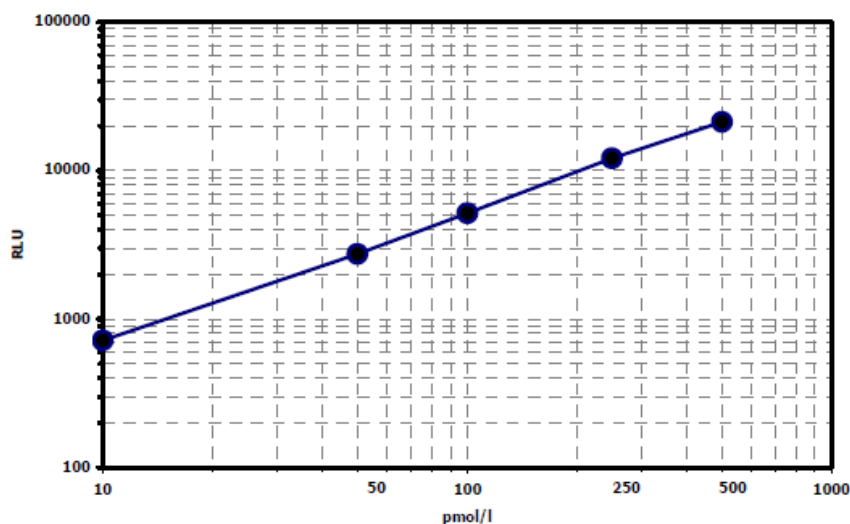


Abb. 10: Standardkurve für CT-proET-1 bestimmt anhand definierter Antigenkonzentration (Instruction manual; Version R03en; 2006; Brahms AG; Hennigsdorf/Berlin, Deutschland)

### MR-proANP:

Der Biomarker MR-proANP wurde mittels des Lumineszenz-Immunoassays MR-proANP der Firma BRAHMS AG gemessen.

Vor Messbeginn wurden alle Komponenten und die Patientenproben auf Raumtemperatur gebracht. Als Testtubes wurden wiederum Röhrchen mit einer polyklonalen anti-proANP Antikörper-Beschichtung (Schaf) aus Polystyrene verwendet.

Nach Temperierung und Vorbereitung aller Komponenten verdünnte man 15  $\mu$ l der

jeweiligen Probe mit 600 µl Inkubationspuffer. Die lyophilisierten Standards und Kontrollen wurden in je 0,5 ml destilliertem Wasser rekonstituiert. Pro Röhrchen wurden je 200 µl der verdünnten Patientenproben pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur und 300 rpm auf dem Horizontalschüttler inkubiert.

Nach der Inkubation wurden alle Tubes mit je einem Milliliter Waschlösung gespült und anschließend dekantiert. Dieser Waschvorgang wurde analog zur Messung von CT-proET-1 dreimal durchgeführt. In die abgetropften Tubes pipettierte man dann 200 µl der Tracerlösung und inkubierte sie erneut für 30 Minuten bei Raumtemperatur und 300 rpm. Nach viermaligem Waschen der Röhrchen mit je einem Milliliter Waschlösung und zehnmütiger Abtropfzeit wurden die Röhrchen, wie bei Vermessung von CT-proET-1 beschrieben, im Luminometer vermessen.

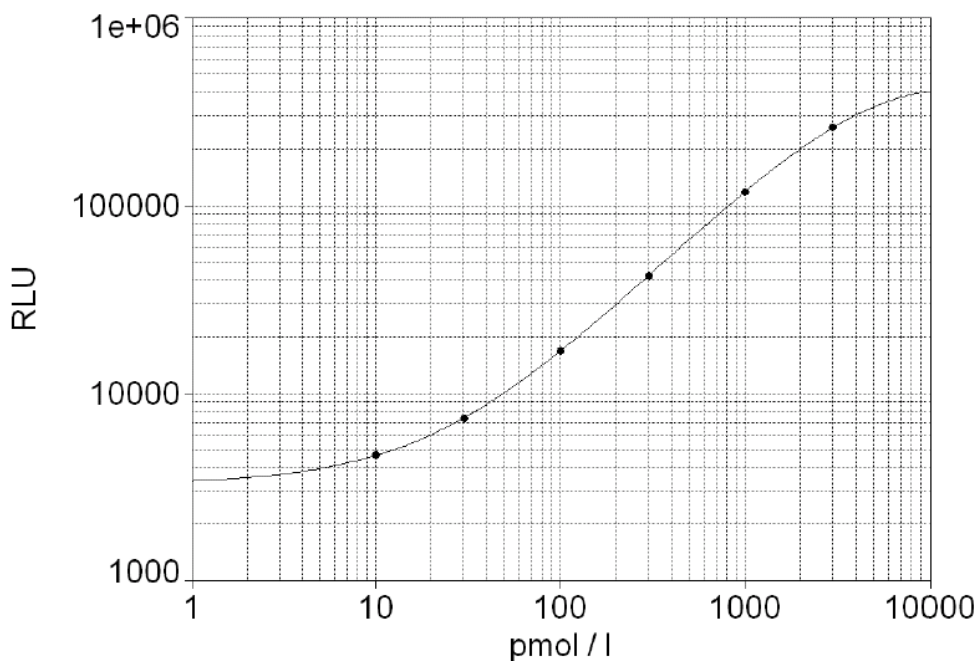


Abb. 11: Standardkurve für MR-proANP bestimmt anhand definierter Antigenkonzentration (Instruction manual; Version R05en; 2004; Brahms AG; Hennigsdorf/Berlin, Deutschland)

### **MR-proADM:**

Der Marker MR-proADM wurde mittels des Lumineszenz-Immunoassays MR-proADM der Firma BRAHMS gemessen.

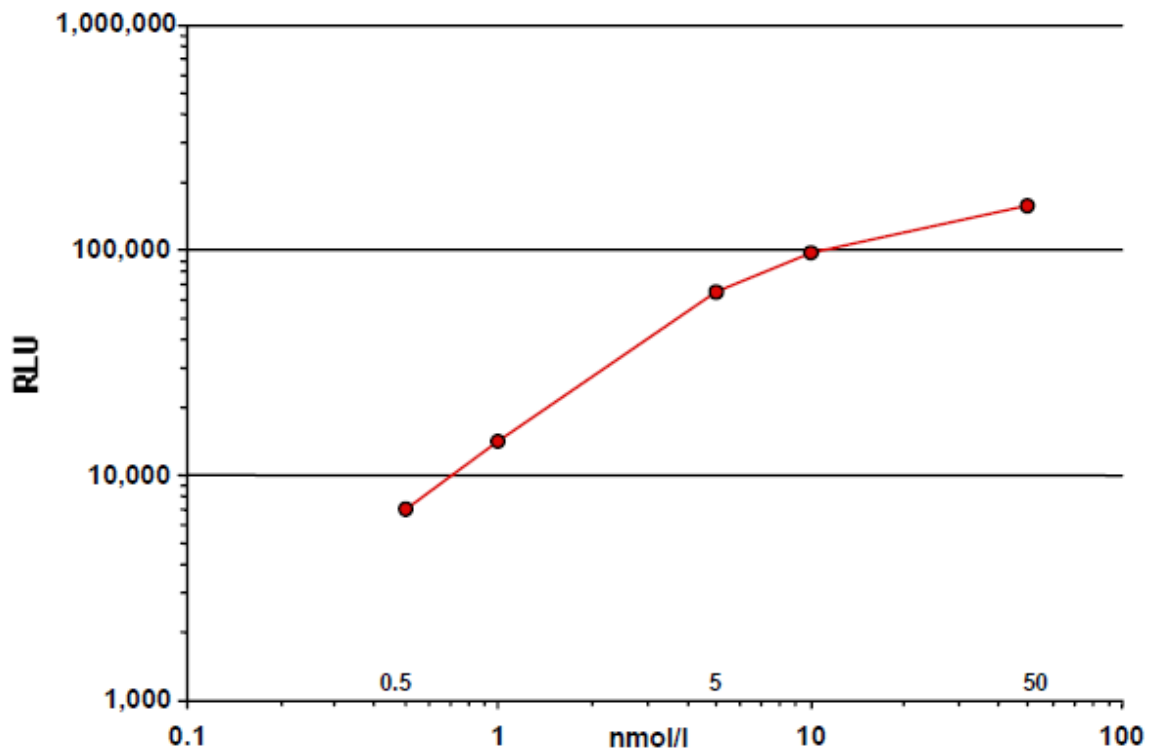
Vor Messbeginn wurden wiederum alle Komponenten und die Patientenproben auf Raumtemperatur gebracht. Als Teströhrchen wurden Tubes mit einer polyklonalen anti-

proADM Antikörper (Schaf) Beschichtung aus Polystyrene verwendet.

Die lyophilisierten Standards und Kontrollen wurden in je 0,5 ml Nullserum (Pferd) rekonstituiert. Je 10  $\mu$ l der Kontroll- und Standardlösungen sowie je 10 $\mu$ l der Patientenproben wurden pro Röhrchen pipettiert.

Anschließend wurden je 200  $\mu$ l Tracerlösung dazugegeben und für 30 Minuten bei Raumtemperatur und 300 rpm auf dem Horizontalschüttler inkubiert.

Nach viermaligem Waschen der Röhrchen mit je 1 ml Waschlösung und zehnmütiger Abtropfzeit wurden die Röhrchen, wie bei Vermessung von CT-proET-1 beschrieben, luminometrisch vermessen.



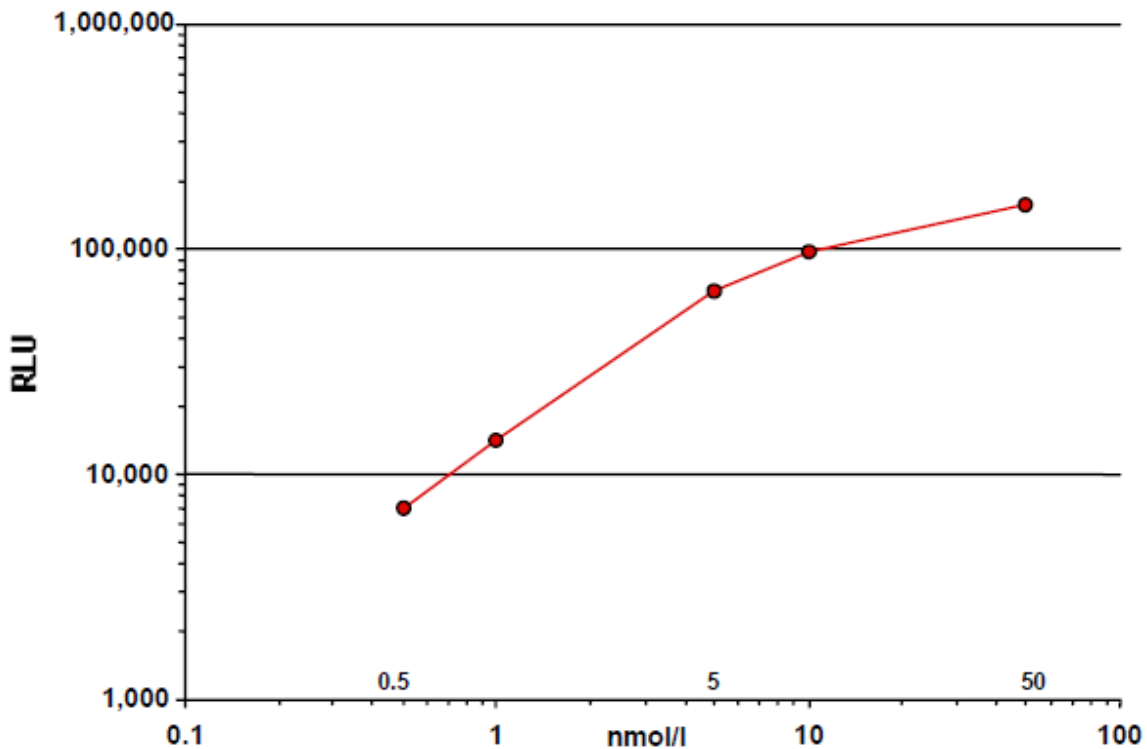


Abb. 12: Standardkurve für MR-proADM bestimmt anhand definierter Antigenkonzentration (Instruction manual; Version R03en; 2004; Brahms AG; Hennigsdorf/Berlin, Deutschland)

### 3.2.4 Statistische Verfahren

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS 12.0. (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA).

Die Variablen Alter, Geschlecht, ApoE ε4 Genotyp, CRP und die Einnahme von Diuretika wurden als Covariaten in das Model miteinbezogen.

Eine univariate Codierung erfolgte für die Variablen Alter, MMST-Score und die einzelnen Marker, eine bivariate Codierung wurde für das Geschlecht, die ApoE ε4-Genotypisierung (ApoE ε4-Träger versus Nicht-Träger), den CRP-Wert (< oder > 5 µg/ml), die Einnahme von Diuretika (Ja/Nein) und der arteriellen Blutdruckwerte (vier Stadien korrespondierend zu den WHO Graden<sup>127</sup>) verwendet.

Zur deskriptiven Übersicht (Durchschnitts- und Mittelwerte, Minimum und Maximum sowie Standardabweichung) wurden die demographischen Charakteristika, der MMST-Wert, die ApoE ε4-Genotypisierung sowie die Markermesswerte und ihre Ratio Indices für die beiden Diagnosegruppen errechnet.



Um mögliche signifikante Unterschiede in den demographischen Daten (Alter, Geschlecht), dem MMST-Wert sowie den Konzentrationen von CT-proET-1, MR-proANP und MR-proADM und den Ratio Indices zwischen AD und den gesunden Kontrollen zu finden, wurde eine One Way ANOVA-Analyse, d.h. eine einfache Varianzanalyse durchgeführt.

Bei nicht normalverteilten Blutdruckwerten verwendeten wir einen Mann Whitney U-Test zum Gruppenvergleich.

Die Analyse der Gruppenverteilungen der ApoE  $\epsilon$ 4 Genotypen und der antihypertensiven Medikation erfolgte mittels des Chi<sup>2</sup> Tests.

Die Korrelationen der einzelnen Variablen untereinander wurden mit der Pearson Korrelation errechnet.

Um die Vorhersagegenauigkeit der von uns verwendeten Ratio Indices der Vasodilatoren/Vasokonstriktoren (MR-proANP/CT-proET-1 und MR-proADM/CT-proET-1) zur Differenzierung zwischen AD und gesunden Kontrollen zu bestimmen, führten wir eine logistische Regressionsanalyse durch.

Zur stratifizierten Kreuzvalidierung wurden sowohl das AD-Kollektiv als auch die gesunden Kontrollen altersangepasst in jeweils zwei Gruppen, ein Trainings- und ein Testset, aufgeteilt.

Als Erstes wurde das logistische Regressionsmodell auf das Trainingsset angewendet, um festzustellen, ob die Ratio Indices als diagnostische Vorhersagewerte unabhängig von den Covariaten Alter, Geschlecht, ApoE  $\epsilon$ 4 Genotyp, arteriellen Blutdruckwerten, CRP und der Einnahme von Diuretika sind.

Folgend führten wir eine ROC Analyse (receiver operated characteristics analysis) zur Bestimmung der Sensitivität (Richtigpositiv-Rate), der Spezifität (Richtignegativ-Rate) und der optimalen Grenzwerte der Einzelmarker und der Kombinationen durch, um zwischen gesunden Kontrollen und AD-Patienten innerhalb der Gesamtgruppe unterscheiden zu können.

Hierbei ermittelten wir für jeden möglichen Grenzwert die resultierenden relativen Häufigkeitsverteilungen und errechneten die jeweils zugehörige Sensitivität und Spezifität.

Zuvor legten wir die Sensitivität bei einer Spezifität von mindestens 80% fest.

Zuerst führten wir die ROC-Analyse an dem Trainingsset durch, bei der die Ratio

Indices als Prädiktor und die Diagnose als Kriteriumsvariable angegeben wurde.

Der hierbei errechnete optimale Cut off Wert mit einer maximalen Sensitivität bei einer festgelegten Mindestspezifität von 80% wurde anschließend auf das Testset übertragen und damit die Sensitivität und Spezifität der Ratio Indices im Testset errechnet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Deskriptive Übersicht über Studienkollektiv und Biomarker

#### 4.1.1 Übersicht über das Studienkollektiv

Insgesamt erfüllten 94 AD-Patienten sowie 53 gesunde Kontrollen die geforderten Kriterien und wurden somit in das Studienkollektiv eingeschlossen.

Die Auswertung der Alters- und Geschlechtsverteilung, des MMST-Wertes und der ApoE  $\epsilon$ 4-Genotypisierung zeigte in jedem Bereich signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) zwischen der AD- und der Kontrollgruppe.

Im Altersdurchschnitt war die Kontrollgruppe (KG) im Mittel um 8,4 Jahre jünger als die Patientengruppe.

Der Frauenanteil in der AD-Gruppe war gegenüber dem Männeranteil gut doppelt so hoch, wogegen die Kontrollgruppe eine ausgeglichene Geschlechteraufteilung zeigte.

Diagnosegemäß bestand ein signifikanter Unterschied der MMST-Werte und der ApoE  $\epsilon$ 4-Frequenz zwischen beiden Gruppen. Der MMST-Wert lag im Mittel bei den AD-Patienten um 7,7 Punkte niedriger. Nur rund 17 % der gesunden Kontrollen waren Träger des ApoE  $\epsilon$ 4 Allels gegenüber 55 % der Patienten aus der AD-Gruppe.

		ALTER IN JAHREN*	GESCHLECHT MÄNNLICH/ WEIBLICH	MMST*	ApoE $\epsilon$ 4 TRÄGER/NICHT- TRÄGER
KG	(n=53) <sup>°</sup>	65.5[ $\pm$ 7.5] 55.0-80.0	27/26	29.0[ $\pm$ 0.8] 28-30	9/44
AD	(n=94) <sup>°</sup>	73.9[ $\pm$ 8.0] 53.4-88.8	30/64	21.3[ $\pm$ 4.7] 4-28	52/42

Tabelle 1a: Übersicht über das Gesamtkollektiv hinsichtlich Alters- und Geschlechtsverteilung, des MMST-Wertes und der ApoE  $\epsilon$ 4-Genotypisierung. Aufgeteilt nach Kontrollgruppe (KG) und AD-Patienten (AD)

\* Mittelwert [Standardabweichung]/Minimum-Maximum]

<sup>°</sup> Signifikante Unterschiede zwischen KG und AD für:

Alter ( $p < 0,001$ ), Geschlecht ( $p = 0,023$ ), MMST ( $p < 0,001$ ) und ApoE  $\epsilon$ 4 ( $p < 0,001$ )

Des Weiteren analysierten wir die Gruppen anhand der anamnestisch bekannten Vorerkrankungen, sowie der kardiovaskulären Risikofaktoren.

Hier zeigte sich in der AD-Gruppe, wie durch den signifikanten Altersunterschied

erwartet, ein deutlich häufigeres Auftreten eines arteriellen Hypertonus, einer Hyperlipidämie und eines Diabetes mellitus. Zudem befragten wir die Patienten nach Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und nach Tumorerkrankungen in der Anamnese. Bei 10,6% der AD-Patienten fand sich eine maligne Grunderkrankung, in der Kontrollgruppe bei nur 3,8%. Von einer Krankheit aus dem rheumatischen Formenkreis war insgesamt nur ein Studienteilnehmer aus der Gruppe der Kontrollen betroffen.

<b>ERKRANKUNGEN</b>	<b>KG (N=53)</b>	<b>AD (N=94)</b>
Arterieller Hypertonus	12 (22,6%)	52 (55,3%)
Hyperlipidämie	7 (13,2%)	30 (31,9%)
Diabetes mellitus	2 (3,8%)	9 (9,6%)
Rheumatische Erkrankungen	1 (1,9%)	0 (0%)
Maligne Tumorerkrankung	2 (3,8%)	10 (10,6%)

Tabelle 1b: Übersicht über das Gesamtkollektiv hinsichtlich der Komorbiditäten arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, rheumat. Erkrankung, maligne Tumorerkrankung aufgeteilt nach Kontrollgruppe (KG) und AD-Patienten (AD)

In der körperlichen Untersuchung der Patienten wurden die aktuellen Blutdruckwerte ermittelt, die nach der Definition der WHO in vier Grade eingeteilt wurden.<sup>128</sup> Hier bestätigte sich in der Gruppe der Demenzpatienten der anamnestisch höhere Anteil an arteriellen Hypertonikern durch signifikant höhere Blutdruckwerte ( $p=0,025$ ). Als

<b>BLUTDRUCK</b>	<b>KG (N=53)</b>	<b>AD (N=94)</b>
Normal ( $<140/90$ mmHg)	47%	29%
leichtgradige Hypertension ( $140/90-160/100$ mmHg)	34%	36%
mittelgradige Hypertension ( $160/100-180/110$ mmHg)	19%	31%
schwere Hypertension ( $>180/110$ mmHg)	0	4%

Tabelle 1c: Übersicht über das Gesamtkollektiv hinsichtlich der arteriellen Blutdruckwerte aufgeteilt nach Schweregrad und nach Kontrollgruppe (KG) und AD-Patienten (AD)

Eine antihypertensive Medikation nahmen 23% der Kontrollen und 56 % der

Patientengruppe ( $p = 0,003$ ) ein.

<b>ANTIHYPERTENSIVE MEDIKATION</b>	<b>KG (N=53)</b>	<b>AD (N=94)</b>
Keine Therapie	77%	44%
$\beta$ -Blocker	13%	8%
Diuretika	2%	22%
$\beta$ -Blocker & Diuretika	0	11%
Andere	8%	15%

Tabelle 1d: Übersicht über das Gesamtkollektiv hinsichtlich antihypertensiver Therapie aufgeteilt nach Kontrollgruppe (KG) und AD-Patienten (AD)

Weiterhin wurden die Kontrollen und die Patienten bezüglich eines Nikotin- und Alkoholabusus befragt.

Ein Nikotinabusus lag bei vier Kontrollen und bei drei AD-Patienten vor. Ein schädlicher Alkoholgebrauch bestand sowohl in der Kontroll- als auch in der Patientengruppe bei zwei Teilnehmern.

	<b>KG (N=53)</b>	<b>AD (N=94)</b>
<b>NIKOTINABUSUS</b>	4 (7,6%)	3 (3,2%)
<b>ALKOHOLABUSUS</b>	2 (3,8%)	2 (2,1%)

Tabelle 1e: Übersicht über das Gesamtkollektiv hinsichtlich Nikotin- und Alkoholabusus aufgeteilt nach Kontrollgruppe (KG) und AD-Patienten (AD)

Eine positive Familienanamnese, d.h. eine dementielle Erkrankung bei einem erstgradigen Blutsverwandten, lag bei 24,5% der gesunden Kontrollen und bei 30,9% der AD-Patienten vor.

	<b>KG (N=53)</b>	<b>AD (N=94)</b>
<b>POSITIVE FAMILIENANAMNESE FÜR DEMENZ</b>	13 (24,5%)	29 (30,9%)

Tabelle 1f: Übersicht über das Gesamtkollektiv hinsichtlich positiver Familienanamnese aufgeteilt nach Kontrollgruppe (KG) und AD-Patienten (AD)

Bei den AD-Patienten wurden zusätzlich im Liquor cerebrospinalis die neurodegenerativen Marker  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub>, Tau-Protein und phosphoryliertes Tau-Protein bestimmt. Hier zeigten 62% der von uns untersuchten AD-Patienten mindestens

einen pathologisch veränderten Degenerationsmarker gegenüber Referenzwerten aus der Literatur.<sup>129</sup>

	REFERENZWERT	AD*
<b>β-Amyloid<sub>1-42</sub></b> (ng/ml)	>500	348 [±242]
<b>Tau-Protein gesamt</b> (ng/ml)	<450	665 [±368]
<b>Tau-Protein phosphoryliert</b> (ng/ml)	<61	88 [±43]

Tabelle 1g: Übersicht über neurodegenerative Liquormarker β-Amyloid<sub>1-42</sub>, Tau- Protein und phosphoryliertes Tau-Protein bei AD-Patienten (AD)

\* Mittelwert [Standardabweichung]

#### 4.1.2 Übersicht über die Biomarker

Betrachtet man die Einzelmarker im Gruppenvergleich zeigen sich für alle drei Marker signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Mittelwerte der Vasodilatoren MR-proANP und MR-proADM sind in der AD-Gruppe deutlich gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Hingegen ist die mittlere Konzentration des Vasokonstriktors CT-proET-1 bei den AD-Patienten signifikant gegenüber den gesunden Kontrollen erniedrigt.

Die deutlichste Gruppentrennung erreicht der Marker MR-proANP mit einer statistischen Signifikanz von  $p < 0,001$ , gefolgt von den Vasodilatoren MR-proADM mit  $p = 0,003$  und CT-proET-1 mit  $p = 0,011$ .

		MR-proADM (nmol/l) *	MR-proANP (pmol/l) *	CT-proET-1 (pmol/l) *
<b>KG</b>	(n=53) <sup>°</sup>	0.6[±0.2] 0.4-1.2	70.7[±29.2] 32.8-198.0	73.2[±15.7] 49.3-123.0
<b>AD</b>	(n=94) <sup>°</sup>	0.7[±0.3] 0.3-1.9	119.6[±77.6] 25.3-474.0	65.2[±19.0] 25.3-123.0

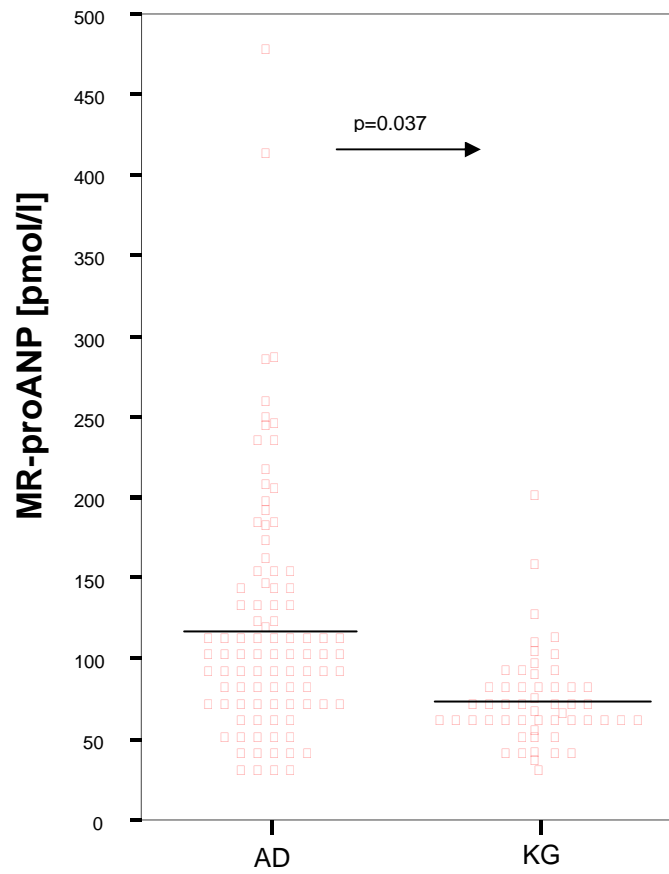
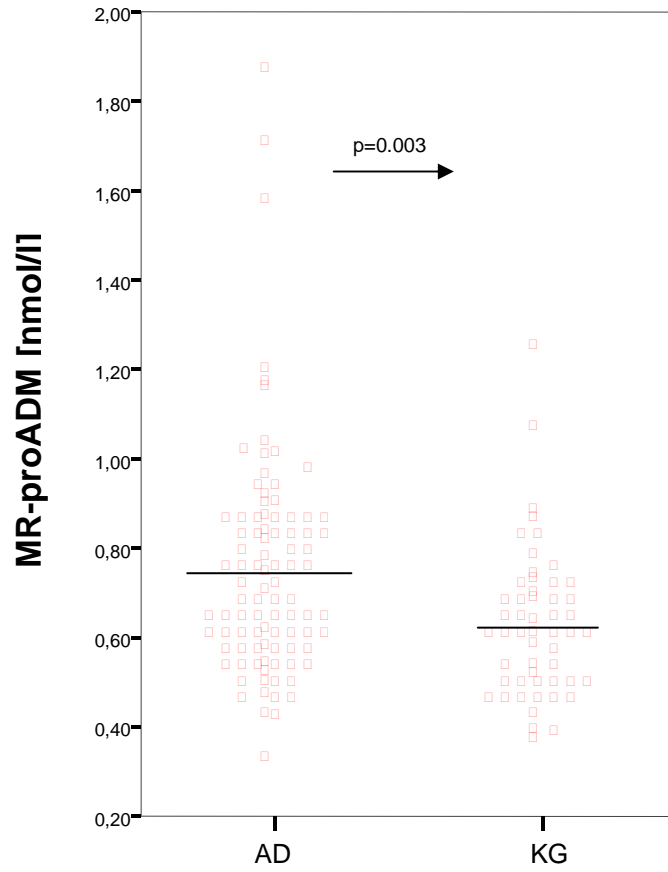
Tabelle 2a: Übersicht über das Gesamtkollektiv der Patienten hinsichtlich der einzelnen Marker

\* Mittelwert [Standardabweichung]/Minimum-Maximum

<sup>°</sup>Signifikante Unterschiede zwischen KG und AD für:

MR-proANP ( $p < 0,001$ ), MR-proADM ( $p = 0,003$ ), CT-proET-1 ( $p = 0,011$ )

Die folgenden Streudiagramme geben eine Übersicht über die Markerkonzentrationen der einzelnen Marker unterteilt nach den Diagnosegruppen.



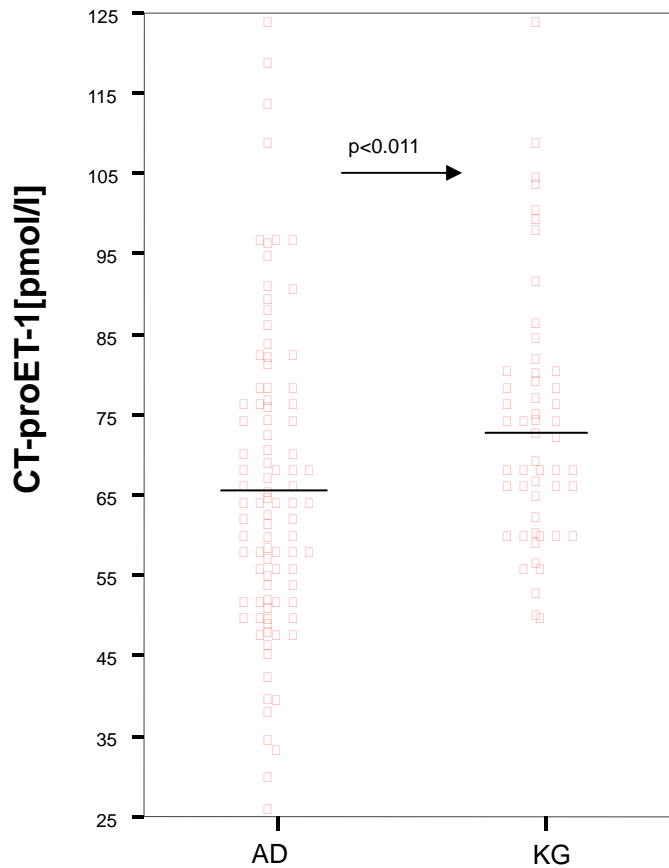


Diagramm 1 a, b, c: Streudiagramme der Einzelmarker unterteilt nach Diagnosegruppen mit p-Werten  
AD: AD-Patienten, KG: Kontrollgruppe

Nachdem wir deutlich höhere Konzentration der Vasodilatoren MR-proANP und MR-proADM, bei einer gleichzeitig erniedrigten Konzentration des Vasokonstriktors CT-proET-1 im Blut der Patienten fanden, schlossen wir daraus, dass das Verhältnis der Vasodilatoren zu Vasokonstriktoren bei der AD gestört ist. Konsekutiv stellen wir die Konzentrationen der Vasodilatoren den Konzentration des Vasokonstriktors gegenüber. Bei der Berechnung der Ratio Indices, also der Division der Vasodilatoren durch den Vasokonstriktor CT-proET-1, fanden sich für beide Kombinationen in der Gruppe der AD-Patienten signifikant erhöhte Werte mit  $p < 0,001$ .



		<b>RATIO INDEX proANP/proET-1*</b>	<b>RATIO INDEX proADM/proET-1*</b>
<b>KG</b>	(n=53) <sup>°</sup>	1.0[±0.4] 0.4-2.4	8.5[±1.6] 5.5-13.2
<b>AD</b>	(n=94) <sup>°</sup>	1.8[±1.0] 0.5-5.0	11.8[±4.3] 5.6-34.2

Tabelle 2b: Übersicht über das Gesamtkollektiv der Patienten hinsichtlich der Ratio Indices

\* Mittelwert [Standardabweichung]/Minimum-Maximum

<sup>°</sup>Signifikante Unterschiede zwischen KG und AD für:

Ratio index proANP/proET-1 (p<0,001)

Ratio index proADM/proET1 (p<0,001)

KG = Kontrollgruppe, AD = AD-Patienten

### 4.1.3 Übersicht über das Trainings- /Testset

Für die weiteren Analysen teilten wir sowohl das AD-Kollektiv als auch die Kontrollen altersangepasst in jeweils zwei Gruppen, einem Trainings- und einem Testset, auf. In den folgenden beiden Übersichtstabellen sind sowohl die demographischen Daten wie auch die Marker und die Ratio Indices, unterteilt nach dem Gesamtkollektiv, dem Trainings- und dem Testset je Diagnosegruppe aufgeführt.

		<b>ALTER in Jahren*</b>	<b>GESCHLECHT männlich/weiblich</b>	<b>MMST*</b>	<b>ApoE 4 Träger/Nicht- Träger</b>
<b>KG</b>	Total <sup>°</sup> (n=53)	65.5[±7.5] 55.0-80.0	27/26	29.0[±0.8] 28-30	9/44
	Train (n=28)	66.0[±7.6] 55.0-80.0	12/16	29.1[±0.8] 28-30	3/25
	Test (n=25)	64.8[±7.6] 55.0-80.0	15/10	29.0[±0.7] 28-30	6/19
<b>AD</b>	Total <sup>°</sup> (n=94)	73.9[±8.0] 53.4-88.8	30/64	21.3[±4.7] 4-28	52/42
	Train (n=47)	73.8[±8.0] 54.5-87.5	13/30	20.9[±5.0] 4-27	26/21
	Test (n=47)	74.0[±8.2] 53.4-88.8	17/30	21.7[±4.4] 8-28	26/21

Tabelle 3a: Übersicht über das Gesamtkollektiv der Patienten hinsichtlich Alters- und Geschlechtsverteilung, des MMST-Wertes und der der ApoE ε4-Genotypisierung aufgeteilt nach Kontrollgruppe (KG) und AD-Patienten (AD) sowie nach Gesamtzahl je Gruppe (Total), nach Trainings (Train)- und Testset (Test).

\* Mittelwert [Standardabweichung]/Minimum-Maximum

<sup>°</sup>Signifikante Unterschiede zwischen KG und AD für:

Alter (p<0,001), Geschlecht (p=0,023), MMST (p<0,001) und ApoE ε4 (p<0,001)

KG = Kontrollgruppe, AD = AD-Patienten

		MR-proANP (pmol/l)*	MR-proADM (nmol/l) *	CT-proET-1 (pmol/l) *	proANP / proET-1*	proADM / proET-1*
<b>KG</b>	Total° (n=53)	70.7[±29.2] 32.8-198.0	0.6[±0.2] 0.4-1.2	1.0[±0.4] 0.4-2.4	8.5[±1.6] 5.5-13.2	73.2[±15.7] 49.3-123.0
	Train (n=28)	69.6[±25.9] 34.4-155.0	0.6[±0.1] 0.5-0.9	1.0[±0.3] 0.5-2.0	8.7[±1.5] 6.1-13.2	72.6[±14.0] 55.6-104.0
	Test (n=25)	71.9[±33.1] 32.8-198.0	0.6[±0.2] 0.4-1.2	1.0[±0.4] 0.4-2.4	8.3[±1.7] 5.5-10.9	73.9[±17.7] 49.3-123.0
<b>AD</b>	Total° (n=94)	119.6[±77.6] 25.3-474.0	0.7[±0.3] 0.3-1.9	1.8[±1.0] 0.5-5.0	11.8[±4.3] 5.6-34.2	65.2[±19.0] 25.3-123.0
	Train (n=47)	118.2[±62.1] 37.7-283.0	0.7[±0.2] 0.4-1.2	1.8[±0.8] 0.6-3.9	11.3[±3.2] 7.1-22.1	66.9[±20.2] 29.1-118.0
	Test (n=47)	121. [±91.1] 25.3-474.0	0.8[±0.3] 0.3-1.9	1.9[±1.1] 0.5-5.0	12.3[±5.2] 5.6-34.2	63.6[±18.0] 25.3-123.0

Tabelle 3b: Übersicht über das Gesamtkollektiv, sowie über Trainings (Train)- und Testset (Test) der Patienten hinsichtlich der Einzelmarker und der Ratio Indices

\* Mittelwert [Standardabweichung]/Minimum-Maximum

°Signifikante Unterschiede zwischen KG und AD für:

MR-proANP (p<0,001), MR-proADM (p=0,003), CT-proET-1 (p=0,011), proANP/proET-1 (p<0,001)

proADM/proET1 (p<0,001)

KG = Kontrollgruppe, AD = AD-Patienten

## 4.2 Spezifität und Sensitivität der Einzelmarker und der Ratio Indices

Die Spezifität unserer untersuchten Marker zur Detektion einer AD wurde, wie vom Ronald and Nancy Reagan Institut der Alzheimer Association und der NIA-Working Group gefordert, auf mindestens 80% festgelegt.

In der ROC Analyse errechneten wir bei einer Spezifität von 81,1% bei MR-proANP eine Sensitivität von 62,8%, bei MR-proADM von 46,8% und bei CT-proET-1 eine Sensitivität von 43,6%.

	Cut off	SPEZIFITÄT	SENSITIVITÄT
<b>MR-proANP</b> [pmol/l] <sup>°</sup>	87 pmol/l	81,1 %	62,8 %
<b>MR-proADM</b> [nmol/l]	0.72 nmol/l	81,1 %	46,8 %
<b>CT-proET-1</b> [pmol/l]	59,4 pmol/l	81,1 %	43,6 %

Tabelle 4a: Cut off und Sensitivität der Einzelmarker berechnet auf das Gesamtkollektiv – AD-Patienten gegen gesunde Kontrollen – bei einer festgelegten Spezifität von 81,1%.

MR-proANP = Midregional pro-atrial natriuretic peptide

MR-proADM = Midregional pro-Adrenomedullin

CT-proET-1 = C-terminal Endothelin-1 precursor fragment

<sup>°</sup>Signifikanter Unterschied zwischen AD und gesunder Kontrollen

Bei einem veränderten Verhältnis der Vasodilatoren zu Vasokonstriktoren bei der AD, berechneten wir nachfolgend die Sensitivitäten der Ratio Indices bei einer festgelegten Spezifität von 81,1%. Hier konnten wir eine Verbesserung der Sensitivitäten im Vergleich zu den Einzelmarkern mit einer Sensitivität von 66,0 % für MR-proADM/CT-proET-1 und eine Sensitivität von 76,6 % für MR-proANP/CT-proET-1 erreichen.

	Cut off	SPEZIFITÄT	SENSITIVITÄT
<b>MR-proANP/ CT-proET-1</b>	1,15	81,1 %	76,6 %
<b>MR-proADM/ CT-proET-1</b>	9,69	81,1 %	66,0 %

Tabelle 4b: Cut off und Sensitivität der Ratio Indices berechnet auf das Gesamtkollektiv – AD-Patienten gegen gesunde Kontrollen – bei einer festgelegten Spezifität von 81,1%.

MR-proANP = Midregional pro-atrial natriuretic peptide

MR-proADM = Midregional pro-Adrenomedullin

CT-proET-1 = C-terminal Endothelin-1 precursor fragment

### 4.3 Diagnostische Vorhersagegenauigkeit der Ratio Indices

Bei der weiteren Auswertung konzentrierten wir uns auf die Ratio Indices, da diese die höchste Sensitivität bei einer Spezifität von >80% erreichten.

Um einen möglichen Einfluss der Covariaten kontrollieren zu können, führten wir die logistische Regressionsanalyse unter Einbezug der Covariaten Alter, Geschlecht, arterielle Blutdruckwerte, ApoE ε4 Genotyp, CRP und die Einnahme von Diuretika durch. Die logistische Regressionsanalyse wendeten wir jeweils auf das Trainingsset der AD-Patienten und der gesunden Kontrollen an.

#### 4.3.1 Diagnostische Vorhersagegenauigkeit des Ratio Indices MR-proANP/CT-proET-1

Das Ergebnis der logistische Regressionsanalyse des Trainingssets zeigte, dass der Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 signifikant zwischen AD-Patienten und gesunden Kontrollen unterscheiden kann. Zudem konnte erwartungsgemäß auch durch den ApoE ε4 Genotyp und das Alter eine signifikante Gruppendifferenzierung zwischen AD-Patienten und Kontrollen erfolgen.

	<b>B</b>	<b>SE</b>	<b>p</b>
<b>MR-proANP/CT-proET-1</b>	3,19	0,95	0,001
<b>ApoE ε4</b>	1,90	0,78	0,015
<b>Alter</b>	0,12	0,059	0,04

Tabelle 5a: Logistische Regressionsanalyse des Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1, des ApoE ε4 Genotype und des Alters bezogen auf das Trainingsset

B = Regressionskoeffizient

SE = standard error = Standardfehler

p < 0,05 = signifikanter Unterschied

Die ROC-Analyse des Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 beim Trainingsset erbrachte eine area under curve (AUC) von 0,85 (SE = 0,04). Bei einer Spezifität von 82% lag die Sensitivität bei 81%. Der Cut off Wert lag hier bei 1,16.

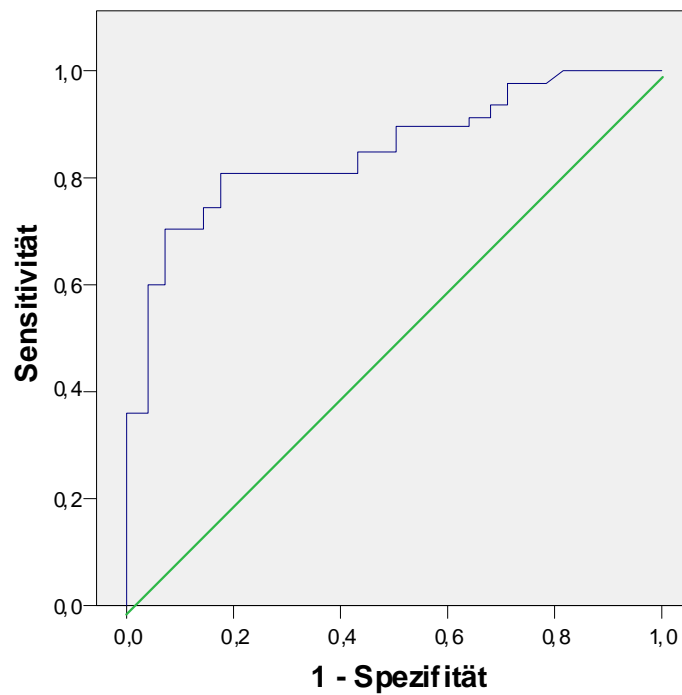


Abbildung 13a: ROC-Kurve für den Ratio Index MR-proANP / CT-proET-1 berechnet auf das Trainingsset. Spezifität von 82% bei Sensitivität von 81% mit Cut off Wert von 1,16.  
 AUC (area under curve) = 0,85  
 SE (standard error = Standardfehler) = 0,04

Diesen am Trainingsset errechneten Cut off Wert wendeten wir auf das Testset der AD-Patienten und der gesunden Kontrollen an. Damit erzielten wir eine Spezifität von 80 % bei einer Sensitivität von 72%. Die AUC betrug hier 0,77 (SE = 0,06).

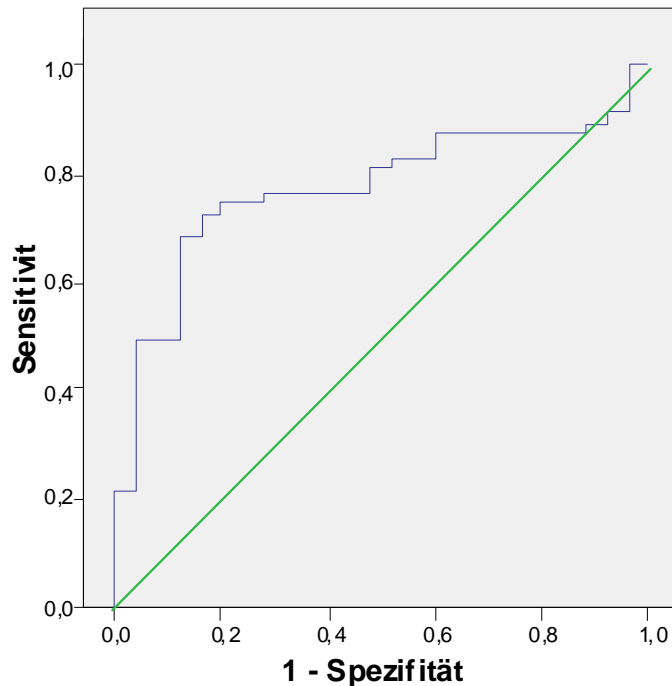


Abbildung 13b: ROC-Kurve für den Ratio Index MR-proANP / CT-proET-1 berechnet auf Testset.  
 Spezifität von 80% bei Sensitivität von 72% mit Cut off-Wert von 1,16.  
 AUC (area under curve) = 0,77  
 SE (standard error = Standardfehler) = 0,06

### 4.3.2 Diagnostische Vorhersagegenauigkeit des Ratio Indices MR-proADM/CT-proET-1

Auch zeigte der Ratio Index MR-proADM/CT-proET-1 bei der logistischen Regressionsanalyse angewandt auf das Trainingsset eine signifikante Unterscheidung zwischen AD-Patienten und gesunden Kontrollen. Ebenso erhielten wir hier eine signifikante Gruppentrennung durch den ApoE  $\epsilon$ 4 Genotyp und durch das Alter.

	<b>B</b>	<b>SE</b>	<b>P</b>
<b>MR-proADM/CT-proET-1°</b>	0,58	0,24	0,015
<b>ApoE <math>\epsilon</math>4</b>	3,39	0,30	0,009
<b>Alter</b>	0,21	0,067	0,002

Tabelle 5b: Logistische Regressionsanalyse des Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1, des ApoE  $\epsilon$ 4 Genotype und des Alters bezogen auf das Trainingsset  
 B = Regressionskoeffizient, SE = standard error = Standardfehler,  $p < 0,05$  = sig. Unterschied

Die ROC- Analyse des Ratio Index MR-proADM/CT-proET-1 verwendet auf das Trainingsset, lieferte eine AUC von 0,75 (SE = 0,05). Bei einer Spezifität von 82% erreichten wir hier eine Sensitivität von 68% bei einem Cut off Wert des Ratio Index von 9,62.

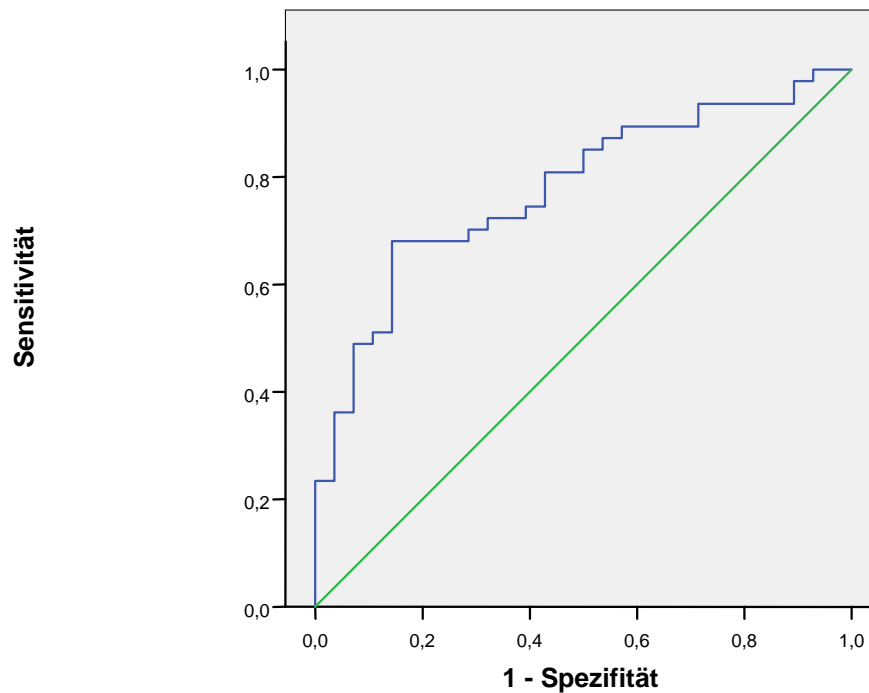


Abbildung 14a: ROC-Kurve für den Ratio Index MR-proADM/CT-proET-1 berechnet auf das Trainings – Set. Spezifität von 82% bei Sensitivität von 68% mit Cut off Wert von 9,62.  
AUC (area under curve) = 0,78  
SE (standard error = Standardfehler) = 0,05

Diesen Cut off Wert wendeten wir wiederum auf das Testset der AD-Patienten und der gesunden Kontrollen an. Wir erreichten damit eine Spezifität von 76% bei einer Sensitivität von 66%. Die AUC betrug hier 0,79 (SE = 0,05).

Sensitivität

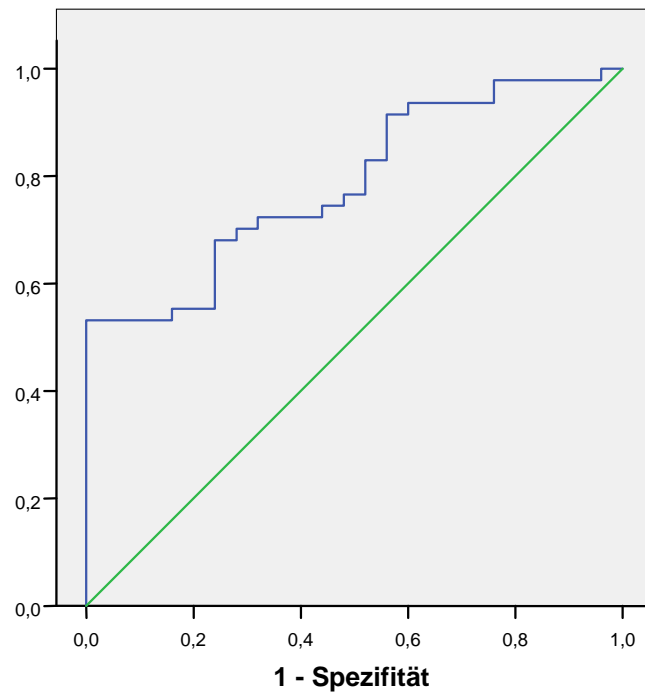


Bild 14b: ROC-Kurve für den Ratio Index MR-proADM/CT-proET-1 berechnet auf Testset. Spezifität von 76% bei Sensitivität von 66% mit Cut off Wert von 0,79.  
AUC (area under curve) = 0,77  
SE (standard error = Standardfehler) = 0,06



## 5. Diskussion

Die Suche nach einem biologischen Marker zur Diagnostik der AD ist eines der meist untersuchten Gebiete in der Demenzforschung. Ein spezifischer und sensibler Marker wäre nicht nur für diagnostische Zwecke wünschenswert, sondern könnte auch Nutzen in der Verlaufs- und auch Therapiekontrolle haben und würde damit vielleicht sogar helfen, pathophysiologische Hintergründe der Erkrankung besser zu verstehen. Ein „idealer“ Marker soll nach den Kriterien des Ronald und Nancy Reagan Institut der Alzheimer Association und der NIA-Working Group ein grundsätzliches Merkmal der Neuropathologie der Erkrankung widerspiegeln, die AD in einem frühen Stadium nachweisen und von anderen Demenzformen unterscheiden können, hoch reliabel, nicht invasiv, einfach nachzuvollziehen und kostengünstig sein. Zudem soll die Gültigkeit des Markers an neuropathologisch bestätigten AD Fällen bewiesen sein.<sup>97</sup>

Trotz bereits guter Erfolge in der Biomarkerforschung auf dem Gebiet der diagnostischen Liquormarker mit Tau-Proteinen und Abeta-Peptiden, die inzwischen als etabliert gelten, wird weiterhin nach weniger invasiv zu gewinnenden Markern gesucht.<sup>130</sup>

### **5.1 Pathophysiologischer/neuropathologischer Hintergrund der untersuchten Peptide CT-proET-1, MR-proADM und MR-proANP**

Grundlage der vorliegenden Untersuchung war die Hypothese, dass die AD mit Mikrozirkulationsstörungen einhergeht.

Bereits in einer Vielzahl von Studien konnte nachgewiesen werden, dass vaskuläre Risikofaktoren und eine zerebrale Minderperfusion eine entscheidende Rolle bei der Alzheimer-Erkrankung einnehmen<sup>52, 53, 55, 131</sup> und sogar der zerebrale Blutfluss bei AD-Patienten deutlich vermindert ist.<sup>132</sup> In Arbeiten mit einem transgenen APP-Mausmodell, in dem APP überexprimiert wird, konnte man nachweisen, dass das Amyloid-Beta-Peptid (A $\beta$ ) welches bei der AD eine zentrale Rolle spielt, zu einer zerebralen Angiopathie, einer zerebralen und systemischen endothelialen Dysfunktion sowie konsekutiv zu oxidativem Stress führt und damit insbesondere die Fähigkeit zur zerebralen Gefäßdilatation beeinträchtigt ist.<sup>133, 134</sup> Hieraus resultiert einerseits ein

erhöhtes Schlaganfallrisiko, andererseits kommt es zu einem gesteigerten Aufkommen an reaktiven Sauerstoffmolekülen.<sup>135</sup>

Viele Studien legen die Vermutung nahe, dass durch diese reaktiven Sauerstoffradikale der apoptotische Zelluntergang aktiviert wird und es damit zum neuronalen Zelluntergang kommt.<sup>37</sup> Des Weiteren scheint A $\beta$  direkt an den arteriellen Rezeptoren zu wirken und hier zu einer gestörten zerebrovaskulären Autoregulation und damit zu einer abnormalen Vasomotorik zu führen.<sup>136</sup> Vermutlich resultiert hieraus wiederum eine endotheliale Dysfunktion,<sup>137</sup> die den hier beschriebenen Pathomechanismus verstärkt. Interessanterweise konnte man in post mortem Studien an den Gehirnen von Patienten mit einer pathologisch sicheren AD vaskuläre Pathologien wie z.B. Atherosklerose neben den typischen  $\beta$ -Amyloidablagerungen finden.<sup>138, 139</sup>

In der hier vorliegenden Arbeit wurden die Mikrozirkulationsmarker CT-proET-1, MR-proADM und MR-proANP im Blut untersucht. Anhand dieser Marker konnte eine veränderte Homöostase zwischen Vasokonstriktoren und Vasodilatoren bei AD-Patienten gezeigt werden.

### **5.1.1 CT-proET-1**

Insbesondere für Endothelin gibt es in der Literatur viele Hinweise für die systemische und zerebrale Beteiligung an der Pathogenese endothelialer Dysfunktion.<sup>140, 141</sup> Neben einer bekannten vasokonstringierenden Komponente über die Bindung an ETA- und ETB-Rezeptoren der Gefäßwände und einer konsekutiven Calziumausschüttung geht man davon aus, dass Endothelin direkt die NO-Freisetzung im Blutgefäß hemmt und damit zu einer endothelialen Dysfunktion führt.<sup>142</sup>

Weiterhin konnte ein präventiver Effekt auf die endotheliale Funktion durch Endothelinrezeptorantagonisten, welche das endogene Endothelinsystem blockieren, erzielt werden.<sup>143</sup>

Ein verstärkender Effekt kommt dadurch hinzu, dass  $\beta$ -Amyloid die vasoaktive ET-1-Wirkung potenziert.<sup>144, 145</sup>

Der genaue Pathomechanismus, der zur verminderten Endothelinexpression – wie hier gemessen werden konnte – führt, ist bisher nicht geklärt.

Letztendlich ist zu vermuten, dass es durch den bereits zuvor beschriebenen

Mechanismus, über die A $\beta$ -Ablagerungen, zu einer zerebralen Angiopathie und einer endothelialen Dysfunktion und damit zu einer relativen Hypoxie im Gewebe kommt. Reaktiv wird potentieller Weise eine Signalkaskade aktiviert, die zu einer verminderten Endothelinexpression führt. Konsekutiv kommt es zu einer Gefäßweitstellung und damit zu einer verstärkten Blutzufuhr mit Verbesserung der Sauerstoffversorgung im Gewebe.

### **5.1.2 MR-proADM**

Adrenomedullin wurde soweit recherchierbar bisher nicht bei AD-Patienten untersucht.

Allerdings gibt es bereits einige Studien, die die Rolle von Adrenomedullin bei Neurodegeneration und neuronalen Zellschädigungen prüften. In einem Modellversuch in vitro an Gliazellkulturen und in vivo in einem Rattenmodell, bei dem man durch Injektion von dem Organometal Trimethyltin eine Neurodegeneration induzierte, kam es konsekutiv zu einem signifikanten Anstieg von Adrenomedullin.<sup>146</sup> In einer anderen Untersuchung induzierte man bei Ratten eine hypobare Hypoxie, die wiederum in einem deutlichen Anstieg von Adrenomedullin in den Neuronen resultierte.<sup>147</sup> Dies legt die Theorie nahe, dass es durch Sauerstoffmangelzustände in Nervenzellen zu einer gesteigerten Adrenomedullinausschüttung und damit ebenso wie durch die verminderte Expression von Endothelin zu einer konsekutiven Vasodilatation kommt. Im Rahmen der AD konnte, wie bereits beschrieben, eine zerebrale Minderperfusion gezeigt werden, aus der hypoxische Zustände resultieren.

Korrespondierend dazu wurde in der hier vorliegenden Untersuchung bei AD-Patienten gegenüber dem Normalkollektiv eine gesteigerte Adrenomedullinkonzentrationen gefunden.

### **5.1.3. MR-proANP**

Wie auch bei ADM wurde die Rolle von ANP bisher nicht bei der AD untersucht, ebenso fehlen genauere Untersuchungen zu ANP bei zerebraler Minderperfusion. Allerdings gibt es eine Vielzahl von Untersuchungen die zeigen konnten, dass die Expression von ANP grundlegend durch Neurone im Hypothalamus und Hirnstamm gesteuert wird.<sup>148, 149</sup>

Hier kommt es nicht nur bei Hypertension, sondern auch bei hypoxischen Zuständen zu einer Signalkaskade, die zu einer Synthese und Sekretion von ANP führt.<sup>150</sup> ANP bindet dann an den Guanylyl-Cyclase-A-Rezeptor der im Gefäßendothel systemisch wie auch zentral exprimiert wird.<sup>151</sup>

Korrespondierend zu dem Vasodilatator Adrenomedullin ist zu vermuten, dass durch eine zentrale Minderperfusion lokale Neurone im Hypothalamus und Hirnstamm stimuliert werden und darüber eine Signalkaskade zur systemischen Synthese des atrialen natriuretischen Peptids aktiviert wird.

## **5.2 CT-proET-1, MR-proANP, MR-proADM und die Ratio indices Vasodilatoren/Vasokonstriktor als Blutbiomarker der AD**

In der vorliegenden Arbeit wurden die Peptide CT-proET-1, MR-proANP und MR-proADM als potentielle Blutbiomarker der AD untersucht. Diese Peptide sind bekannt als Marker einer eingeschränkten Mikrozirkulation. Es wurde geprüft ob diese Marker bei der AD, die mutmaßlich mit einer gestörten zerebralen Mikrozirkulation einhergeht, verändert sind. Es handelt sich hierbei um die erste Arbeit, die Mikrozirkulationsmarker aus dem Blut bei der AD untersucht.

### **5.2.1 CT-proET-1, MR-proANP, MR-proADM als Blutbiomarker der AD**

Bei allen drei Einzelmarkern konnten signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen AD-Patienten und gesunden Kontrollen gefunden werden. Die Vasodilatoren MR-proANP und MR-proADM zeigten bei den AD-Patienten erhöhte Messwerte, der Vasokonstriktor CT-proET-1 erniedrigte Werte.

Die gemessenen Konzentrationen der Einzelmarker in der Kontrollgruppe entsprechen den Referenzwerten für gesunde Kontrollen in bereits veröffentlichten Publikationen.<sup>106, 115, 152</sup>

Bei der Berechnung der Sensitivitäten bei einer minimalen Spezifität von 80%, wie von den Konsensus-Report-Kriterien gefordert,<sup>Fehler! Textmarke nicht definiert.</sup> konnte die höchste Empfindlichkeit bei dem Vasodilatator MR-proANP mit 62,8% erzielt werden.

Bei erhöhten Werten für die Vasodilatoren und erniedrigter Konzentration des Vasokonstriktors gegenüber dem Kontrollkollektiv, wurde die Hypothese einer gestörten Homöostase zwischen Vasokonstriktoren und Vasodilatoren bei AD-Patienten aufgestellt.

### **5.2.2 Ratio indices der Vasodilatoren/Vasokonstriktor als Blutbiomarker der AD**

Gemäß der Hypothese einer gestörten Homöostase zwischen Vasokonstriktoren und Vasodilatoren bei AD-Patienten wurden die Vasodilatator/Vasokonstriktor Ratio

Indices MR-proANP/CT-proET-1 und MR-proADM/CT-proET-1 untersucht. Diese Ratio Indices zeigten ebenso wie die Einzelmarker signifikante Gruppenunterschiede.

Mit den Ratio Indices MR-proANP/CT-proET-1 und MR-proADM/CT-proET-1 konnte eine Verbesserung der Gruppendifferenzierung im Vergleich zum besten Einzelmarker MR-proANP erreicht werden. Mit MR-proANP/CT-proET-1 wurde im Vergleich mit den Einzelmarkern und dem Ratio Index MR-proADM/CT-proET-1 die höchste Sensitivität mit 76,6% bei einer Spezifität von 81,1 % erzielt.

Die logistische Regressionsanalyse zur Bestimmung der Vorhersagegenauigkeit der Ratio Indices zur Differenzierung zwischen AD-Patienten und gesunden Kontrollen erfolgte mit Kontrolle potentieller Einflussfaktoren. Hier wurde auf Alter, Geschlecht, arterielle Blutdruckwerten, Vorhandensein des ApoE ε4 Allels, CRP und der Einnahme von Diuretika geprüft.

Es wurde Kreuzvalidierung durchgeführt, indem das Kollektiv der AD-Patienten und das der gesunden Kontrollen unter Berücksichtigung ihrer Gruppenzugehörigkeit in ein Trainings- und ein Testset aufgeteilt wurden.

Es zeigte sich dass die Ratio Indices der Vasodilatoren/Vasokonstriktor signifikant zwischen AD-Patienten und gesunden Kontrollen im Trainingsset differenzieren konnten. Daneben konnten das Vorhandensein des ApoE ε4-Alles und das Alter signifikant zwischen den Gruppen unterscheiden.

Der Trainingsset errechneten Cut off Werte wurde anschließend auf das Testset übertragen und daraus die Sensitivität und Spezifität der Ratio Indices ermittelt.

Die für das Trainingsset erhaltenden Ergebnisse, konnten im Testset reproduziert werden. Im Testset wurden bei MR-proANP/CT-proET-1 eine Spezifität von 80% und eine Sensitivität von 72% erzielt, bei MR-proADM/CT-proET-1 eine Spezifität von 76% und eine Sensitivität von 66%.

### **5.2.3 Wertigkeit der Marker und des Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 als Blutbiomarker der AD**

Der Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 ist die bisher spezifischste und sensitivste Blutbiomarkerkombination zur Differenzierung zwischen AD-Patienten und einem

gesunden Kontrollkollektiv nach den Kriterien der Alzheimer Consensus-Gruppe zur Diagnostik der AD.

Die mit diesem Ratio Index erzielten Ergebnisse, blieben selbst unter einer Kreuzvalidierung stabil.

Der Altersdurchschnitt der Kontrollgruppe war signifikant niedriger als das Alter der AD-Patienten. Hier kann argumentiert werden, dass sich die Gruppenunterschiede auf den Altersunterschied zwischen den diagnostischen Gruppen zurückführen lassen, insbesondere auch da eine Altersabhängigkeit der Marker bekannt ist.

In der logistischen Regressionsanalyse wurde auf potentielle Einflussfaktoren u.a. auch auf das Alter kontrolliert. Hier zeigten sich die Ergebnisse nach Altersanpassung weiterhin stabil. Zudem entsprechen die Messwerte der gesunden Kontrollen weitgehend den bereits in anderen Studien veröffentlichten Referenzwerten für die jeweiligen Altersgruppen.<sup>152</sup> Fehler! Textmarke nicht definiert., Fehler! Textmarke nicht definiert. Ein alleiniger Alterseffekt für die gemessenen Markerdifferenzen scheint daher eher unwahrscheinlich.

Ebenso verhielt es sich mit der Geschlechtsverteilung in dem Kollektiv. Im AD-Kollektiv war der Frauenanteil signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Die in dieser Arbeit gemessenen Marker werden in dem untersuchten Alterskollektiv geschlechtsneutral exprimiert. Die gemessenen Differenzen lassen sich daher nicht durch die Geschlechtsverteilung erklären.

Trotz der Übereinstimmung der Messwerte für gesunde Kontrollen mit den Referenzwerten aus der Literatur wäre es dennoch sinnvoll, Folgestudien alters- und geschlechtsangepasst durchzuführen.

Weiterhin war auffällig, dass die AD-Patienten signifikant erhöhte arterielle Blutdruckwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe aufweisen. Dies ist allerdings nicht verwunderlich, da bekannterweise kardiovaskuläre Risikofaktoren wie die arterielle Hypertonie oder Hypercholesterinämie das Risiko an einer AD zu erkranken steigern<sup>59</sup>,<sup>82</sup> und damit wiederum AD-Patienten häufiger kardiovaskuläre Risikofaktoren aufweisen als ein Kontrollkollektiv.

Es lässt sich diskutieren, ob sich die Konzentrationsdifferenzen der Marker durch das häufigere Auftreten der kardiovaskulären Risikofaktoren in der AD-Gruppe zu erklären sind.

Allerdings ist es methodisch kaum möglich AD-Patienten ohne kardiovaskuläre

Risikofaktoren zu rekrutieren. Ein solches Patientengut entspräche nicht den realen Verhältnissen und scheint gerade auch mit dem vermuteten pathogenetischen Hintergrund nicht sinnvoll.

Bei allen drei untersuchten Markern ist eine signifikante Konzentrationserhöhung bei manifester Herzinsuffizienz bekannt. Dementsprechend wurde im Studienprotokoll Herzinsuffizienz als Ausschlusskriterium festgelegt. Bei keinem der Patienten oder Kontrollen konnte anamnestisch oder klinisch eine Herzinsuffizienz diagnostiziert werden. Da erfahrungsgemäß viele Patienten über eine mögliche bestehende Herzinsuffizienz keine Angaben machen können, wurde bei Patienten und Kontrollen zusätzlich die Einnahme von Diuretika dokumentiert, die zur Standardmedikation bei manifester Herzinsuffizienz gehören. Bei den gesunden Kontrollen zeigten sich wie bereits beschrieben normale Werte für die einzelnen Marker, was das Vorliegen einer Herzinsuffizienz zumindest in dieser Gruppe unwahrscheinlich macht.

Dennoch stellt sich die Frage, ob die veränderten Werte bei den AD-Patienten durch eine nicht erkannte Herzinsuffizienz verursacht sein könnten. Vorausgegangene Studien zeigten bei allen drei hier untersuchten Markern eine signifikante Erhöhung bei bestehender Herzinsuffizienz, hier wurde aber bei CT-proET-1 einen signifikant erniedrigten Wert gemessen. Wir schließen daraus, dass in dem untersuchten AD-Kollektiv keine nennenswerte Zahl an Patienten mit einer Herzinsuffizienz vorhanden ist.

In weiterführenden Studien sollte allerdings in das Studiendesign eine kardiologische Untersuchung mit Durchführung eines Herzultraschalls zum sicheren Ausschluss einer Herzinsuffizienz aufgenommen werden.

#### **5.2.4 Erfüllen die Marker und der Ratio Index MR-proANP/CT-proET-1 die Kriterien eines „idealen“ Blutbiomarker der AD?**

Ein „idealer“ Blutbiomarker zur Detektion der AD sollte nach den Kriterien des Ronald und Nancy Reagan Institut der Alzheimer Association und der NIA-Working Group von 1998 einfach nachzuvollziehen und kostengünstig sein.<sup>Fehler! Textmarke nicht definiert.</sup> Alle drei Marker wurden mittels Immunlumineszenz-Assaysystemen gemessen. Diese Methode ist eine standardisierte und etablierte Methode und ist daher einfach und kostengünstig nachzuvollziehen. Da es sich hier um Blutmarker handelt, ist die



Probengewinnung wenig invasiv, einfach und auch durch nicht-ärztliches Personal durchführbar. Die Reliabilität der Peptidmarker selbst konnte schon in einigen Studien nachgewiesen werden.<sup>106, 115, 153</sup>

In einem weiteren Schritt müsste die Reliabilität der Peptide und der Ratio Indices als Marker einer AD z.B. durch multizentrische Untersuchungen verifiziert werden.

Weiterhin wird von den Kriterien des Ronald und Nancy Reagan Institut der Alzheimer Association und der NIA-Working Group gefordert, dass der Marker ein grundsätzliches Merkmal der Neuropathologie der Erkrankung detektieren soll.

Viele Studien konnten bereits zeigen, dass es bei der AD um eine Erkrankung mit einer eingeschränkten Mikrozirkulation kommt.<sup>53, 56</sup> Möglicherweise kommt es durch die Minderperfusion zu einer neuronalen Minderversorgung und zu einer gestörten Proteinbiosynthese, die dann wiederum in der gut beschriebenen Alzheimerpathologie mit den neurofibrillären Bündeln und den Amyloidplaques mündet. Die untersuchten Peptide sind als Marker einer veränderten Mikrozirkulation bekannt. Allerdings sind weitere beispielsweise auch tierexperimentelle Untersuchungen nötig, um die genauen pathophysiologischen Hintergründe besser zu verstehen.

Die Gültigkeit der Marker und der Ratio Indices sollte in neuropathologisch bestätigten AD-Fällen bewiesen werden. Dementsprechend wäre es notwendig, bei Patienten post mortem die klinisch diagnostizierte wahrscheinliche AD histopathologisch bestätigen zu lassen.

Zuletzt wird von einem „idealen“ Marker eine hohe Präzision gefordert, er soll die AD bereits in einem frühen Stadium nachweisen und von anderen Demenzformen unterscheiden können. Hier müssten weitere Studien folgen, bei denen zum Einen Patienten in einem sehr frühen Stadium mit milden kognitiven Einschränkungen als auch in späteren Stadien der AD idealer Weise longitudinal untersucht werden um zu prüfen ob es zu Veränderungen der Markerkonzentrationen im Krankheitsverlauf kommt, d.h. ob eine Korrelation zwischen Markerkonzentrationen und der Krankheitsausprägung besteht. Zum Anderen sollten diese vielversprechenden Marker und die Ratio Indices bei anderen Demenzerkrankungen bestimmt werden um untersuchen zu können, ob eine Differenzierung zwischen den einzelnen Demenzformen möglich ist.



## 6 Abkürzungen und Fachbegriffe

AB	β-Amyloid
AchE-Hemmer	Acetylcholinesterase-Inhibitoren
AD	Alzheimer-Demenz
ADM	Adrenomedullin
ANP	atriales natriuretisches Peptid
Apo E	Apolipoprotein E
APP	Amyloid Precursor Protein
AUC	area under curve
B	Regressionskoeffizient
CERAD	Demenztestung nach dem “Consortium to establish a registry for Alzheimer’s disease”
CRP	C-reaktives-Protein
DSM-IV	Diagnostisches und Statistisches Handbuch Psychischer Störungen in vierter Revision
ECE-1	Endothelin Converting Enzym-1
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ET	Endothelin
ET-1/-2/-3	Endothelin-1/-2/-3
ETA- /ETB-Rezeptoren	Endothelin A-/B-Rezeptoren
FAD	familiäre Alzheimer-Demenz
g	Erdschwerebeschleunigung
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
ICD-10	Internationale statistische Klassifikation von Krankheiten und verwandter Krankheitsprobleme in zehnter Revision
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
MMST	Mini Mental Status Test
NFT	neurofibrilläre Tangles
NINCDS-ADRDA	Kriterien des “National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke” und der “Alzheimer’s Disease and Related Disorders Association”
PAMP	proadrenomedullines N-terminales 20 Peptid
PS1	Präsenilin 1 Gen

PS2	Präsenilin 2 Gen
pTau	Phosphor-Tau
ROC Analyse	receiver operated characteristics analysis
ROS	reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffmoleküle
rpm	rounds per minute
SE	standard error/Standardfehler
TSH	Thyreidea-stimulierendes Hormon, Thyreotropin
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
ZNS	zentrales Nervensystem

# 7 Anhang

## Diagnose einer AD nach DSM-IV

### A. Entwicklung multipler kognitiver Defizite, die sich manifestieren in:

1. kognitiven Defiziten (Unfähigkeit, neue Informationen zu speichern oder früher gelerntes abzurufen)
2. zusätzlich eine (oder mehrere) der folgenden kognitiven Beeinträchtigungen
  - a. *Aphasie (Sprachstörung)*
  - b. *Apraxie (Beeinträchtigung motorische Handlungen durchzuführen, trotz intakter motorischer Funktionsfähigkeiten)*
  - c. *Agnosie (Beeinträchtigung Objekte zu erkennen oder zu identifizieren, trotz intakter sensorischer Fähigkeiten)*
  - d. *Störung der Exekutivfunktionen (Planung, Organisation, Abstraktionsfähigkeit).*

**B. Die kognitiven Defizite der Kriterien A1 und A2 führen zu signifikanten Beeinträchtigungen in sozialen wie beruflichen Tätigkeiten und stellen so eine deutliche Verschlechterung der prämorbidem Leistungen dar.**

**C. Charakteristisch ist ein schleichender Beginn und progrediente Verschlechterung der kognitiven Defizite.**

**D. Die kognitiven Veränderungen in A1 und A2 beschrieben, sind nicht verursacht durch:**

1. andere Erkrankungen des ZNS, die zu einer fortschreitende Verschlechterung der Gedächtnisleistungen und der kognitiven Leistungen führen (z.B. zerebrovaskuläre Erkrankungen, Morbus Parkinson, Chorea Huntington, subdurales Hämatom, Normaldruck-Hydrocephalus, Gehirntumor)
2. systemische Erkrankungen die zu einer Demenz führen können (z.B. Hypothyreose, Vitamin-B12- oder Folsäuremangel, Niacinmangel, Hyperkalzämie, Neurosyphilis, HIV-Infektion )
3. substanzinduzierte Erkrankungen.

**E. Die Defizite treten nicht ausschließlich während eines Delirs auf.**

**F. Die Beeinträchtigungen können nicht durch Störungen auf Achse I (z.B. Major Depression, Schizophrenie) erklärt werden.**

## Diagnose nach ICD-10

Dauer der Symptomatik	Mindestens 6 Monate
Symptome	Störung höherer kortikaler Funktionen incl. <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Gedächtnis</li><li>➤ Denken</li><li>➤ Orientierung</li><li>➤ Rechnen</li><li>➤ Lernfähigkeit</li><li>➤ Sprache</li><li>➤ Urteilsvermögen</li></ul>
Begleitsymptome	Beeinträchtigung der Alltagskompetenz mit Veränderung: <ul style="list-style-type: none"><li>- der emotionalen Kontrolle</li><li>- des Sozialverhaltens</li><li>- der Motivation</li></ul>
Verlauf	chronisch, progredient
Ausschluss von	Bewusstseinsstörungen

## **Diagnose einer wahrscheinlichen AD nach NINCDS-ADRDA**

*Hier ist eine Einschränkung der Alltagskompetenz nicht zwingend erforderlich!*

### I. Kriterien für die Diagnose einer wahrscheinlichen AD:

- Anhand einer klinischen Untersuchung erwiesene und mit dem MMST, der Blessen Dementia Scale oder einer vergleichbaren Untersuchung dokumentierte Demenz, die durch neuropsychologische Testungen verifiziert wurde
- Beeinträchtigungen in mindestens zwei kognitiven Achsen
- Progredienter Abbau des Gedächtnisses und anderer kognitiver Funktionen
- Keine Bewusstseinsstörung
- Beginn der Erkrankung zwischen dem 40. und 90. LJ, zumeist nach dem 65. LJ
- Ausschluss systemischer und anderer zerebraler Erkrankungen, die für eine progrediente Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten verantwortlich sein könnten

### II: Weitere Kriterien die die Diagnose einer wahrscheinlichen AD stützen:

- fortschreitende Verschlechterung spezifischer kognitiver Funktionen wie Sprache (Aphasie), motorische Fähigkeiten (Apraxie) und Wahrnehmung (Agnosie)
- Beeinträchtigungen der Alltagsaktivität und weitere Verhaltensänderungen
- positive Familienanamnese ähnlicher Erkrankungen, insbesondere nach neuropathologischer Diagnosesicherung
- Zusätzliche Untersuchungsbefunde:
  - normaler Liquorbefund, mit Standardtechniken ermittelt
  - normales oder unspezifisch verändertes EEG
  - Nachweis progredienter Hirnatrophie, anhand mehrfacher Bildgebung

### III. Weitere diagnosestützende Befunde nach Ausschluss anderer Demenzursachen:

- Plateaus im Verlauf der Krankheitsentwicklung
- Katastrophenreaktion mit verbalen, emotionalen und physischen Erregungszuständen, Störung der Sexualfunktion und Gewichtsverlust
- bei einigen Patienten, besonders bei fortgeschrittenen Erkrankungsstadien, neurologische Veränderungen einschließlich motorischer Symptome wie erhöhter Muskeltonus, Myoklonus oder Gangstörungen.
- Krampfanfälle in fortgeschrittenen Stadien
- altersentsprechendes CT

#### IV. Befunde die eher gegen das Vorliegen einer wahrscheinlichen AD sprechen:

- plötzlicher, apoplektischer Beginn
- fokale neurologische Zeichen wie Hemiparese, Sensibilitätsstörungen, Gesichtsfeldausfälle und Koordinationsstörungen in einem frühen Erkrankungsstadium
- Krampfanfälle oder Gangstörungen bei Krankheitsbeginn oder in der Anfangsphase der Erkrankung



# 8 Literaturverzeichnis

---

- 1 Kraepelin E. Psychiatrie – ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. Barth-Verlag, Leipzig 1910
- 2 Alzheimer A. Über einen eigenartigen, schweren Erkrankungsprozess der Hirnrinde. *Neurol Centralbl* 1906; 25: 1134
- 3 Tomlinson BE, Blessed G, Roth M. Observations on the brains of dement old people. *J Neurol Sci* 1970 Sep; 11(3): 205-42
- 4 Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Scazufca M. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005 Dec 17; 366(9503): 2112-7
- 5 Ott A, Breteler MM, van Harskamp F, Clauss JJ, van der Cammen TJ, Grobbee DE, Hofman A. Prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia: association with education. The Rotterdam study. *BMJ* 1995 April 15; 310(6985): 970-3
- 6 Lobo A, Launer LJ, Fratiglioni L, Andersen K, Di Carlo A, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, Jagger C, Martinez-Lage J, Soininen H, Hofman A. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology* 2000; 54(11 Suppl 5): S4-9
- 7 Kretschmar HA, Neumann M. Die neuropathologische Diagnostik neurodegenerativer und dementieller Krankheiten. *Pathologie* 2000; 21:364-374
- 8 Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung des späten Alters. *Z gesamte Neurol Psychiatr* 1911;4: 356-385
- 9 Neve RL, Robakis NK. Alzheimer's disease: a re-examination of the amyloid hypothesis. *Trends Neurosci* 1998 Jan;21(1):15-9.
- 10 Selkoe DJ. The origins of Alzheimer disease: a is for amyloid. *JAMA* 2000 Mar 22-29;283(12):1615-7.
- 11 Jellinger KA. Neuropathologie der Demenzen, *J Neurol Neurochir Psychiatr*, 2001; 1: 7-31.
- 12 Roher AE, Palmer KC, Yurewicz EC, Ball MJ, Greenberg BD. Morphological and biochemical analyses of amyloid plaque core proteins purified from Alzheimer disease brain tissue. *J Neurochem*. 1993 Nov;61(5):1916-26.
- 13 Miller DL, Papayannopoulos IA, Styles J, Bobin SA, Lin YY, Biemann K, Iqbal K. Peptide compositions of the cerebrovascular and senile plaque core amyloid deposits of Alzheimer's disease *Arch Biochem Biophys*. 1993 Feb 15;301(1):41-52.
- 14 Butterfield DA. Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review. *Free Radic Res*. 2002 Dec;36(12):1307-13.
- 15 Lansbury PT Jr, Kosik KS. Neurodegeneration: new clues on inclusions. *Chem Biol*. 2000 Jan;7(1):R9-R12.
- 16 Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ, Selkoe DJ. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 2002 Apr 4; 416(6880):483-4.

- 
- 17 Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nat Neurosci.* 2005 Aug;8(8):1051-8. Epub 2005 Jul 17.
- 18 Tomic JL, Pensalfini A, Head E, Glabe CG. Soluble fibrillar oligomer levels are elevated in Alzheimer's disease brain and correlate with cognitive dysfunction. *Neurobiol Dis.* 2009 Sep;35(3):352-8. Epub 2009 Jun 10.
- 19 Tomiyama T, Matsuyama S, Iso H, Umeda T, Takuma H, Ohnishi K, Ishibashi K, Teraoka R, Sakama N, Yamashita T, Nishitsuji K, Ito K, Shimada H, Lambert MP, Klein WL, Mori H. A mouse model of amyloid beta oligomers: their contribution to synaptic alteration, abnormal tau phosphorylation, glial activation, and neuronal loss in vivo. *J Neurosci.* 2010 Apr 7;30(14):4845-56.
- 20 Boche D, Nicoll JA. The role of the immune system in clearance of Abeta from the brain. *Brain Pathol.* 2008 Apr;18(2):267-78.
- 21 Thal D, Rüb U, Schulz C, Sassin I, Ghebrmedhin E, Tredici K, Braak E, Braak H. Sequence of A $\beta$ -protein desposition in the human medial temporal lobe, *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59:733-748.
- 22 Braak H, Braak E. Evolution of the neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica* 1996; 165: 3-12.
- 23 Spillantini MG, Goedert M. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 1998 Oct ; 21(10) :428-33.
- 24 Tolnay M, Probst A. Tau protein pathology in Alzheimer's disease and related disorders. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1999 Jun;25(3):171-87.
- 25 Geula C, Mesulam MM, Saroff DM, Wu CK. Relationship between plaques, tangles and loss of cortical cholinergic fibers in Alzheimer's disease. *Neuropathol Exp Neurol* 1998 Jan;57(1):63-75.
- 26 Trinczek B, Ebeneth A, Mandelkow EM, Mandelkow E. Tau regulates the attachment/detachment but not the speed of motors in microtubule-dependent transport of single vesicles and organelles. *J Cell Sci* 1999 Jul;112 (Pt14):2355-67.
- 27 Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, de la Monte S, Dikkes O, Tsai LH. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature* 1999 Dec 9;404(6762):615-22.
- 28 Trojanowski JQ, Shin RW, Schmidt ML, Lee VM. Relationship between plaques, tangles and dystrophic processes in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1995 May-Jun;16(3):335-40.
- 29 Hardy J. Has the amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease been proved? *Curr Alzheimer Res.* 2006 Feb;3(1):71-3.
- 30 Braak E, Braak H, Mandelkow EM. A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. *Acta Neuropathol.* 1994;87(6):554-67.
- 31 Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991;82(4):239-59.
- 32 Haass C, Baumeister R. What do we learn from a few familial Alzheimer's disease cases? *J Neural Transm Suppl.* 1998;54:137-45.
- 33 Hardy J, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992 Apr 10;256(5054):184-5.
- 34 Taylor JP, Hardy J, Fischbeck KH. Toxic proteins in neurodegenerative disease. *Science*

---

2002 Jun 14;296(5575):1991-5.

- 35 Alev G, Smith MA, Obrenovich ME, de la Torre JC, Perry G. Role of vascular hypoperfusion-induced oxidative stress and mitochondria failure in the pathogenesis of Alzheimer disease. *Neurotox Res.* 2003;5(7):491-504.
- 36 Smale G, Nichols NR, Brady DR, Finch CE, Horton WE Jr. Evidence for apoptotic cell death in Alzheimer's disease. *Exp Neurol.* 1995 Jun;133(2):225-30.
- 37 Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med.* 1997;23(1):134-47
- 38 Dartigues JF, Fabrigoule C, Letenneur L, Amieva H, Thiessard F, Orgogozo JM. Epidemiology of memory disorders. *Therapie* 1997 Sep-Oct;52(5):503-6.
- 39 Small GW, Rabins PV, Barry PP, Buckholtz NS, DeKosky ST, Ferris SH, Finkel SI, Gwyther LP, Khachaturian ZS, Lebowitz BD, McRae TD, Morris JC, Oakley F, Schneider LS, Streim JE, Sunderland T, Teri LA, Tune LE. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. *JAMA.* 1997 Oct 22-29;278(16):1363-71.
- 40 de la Torre JC. Vascular risk factor detection and control may prevent Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev.* 2010 Apr 10. Epub ahead of print
- 41 Hendrie HC. Epidemiology of dementia and Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry.* 1998 Spring;6(2 Suppl 1):S3-18.
- 42 Bickel H. Dementia syndrome and Alzheimer disease: an assessment of morbidity and annual incidence in Germany. *Gesundheitswesen.* 2000 Apr;62(4):211-8.
- 43 Graham JE, Rockwood K, Beattie BL, Eastwood R, Gauthier S, Tuokko H, McDowell I. Prevalence and severity of cognitive impairment with and without dementia in an elderly population. *Lancet.* 1997 Jun 21;349(9068):1793-6.
- 44 Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, Belleville S, Brodaty H, Bennett D, Chertkow H, Cummings JL, de Leon M, Feldman H, Ganguli M, Hampel H, Scheltens P, Tierney MC, Whitehouse P, Winblad B, International Psychogeriatric Association Expert Conference on mild cognitive impairment. Mild cognitive impairment. *Lancet.* 2006 Apr 15;367(9518):1262-70.
- 45 Levey A, Lah J, Goldstein F, Steenland K, Bliwise D. Mild cognitive impairment: an opportunity to identify patients at high risk for progression to Alzheimer's disease. *Clin Ther.* 2006 Jul;28(7):991-1001.
- 46 van Duijn CM, Stijnen T, Hofman A. Risk factors for Alzheimer's disease: overview of the EURODEM collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol.* 1991;20 Suppl 2:S4-12.
- 47 Wu Z, Kinslow C, Pettigrew KD, Rapoport SI, Schapiro MB. Role of familial factors in late-onset Alzheimer disease as a function of age. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 1998 Sep;12(3):190-7.
- 48 Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT. Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron.* 1993 Oct;11(4):575-80.
- 49 Morris CM, Massey HM, Benjamin R, Leake A, Broadbent C, Griffiths M, Lamb H, Brown A, Ince PG, Tyrer S, Thompson P, McKeith IG, Edwardson JA, Perry RH, Perry EK. Molecular biology of APO E alleles in Alzheimer's and non-Alzheimer's dementias. *J Neural Transm Suppl.* 1996;47:205-18.

- 
- 50 Blacker D, Wilcox MA, Laird NM, Rodes L, Horvath SM, Go RC, Perry R, Watson B Jr, Bassett SS, McInnis MG, Albert MS, Hyman BT, Tanzi RE. Alpha-2 macroglobulin is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet.* 1998 Aug;19(4):357-60.
- 51 de la Torre JC. Is Alzheimer a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma and dialectics. *Lancet Neurol* 2004 Mar; 3(3):184-90.
- 52 de la Torre JC, Mussivand T. Can disturbed brain microcirculation cause Alzheimer's disease ? *Neurol Res* 1993; 15: 146-153.
- 53 de la Torre JC, Fortin T, Park GA, Butler KS, Kozlowski P, Pappas BA, de Socarraz H, Saunders JK, Richard MT. Chronic cerebrovascular insufficiency induces dementia-like deficits in aged rats. *Brain Res.* 1992 Jun 12;582(2):186-95.
- 54 Breteler MM. Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective. *Neurobiol. Aging* 2000; 21: 153-160.
- 55 Agüero-Torres H, Kivipelto M, von Strauss E. Rethinking the dementia diagnoses in a population-based study: what is Alzheimer's disease and what is vascular dementia? A study from the Kungsholmen project. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 22: 244-249
- 56 Ruitenberg A, den Heiker T, Bakker SL. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam study. *Ann Neurol* 2005; 57: 789-794
- 57 Helzner EP, Luchsinger JA, Scarmeas N, Cosentino S, Brickman AM, Glymour MM, Stern Y. Contribution of vascular risk factors to the progression in Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2009 Mar;66(3):343-8.
- 58 Jellinger KA, Attems J. Prevalence and impact of cerebrovascular pathology in Alzheimer's disease and parkinsonism. *Acta Neurol Scand.* 2006 Jul;114(1):38-46.
- 59 Patterson C, Feightner JW, Garcia A, Hsiung GY, MacKnight C, Sadovnick AD. Diagnosis and treatment of dementia: 1.Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. *CMAJ.* 2008 Feb 26;178(5):548-56.
- 60 Sjogren M, Mielke M, Gustafson D, Zandi P, Skoog I. Cholesterol and Alzheimer's disease- Is there a relation? *Mech Ageing Dev* 2006; 127: 138-147
- 61 Wolozin B, Kellman W, Russeau P, Celesia G, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol* 2000; 57: 1439-1443
- 62 Haag MD, Hofman A, Koudstaal PJ, Stricker BH, Breteler MM. Statins are associated with a reduced risk of Alzheimer disease regardless of lipophilicity. The Rotterdam Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2009 Jan;80(1):13-7. Epub 2008 Oct 17.
- 63 Feldman HH, Doody RS, Kivipelto M, Sparks DL, Waters DD, Jones RW, Schwam E, Schindler R, Hey-Hadavi J, DeMicco DA, Breazna A; LEADe Investigators. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. *Neurology.* 2010 Mar 23;74(12):956-64. Epub 2010 Mar 3.
- 64 Carlsson CM. Type 2 Diabetes Mellitus, Dyslipidemia, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2010 Apr 22. [Epub ahead of print]
- 65 Vanhanen M, Koivisto K, Moilanen L, Helkala EL, Hanninen T, Soininen H, Kervinen K, Kesaniemi YA, Laakso M, Kuusisto J. Association of metabolic syndrome with Alzheimer disease: a population based study. *Neurology* 2006; 67: 843-847
- 66 Korf ES, Scheltens P, Barkhof F, de Leeuw FE. Blood pressure, white matter lesions and medial temporal lobe atrophy: closing the gap between vascular pathology and Alzheimer's disease? *Dement Geriatr Cogn Disord* 2005; 20: 331-337

- 
- 67 Ivan CS, Seshadri S, Beiser A. Dementia after stroke: the Framingham Study. *Stroke* 2004; 35: 1264-1268
- 68 Alves TC, Busatto GF. Regional cerebral blood flow reduction, heart failure and Alzheimer's disease. *Neurol Res* 2006; 28: 579-587
- 69 de la Torre JC. How do heart disease and stroke become risk factors for Alzheimer's disease? *Neurol Res.* 2006 Sep;28(8):637-44.
- 70 de la Torre JC. Pathophysiology of neuronal energy crisis in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis.* 2008;5(3-4):126-32. Epub 2008 Mar 6.
- 71 Petersen RC, Smith GE, Ivnik RJ, Kokmen E, Tangalos EG. Memory function in very early Alzheimer's disease. *Neurology.* 1994 May;44(5):867-72.
- 72 Förstl H. Of mind and matter-or what really matters in Alzheimer's disease? Neurobiological substrates of clinical deficits in Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1996;246(3):116-7.
- 73 Kukull WA, Brenner DE, Speck CE, Nochlin D, Bowen J, McCormick W, Teri L, Pfanschmidt ML, Larson EB. Causes of death associated with Alzheimer disease: variation by level of cognitive impairment before death. *J Am Geriatr Soc.* 1994 Jul;42(7):723-6.
- 74 Morris JC, Rubin EH. Clinical diagnosis and course of Alzheimer's disease. *Psychiatr Clin North Am.* 1991 Jun;14(2):223-36.
- 75 Ellis RJ, Caligiuri M, Galasko D, Thal LJ. Extrapyramidal motor signs in clinically diagnosed Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 1996 Summer;10(2):103-14.
- 76 Buccione I, Perri R, Carlesimo GA, Fadda L, Serra L, Scalmana S, Caltagirone C. Cognitive and behavioural predictors of progression in Alzheimer's disease. *Eur J Neurol.* 2007 Apr;14(4):440-6.
- 77 Wolfson C, Wolfson DB, Asgharian M, M'LAN CE, Ostbye T, Rockwood K, Hogan DB; Clinical Progression of Dementia Study Group. A reevaluation of the duration of survival after the onset of dementia. *N Engl J Med.* 2001 Apr 12;344(15):1111-6.
- 78 Larson EB, Shadlen MF, Wang L, McCormick WC, Bowen JD, Teri L, Kukull WA. Survival after initial diagnosis of Alzheimer disease. *Ann Intern Med.* 2004 Apr 6;140(7):501-9.
- 79 Dewan MJ, Gupta S. Toward a definite diagnosis of Alzheimer disease. *Compr Psychiatry.* 1992 Jul-Aug;33(4):282-90.
- 80 Fuchsberger T, Padberg F, Faltraco R, Möller HJ, Hampel H. Starting Alzheimer therapy in early stages whenever possible. Activities of daily living remain intact longer. *MMW Fortschr Med.* 2002 Ma 16;144(20):36-9.
- 81 McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology.* 1984 Jul;34(7):939-44.
- 82 Hampel H, Padberg F, Buch K, Unger J, Stübner S, Möller HJ. Diagnose und Therapie der Demenz vom Alzheimer-Typ. *Dtsch Med Wochenschr.* 1999 Feb 5;124(5):124-9.
- 83 Qiu C, De Ronchi D, Fratiglioni L. The epidemiology of the dementias: an update. *Curr Opin Psychiatry.* Jul2007;20(4):380-385.
- 84 Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999 Feb;66(2):137-47.

- 
- 85 Loverman E, Green C, Kirby J, Takeda A, Picot J, Payne E, Clegg A. The clinical and cost-effectiveness of donepezil, rivastigmine, galantamine and memantine for Alzheimer's disease. *Health Technol Assess*. 2006 Jan;10(1):iii-iv, ix-xi, 1-160.
- 86 Winblad B, Jones RW, Wirth Y, Stoffler A, Mobius HJ. Memantine in moderate to severe Alzheimer's disease: a meta-analysis of randomised clinical trials. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2007;24(1):20-7. Epub 2007 May 10.
- 87 Omerovic M, Hampel H, Teipel SJ, Buerger K. Pharmacological treatment of Alzheimer's dementia: state of the art and current dilemmas. *World J Biol Psychiatry*. 2008;9(1):69-75.
- 88 Overshott R, Byrne J, Burns A. Nonpharmacological and pharmacological interventions for symptoms in Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*. 2004 Sep;4(5):809-21.
- 89 Adlard PA, James SA, Bush AI, Masters CL. Beta-Amyloid as a molecular therapeutic target in Alzheimer's disease. *Drugs Today (Barc)*. 2009 Apr;45(4):293-304.
- 90 Serrano-Pozo A, William CM, Ferrer I, Uro-Coste E, Delisle MB, Maurage CA, Hock C, Nitsch RM, Masliah E, Growdon JH, Frosch MP, Hyman BT. Beneficial effect of human anti-amyloid-beta active immunization on neurite morphology and tau pathology. *Brain*. 2010 May;133(Pt 5):1312-27. Epub 2010 Mar 31.
- 91 Vellas B, Black R, Thal LJ, Fox NC, Daniels M, McLennan G, Tompkins C, Leibman C, Pomfret M, Grundman M; AN1792 (QS-21)-251 Study Team. Long-term follow-up of patients immunized with AN1792: reduced functional decline in antibody responders. *Curr Alzheimer Res*. 2009 Apr;6(2):144-51.
- 92 Walhovd KB, Fjell AM, Brewer J, McEvoy LK, Fennema-Notestine C, Hagler DJ Jr, Jennings RG, Karow D, Dale AM; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Combining MR imaging, positron-emission tomography, and CSF biomarkers in the diagnosis and prognosis of Alzheimer disease. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010 Feb;31(2):347-54. Epub 2010 Jan 14.
- 93 Sunderland T, Linker G, Mirza N, et al. Decreased beta-amyloid1-42 and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *Jama*. Apr 23-30 2003;289(16):2094-2103.
- 94 Frankfort SV, Tulner LR, van Campen JP, Verbeek MM, Jansen RW, Beijnen JH. Amyloid beta protein and tau in cerebrospinal fluid and plasma as biomarkers for dementia: a review of recent literature. *Curr Clin Pharmacol*. May 2008;3(2):123-131.
- 95 Song F, Poljak A, Smythe GA, Sachdev P. Plasma biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain Res Rev*. 2009 Oct;61(2):69-80. Epub 2009 May 21.
- 96 Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *Neurobiol Aging*. 1998 Mar-Apr;19(2):109-16.
- 97 Serrano J, Alonso D, Fernández AP, Encinas JM, López JC, Castro-Blanco S, Fernández-Vizcarra P, Richart A, Santacana M, Uttenthal LO, Bentura ML, Martínez-Murillo R, Martínez A, Cuttitta F, Rodrigo J. Adrenomedullin in the central nervous system. *Microsc Res Tech*. 2002 Apr 15;57(2):76-90.
- 98 Goraca A. New views on the role of endothelin (minireview). *Endocr Regul*. 2002 Nov;36(4):161-7
- 99 Kiely DG, Cargill RI, Struthers AD, Lipworth BJ. Cardiopulmonary effects of endothelin in man. *Cardiovasc Res* 1997 Feb;33(2):378-386.

- 
- 100 Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R. Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation*. 1992 Feb;85(2):504-9.
- 101 Parker JD, Thiessen JJ. Increased endothelin-1 production in patients with chronic heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Mar;286(3):H1141-5.
- 102 Tomoda H. Plasma endothelin-1 in acute myocardial infarction with heart failure. *Am Heart J*. 1993 Mar;125(3):667-672.
- 103 Pittet JF, Morel DR, Hemsén A, Gunning K, Lacroix JS, Suter PM, Lundberg JM. Elevated plasma endothelin-1 concentrations are associated with the severity of illness in patients with sepsis. *Ann Surg*. 1991 Mar;213(3):261-4.
- 104 Haynes WG, Strachan FE, Webb DJ. Endothelin ETA and ETB receptors cause vasoconstriction of human resistance and capacitance in vivo. *Circulation*. 1995 Aug 1;92(3):357-63.
- 105 Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell*. 1994 Aug 12;78(3):473-85.
- 106 Papassotiriou J, Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Immunoluminometric assay for measurement of the C-terminal endothelin-1 precursor fragment in human plasma. *Clin Chem*. 2006 Jun;52(6):1144-51. Epub 2006 Apr 20.
- 107 Kitamura K, Kangawa K, Eto T Adrenomedullin and PAMP: discovery, structures, and cardiovascular functions. *Microsc Res Tech*. 2002 Apr 1;57(1):3-13.
- 108 Kitamura K, Sakata J, Kangawa K, Kojima M, Matsuo H, Eto T. Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993 Jul 30;194(2):720-5.
- 109 Hinson JP, Kapas S, Smith DM. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev*. 2000 Apr;21(2):138-67.
- 110 Eto T. A review of the biological properties and clinical implications of adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP), hypotensive and vasodilating peptides. *Peptides*. 2001 Nov;22(11):1693-711.
- 111 Marutsuka K, Hatakeyama K, Sato Y, Yamashita A, Sumiyoshi A, Asada Y. Immunohistological localization and possible functions of adrenomedullin. *Hypertens Res*. 2003 Feb;26 Suppl:S33-40
- 112 Julián M, Cacho M, García MA, Martín-Santamaría S, de Pascual-Teresa B, Ramos A, Martínez A, Cuttitta F. Adrenomedullin: a new target for the design of small molecule modulators with promising pharmacological activities. *Eur J Med Chem*. 2005 Aug;40(8):737-50.
- 113 Vesely DL. Atrial natriuretic peptide prohormone gene expression: hormones and diseases that upregulate its expression. *IUBMB Life*. 2002 Mar;53(3):153-9.
- 114 Morgenthaler NG, Struck J, Thomas B, Bergmann A. Immunoluminometric assay for the midregion of pro-atrial natriuretic peptide in human plasma. *Clin Chem*. 2004 Jan;50(1):234-6.
- 115 Mathisen P, Hall C, Simonson S. Comparative study of atrial peptides ANF (1-98) and ANF (99-126) as diagnostic markers of atrial distension in patients with cardiac disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 1993 Feb;53(1):41-9.
- 116 Cao LH, Yang XL. Natriuretic peptides and their receptors in the central nervous system. *Prog Neurobiol*. 2008 Mar;84(3):234-48. Epub 2007 Dec 23.

- 
- 117 Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens.* 1992 Oct;10(10):1111-4.
- 118 Weinert MW. Imaging and Biomarkers Will be Used for Detection and Monitoring Progression of Early Alzheimer's Disease. *J Nutr Health Aging.* 2009 Apr;13(4):332.
- 119 Morris JC, Mohs RC, Rogers H, Fillenbaum G, Heyman A. Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD) clinical and neuropsychological assesment of Alzheimer's disease. *Psychopharmacol Bull.* 1988;24(4):641-52.
- 120 Fillenbaum GG, van Belle G, Morris JC, Mohs RC, Mirra SS, Davis PC, Tariot PN, Silverman JM, Clark CM, Welsh-Bohmer KA, Heyman A. Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD): the first twenty years. *Alzheimers Dement.* 2008 Mar;4(2):96-109.
- 121 Isaacs B, Kennie AT. The Set test as an aid to the detection of dementia in old people. *Br J Psychiatry.* 1973 Oct;123(575):467-70.
- 122 Kaplan E, Goodglass H, Weintarub S. *Boston Diagnostic Aphasia Examination: Boston naming Test*; Lippincott Williams and Wilkins. 3 Spi Sub edition, 2001 Jan.
- 123 Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. „Mini-mental state“. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinican. *J Psychiatr Res.* 1975 Nov;12(3):189-98.
- 124 Rosen WG, Mohs RC, Davis KL. A new rating scale for Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry.* 1984 Nov;141(11):1356-64.
- 125 Welsh KA, Butters N, Mohs RC, Beekly D, Edland S, Fillenbaum G, Heyman A. The Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD). Part V. A normative study of the neuropsychological battery. *Neurology.* 1994 Apr;44(4):609-14.
- 126 Shulman KI. Clock-drawing: is it the ideal cognitive screening test? *Int J Geriatr Psychiatry.* 2000 Jun;15(6):548-61.
- 127 Guidelines Subcommittee 1999 World Health Organisation – International Society of Hypertension Guidelines for the Mangament of Hypertension. *J Hypertens.* 1999 Feb;17(2):151-83.
- 128 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. Guidelines Subcommittee. *J Hypertens.* 1999 Feb;17(2):151-83.
- 129 Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK, Parkkinen L, Hartikainen P, Soininen H, Pirttilä T. Cerebrospinal fluid (beta)-amyloid 42 and tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain. *Arch Neurol.* 2009 Mar;66(3):382-9.
- 130 Blennow K, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2009 Oct;18(2):413-7.
- 131 Sparks DL. Coronary artery disease, hypertension, ApoE and cholesterol: a link to Alzheimer's disease? *Ann N Y Acad Sci.* 1997 Sep 26;826:128-46.
- 132 Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci.* 2004 May;5(5):347-60.
- 133 Tong XK, Nicolakakis N, Kocharyan A, Hamel E. Vascular remodeling versus amyloid beta-induced oxidative stress in the cerebrovascular dysfunctions associated with Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2005 Nov 30;25(48):11165-74
- 134 Iadecola C, Zhang F, Niwa K, Eckman C, Turner SK, Fischer E, Youkin S, Borchelt DR,



- 
- Hsiao KK, Carlson GA. SOD1 rescues cerebral endothelial dysfunction in mice overexpressing amyloid precursor protein. *Nat Neurosci*. 1999 Feb;2(2):157-61.
- 135 Bennett S, Grant MM, Aldred S. Oxidative Stress in Vascular Dementia and Alzheimer's Disease: A Common Pathology. *J Alzheimers Dis*. 2009 Feb 16.
- 136 Niwa K, Kazama K, Younkin L, Younkin SG, Carlson GA, Iadecola C. Cerebrovascular autoregulation is profoundly impaired in mice overexpressing amyloid precursor protein. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Jul;283(1):H315-23.
- 137 McCarty MF. Up-regulation of endothelial nitric oxide activity as a central strategy for prevention of ischemic stroke – just say NO to stroke! *Med Hypotheses*. 2000 Nov;55(5):386-403.
- 138 Thal DR, Ghebremedhin E, Orantes M, Wiestler OD. Vascular pathology in Alzheimer disease: correlation of cerebral amyloid angiopathy and arteriosclerosis/lipohyalinosis with cognitive decline. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2003 Dec;62(12):1287-301.
- 139 Tian J, Shi J, Bailey K, Mann DM. Relationship between arteriosclerosis, cerebral amyloid angiopathy and myelin loss from cerebral cortical white matter in Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2004 Feb;30(1):46-56.
- 140 Donato AJ, Gano LB, Eskurza I, Silver AE, Gates PE, Jablonski KL, Seals DR. Vascular Endothelial Dysfunction with Aging: Endothelin-1 and Endothelial Nitric Oxide Synthase.
- 141 Cardillo C, Schinzari F, Melina D, Mores N, Bosello S, Peluso G, Zoli A, Ferraccioli G. Improved endothelial function after endothelin receptor blockade in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2009 May 28;60(6):1840-1844.
- 142 Kalani M. The importance of endothelin-1 for microvascular dysfunction in diabetes. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(5):1061-8.
- 143 Elesber AA, Bonetti PO, Woodrum JE, Zhu XY, Lerman LO, Younkin SG, Lerman A. Bosentan preserves endothelial function in mice overexpressing APP. *Neurobiol Aging*. 2006 Mar;27(3):446-50.
- 144 Townsend KP, Obregon D, Quadros A, Patel N, Volmar Ch, Paris D, Mullan M. Proinflammatory and vasoactive effects of Aβ in the cerebrovasculature. *Ann N Y Acad Sci*. 2002 Nov;977:65-76.
- 145 Paris D, Humphrey J, Quadros A, Patel N, Crescentini R, Crawford F, Mullan M. Vasoactive effects of Aβ in isolated human cerebrovessels and in transgenic mouse model of Alzheimer's disease: role of inflammation. *Neurol Res*. 2003 Sep;25(6):642-51.
- 146 Jahnke GD, Brussen S, Maier WE, Harry GJ. Neurotoxicant-induced elevation of adrenomedullin expression in hippocampus and glia cultures. *J Neurosci Res*. 2001 Nov 1;66(3)
- 147 Serrano J, Fernández AP, Sánchez J, Rodrigo J, Martínez A. Adrenomedullin expression is up-regulated by acute hypobaric hypoxia in the cerebral cortex of the adult rat. *Brain Pathol*. 2008 Jul;18(3):434-42. Epub 2008 Mar 2
- 148 Gutkowska J, Antunes-Rodrigues J, McCann SM. Atrial natriuretic peptide in brain and pituitary gland. *Physiol Rev*. 1997 Apr;77(2):465-515.
- 149 Antunes-Rodrigues J, Favaretto AL, Gutkowska J, McCann SM. The neuroendocrine control of atrial natriuretic peptide release. *Mol Psychiatry*. 1997 Sep;2(5):359-67.
- 150 Chen YF. Atrial natriuretic peptide in hypoxia. *Peptides*. 2005 Jun;26(6):1068-77. Epub 2005 Apr 18.

- 
- <sup>151</sup> Okazaki M, Kobayashi H, Kuroiwa A, Izumi F. Atrial natriuretic peptide receptors in cerebral microvessels and choroid plexus of spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.* 1990 Jun 4;518(1-2):292-4.
- <sup>152</sup> Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of midregional proadrenomedullin in Plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem* 2005; 51: 1823-9.

## 9 Publikationen und Vorträge

### Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht

Buerger K, Ernst A, Ewers M, Uspenskaya O, Omerovic M, Morgenthaler NG, Knauer K, Bergmann A, Hampel H. Blood-based microcirculation markers in Alzheimer's disease-diagnostic value of midregional pro-atrial natriuretic peptide/C-terminal endothelin-1 precursor fragment ratio. *Biol Psychiatry*. 2009 Jun 1;65(11):979-84. Epub 2009 Apr 2.

### Poster und Meeting Abstracts

Knauer K, Müller S, Schattauer D, Richter T, Huber R. APO C-I und APO C-III als prähospitaler Marker ischämischer Schlaganfälle. Arbeitstagung für neurologische Intensiv- und Notfallmedizin, Leipzig, 2009

Knauer K, Müller S, Klein S, Ludolph AC, Huber R. TOF-MRI ICA Flow Deficiency due to Proximal Carotid Stenosis. European Stroke Conference, Stockholm, 2009

Knauer K, Rommel K, Schattauer D, Knauer C, Huber R. Vascular Endothelial Growth Factor als prähospitaler Marker ischämischer Schlaganfälle. Deutsche Gesellschaft für Neurologie Kongress, Nürnberg, 2009

Huber R, Knauer K, Ludolph AC, Müller S. MR-negative zerebral-ischämische Insulte. Deutsche Gesellschaft für Neurologie Kongress, Nürnberg, 2009

Knauer C, Weber Y, Steinwald V, Knauer K, Ludolph AC, Huber R. Palataler Myoklonus nach ischämischem Thalamusinsult. Deutsche Gesellschaft für Neurologie Kongress, Nürnberg, 2009

Knauer K, Schinko A, Müller S, von Arnim C, Ludolph AC, Huber R. Outcome thrombolytisch behandelter Patienten über dem 80. Lebensjahr Arbeitstagung für neurologische Intensiv- und Notfallmedizin, Bad Homburg, 2010

## 10 Danksagung

Meiner Doktormutter und Betreuerin Frau PD Dr. med. Katharina Bürger danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Durchführung dieser Arbeit an der Psychiatrischen Klinik der Ludwigs-Maximilians-Universität München. Insbesondere danke ich ihr für die konstruktive Betreuung und Beratung bei der Durchführung und Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Dr. Andreas Bergmann, Herrn Dr. Jörg Hollidt und Frau Dr. Andrea Ernst möchte ich für die hervorragende Kooperation, die inspirierenden und motivierenden Gespräche und die schöne Zeit in Berlin danken.

Für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung danke ich ganz herzlich Herrn Dr. Michael Ewers.

Besonders bedanken möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Gedächtnisstation D2 der Psychiatrischen Klinik der Ludwigs-Maximilians-Universität München, insbesondere Frau Dr. S. Adel, Herrn F. Jancu, Frau L. Jertila-Aqil, Frau C. Sänger und Herrn W. Kretschmann und Frau Y. Hoessler, durch die die klinische Arbeit reibungslos und in freundschaftlicher Atmosphäre verlief.

Ein besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. Braak und Frau Dr. Del Tredici-Braak für die großzügige Verfügungsstellung des herausragenden Bildmaterials.

Allen Patienten, Angehörigen und Kontrollpatienten möchte ich danken - durch ihre Teilnahme haben sie diese Arbeit erst möglich gemacht.

Schließlich möchte ich meiner Familie und meinen Freunden danken, die mich immer auf meinem Weg unterstützt haben.

## **11 Curriculum vitae**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.