

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



***Der Einfluss genetischer Polymorphismen in der
CR1-Genregion auf die Gedächtnisleistung***

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

vorgelegt von
Jennifer Tarebi Teresa Krusche, geb.Kia

aus
Berlin

Jahr
2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erster Gutachter: PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling
Zweiter Gutachter: PD Dr. Dipl.-Psych. Susanne Karch
Dritter Gutachter: Prof. Dr. med. Ortrud Steinlein
ggf. weitere Gutachter: _____

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: _____
Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung: 05.09.2023

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Abstract (English)	3
3	Einleitung	5
3.1	Alzheimer Demenz	5
3.1.1	Definition	5
3.1.2	Epidemiologie	5
3.1.3	Risikofaktoren.....	6
3.1.4	Pathomechanismen.....	6
3.1.5	Klinik und Verlauf der Alzheimer Demenz.....	10
3.1.6	Neuropsychologische Defizite der Alzheimer-Krankheit.....	11
3.1.7	Diagnostik der Demenz bei Alzheimer-Krankheit.....	14
3.2	Genetische Grundlagen der Alzheimer Demenz	15
3.2.1	Alzheimer Demenz mit frühem Beginn (<i>early-onset Alzheimer’s disease</i>).....	15
3.2.2	Alzheimer Demenz mit spätem Beginn (<i>late-onset Alzheimer’s disease</i>)	15
3.3	Das Komplementsystem.....	16
3.4	Der Komplementrezeptor 1	17
3.4.1	Funktionen des Komplementrezeptors 1	18
3.4.2	Struktur des Komplementrezeptors 1	21
3.5	Komplementrezeptor 1 (CR1) flankierende Gene.....	24
3.5.1	Komplementrezeptor 2 (CR2).....	24
3.5.2	Komplementrezeptor-1-like (CR1L).....	25
3.5.3	Lange nicht-kodierende RNA RP11-78B10.2	25
3.5.4	Pseudogen CD46P1.....	25
3.5.5	Zellzyklus-assoziiertes Pseudogen CDCA4P3.....	26
3.6	Komplementrezeptor 1 und Alzheimer-Demenz	26
3.7	Fragestellung	33
4	Material und Methoden	35
4.1	Vorbedingungen der Studiendurchführung	35
4.2	Studiendesign	35
4.3	Studienkollektiv	36
4.3.1	Screening-Stichprobe	36
4.3.2	Replikationsstichprobe	37
4.4	Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (WMS-R)	38
4.4.1	Untertests des Wechsler Gedächtnistests - Revidierte Fassung	39
4.4.2	Auswertung des Wechsler Gedächtnistests - Revidierte Fassung.....	42
4.4.3	Darstellung von Demenz im Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung.....	43
4.5	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease (CERAD).....	44

Inhaltsverzeichnis

4.5.1	Klassische CERAD	44
4.5.2	„Plus“-Erweiterung	46
4.6	Laborverfahren	47
4.6.1	DNA-Extraktion	47
4.6.2	Konzentrationseinstellung der DNA	48
4.6.3	Genotypisierung	49
4.6.4	Qualitätskontrolle	49
4.6.5	Pre-phasing und Imputation	51
4.7	Analyse	51
5	Ergebnisse	53
5.1	Beschreibung der Stichprobe	53
5.2	Beschreibung der Polymorphismen	53
5.3	Assoziation der Polymorphismen mit den Leistungen im Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung	56
5.3.1	Allgemeines Gedächtnis	57
5.3.2	Verbales Gedächtnis	58
5.3.3	Visuelles Gedächtnis	58
5.3.4	Verzögerte Wiedergabe	59
5.3.5	Aufmerksamkeit/Konzentration	60
5.4	Replikation der Ergebnisse an der zweiten Stichprobe	60
5.4.1	SNP rs4314882 (Proxy: rs78042401, $r^2 = 0,70$)	61
5.4.2	SNP rs186998459 (Proxy: rs41274768, $r^2 = 0,43$)	62
5.4.3	SNP rs6681449 (Proxy: rs17046851, $r^2 = 0,99$)	62
5.4.4	SNP rs6540438 (Proxy: rs41303261, $r^2 = 0,98$)	62
6	Diskussion	64
6.1	Diskussion der Ergebnisse	64
6.1.1	Rs4314882 (T-Allel)	65
6.1.2	Rs6540438 (C-Allel)	66
6.1.3	Rs6681449 (G-Allel)	67
6.1.4	Rs186998459 (A-Allel)	69
6.1.5	Rs114467562 (T-Allel)	69
6.2	Diskussion der Methoden	70
7	Abkürzungsverzeichnis	78
8	Abbildungsverzeichnis	81
9	Tabellenverzeichnis	81
10	Literatur	83
11	Danksagung	96
12	Eidesstattliche Versicherung	97

1 Zusammenfassung

Die Alzheimer Demenz (AD) ist die häufigste Form der Demenzen. An ihrer multifaktoriellen Genese sind sowohl Umweltfaktoren als auch genetische Faktoren beteiligt. Zu den Kernsymptomen der AD zählen u.a. kognitive Beeinträchtigungen insbesondere des Gedächtnisses. Mittels einer genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) entdeckten Lambert et al. (2009) eine Assoziation zwischen den Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) rs6656401 und rs3818361 im Komplementrezeptor Typ 1- (CR1-) Gen und der Late-onset AD (LOAD). Diese Ergebnisse wurden u.a. 2013, 2019 und 2022 im Rahmen genomweiter Meta-Analysen bestätigt (Lambert et al., 2013; Kunkle et al., 2019; Bellenguez et al., 2022). CR1 ist ein Komplementrezeptor, der die Komplementfaktoren C3b und C4b bindet und das Komplementsystem inhibitorisch reguliert. Er befindet sich u. a. auf phagozytierenden Zellen und Erythrozyten, auf deren Oberfläche er als Vehikel für die Eliminierung von zirkulierenden Immunkomplexen agiert und an der Aß-Clearance beteiligt ist.

Die Fragestellung der hier vorgestellten Arbeit ist, ob Polymorphismen der CR1 Genregion mit kognitiven Leistungen signifikant assoziiert sind in zwei Stichproben, die weder an einer Alzheimer Demenz noch an einem Mild Cognitive Impairment (MCI) leiden. Es soll somit untersucht werden, ob sich die vielfach replizierte Assoziation zwischen LOAD und CR1 auch hinsichtlich einer Assoziation des CR1-Gens und kognitiven Endophänotypen zeigt. Zudem soll durch die Wahl der beiden Stichproben geprüft werden, ob eine mögliche Assoziation LOAD-unabhängig ist und somit generell eine Assoziation des Gens zu Kognition besteht.

In der vorliegenden Arbeit wurden dazu genetische Varianten der CR1-Region in Hinblick auf eine Assoziation mit kognitiven Leistungen in einer Kohorte der Allgemeinbevölkerung ohne LOAD oder MCI, bestehend aus 557 Probanden, untersucht und in einer zweiten unabhängigen Stichprobe aus 664 Probanden überprüft.

Die kognitive Leistungsfähigkeit der Screening-Kohorte wurde anhand der *Wechsler Memory Scale* in ihrer revidierten deutschen Fassung (WMS-R) gemessen, die der Replikationsstichprobe anhand der erweiterten neuropsychologischen Testbatterie des *Consortium to Establish a Registry for Alzheimers' Disease* (CERAD-Plus). Nach Genotypisierung mittels SNP-Arrays und Imputation der Daten wurden 380 SNPs im Bereich der CR1 Genregion ausgewählt und daraus 20 LD-unabhängige Regionen definiert. Die Assoziationsanalysen der dazugehörigen Index-SNPs erfolgte mittels additiver linearer Regression unter Berücksichtigung der Kovariablen Alter, Geschlecht und Bildung.

Insgesamt konnten in der Screeningstichprobe signifikante Ergebnisse bezüglich zehn Index-SNPs und der WMS-R detektiert werden. Diese sollten in einer Replikationsstichprobe anhand

Zusammenfassung

von Proxy SNPs repliziert werden, wobei aufgrund unterschiedlicher Genotypisierungsplattformen nur acht der zehn SNPs weiterverfolgt werden konnten.

Für vier der acht Proxy SNPs zeigten sich signifikante Assoziationen zu Untertests der CERAD-Plus. Bei zwei dieser SNPs ließen sich Ergebnisse aus der Screeningstichprobe replizieren. Sowohl Träger des seltenen T-Allels von rs4314882 (Screeningstichprobe) als auch des seltenen C-Allel des Proxies rs78042401 ($r^2 = 0,70$, Replikationsstichprobe) zeigten schlechtere Leistungen in visuellen Gedächtnisdomänen. Des Weiteren zeigten Träger des seltenen G-Allels von rs6681449 (Screeningstichprobe) bzw. des seltenen G-Allels des Proxies rs17046851 ($r^2 = 0,99$, Replikationsstichprobe) Assoziationen zu einer besseren Leistung, jedoch in unterschiedlichen Gedächtnisbereichen. Dies waren in der Screeningstichprobe die Kategorie Visuelles Gedächtnis der WMS-R und in der Replikationsstichprobe verbale Gedächtnisaspekte der CERAD-Plus.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie geben Hinweise darauf, dass die Genregion CR1 möglicherweise nicht nur mit der Late-onset Alzheimer Demenz assoziiert ist, sondern dass der gefundene Zusammenhang zwischen der CR1-Region und den LOAD Endophänotypen „kognitive Funktionen“ auf einen neurobiologisch übergreifenden Mechanismus zurückzuführen sein könnte, der sich nicht nur auf die LOAD begrenzt. Weitere Studien in größeren Stichproben und funktionelle Untersuchungen sind notwendig, um die Bedeutung der CR1-Genregion für die kognitive Leistungsfähigkeit zu bestimmen.

2 Abstract (English)

Alzheimer's dementia (AD) is the most common form of dementia. Both environmental and genetic factors are involved in its multifactorial genesis. The core symptoms of AD include cognitive impairments, especially of the memory. Using a genome-wide association study (GWAS), Lambert et al. (2009) discovered an association between the single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs6656401 and rs3818361 in the complement receptor type 1 (CR1) gene and late-onset AD (LOAD). These findings were confirmed in genome-wide meta-analyses in 2013, 2019 and 2022, among others (Lambert et al., 2013; Kunkle et al., 2019; Bellenguez et al., 2022). CR1 is a complement receptor that binds complement factors C3b and C4b and inhibitory regulates the complement system. It is found on phagocytosing cells and erythrocytes, among others, on whose surface it acts as a vehicle for the elimination of circulating immune complexes and is involved in A β clearance.

The question of the work presented here is whether polymorphisms of the CR1 gene region are significantly associated with cognitive performance in two samples suffering from neither Alzheimer's dementia nor mild cognitive impairment (MCI). Thus, it will be investigated whether the frequently replicated association between LOAD and CR1 is also shown with regard to an association of the CR1 gene and cognitive endophenotypes. In addition, the choice of the two samples is intended to test whether a possible association is LOAD-independent and thus whether there is a general association of the gene with cognition.

In the present study, genetic variants of the CR1 region were examined with regard to an association with cognitive performance in a cohort of the general population without LOAD or MCI, consisting of 557 subjects, and tested in a second independent sample of 664 subjects.

The cognitive performance of the screening cohort was measured using the Wechsler Memory Scale in its revised German version (WMS-R), that of the replication sample using the extended neuropsychological test battery of the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD-Plus). After genotyping using SNP arrays and imputation of the data, 380 SNPs in the CR1 gene region were selected and 20 LD-independent regions were defined from these. The association analyses of the associated index SNPs were performed using additive linear regression, taking into account the covariates age, sex and education.

Overall, significant results could be detected in the screening sample with regard to ten index SNPs and the WMS-R. These were to be replicated in a replication sample using proxy SNPs, whereby only eight of the ten SNPs could be followed up due to different genotyping platforms. Four of the eight proxy SNPs showed significant associations with subtests of the CERAD-Plus. For two of these SNPs, results from the screening sample could be replicated. Carriers of the rare T-allele of rs4314882 (screening sample) as well as of the rare C-allele of the proxy

Abstract (English)

rs78042401 ($r^2 = 0.70$, replication sample) showed poorer performance in visual memory domains. Furthermore, carriers of the rare G-allele of rs6681449 (screening sample) or the rare G-allele of the proxy rs17046851 ($r^2 = 0.99$, replication sample) showed associations with better performance, but in different memory domains. These were the visual memory category of the WMS-R in the screening sample and verbal memory aspects of the CERAD-Plus in the replication sample.

The results of the present study provide evidence that the CR1 gene region may not only be associated with late-onset AD, but that the association found between the CR1 region and the LOAD endophenotypes "cognitive functions" may be due to a neurobiologically overarching mechanism that is not limited to LOAD alone. Further studies in larger samples and functional investigations are necessary to determine the significance of the CR1 gene region for cognitive performance.

3 Einleitung

3.1 Alzheimer Demenz

3.1.1 Definition

Laut ICD-10 ist die Alzheimer Demenz (AD) eine neurodegenerative Erkrankung des Gehirns (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 2020). Mit typischen neurochemischen und pathologischen Veränderungen gehen auch charakteristische klinische Symptome einher, die nach jahrelang schleichender Progredienz in einer Demenz vom Alzheimer-Typ münden. Diese äußert sich in einer sukzessiv voranschreitenden Einschränkung komplexer kognitiver Funktionen, zu denen u. a. die Gedächtnisleistung, die Orientierung, die Auffassungsgabe und auch sprachliche Fähigkeiten zählen (Lane et al., 2018).

Es wird zwischen einer früh, d. h. vor dem 65. Lebensjahr einsetzenden (*early-onset Alzheimer's disease*, EOAD) und einer spät, d. h. nach dem 65. Lebensjahr einsetzenden (*late-onset Alzheimer's disease*, LOAD) Alzheimer Demenz unterschieden (Cacace et al., 2016). Darüber hinaus existiert eine atypische oder gemischte Form, die Patienten mit einer gemischten Alzheimer- und vaskulären Demenz umfasst (Tanzi, 2012; Cacace et al., 2016; Lane et al., 2018).

3.1.2 Epidemiologie

Nach Schätzungen des World Alzheimer Reports (2022) waren 2019 weltweit ca. 55 Mio. Menschen an Demenz erkrankt und ihre Zahl wird bis zum Jahr 2050 auf 139 Millionen ansteigen (Webster et al., 2022). Bezogen auf Deutschland liegen diese Zahlen bei aktuell 1,8 Mio. Erkrankten mit einem Anstieg auf voraussichtlich 3 Mio. bis zum Jahr 2050. Die wachsende Prävalenz ist in der zunehmenden Lebenserwartung in den westlichen Ländern begründet. Dabei ist die AD die Hauptursache für die Entwicklung einer Demenz, ihr Anteil liegt bei ca. 70 % (Reitz et al., 2011; Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V., 2022).

Zwei Drittel aller Erkrankten sind über 80 Jahre alt, ca. 70 % von ihnen sind Frauen. Der Hauptgrund für den deutlich höheren Anteil an Frauen unter den Betroffenen ist wahrscheinlich ihre längere Lebenserwartung. Einerseits sind Frauen in den vornehmlich gefährdeten Altersgruppen zahlreicher vertreten, andererseits scheinen sie nach Diagnosestellung länger mit einer Demenz leben zu können als Männer (Chêne et al., 2015).

Einleitung

An der Gesamtheit der AD macht die *late-onset* AD einen Anteil von 90 % aus und tritt in der Regel sporadisch auf. Der Anteil der *early-onset* AD liegt dagegen bei nur 10 %. Sie tritt im Alter von unter 65 Jahren auf, mit einem Manifestationsgipfel zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr. Bei beiden Formen wird eine familiäre Häufung beobachtet (Cacace et al., 2016), sie unterscheiden sich jedoch in ihrem genetischen Hintergrund (s. hierzu 1.3. Genetische Grundlagen der Alzheimer-Krankheit) (Reitz et al., 2011).

3.1.3 Risikofaktoren

Die nicht-familiäre Form der AD ist eine multifaktoriell bedingte Erkrankung. Mittels beobachtender und klinischer Studien wurden Assoziationen zu verschiedenen, sich unterschiedlich stark auswirkenden Risikofaktoren entdeckt. Zu diesen zählen mehrere Faktoren, die gleichzeitig das Risiko für die Entstehung vaskulär bedingter ischämischer Herzerkrankungen sowie für einen Schlaganfall erhöhen (Reitz et al., 2011). Dies sind kardio- und zerebrovaskuläre Erkrankungen, Typ 2 Diabetes, Über- und Untergewicht, eine an gesättigten Fettsäuren reiche Ernährung, Hypercholesterinämie und Bewegungsmangel. Der Effekt des Rauchens auf die Entwicklung einer AD ist umstritten. Weitere Risikofaktoren sind Depression, psychischer Stress, geringer sozioökonomischer Status und Schädelhirntraumata (Reitz et al., 2011; Povova et al., 2012; Wiltfang et al., 2017). Darüber hinaus tragen genetische Komponenten zur Genese der AD bei. Zu diesen zählen u. a. Mutationen in den Amyloid Precursor Protein und Presenilin Genen PSEN1 und PSEN2 bei der familiären AD (Bagyinszky et al., 2014; Sirkis et al., 2022) und z.B. genetische Varianten in den Genen APOE, CLU, PICALM, CD2AP, SORL1, CD33 und das in der vorliegenden Arbeit näher betrachtete CR1 bei der LOAD (Lambert et al., 2009; Hollingworth et al., 2011; Lambert et al., 2013; Dourlen et al., 2019; Sims et al., 2020; Frisoni et al., 2022). In der letzten größten genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) zur LOAD wurde eine zweistufige genomweite Assoziationsstudie mit insgesamt 111326 AD-Fällen und 677663 Kontrollen durchgeführt. Es fanden sich 75 Risikoloci, von denen 42 zum Zeitpunkt der Analyse neu waren. Für die CR1-Region gab es die beste Assoziation mit dem SNPs rs679515 und einem p -Wert von $p = 7.2 \times 10^{-46}$, OR = 1,13 [CI:1.11–1.15] (Bellenguez et al., 2022).

3.1.4 Pathomechanismen

Die neurobiologischen Mechanismen, die der Entstehung der AD zugrunde liegen, sind seit langem Gegenstand intensiver Forschung. Bisher ist es jedoch nicht gelungen, diese abschließend zu klären.

Einleitung

Zu den mikroskopischen Veränderungen im zentralen Nervensystem zählen extrazelluläre Plaques, intrazelluläre neurofibrilläre Bündel und eine Gefäßwandamyloidose. Damit gehen zentrale Entzündungsprozesse, neuronale Degeneration und der Verlust von synaptischen Verbindungen einher (Kumar et al., 2015; Sanabria-Castro et al., 2017; Frisoni et al., 2022). Makroskopisch sichtbar wird der Untergang der Neuronen in einer Schrumpfung des Kortex mit Vergrößerung der Sulci und Erweiterung der Ventrikel (Serrano-Pozo et al., 2011). Die Beobachtung dieser typischen Veränderungen führte zur Formulierung zentraler, nachfolgend kurz erläuteter Hypothesen: der cholinergen und der glutamatergen Hypothese, der Amyloid-Hypothese und der Tau-Hypothese sowie Vermutungen über die Beteiligung von oxidativem Stress und Kalzium (Sanabria-Castro et al., 2017; Wiltfang et al., 2017). Es herrscht jedoch allgemein Einigkeit darüber, dass die Genese der sporadischen AD multifaktoriell bedingt ist und somit wahrscheinlich alle genannten Mechanismen zu verschiedenen Anteilen an ihrer Entstehung beteiligt sein könnten.

Amyloid-Hypothese

Die für die AD typischen senilen Plaques bestehen aus β -Amyloid ($A\beta$), welches im Rahmen der Prozessierung des Amyloid-Precursor-Proteins (APP) entsteht (Sanabria-Castro et al., 2017). APP ist ein integrales Membranprotein, dessen genaue Funktion bisher unbekannt ist. Bei Gesunden wird es zu 90 % von dem Enzym α -Sekretase und zu 10 % nacheinander von den Enzymen β - und γ -Sekretase gespalten (Murphy und LeVine, 2010). Die Prozessierung durch die α -Sekretase stellt den nicht-amyloidogenen Weg dar, im Zuge dessen ein verkürztes, lösliches APP-Molekül (soluble APP α) und ein C-terminales C-83-Fragment entstehen (Penke et al., 2017). Bei der Spaltung durch die β - und γ -Sekretase entsteht das schlecht lösliche $A\beta$. Dabei handelt es sich hauptsächlich um $A\beta_{1-40}$ (80-90 %) und $A\beta_{1-42}$ (5-10 %). Aufgrund seiner stärker hydrophoben Eigenschaften neigt vor allem $A\beta_{1-42}$ zur Bildung einer β -Faltblatt Struktur, die eine Aggregation und somit Plauebildung begünstigt (Murphy und LeVine, 2010; Penke et al., 2017). Bei AD-Patienten ist die Aktivität sowohl der β - als auch der γ -Sekretase erhöht, was zu einer vermehrten Produktion und somit einer Dysbalance zwischen Bildung und Clearance der $A\beta$ -Formen führt. Folge ist eine Akkumulation im Gehirn (Murphy und LeVine, 2010). Die Amyloidplaques stören die synaptische Übertragung und wirken neurotoxisch, was zum Untergang von Neuronen und langfristig zu einem geistigen Abbau führt (Kamenetz et al., 2003; Kam et al., 2014). Eine ebenfalls wichtige Rolle spielt die Ablagerung von Amyloid in und um zerebrale Blutgefäße, welche als zerebrale Amyloidangiopathie (CAA) bezeichnet wird (Ghiso et al., 2010). Diese führt zu Störungen der Blut-Hirn-Schranke, der Extravasation von Plasmaproteinen, Bildung von Ödemen und Freisetzung von Entzündungsmediatoren und der Degeneration der Basallamina, was wiederum zu hämorrhagischen Komplikationen führen kann. Darüber hinaus wird die zerebrale Perfusion gestört,

Einleitung

was zu einer mangelhaften Oxygenierung und einem damit einhergehenden Neuronenverlust und der Bildung freier Sauerstoffradikale und oxidativem Stress führt (Ghiso et al., 2010; Frisoni et al., 2022).

Tau-Hypothese

Das τ -Protein ist ein zytosolisches, Mikrotubuli-assoziiertes Protein, welches im Rahmen der AD vermehrt phosphoryliert wird und im Zuge dessen gehäuft in seiner freien Form anfällt. Es wird angenommen, dass die freien Moleküle einerseits den axonalen Transport und das neuronale Wachstum stören, was das Absterben der betroffenen Nervenzelle zur Folge hat (Iqbal et al., 2010) und andererseits zu fibrillären Bündeln (*neurofibrillary tangles*, NFT) aggregieren (Lee et al., 2005; Iqbal et al., 2010; Serrano-Pozo et al., 2011; Wiltfang et al., 2017; Dourlen et al., 2019). Die Menge der NFT steigt proportional mit dem Verlust von Synapsen und dem Fortschreiten der neuronalen Degeneration und somit auch mit dem Progress der AD. Dennoch ist noch nicht abschließend geklärt, ob das hyperphosphorylierte τ -Protein tatsächlich krankheitsverursachend ist oder ob sein Anstieg nur parallel zu dieser verläuft (Lee et al., 2005; Iqbal et al., 2010; Serrano-Pozo et al., 2011).

Cholinerge und glutamaterge Hypothese

Die cholinerge Hypothese besagt, dass die Degeneration cholinerg Neurone, vor allem im Hippocampus, frontalem Kortex und in Bereichen der Basalganglien, maßgeblich zur Entstehung der AD beitragen, da cholinerge Übertragungswege hier eine wichtige Rolle für Funktionen wie Bewusstsein, Aufmerksamkeit und Gedächtnis spielen (Terry und Buccafusco, 2003). Betroffene Nervenzellen weisen eine geringere Aufnahme von Cholin, eine verminderte Freisetzung von Acetylcholin, eine verringerte Expression von Muskarinrezeptoren und einen gestörten axonalen Transport auf. Folge der Degeneration ist eine Verminderung cholinerg Marker wie der Acetyltransferase oder der Acetylcholinesterase, die mit dem Einsetzen kognitiver Beeinträchtigungen korreliert (Sanabria-Castro et al., 2017).

Ein weiteres bei AD betroffenes Transmittersystem ist das glutamaterge System (Cox et al., 2022). Glutamat ist ein exzitatorisch wirkender, zentraler Neurotransmitter, der über N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA) Rezeptoren synaptische Plastizität vermittelt und im Hippocampus die Langzeitpotenzierung, Lernprozesse und die Gedächtniskonsolidierung vermittelt (Lynch, 2004). Postmortale Untersuchungen haben gezeigt, dass die zentrale Dichte glutamaterger Rezeptoren bei AD-Patienten gegenüber nicht erkrankten Kontrollen deutlich verringert ist (Maragos et al., 1987).

Einleitung

Oxidativer Stress und Störung der Kalziumhomöostase

Im Verlauf der Erkrankung sind die Neurone von Alzheimer-Patienten vermehrt oxidativem Stress (OS) ausgesetzt, welcher zur Apoptose von Neuronen führt (Zhao und Zhao, 2013). OS entsteht durch eine Dysbalance zwischen der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und der Menge an schützenden Antioxidantien, jedoch ist noch nicht klar, wodurch das Ungleichgewicht verursacht wird (Gella und Durany, 2014). Es wird vermutet, dass durch die Akkumulation von A β eine vermehrte Bildung von ROS erfolgt. Gleichzeitig scheinen sowohl die Bildung von A β als auch die Hyperphosphorylierung und Fibrillenbildung von τ -Proteinen durch OS gefördert zu werden. Es entsteht ein Teufelskreis, der zur Neurodegeneration führt (Zhao und Zhao, 2013; Frisoni et al., 2022). Bei AD-Patienten scheint außerdem die Kalziumhomöostase der Neuronen gestört zu sein. Als Ursache hierfür werden OS, die Akkumulation von A β und Mutationen in den Presenilinenen vermutet. Als Folge der Homöostasestörung treten synaptische Dysfunktion und Neurodegeneration auf (Green und LaFerla, 2008; Wiltfang et al., 2017).

Letztendlich resultieren sämtliche genannte Mechanismen in einem Verlust von synaptischen Übertragungswegen und in der Degeneration bzw. im Untergang von Neuronen. Folge ist eine für die AD typische symmetrische und diffuse Atrophie des zerebralen Kortex. In geringerem Ausmaß kann die darunter liegende weiße Substanz ebenfalls betroffen sein (Vinters, 2015). Des Weiteren ist ein Hydrozephalus ex vacuo charakteristisch, d. h. eine aus der kortikalen Schrumpfung resultierende Erweiterung der Seitenventrikel (Serrano-Pozo et al., 2011). Von der kortikalen Atrophie sind meist vor allem die medialen Temporallappen betroffen, in denen u. a. der Hippokampus als wichtige Station der Gedächtniskonsolidierung lokalisiert ist, was zu einer für die AD typischen Störung der Gedächtnisfunktion führt (Visser et al., 2002; Lynch, 2004; Serrano-Pozo et al., 2011). Das National Institute on Aging (NIA) und die Alzheimer's Association (AA) definieren die AD als ein Kontinuum, beginnend mit einem asymptomatischen, präklinischen Stadium über die leichte kognitive Störung (*Mild cognitive impairment*, MCI) bis hin zur manifesten Demenz (Molin und Rockwood, 2016). Während die Bildung von senilen Plaques zehn bis zwanzig Jahre vor dem Einsetzen der ersten Symptome beginnt, zeigt der Beginn der Formierung von NFT den Übergang in die manifeste Demenz an (Jack et al., 2009).

Die resultierenden Symptome sollen in den folgenden Abschnitten eingehend betrachtet werden.

Einleitung

3.1.5 Klinik und Verlauf der Alzheimer Demenz

Die Einteilung der AD erfolgt, je nach Schweregrad, in das leichte, moderate/mittelschwere und schwere Stadium. Der AD geht ein präklinisches Stadium voraus und auch die leichte kognitive Störung (*Mild cognitive impairment*, MCI) kann vor der AD auftreten (Feldman und Woodward, 2005). Patienten im präklinischen Stadium sind laut NIA klinisch völlig unauffällig oder weisen derart geringe kognitive Beeinträchtigungen auf, dass sie die Kriterien für die MCI noch nicht erfüllen. Im Alltag zeigen sie keinerlei Einschränkungen. Die erweiterte Diagnostik stützt sich fast ausschließlich auf das Vorhandensein von Biomarkern, die auf alzheimerartige Neuropathologien hinweisen (Jack et al., 2011; Molin und Rockwood, 2016; Wiltfang et al., 2017; Frisoni et al., 2022). Die MCI ist eine klinische Diagnose. Sie kann der AD vorausgehen und stellt ein Stadium dar, in dem ein Patient objektivierte kognitive Beeinträchtigungen aufweist, die jedoch noch nicht die Kriterien für eine Demenz erfüllen (Petersen et al., 1999). Nicht nur die AD, sondern auch weitere Demenzformen, wie die frontotemporale oder die vaskuläre Demenz können Ursache für eine MCI sein (Petersen, 2016). Das Stadium der MCI wird in zwei Kategorien klassifiziert: die amnestische MCI (a-MCI) und die nicht-amnestische MCI (na-MCI). Die a-MCI wird als typisches Prodromalstadium der AD angesehen. Betroffene Personen weisen vor allem klinisch signifikante Defizite bezüglich des Gedächtnisses auf und gehen mit einer jährlichen Rate von 10-15 % in eine AD über (Tampi et al., 2015; Petersen, 2016). Zu Beginn der AD kann es schwierig sein, die schleichend progredienten Symptome von anderen, altersbedingten kognitiven Veränderungen zu unterscheiden. Sowohl die Art der initialen Symptome als auch die Geschwindigkeit des Krankheitsprogresses unterliegen interindividuellen Unterschieden. Meist ist das erste Anzeichen eine Verschlechterung der Merkfähigkeit für neue Informationen (Weintraub et al., 2012). Mit Fortschreiten der Erkrankung nehmen weitere kognitive Funktionen kontinuierlich ab. Zu Beginn können die meisten Defizite, auch abhängig vom zugrundeliegenden Bildungsniveau und der damit zusammenhängenden kognitiven Reserve, relativ gut kompensiert werden. Sie werden somit erst mit Progredienz der Krankheit deutlich. Im Verlauf sind die Patienten zunehmend auf die Hilfe anderer angewiesen, bis sie im Spätstadium vollständig betreuungs- und pflegebedürftig werden (Alzheimer's Association, 2017). Die LOAD und die EOAD sind in ihrer Klinik generell nicht unterscheidbar, häufig verläuft die EOAD jedoch schwerwiegender und schreitet schneller voran (Reitz et al., 2011; Sirkis et al., 2022).

Typischerweise umfasst das milde Frühstadium der AD ca. 15 % der gesamten Zeitspanne ab dem Auftreten der Demenz. 35 % werden im mittleren, moderaten Stadium und 50 % im schweren Spätstadium verbracht (Arrighi et al., 2010). Die durchschnittliche Überlebenszeit bei AD beträgt nach Einsetzen der demenziellen Symptome drei bis zehn Jahre. Die Spanne variiert stark und ist vor allem

Einleitung

vom Alter des Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose abhängig. Je früher die Symptome einsetzen, desto länger ist die Überlebenszeit (Ganguli et al., 2005; Zanetti et al., 2009). Die beiden Haupttodesursachen sind Bronchopneumonien und ischämische Herzerkrankungen (Brunnström und Englund, 2009). Ursachen für die häufigen Pneumonien sind vor allem Aspiration aufgrund von Störungen des Schluckreflexes und Dysphagie (Kalia, 2003). Es wird angenommen, dass Patienten mit AD aufgrund ihrer verminderten Fähigkeit, Symptome korrekt wahrzunehmen und zu vermitteln, häufiger an ischämischen Herzerkrankungen versterben als gleichaltrige, nichtdemente Personen (Ives et al., 2009).

3.1.6 Neuropsychologische Defizite der Alzheimer-Krankheit

Episodisches und semantisches Gedächtnis

Das deklarative Gedächtnis ist das Wissensgedächtnis. Es speichert Fakten und Ereignisse, die bewusst wiedergegeben werden können und ist abhängig von der funktionellen Integrität des medialen Temporallappens inklusive des Hippocampus und der angrenzenden entorhinalen, perirhinalen und parahippocampalen Kortizes. Es wird unterteilt in das episodische und das semantische Gedächtnis (Manns et al., 2003). Das episodische Gedächtnis enthält die Erinnerung an sequenzielle Ereignisse aus dem eigenen Leben, im semantischen Gedächtnis wird das generelle Faktenwissen, unabhängig vom Kontext, in dem es erlernt wurde, gespeichert (Eichenbaum, 2000). Beide Bereiche sind im Rahmen der AD früh betroffen (Belleville et al., 2017; Wiltfang et al., 2017).

Die ersten im Rahmen der AD gebildeten NFT formieren sich in Strukturen des medialen Temporallappens, insbesondere dem Hippocampus und dem entorhinalen Kortex (Braak und Braak, 1991). Diese Regionen sind von essenzieller Wichtigkeit für die Konsolidierung neuer Gedächtnisinhalte, sodass durch ihre Schädigung Lernprozesse und das Erinnern an kürzlich stattgefundenere Ereignisse gestört werden (Ghoshal, 2002; Weintraub et al., 2012). Während das Auftreten der NFT mit der Entwicklung dieser ersten Gedächtnisstörungen korreliert, sind Amyloidplaques bereits zehn bis zwanzig Jahre vor Einsetzen der ersten Symptome zu beobachten (Jack et al., 2009). Diese Ablagerungen befinden sich zunächst vor allem im *default mode network*, welches aus verschiedenen kortikalen Arealen besteht, die miteinander verbunden sind und in die Strukturen des medialen Temporallappens projizieren und somit ebenfalls zur Gedächtnisbildung beitragen (Mevel et al., 2011; Weintraub et al., 2012).

Darüber hinaus scheinen Alzheimer-Patienten gegenüber gesunden Erwachsenen eine größere Anfälligkeit für das Phänomen der Interferenz aufzuweisen. Dieses besagt, dass früher Gelerntes durch

Einleitung

neu erlernte Inhalte (retroaktive Interferenz) bzw. neu Gelerntes durch bereits früher gelernte Inhalte (proaktive Interferenz) überlagert und somit beeinträchtigt wird (Monti et al., 2014).

Es herrscht weitgehend Einigkeit darüber, dass die Leistungsfähigkeit des episodischen Gedächtnisses bereits drei bis sechs Jahre vor Beginn der Demenz bei AD herabgesetzt sein kann. Es existieren jedoch verschiedene Ansichten bezüglich des Verlaufs. So gibt es einerseits die Meinung, dass sich das episodische Gedächtnis in diesem präklinischen Abschnitt über Jahre auf einem stabilen, herabgesetzten Niveau befindet (Bäckman et al., 2001), während andererseits die Ansicht besteht, dass die kognitive Leistung des episodischen Gedächtnisses von Beginn an kontinuierlich sinkt (Chen et al., 2001).

Patienten mit leichter AD zeigen in kognitiven Tests häufig Defizite in verbalen Bereichen wie dem Benennen von Objekten, der Wortflüssigkeit und der semantischen Kategorisierung, was auf einer Störung des semantischen Gedächtnisses zu beruhen scheint. Diese tritt auf, wenn sich die alzheimerartigen Neuropathologien auf die temporalen, frontalen und parietalen Assoziationskortex ausbreiten (Weintraub et al., 2012; Almeida und Radanovic, 2022). Die zugrundeliegende Annahme besagt, dass ein Proband, der das Wissen über ein in einem Test abgefragtes Item völlig verloren hat, in jedem einzelnen Unterbereich des Tests, in dem dieses Item vorkommt, eine verminderte Leistung ablegen muss (Hodges et al., 1992). Als Beispiel nennen Weintraub et al. (2012) das Item *Pferd*. Ein Proband, der über keinerlei Wissen bezüglich Pferden mehr verfügt, wird weder das Bild eines Pferdes korrekt benennen können, noch dazu in der Lage sein, den Begriff *Pferd* in einem Wortflüssigkeitstest aufzuzählen oder ihn der Kategorie *Tier* zuzuordnen. Da verbale Aspekte, wie die Wortflüssigkeit, in stärkerem Maße von der Integrität des semantischen Gedächtnisses abhängig sind als das Abrufen von generellem Faktenwissen, zeigt dieser kognitive Bereich zuerst Defizite (Rohrer et al., 1999).

Visuospatiale Fähigkeiten

Visuospatiale Fähigkeiten beinhalten die räumliche Orientierung und somit das Vermögen, sich in seiner Umgebung zurechtzufinden und Gegenstände korrekt zu lokalisieren, aber auch komplexe Strukturen visuell begreifen zu können (Karantzoulis und Galvin, 2011; Quental et al., 2013).

Ein Nachlassen der visuospatialen Fähigkeiten kann schon früh im Rahmen der AD beobachtet werden. Auch eine sich bereits präklinisch manifestierende Verminderung wird diskutiert (Johnson et al., 2009). Zunächst fällt das Zurechtfinden in unbekannter Umgebung schwer. Mit Fortschreiten der Erkrankung verlieren Betroffene die Orientierung in eigentlich bekannter Umgebung. Gegenstände werden verlegt und das Ausführen komplexer Tätigkeiten, wie dem Autofahren, wird zunehmend unmöglich (Karantzoulis und Galvin, 2011). In neuropsychologischen Testverfahren schlagen sich diese Defizite in

Einleitung

einer schlechteren Leistung in der Objekt-, Gesichts- und Farberkennung, der Kontrastdiskriminierung, der mentalen Rotation und dem Zeichnen komplexer Figuren, wie z. B. einer Uhr, nieder (Rizzo et al., 2000). Begründet sind diese Ausfälle durch Neuropathologien in den temporal und parietal gelegenen visuellen Assoziationskortex (Karantzoulis und Galvin, 2011; Quental et al., 2013; Derby et al., 2022).

Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis und Exekutivfunktionen

Das Arbeitsgedächtnis ist der Bereich der Erinnerung, in dem Informationen, die aktuell Gegenstand der Aufmerksamkeit sind, vorübergehend und in begrenzter Kapazität gespeichert werden. Zu Beginn der AD ist das Arbeitsgedächtnis nur in geringem Maße beeinträchtigt, erst in späten Stadien sind alle Bereiche betroffen (Weintraub et al., 2012). Am Anfang der Erkrankung ist vor allem die Leistungsfähigkeit in Aufgaben, die einen komplexen Wechsel des Aufmerksamkeitsfokus verlangen, reduziert. Das generelle Vermögen, die Aufmerksamkeit auf einzelne Aspekte zu richten und dort zu halten, ist zunächst noch weitgehend intakt. Erst mit progredienter Demenz geht auch diese Kapazität kontinuierlich verloren (Cherry et al., 2002).

Die Exekutivfunktionen stellen ein System übergeordneter Funktionen dar, die das Verhalten kontrollieren und anleiten, so z. B. die Entscheidungsfindung, Planung, Selbstkontrolle, Handlungsinitiierung und -inhibierung. Um die hierfür notwendigen Abwägungen treffen zu können, ist ein Festhalten der aktuell benötigten Informationen im Arbeitsgedächtnis notwendig, sodass dieses mit den Exekutivfunktionen funktionell eng verknüpft ist (Diamond, 2013). Pathologien in den zuständigen, vor allem frontal gelegenen Hirnregionen führen zu Störungen des abstrakten Denkens und der Konzentration, in fortgeschrittenen Stadien auch zu Beeinträchtigungen in der Handlungsplanung und Urteilsfähigkeit, zu Schwierigkeiten, begonnene Aufgaben zu vollenden und auch eine Veränderung der Persönlichkeit kann auftreten (Karantzoulis und Galvin, 2011).

Weitere Veränderungen im Rahmen der Alzheimer-Krankheit

An Alzheimer erkrankte Patienten haben ein Lebenszeitrisiko von 70-80 %, neuropsychiatrische Symptome zu entwickeln (Lyketsos et al., 2000). Zu diesen zählen Stimmungsveränderungen, Wahn, Halluzinationen, vegetative Symptome und Bewegungsunruhe. Häufig entwickeln Erkrankte auch eine Depression, die in der Regel von Anhedonie und Dysphorie geprägt ist. Diese Symptome sind oft episodisch und können auch präklinisch auftreten (Karantzoulis und Galvin, 2011; Wiltfang et al., 2017).

Ein weiteres, häufig beobachtetes Begleitsymptom ist die Veränderung der Persönlichkeit. Diese tendiert meist hin zu Neurotizismus, verminderter Gewissenhaftigkeit, vermehrter kognitiver Rigidität

Einleitung

und Egozentrik und Störungen des Affekts. Auch diese Veränderungen können sich bereits vor dem offensichtlichen kognitiven Abbau manifestieren (Karantzoulis und Galvin, 2011).

Extrapyramidalmotorische Störungen (EPMS) können ebenfalls im Rahmen der AD auftreten und manifestieren sich im Verlauf der Erkrankung mit zunehmender Häufigkeit und Schwere. Patienten, die zusätzlich zu ihrer AD unter EPMS leiden, zeigen eine deutlich schnellere Progredienz der demenziellen Symptomatik (Portet et al., 2009).

3.1.7 Diagnostik der Demenz bei Alzheimer-Krankheit

Im Rahmen der leitliniengerechten Diagnostik der AD (Deuschl und Maier 2016) erfolgen zunächst Eigen-, Fremd-, Familien- und Sozialanamnese des Patienten, inklusive Krankheitssymptomatik, vegetativer und Medikamentenanamnese. Es folgt eine körperliche und psychopathologische Untersuchung, die in erster Linie dem Ausschluss sekundärer Demenzen oder weiterer Differentialdiagnosen dient, wobei kognitive Kurztests zur orientierenden und neuropsychologische Testverfahren zur weiterführenden Einschätzung der kognitiven Einschränkungen zum Einsatz kommen. Die konventionelle zerebrale Computertomographie (cCT) oder zerebrale Magnetresonanztomographie (cMRT) dienen der Differenzialdiagnostik. Bei der AD stellt sich eine progrediente Hirnatrophie dar, die vor allem im medialen Temporallappen imponiert und mit parahippocampalen Erweiterungen des Seitenventrikelhorns und evtl. auch des Kortex einhergeht. Diese stellen sich oftmals bereits im Frühstadium dar (Deuschl und Maier 2016; Scheltens 2009).

Ergänzend kann eine funktionelle Darstellung des zerebralen Glukosemetabolismus mittels Fluordesoxyglucose- (FDG-) PET oder der zerebralen Perfusion mittels HMPAO-SPECT erfolgen, wird aber nicht regelhaft empfohlen (Oukoloff et al., 2015; Deuschl und Maier, 2016; Wiltfang et al., 2017). Das Amyloid-PET kann bei Unsicherheit ebenfalls zusätzlich durchgeführt werden. Es dient der Darstellung des zerebralen A β , kann aber vor allem nur dazu dienen, das Vorhandensein derartiger Ablagerungen auszuschließen, da mit zunehmendem Alter auch bei Personen ohne AD vermehrt A β vorliegt und somit der Nachweis nicht als Beweis für eine Demenz gewertet werden kann (Deuschl und Maier 2016; Marcus et al. 2014).

Neben der Bestimmung von Basisparametern im Blut kann eine Analyse des Liquors auf A β ₁₋₄₂, Gesamt-Tau und Phospho-Tau erfolgen (Deuschl und Maier, 2016; Wiltfang et al., 2017). Die Konzentration von A β ₁₋₄₂ ist bei AD im Liquor erniedrigt. Die Menge von A β ₁₋₄₀ im Liquor stellt ein Maß für den Gesamt-Amyloidspiegel dar. Durch die Bestimmung des Verhältnisses von A β ₁₋₄₂ zu A β ₁₋₄₀ im Liquor (A β ₁₋₄₂/A β ₁₋₄₀-Ratio) kann die Aussagekraft der Konzentrationsangabe erhöht werden. Gesamt-Tau und

Einleitung

hyperphosphoryliertes Tau sind bei AD im Liquor stark erhöht (Humpel 2011; Lewczuk et al. 2015; Murphy und LeVine 2010).

3.2 Genetische Grundlagen der Alzheimer Demenz

3.2.1 Alzheimer Demenz mit frühem Beginn (*early-onset Alzheimer's disease*)

Die EOAD macht ca. 10 % aller AD Fälle aus. Sie manifestiert sich zwischen dem 30. und 65. Lebensjahr, wobei der Manifestationsgipfel zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr liegt. Sie kann sowohl familiär gehäuft als auch sporadisch auftreten (Cacace et al., 2016). 90 % der EOAD Fälle treten sporadisch auf, wobei die genauen genetischen Faktoren bisher nicht bekannt sind (Sirkis et al., 2022). Bei 5-10 % der EOAD Fälle liegt eine familiäre Form vor, welche bisher v.a. mit drei Genen in Verbindung gebracht werden konnte: APP und den Presenilin Genen PSEN1 und PSEN2. Dort lokalisierte Mutationen führen zu Veränderungen des A β Metabolismus. Die drei Gene weisen eine hohe Penetranz von über 85 % auf, wobei das Auftreten der EOAD mehrheitlich einem autosomal dominant Erbgang folgt (Bagyinszky et al., 2014).

3.2.2 Alzheimer Demenz mit spätem Beginn (*late-onset Alzheimer's disease*)

Die LOAD ist definiert durch einen Beginn jenseits des 65. Lebensjahres. Sie wird nicht nach den Mendelschen Regeln vererbt. Bei der LOAD kommt es zu einem komplexen Zusammenwirken von genetischen Risikofaktoren (polygener Erbgang) und Umweltfaktoren, die das Lebenszeitrisiko, an Alzheimer zu erkranken, bestimmen (Tanzi, 2012) (Abb. 1). Verwandte ersten Grades von Alzheimer-Patienten haben gegenüber Personen, die keine an LOAD erkrankten Familienmitglieder ersten Grades haben, ein doppeltes Risiko, selbst an AD zu erkranken (Green et al., 2002).

Das bisher wichtigste identifizierte Suszeptibilitätsgen für die AD ist das Apolipoprotein E- (APOE-) Gen auf Chromosom 19. Beim Menschen kommen hauptsächlich die drei Isoformen $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$ vor. Das Risiko, an einer AD zu erkranken, steigt mit jedem zusätzlichen $\epsilon 4$ -Allel. Personen mit nur einem APOE- $\epsilon 4$ -Allel haben ein zwei- bis vierfach erhöhtes Risiko, bei homozygoten $\epsilon 4$ -Allel-Trägern ist das Risiko um das Fünf- bis Zehnfache erhöht. Außerdem erniedrigt jedes zusätzliche APOE- $\epsilon 4$ -Allel das Alter, in dem sich die Demenz manifestiert, um sechs bis sieben Jahre (Reitz et al., 2011; Tanzi, 2012; Frisoni et al., 2022).

Mittels genomweiter Assoziationsstudien wurde die Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs) in zahlreichen weiteren Genen mit der LOAD beschrieben und

Einleitung

nachfolgend repliziert. Die potenziellen Risikogene sind an diversen Prozessen im Körper beteiligt, die verschiedene Abläufe, sowohl in zerebralen als auch in peripheren Kompartimenten, beeinflussen. Zu den wichtigsten Vertretern gehören neben APOE u. a. CLU, PICALM und BIN1 (Lambert et al., 2013; Andrews et al., 2019; Kunkle et al., 2019). Ein weiteres dieser Risikogene ist das Komplementrezeptor-1-Gen (CR1), dessen Genprodukt, der Komplementrezeptor 1, u. a. sowohl an der Eliminierung zirkulierender Immunkomplexe als auch an der Amyloid- β - (A β)- Clearance beteiligt ist (Lambert et al., 2009). CR-1 und 19 weitere dieser Risikoloci konnten 2019 in einer Meta-Analyse bestätigt werden (Kunkle et al., 2019). In der aktuellsten und bisher größten genomweiten Assoziationsstudie bezüglich der LOAD untersuchten Bellenguez et al. (2022) 111326 AD-Fälle und 677663 Kontrollen. Es wurden insgesamt 75 Risikoloci detektiert, bezüglich 42 von diesen war keine Assoziation zur LOAD vorbeschrieben. Hier zeigte in der CR1-Region der SNP rs679515 die beste Assoziation ($p = 7.2 \times 10^{-46}$, OR = 1,13 [CR1.11–1.15]) (Bellenguez et al., 2022).

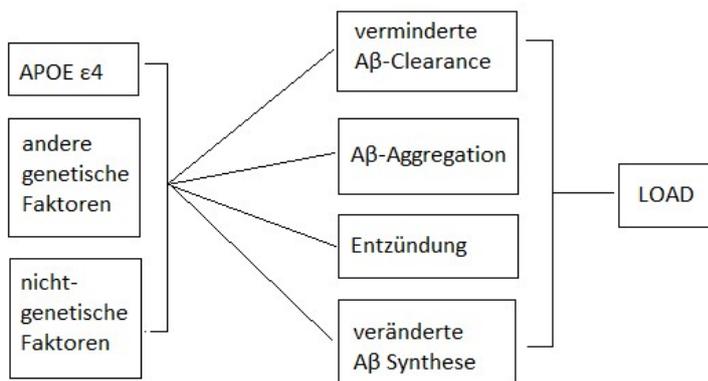


Abb. 1: Faktoren, die an der Entstehung der LOAD beteiligt sind.

A β : β -Amyloid, AD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit (Bagyinszky et al., 2014)

3.3 Das Komplementsystem

Das Komplementsystem gehört zum humoralen Teil des angeborenen Immunsystems. Es besteht aus mehr als 30 Proteinen, die in Abwesenheit von Infektionen in inaktivierter Form in den Körperflüssigkeiten zirkulieren. Zu diesen Proteinen zählen u. a. die Komplementfaktoren des klassischen Wegs, C1-C9, die z. T. Proteasen darstellen und sich durch proteolytische Spaltung kaskadenartig gegenseitig aktivieren (Torvell et al., 2021). Das Komplementsystem hat vier Hauptaufgaben: die Lyse von Krankheitserregern, die Chemotaxis und Aktivierung von Leukozyten, die Steigerung der Gefäßpermeabilität und die Opsonierung von Erregern und Immunkomplexen durch Anlagerung von C3b (Dunkelberger und Song, 2010).

Einleitung

Im Rahmen der Proteolyse eines Komplementfaktors entstehen jeweils zwei Spaltprodukte, die durch die Buchstaben *a* und *b* gekennzeichnet werden. Die Ausnahme stellt C1 dar: er setzt sich aus C1q, C1r und C1s zusammen, die keine Spaltprodukte, sondern jeweils eigenständige Proteine darstellen (Sarma und Ward, 2011).

Die Komplementfragmente C3a und C5a sind an der Entstehung lokaler Entzündungsreaktionen beteiligt. Sie haben vasoaktive Eigenschaften und induzieren die Kontraktion von glatten Gefäßmuskelzellen, steigern die Gefäßpermeabilität, was das Austreten von Immunglobulinen und Komplementfaktoren in den Extravasalraum fördert und stimulieren die Synthese von Adhäsionsmolekülen durch das Gefäßendothel. Darüber hinaus binden C3a und C5a an spezifische Rezeptoren auf Mastzellen, was die Freisetzung von Histamin und TNF- α aus diesen induziert. Antikörper, Komplementfaktoren und Phagozyten werden so an den Ort der Entzündung gelockt (Klos et al., 2009).

Das Komplementsystem kann auf drei Wegen aktiviert werden: dem klassischen, dem alternativen und dem Lektin-Weg (Dunkelberger und Song, 2010). Im Rahmen des klassischen Aktivierungsweges und des Lektinweges wird C4 in C4a und C4b gespalten. C4b bildet auf der Oberfläche von Pathogenen gemeinsam mit C2a einen Komplex, welcher auch als C3-Konvertase bezeichnet wird (Sarma und Ward, 2011). Dieser spaltet C3 in das entzündungsmediierende Fragment C3a und das Opsonin C3b (Dunkelberger und Song, 2010). In diesem Punkt mündet durch spontane Hydrolyse von C3 und Komplexbildung mit weiteren Faktoren auch der alternative Aktivierungsweg (Sarma und Ward, 2011), sodass von hier an eine gemeinsame Endstrecke beginnt, welche in der Bildung eines Membranangriffskomplexes (MAK) resultiert. Dieser bildet eine Pore in der Erregermembran, was dessen Lyse induziert (Dunkelberger und Song, 2010).

Um sicherzustellen, dass die Komplementaktivierung nur auf Oberflächen von Pathogenen erfolgt und nicht auf körpereigenen Zellen, gibt es mehrere Proteine, die das Komplementsystem regulieren. Sie befinden sich sowohl im Plasma als auch in den Membranen körpereigener Zellen und verhindern entweder die Bildung von C3b oder beschleunigen dessen Zerfall. Zu ihnen gehören CR1, Faktor H, der *decay-accelerating factor* (DAF oder CD55) und der *membrane cofactor of proteolysis* (MCP oder CD46) (Sarma und Ward, 2011).

3.4 Der Komplementrezeptor 1

Das Komplementrezeptor-1- (CR1-) Gen liegt auf Chromosom 1q32. Es liegt im *regulators of complement activation* (RCA) *gene cluster*, einem Komplex aus verschiedenen Genen, die an der

Einleitung

Regulation des Komplementsystems beteiligt sind (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001; Torvell et al., 2021). CR1 wird flankiert vom Komplementrezeptor 2- (CR2-) Gen und dem Komplementrezeptor 1-like- (CR1L-) Gen, dem *CD46 molecule pseudogene 1* (CD46P1) und dem *cell division cycle associated 4 pseudogene 3* (CDCA4P3). Im Bereich von CR1 und CR2 liegt die *long intergenic non-coding RNA* (lincRNA) RP11-78B10.2. Die Lokalisationen auf dem Chromosom 1 sind in Abb. 2 dargestellt. Auf die CR1 flankierenden Regionen soll in Abschnitt 3.5 näher eingegangen werden.

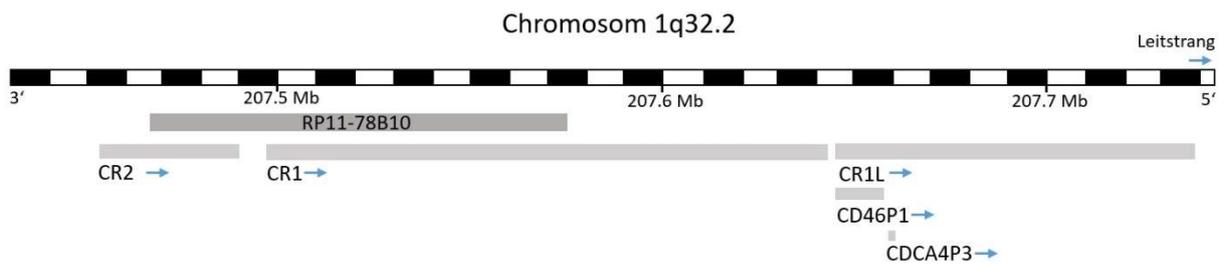


Abb. 2: Lokalisation von CR1, CR2, CR1L, CD46P1, CDCA4P3 und RP11-78B10 auf Chromosom 1q32.2. Angaben beziehen sich auf den Leitstrang. Blaue Pfeile: Leserichtung (nach NCBI Build GRCh38).

3.4.1 Funktionen des Komplementrezeptors 1

CR1 ist Träger der Knops Blutgruppenantigene und dient auf der Oberfläche von Erythrozyten (erythrozytengebundener Komplementrezeptor 1, E-CR1) als Vehikel zur Eliminierung von zirkulierenden Immunkomplexen aus dem Blutkreislauf (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001). Weitere wichtige Funktionen sind die Regulation des Komplementsystems und die Beteiligung an immunologischen Prozessen auf peripheren Blutzellen und im zentralen Nervensystem (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001). Die Rolle des löslichen CR1 ist noch nicht vollständig geklärt (Pascual et al., 1993). Auf diese Punkte soll im Folgenden eingegangen werden.

Komplementrezeptor 1 auf Erythrozyten

Der größte Anteil der Beseitigung von zirkulierenden Immunkomplexen aus dem Blutkreislauf erfolgt komplementabhängig, mediiert durch Erythrozyten, welche als Transportvehikel zu Leber und Milz dienen. Zu diesem Zweck bindet der Komplementfaktor C1 an antigengebundene Antikörper, wodurch der klassische Weg der Komplementkaskade aktiviert wird. Es entstehen u. a. C3b und C4b, welche kovalent an das Antigen binden und es somit für die Bindung an die Erythrozyten markieren, was als Opsonierung bezeichnet wird. Im Rahmen der Immunadhärenz binden die antigengebundenen

Einleitung

Komplementfaktoren reversibel an E-CR1 und werden mit dem Blutstrom zu Leber und Milz transportiert. Dort werden sie von Makrophagen mittels ihres Oberflächenrezeptors C1g erkannt, von den Erythrozyten abgespalten und phagozytiert (Zhu et al., 2015; Brubaker et al., 2017).

Komplementrezeptor 1 als Regulator des Komplementsystems

CR1 wirkt inhibitorisch auf das Komplementsystem und ist somit daran beteiligt, überschießende Immun- und Entzündungsreaktionen zu verhindern. Er fördert den Zerfall der C3- und C5-Konvertasen, die in allen drei Komplementaktivierungswegen gebildet werden. Diese Funktion ist bekannt als *decay accelerating activity* (DAA) (Krych-Goldberg et al., 2002). Durch Bindung von C3b kann CR1 den alternativen Weg inhibieren (Java et al., 2015). Darüber hinaus fungiert CR1 bei der Spaltung von C3b und C4b durch Faktor I als Kofaktor, wobei aus C3b C3dg entsteht. Für diese Spaltung ist CR1 essenziell, da keine anderen Kofaktoren gleicher Funktion existieren. C3dg dient als Substrat für CR2, welches die Schwelle zur B-Zell-Aktivierung durch Antigene senkt und somit die Antikörperreaktion fördert (Krych-Goldberg et al., 2002).

Komplementrezeptor 1 auf weiteren peripheren Blutzellen

Neben den Erythrozyten tragen auch neutrophile Granulozyten, Leukozyten, Monozyten, folliculäre dendritische Zellen, B-Zellen und wenige T-Zellen CR1 auf ihrer Oberfläche. Auf Neutrophilen, Leukozyten und Monozyten vermittelt CR1 die Bindung von eingedrungenen Mikroorganismen, die durch C4b oder C3b opsoniert wurden, von Zelltrümmern oder zirkulierenden Immunkomplexen, welche daraufhin phagozytiert werden (Fyfe et al., 1987; Mizuno et al., 2017). Folliculäre dendritische Zellen binden Antigene und Immunkomplexe u. a. an CR1, um diese B-Zellen zu präsentieren (McCloskey et al., 2011). Weitere Studien haben gezeigt, dass die Bindung von Antigenen an CR1 auf B-Zellen sowohl die B-Zell-Rezeptor vermittelte Proliferation der B-Zellen als auch ihre Differenzierung zu Plasmazellen und somit die Produktion von Immunglobulinen hemmt (Kremlitzka et al., 2013; Kremlitzka et al., 2016). Die Rolle von CR1 auf T-Zellen ist umstritten. Die meisten Autoren stimmen darin überein, dass die Expression von CR1 auf aktivierten T-Zellen hochreguliert wird (Rødgaard et al., 1995; Reilly et al., 2010; Török et al., 2015). Török et al. (2015) konnten zeigen, dass die Bindung von spezifischen Antikörpern oder anderen natürlichen Liganden an CR1 die Bildung von regulatorischen T-Zellen induziert und die Bildung von Interleukin 10 (IL-10) und Interferon gamma (IFN- γ) durch aktivierte CD4+ T-Zellen steigert.

Einleitung

Verteilung des Komplementrezeptors 1 im zentralen Nervensystem

Studien bezüglich der Verteilung von CR1 im menschlichen Gehirn lieferten unterschiedliche Ergebnisse (Fonseca et al., 2016). In einigen Studien gelang der Nachweis von CR1 auf den phagozytischen Kolmer Zellen des Plexus choroideus, während CR1 auf dem Plexusepithel nur im Rahmen von bakteriellen Meningitiden exprimiert zu werden scheint (Singhrao et al., 1999; Canova et al., 2006). Des Weiteren exprimieren Astrozyten CR1, jedoch ist nicht bekannt, welche Funktion er auf diesen Zellen ausübt. (Gasque et al., 1995; Gasque et al., 1996). Auch auf Neuronen (Hazrati et al., 2012) und Mikroglia konnte CR1 nachgewiesen werden. Mikrogliazellen gehören als Teil des Monozyten-Makrophagen Systems zu den Zellen der Immunabwehr und stellen die ortsständigen Phagozyten des zentralen Nervensystems dar (Zabel und Kirsch, 2013). Auf ihrer Oberfläche tragen sie verschiedene Immunrezeptoren, u. a. CR1, durch welche sie nach Antigen-Bindung vom ruhenden in den aktivierten Zustand übergehen. Dieser Mechanismus kann auch durch A β ausgelöst werden, welches an CR1 bindet und phagozytiert wird. Die auf diese Weise aktivierten Mikrogliazellen weisen eine erhöhte CR1 Expression auf und sezernieren sowohl die proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-1 β als auch Superoxide. Das resultierende neurotoxische Milieu führt zu einer Schädigung und dem Untergang von Neuronen (Crehan et al., 2013; Doens und Fernández, 2014).

Löslicher Komplementrezeptor 1

Abgesehen vom membranständigen CR1 existiert auch eine lösliche Form von CR1 (*soluble complement receptor 1*, sCR1). Diese wurde von Yoon und Fearon 1985 entdeckt und liegt physiologisch in einer sehr geringen Konzentration (ca. 3 ng/ml) im Plasma vor. Die Bildung des sCR1 ist noch nicht abschließend geklärt. Es wird angenommen, dass membrangebundener CR1 unter bestimmten Umständen proteolytisch von der Oberfläche von polymorphkernigen Leukozyten (PMN) abgespalten wird (Danielsson et al., 1994; Hamer et al., 1998; Mahmoudi et al., 2018).

Auch die Funktion von sCR1 wirft noch Fragen auf. Aufgrund seiner geringen Konzentration scheint er die Komplementaktivität im Plasma kaum regulieren zu können (Pascual et al., 1993). Trotzdem könnte er eine Rolle in der lokalen Komplementkontrolle spielen. Danielsson et al. (1994) zeigten in vitro, dass PMN nach Aktivierung sCR1 in ihre Umgebung freisetzen, was darauf hinweisen könnte, dass dieser im Milieu dieser Zellen eine inhibitorische Funktion gegenüber dem Komplementsystem ausübt (Danielsson et al., 1994).

Einleitung

3.4.2 Struktur des Komplementrezeptors 1

Das CR1- Gen liegt auf Chromosom 1q32. Es ist auch als CD35 bekannt und liegt im *regulators of complement activation (RCA) gene cluster* (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001).

Der Komplementrezeptor 1 bindet die Komplementfaktoren C3b, C4b und mit geringerer Affinität iC3b, C1q und Ficoline (Mahmoudi et al., 2015). Er ist ein Typ I Transmembran-Glykoprotein, von dem bezüglich seines Molekulargewichts vier Isoformen bekannt sind: CR1*1 oder CR1-F (190 kDa), CR1*2 oder CR1-S (220 kDa), CR1*3 oder CR1-F' (160 kDa) und CR1*4 oder CR1-D (220 kDa) (s. Tabelle 1) (Zhu et al., 2015). Es wird angenommen, dass die verschiedenen Isoformen durch ungleichmäßiges Crossing-over entstanden sind (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001). Die Allele CR1*1 und CR1*2 weisen eine deutlich höhere Frequenz in der Bevölkerung auf als die Allele CR1*3 und CR1*4, wobei die Frequenzen zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen kaum variieren. So liegen die Häufigkeiten von CR1*1 und CR1*2 in der kaukasischen Bevölkerung bei 0,87 % und 0,11 %, bei Afroamerikanern bei 0,82 % und 0,11 %, bei 0,89 % und 0,11 % in der mexikanischen und bei 0,916 % und 0,084 % in der indischen Bevölkerung (Zhu et al., 2015).

CR1 umfasst vier strukturelle Domänen: ein 41 Aminosäuren (AS) langes Signalpeptid, eine N-terminal gelegene extrazelluläre Domäne, eine 25 AS lange Transmembrandomäne und eine 43 AS lange, C-terminal gelegene, zytoplasmatische Domäne (Klickstein et al., 1987; Kirkitadze und Barlow, 2001). Die vier CR1-Isoformen unterscheiden sich anhand ihrer extrazellulären Domänen voneinander. Diese Einheiten werden *short consensus repeats* (SCR), *complement control protein repeats* (CCPs) oder Sushi Domänen genannt und bestehen aus einer unterschiedlichen Anzahl von konservierten Einheiten aus 60-70 AS (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001; Zhu et al., 2015). Jeweils sieben SCR setzen sich zu vier längeren *long homologous repeats* (LHR), LHR A-D, zusammen, wobei die beiden an die Transmembrandomäne angrenzenden SCRs nicht an der Bildung der LHR beteiligt sind (Klickstein et al., 1987; Zhu et al., 2015) (Abb. 3). Jeweils die ersten drei SCRs eines LHR binden und inhibieren die Komplementfaktoren C3b und C4b, wobei die Inhibierungs- und spezifischen Bindungseigenschaften durch die ersten beiden SCRs bestimmt werden (Brouwers et al., 2012). Die Anzahl der Komplementfaktorbindungsstellen steigt mit der Länge der CR1-Isoformen: CR1*3 besitzt eine, CR1*1 zwei, CR1*2 drei und CR1*4 besitzt vier Bindungsstellen (Tabelle 1) (Brouwers et al., 2012; Zhu et al., 2015).

Tabelle 1: CR1 Isoformen in der europäischen Bevölkerung

Aktuelle Nomenklatur	Alte Nomenklatur	Gewicht (kDa)	Anzahl der LHRs	Anzahl der C3b/C4b-Bindungsstellen	Frequenz
CR1*1	A oder F	190	4	2	0,87
CR1*2	B oder S	220	5	3	0,11
CR1*3	C oder F'	160	3	1	0,02
CR1*4	D	250	6	4	<0,01

S = *slow*, F = *fast*, LHR = *long homologous repeat*. Tabelle modifiziert anhand von Daten von Kucukkilic et al., 2018, Fonseca et al., 2016 und Zhu et al., 2015.

CR1 umfasst eine variable Anzahl von zwei existierenden, jeweils 18 kb langen *low copy repeats* (LCR), LCR1 und LCR2. Ein dritter LCR, LCR3, liegt im CR1 benachbarten CR1-like Gen (CR1L). CR1*1 beinhaltet jeweils eine Kopie von LCR1 und LCR2, wogegen CR1*2 zusätzlich LCR1', eine zusätzliche Kopie von LCR1, umfasst. Hieraus resultiert, dass CR1*2 einen LHR mehr besitzt als CR1*1 und somit eine Komplementbindungsstelle mehr kodiert. Die seltener vorkommenden Isoformen CR1*3 und CR1*4 entstehen durch eine zusätzliche dritte Kopie von LCR1 bzw. durch das vollständige Fehlen von diesem (Brouwers et al., 2012).

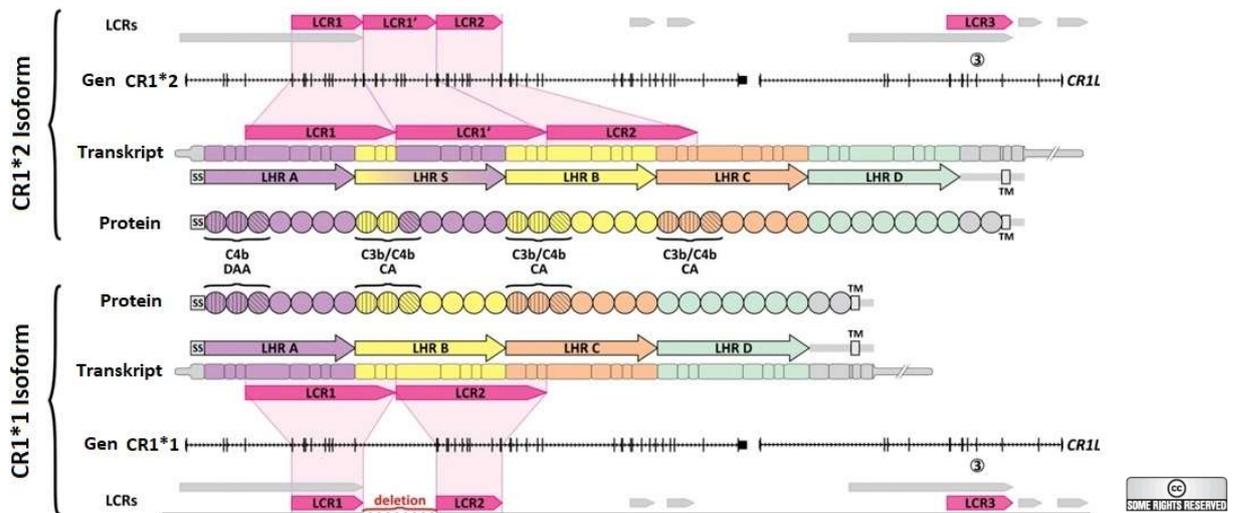


Abb. 3: Aufbau und Struktur der CR1-Isoformen CR1*1 und CR1*2

LCRs (low copy repeats): pinkfarbene horizontale Pfeile (Lokalisation, Orientierung der LCR); *Gen:* Lokalisation, Exonstruktur von CR1*1 bzw. CR1*2 und CR1L; *Transkript:* Organisation der CR1-Transkripte, kodierende Bereiche jeweils durch eine Box repräsentiert, dazwischenliegende nicht-kodierende Bereiche sind nicht dargestellt; *LHRs:* Pfeile (Lokalisation, Orientierung der LHR); *TM:* Transmembran-domäne; *Protein:* funktionelle Domänen von CR1 (Kreise = SCR). Die Farben (lila, gelb, orange, grün) verdeutlichen die Zugehörigkeit zu den jeweiligen Untereinheiten der CR1-Isoform (Brouwers et al., 2012).

Weitere relevante Gruppen von Polymorphismen in CR1 betreffen zum einen die Knops Blutgruppenantigene und zum anderen die Dichte von CR1 auf der Oberfläche von Erythrozyten (Krych-Goldberg et al., 2002).

Das Knops Blutgruppensystem besteht aus neun Antigenen. Diese liegen in der LHR-D-Region von CR1 und sind jeweils mit SNPs in diesem Bereich des CR1-Gens assoziiert. Die neun Antigene umfassen drei Allelpaaire: Kn^a (KN1) und Kn^b (KN2), McC^a (KN3) und McC^b (KN6), SI1 (KN4, früher SI^a) und SI2 (KN7, früher Vil) und drei einzelne Antigene: Yka (KN5), SI3 (KN8), das eine Untereinheit von SI1 darstellt sowie KCAM+ (KN9+) und KCAM- (KN9-). Die Antigene Kn^a , McC^a , SI1, SI3 und KCAM+ weisen in der kaukasischen Bevölkerung die höchste Prävalenz auf (Pham et al., 2010). Die Frequenz von McC^b und SI2 liegt dagegen bei Kaukasern bei 1 %, während sie bei Afrikanern und Afroamerikanern bei 40-70 % liegt (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001). Ein protektiver Effekt dieser beiden Allele auf den Schweregrad einer Malariaerkrankung wird diskutiert, ist jedoch umstritten (Hansson et al., 2013; Tetey et al., 2015).

Einleitung

Abgesehen von Thrombozyten, natürlichen Killerzellen und den meisten T-Zellen, wird CR1 auf allen peripheren Blutzellen exprimiert. Da Erythrozyten den größten Teil der Gesamtmenge der Blutzellen ausmachen, befinden sich 90 % des zirkulierenden CR1 auf den Erythrozyten, wo es eine bedeutende Rolle bei der Eliminierung zirkulierender Immunkomplexe spielt (Krych-Goldberg und Atkinson, 2001). Bei Kaukasiern variiert die Anzahl der CR1 Moleküle pro Erythrozyt um das bis zu 10-fache. Sie liegt bei gesunden Personen bei 150-1200 Molekülen pro Zelle, kann jedoch bei Erkrankungen wie AIDS oder dem systemischen Lupus erythematoses reduziert sein (Cornillet et al., 1991; Mahmoudi et al., 2015). Diese interindividuell unterschiedliche Anzahl stellt einen genetisch determinierten, stabilen Phänotyp dar, welcher mit einem Hind III Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP) im CR1-Gen korreliert (Wilson et al., 1986; Herrera et al., 1998; Rowe et al., 2002). Der RFLP hat seinen Ursprung in einer Punktmutation im Intron 27 des CR1-Gens und befindet sich im Kopplungsungleichgewicht (*Linkage disequilibrium*, LD) mit mehreren SNPs in kodierenden Abschnitten des CR1-Gens. Die resultierende veränderte Zusammensetzung der Aminosäuren könnte die Stabilität des CR1 Proteins und somit seine Dichte auf den Erythrozyten beeinflussen (Rowe et al., 2002).

3.5 Komplementrezeptor 1 (CR1) flankierende Gene

3.5.1 Komplementrezeptor 2 (CR2)

Das CR2-Gen liegt in unmittelbarer Nachbarschaft *upstream* zum CR1-Gen auf Chromosom 1q32 und ist ebenfalls Teil des RCA-Clusters (Carroll et al., 1988). Sein Genprodukt, der Komplementrezeptor 2, ist, wie der Komplementrezeptor 1, ein aus SCRs zusammengesetztes Transmembranprotein und umfasst 15 bis 16 dieser repetitiven Einheiten (Weis et al., 1988). Der CR2 wird auf reifen B-Zellen, folliculären dendritischen Zellen, einigen T-Zellen, Mastzellen und Epithelzellen exprimiert (Fearon und Wong, 1983; Marchbank et al., 2000). Er hat Bindungsstellen für die Spaltprodukte von C3 (iC3b, C3dg und C3d) (Fearon und Wong, 1983), CD23 (Aubry et al., 1992) und IFN- α (Delcayre et al., 1991). Auch das Epstein-Barr-Virus (EBV) Oberflächen-Glykoprotein gp350/220 bindet an CR2, was dem EBV im Rahmen einer Infektion das Eindringen in die jeweilige Zelle ermöglicht (Nemerow et al., 1989). Die Hauptaufgaben von CR2 liegen in der B-Zell-Aktivierung und der Generierung von Immunantworten (Carroll, 1998). CR2 stellt ein Suszeptibilitätsgen für den systemischen Lupus Erythematoses dar (Levy et al., 1992). In der letzten genomweiten Publikation zu AD (Bellinguez et al. 2022) ist keine Assoziation beschrieben. Lediglich in der Studie von Lancour et al. (2018) wurde ein Zusammenhang zwischen CR2 und der AD entdeckt. In der Studie wurde anhand von bekannten Gen-Gen-Interaktionen und

Einleitung

bekannten biologischen Prozessen ein Netzwerk sowohl aus Genen, die bekannte AD-Risikogene darstellen als auch aus anderen Genen erstellt, aus dem CR2 als neues Risikogen hervorging. Es wurde angenommen, dass CR2 das Entstehen einer AD eventuell durch zerebrale immunologische Prozesse beeinflussen könnte, ähnlich wie CR1.

3.5.2 Komplementrezeptor-1-like (CR1L)

Das CR1L-Gen flankiert das CR1-Gen *downstream*. Das Genprodukt entspricht bei Primaten in seiner Funktion dem menschlichen CR1. Beim Menschen dagegen scheint CR1L praktisch nicht exprimiert zu werden und könnte daher entsprechend einem Pseudogen regulatorische Funktionen innehaben (Birmingham und Hebert, 2001). Ein humanes Gentranskript von CR1L konnte in einer Studie von Logar et al. (2004) durch Amplifikation mittels cDNA in geringen Mengen im adulten Knochenmark und in der fetalen Leber nachgewiesen werden. Da jedoch kein CR1L Protein gefunden wurde, gingen Logar et al. davon aus, dass das nachgewiesene Transkript lediglich aus der Aktivität von CR1L als Pseudogen resultiert und CR1L nicht als Protein exprimiert wird (Logar et al., 2004).

3.5.3 Lange nicht-kodierende RNA RP11-78B10.2

RP11-78B10.2 ist eine *long intergenic non-coding RNA* (lincRNA) innerhalb des CR1 Lokus (Humphries et al., 2015). LincRNAs sind nicht-kodierende RNAs mit einer Länge von mehr als 200 Basen, die von nicht-kodierenden DNA-Abschnitten, die zwischen proteinkodierenden Genen liegen, transkribiert werden (Ulitsky und Bartel, 2013). Von RP11-78B10.2 wird kein Protein translatiert und seine genaue Funktion ist nicht bekannt (Humphries et al., 2015). Seine Lokalisation überschneidet sich jedoch mit einer repetitiven Sequenz von CR1, von der angenommen wird, dass sie bei LOAD gehäuft expandiert vorliegen kann und auch eine veränderte Expression von RP11-78B10.2 wurde bei Patienten mit LOAD beobachtet (Brouwers et al., 2012; Humphries et al., 2015).

3.5.4 Pseudogen CD46P1

CD46 *molecule pseudogene 1* (CD46P1) ist ein unprozessiertes Pseudogen, das im *upstream* Bereich von CR1L liegt und *downstream* an das CR1-Gen angrenzt. Innerhalb dieses Gens befinden sich ein Promotor, je eine Bindungsstelle für Transkriptionsfaktoren und für CTCF, ein Protein, das ebenfalls regulatorisch auf Transkriptionsprozesse wirkt und fünf nicht-kodierende Exons. CD46P1 wird nicht

Einleitung

exprimiert, es übt wahrscheinlich regulatorische Funktionen aus. Es wurde bislang keine Assoziation zu einer bestimmten Erkrankung beschrieben (Stelzer et al., 2016; Yates et al., 2016).

3.5.5 Zellzyklus-assoziiertes Pseudogen CDCA4P3

Cell division cycle associated 4 pseudogene 3 (CDCA4P3) ist ebenfalls ein unprozessiertes Pseudogen. Es flankiert CD46P1, liegt somit im *upstream* Bereich von CR1L und *downstream* von CR1. CDCA4P3 wird in eine long non-coding RNA (lncRNA) transkribiert und enthält ein Exon (Stelzer et al., 2016; Yates et al., 2016). Bislang wurden nur wenige Zusammenhänge zu Erkrankungen entdeckt, z.B. zur akuten myeloischen Leukämie (Stelzer et al., 2016; Yates et al., 2016; Wang, 2019; Bhat et al., 2020).

Mukherjee et al. (2017) führten eine genomweite Assoziationsstudie mit 17008 LOAD-Fällen und 37154 gesunden Kontrollen durch, die Ergebnisse wurden in ein Modell bekannter humaner Protein-Protein-Interaktionen integriert. Neben vorbeschriebenen und neuen LOAD-Risikogenen fanden sich auch Assoziationen zu 4 Pseudogenen, u.a. zu CDCA4P3 ($p = <1.0 \times 10^{-6}$) (Mukherjee et al., 2017).

3.6 Komplementrezeptor 1 und Alzheimer-Demenz

Verschiedene genetische Studien haben die Assoziation zwischen Polymorphismen im CR1-Gen und der AD untersucht (Torvell et al., 2021). Diese führten zu unterschiedlichen Hypothesen bezüglich der zugrundeliegenden genetischen Pathomechanismen. Im Folgenden sollen die bestehenden Theorien nacheinander kurz dargestellt werden. In die letzte größte genomweite Assoziationsstudie zur LOAD wurden insgesamt 111326 Alzheimer Patienten und 677663 Kontrollen eingeschlossen. 75 Risikoloci wurden detektiert, von denen 42 zum Zeitpunkt der Analyse neu waren. Für die CR1-Region gab es die beste Assoziation mit dem SNP rs679515 und einem p -Wert von $p = 7.2 \times 10^{-46}$, OR = 1,13 [CI:1.11–1.15] (Bellenguez et al., 2022).

Komplementrezeptor 1 und Amyloid β

Die Akkumulation von A β im Gehirn führt zur Bildung von senilen Plaques, die die neuronale Integrität und synaptische Funktion stören (Murphy und LeVine, 2010). Auch der Ablagerung von A β in und um zerebrale Blutgefäße, bekannt als zerebrale Amyloidangiopathie (CAA), wird eine Rolle in der Pathogenese der AD zugeschrieben (Ghiso et al., 2010). Es wird vermutet, dass für die Entstehung der Ablagerungen und Plaques nicht die Rate der Bildung von A β , sondern dessen Clearance ausschlaggebend ist. Auch scheint das Risiko, an einer AD zu erkranken, mit einer Erhöhung des A β -Spiegels im Plasma korreliert zu sein (Mawuenyega et al., 2010). CR1 ist maßgeblich an der A β -

Einleitung

Clearance beteiligt: nachdem sie durch C3b markiert wurden, binden zirkulierende A β -Moleküle an E-CR1. Gebunden an Erythrozyten gelangen sie zu Milz und Leber, wo sie vom Monozyten-Makrophagen-System phagozytiert werden. Darüber hinaus wird CR1 auch auf Mikroglia exprimiert, wo der Rezeptor die Phagozytose von A β vermittelt (Zhu et al., 2015).

In einer Studie bezüglich der peripheren A β -Clearance lag bei Probanden mit MCI oder AD weniger erythrozytengebundenes A β vor als in der Kontrollgruppe, woraus eine verminderte periphere Clearance resultierte. Der A β -Spiegel im Plasma der Probanden zeigte sich dagegen höher als in der Vergleichsgruppe, wenngleich die Werte keine Signifikanz erreichten (Brubaker et al., 2017). In einer weiteren experimentellen Studie wurde CR1 in vitro durch Antikörper blockiert. Die resultierende verminderte Funktion von CR1 auf Mikroglia führte zu einer verminderten Phagozytose von A β durch diese Zellen. Crehan et al. (2013) nehmen an, dass ähnliche Mechanismen in vivo durch *loss-of-function* Mutationen entstehen und somit zu einer verringerten zerebralen Clearance führen können (Crehan et al., 2013).

Brouwers et al. (2012) entdeckten Assoziationen zwischen vier SNPs in CR1. Die nachfolgend aufgeführten Allel waren jeweils mit einer erhöhten Konzentration von A β_{1-42} im Liquor assoziiert (G-Allel von rs646817, A-Allel von rs1746659, T-Allel von rs11803956, G-Allel von rs12034383). Andere Studien beobachteten vermehrte zerebralen A β -Ablagerungen im Zusammenhang mit den in CR1 gelegenen SNPs rs4844609 (A-Allel) (Zhu et al., 2017) und SNP rs6656401 (A-Allel) (Chibnik et al., 2011). Dargestellt wurden diese Ablagerungen mittels Amyloid-PET (Zhu et al., 2017) bzw. postmortal mittels Autopsie des Gehirns (Chibnik et al., 2011).

Es herrscht bisher noch Uneinigkeit darüber, ob den zentralen oder den peripheren Clearancemechanismen die größere Bedeutung zukommt.

CR1 und Neuroinflammation

Das Komplementsystem spielt eine entscheidende Rolle in der Initiierung von Entzündungsprozessen, sowohl zentral als auch peripher und wird von CR1 inhibitorisch reguliert. Da Neuroinflammation durch Schädigung von Nervenzellen und Synapsen als relevanter Faktor in der Entstehung der AD angesehen wird, wird angenommen, dass CR1 durch Modulation dieser Entzündungsprozesse in die Pathologie der AD involviert ist. Gliazellen und Neuronen sind in der Lage, Komplementfaktoren zu synthetisieren und ihre Bildung ist im Rahmen der AD erhöht (Akiyama et al., 2000; Zhu et al., 2015; Zhu et al., 2017). Crehan et al. (2013) nehmen folgendes an: CR1 exprimierende Mikroglia können durch Bindung von A β stimuliert werden, was die Aktivierung dieser Zellen zur Folge hat. Aktivierte Zellen exprimieren einerseits vermehrt CR1, sodass sie mehr Bindungsstellen aufweisen, andererseits kann das vermehrte Vorhandensein von A β in der Umgebung ebenfalls zu einer gesteigerten Aktivierung und somit zu einer

Einleitung

Überstimulierung der Mikroglia führen, worauf diese mit einer erhöhten Produktion von freien Radikalen, proinflammatorischen Zytokinen wie Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α) und IL-1 β und Komplementfaktoren reagiert. Dies führt zu Neuroinflammation mit neurotoxischen Effekten, was zur Degeneration im Rahmen der AD beiträgt (Crehan et al., 2013).

Eine weitere Theorie bezüglich des Einflusses von CR1 auf neuroinflammatorische Prozesse besagt, dass der Rezeptor durch Inhibierung der Komplementkaskade zwar Entzündungsprozesse hemmt. Jedoch zeigten Mausmodelle, dass die Komplementinhibierung die Bildung von senilen Plaques erhöht, sodass sich im Umkehrschluss eine Komplementaktivierung eher protektiv auswirken könnte (Wyss-Coray et al., 2002).

CR1 und Tau

Die Pathologie der AD ist mit dem Auftreten des Tau-Proteins assoziiert. CR1 wurde bisher jedoch nur in einer Tierversuchsstudie an Mäusen mit dem Tau-Protein in Verbindung gebracht. Bei Nagetieren entspricht das *CR1-related protein Y (Crry)* dem menschlichen CR1. Es zeigte sich, dass im Hippocampus von Crry-Knockout-Mäusen sowohl Komplementfaktor H, ein Marker für die Progredienz von AD, als auch die Hyperphosphorylierung von Tau reduziert waren. Dies führte zur Formulierung der Hypothese, dass der komplette Verlust von CR1 eine verminderte Phosphorylierung des Tau-Proteins und somit eine verminderte Alzheimer-Pathologie zur Folge hat (Killick et al., 2013).

CR1 und Temporallappenvolumen

Zu den typischen Veränderungen bei AD zählt die Degeneration von Strukturen des Temporallappens. Zhu et al. (2017) untersuchten mittels MRT, FDG- und AV45-(Amyloid-) PET die Assoziation zwischen verschiedenen SNPs in CR1 und dem Temporallappenvolumen. Zu diesem Zweck bildeten sie drei Studiengruppen: Probanden mit MCI, Probanden mit AD und gesunde Kontrollprobanden. Es zeigten sich zum einen Assoziationen zwischen den SNPs rs12034383 (A-Allel) sowie rs6691117 (G-Allel) und einem verminderten Volumen des Temporallappens bei Probanden mit AD gegenüber den Probanden mit MCI und den gesunden Kontrollen und zum anderen zwischen rs3737002 (T-Allel) und einem erhöhten Temporallappenvolumen in der Kohorte mit AD gegenüber der Kohorte mit MCI und den gesunden Kontrollen, weshalb Zhu et al. diesen als eventuell protektiven Faktor ansahen (Zhu et al., 2017).

CR1 und zerebraler Glukosemetabolismus

Der zerebrale Glukosemetabolismus korreliert mit der synaptischen Integrität und neuronalen Funktion und kann als Marker für Neurodegeneration angesehen werden. Bei AD liegt ein

Einleitung

weitreichender zerebraler Glukose-Hypometabolismus vor (Drzezga et al., 2003). Der SNP rs10779339 (T-Allel) in CR1 zeigte in einer US-amerikanischen Kohorte eine Assoziation zu einem verminderten Glukosemetabolismus in zingulären, frontalen, parietalen und temporalen Hirnarealen bei Probanden mit AD und MCI (Zhu et al., 2017). Der zugrundeliegende Mechanismus ist bisher nicht bekannt.

CR1 und Kognition

Lambert et al. (2009) identifizierten CR1 erstmals als ein mögliches Kandidatengen für die Entstehung einer AD. Zum genaueren Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen untersuchten Verhaaren et al. (2013) den Zusammenhang bekannter Alzheimer-Risikogene, u. a. CR1, auf die Kognition einer nicht-Demenz Kohorte. Da die erwartete Effektstärke einzelner Risikogene, abgesehen von APOE- ϵ 4, sehr gering war, wurde ein genetischer Risikoscore, der sich aus Risikovarianten in den Genen CLU, PICALM, BIN1, CR1, ABCA7, MS4A6A, MS4A4E, CD2AP, EPHA1 und CD33 zusammensetzte, erstellt. Dieser Score wurde zunächst auf seine Assoziation zur Kognition einer gesunden Stichprobe untersucht. Darüber hinaus wurde in einer Subpopulation im *follow up* nach 10 Jahren der Vorhersagewert zur Entstehung einer AD überprüft. Nach Adjustierung für APOE- ϵ 4 zeigte sich für den Risikoscore ein marginaler Zusammenhang zur Gedächtnisleistung, für CR1 allein konnte kein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden. Ein Vorhersagewert war nach Adjustierung für Alter, Geschlecht und APOE- ϵ 4 ebenfalls nicht eruierbar.

Hamilton et al. (2011) untersuchten Assoziationen zwischen Varianten in verschiedenen AD-Risikogenen, u. a. 9 SNPs in CR1 und der kognitiven Leistung in zwei schottischen, nicht-Demenz Kohorten. Es konnte ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang dargestellt werden (Hamilton et al. 2011).

Chibnik et al. (2011) stellten in einer longitudinalen Studie mit einer nicht-Demenz Kohorte eine Assoziation zwischen dem SNP rs6656401 (A-Allel) von CR1 und einer verminderten globalen kognitiven Leistung dar. Dieser Zusammenhang konnte nach Autopsie weitgehend auf AD-typische zerebrale Ablagerungen von β -Amyloid zurückgeführt werden. Die Studiengruppe interpretierte diese Ergebnisse dahingehend, dass CR1 auch in der nicht-Demenz Bevölkerung kognitive Alterungsprozesse beeinflusst, indem es an der Entstehung von neurodegenerativen Veränderungen beteiligt ist (Chibnik et al., 2011).

Cruz-Sanabria et al. (2021) untersuchten in einer prospektiven Studie die Assoziation von SNPs in vorbeschriebenen AD Kandidatengenen, u.a. CR1 (rs6656401) auf eine Assoziation zur kognitiven Leistung. Diese wurde gemessen mittels der *NEURONORMA neuropsychological test battery*, welche

Einleitung

folgende kognitiven Domänen abdeckt: Aufmerksamkeit (*Trail Making Test A/B, Symbol Digit Modalities Test, Stroop Color-Word Test*, verbale und visuelle Zahlenspanne vorwärts), Gedächtnis (*Free and Cued Selected Reminding Test (FCSRT), Rey-Osterrieth Complex Figure Test (recall)*), Sprache (Wortflüssigkeitstest, *Token Test, Boston Naming Test (BNT)*), Konstruktionsfähigkeit (*Rey-Osterrieth Complex Figure Test (copy)*) und Exekutivfunktionen (phonematische Wortflüssigkeit, *Tower of London Test, Stroop Color-Word Test, Wisconsin Card Sorting Test*). Die Kohorte umfasste 20 gesunde Probanden (Durchschnittsalter 67 Jahre) und 34 Probanden mit MCI (Durchschnittsalter 66 Jahre). Bezüglich CR1 (rs6656401, minores Allel: A) zeigten 46 % der Probanden mit MCI mit dem Genotyp GG eine schlechtere Leistung in den 2 kognitiven Untertests FCSRT – *total recall* und FCSRT – *free total recall*. Beim Genotyp AA zeigte sich eine schlechtere Leistung im Boston Naming Test sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Probanden mit MCI. Cruz-Sanabria et al. (2021) folgerten daraus, dass CR1 einen Einfluss auf die Kognition haben kann, unabhängig von einer Demenz (Cruz-Sanabria et al., 2021).

Nettiksimmons et al. (2016) untersuchten in einer longitudinalen Studie zwei kaukasische Kohorten aus der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung. Die erste umfasste ausschließlich weibliche Probanden (Durchschnittsalter 71,0 Jahre), die aus der *Study of Osteoporotic Fractures* stammten, die zweite umfasste ausschließlich männliche Teilnehmer (Durchschnittsalter 73,4 Jahre), die aus der Studie *Osteoporotic Fractures in Men* stammten, auf Assoziationen zwischen der kognitiven Leistung und SNPs in 12 zuvor in großen Meta-Analysen vorbeschriebenen AD Risikogenen, u.a. CR1. Die kognitive Leistungsfähigkeit der Frauen wurde gemessen anhand des MMST, bei den Männern erfolgte der modifizierte MMST (3MS), im Verlauf von 10 Jahren erfolgten bis zu vier erneute Testungen. Es zeigten sich nominal signifikante Assoziationen zwischen einer verminderten kognitiven Leistung und Allelen von 9 SNPs in CR1. Nach multiplem Testen wiesen sie jedoch keine Signifikanz mehr. Eine Assoziation zu einer veränderten kognitiven Leistung und dem minoren A-Allel des auch untersuchten CR1-SNP rs6656401 zeigte sich nicht (Nettiksimmons et al., 2016).

Pedraza et al. (2014) untersuchten die Assoziation zwischen Varianten in mehreren AD Risikogenen, u.a. CR1 (rs6656401 und rs3818361) und Gedächtnis-Endophänotypen in einer schwarzen und in einer weißen Kohorte in den USA. Der Gedächtnis Endophänotyp wurde gemessen anhand der WMS-R-Untertests Logisches Gedächtnis I, Logisches Gedächtnis II, Visuelles Gedächtnis I, Visuelles Gedächtnis II, sowie den Prozentsatz der nach 30 Minuten erinnerbaren verbalen und nonverbalen Inhalte. Die Probanden stammten aus drei AD Fall-Kontroll-Studien der Mayo Klinik. Die erste Kohorte umfasste

Einleitung

ausschließlich schwarze Probanden: 44 Fälle mit diagnostizierter LOAD (Durchschnittsalter: 78,9 Jahre) und 224 gesunde Kontrollen (Durchschnittsalter: 78,7 Jahre). Die zweite Kohorte und dritte Kohorte umfassten ausschließlich weiße Probanden. Die zweite beinhaltete 327 Fälle mit diagnostizierter LOAD (Durchschnittsalter: 83,2 Jahre) und 224 gesunde Kontrollen (Durchschnittsalter: 82,4 Jahre), die dritte 60 Fälle mit diagnostizierter LOAD (Durchschnittsalter: 79,1 Jahre) und 529 gesunde Kontrollen (Durchschnittsalter: 78,9 Jahre). Die zweite und dritte Kohorte wurden für die weiteren Untersuchungen zusammengefasst. Der APOE-Trägerstatus war bei allen Probanden bekannt, es erfolgte eine Adjustierung nach Alter, Geschlecht, Bildungsgrad und Anzahl der vorhandenen APOE- ϵ 4 - Allele.

Bezüglich der minoren Allele von den CR1-SNPs rs6656401 (A) und rs3818362 (A) zeigte sich eine nominal signifikante Assoziation zu einer schlechteren Leistung im Bereich Logisches Gedächtnis I in der schwarzen Kohorte, sowohl bei den LOAD Fällen als auch bei den Kontrollen. Pedraza et al. (2014) zogen den Schluss, dass AD Risikogene bereits vor der klinischen Diagnose einer AD die Gedächtnisfunktion messbar beeinflussen könnten (Pedraza et al., 2014).

Vivot et al. (2015) untersuchten in einer Studie mit 4931 Probanden aus der *three city* (3C) Studienkohorte, welche aus der Allgemeinbevölkerung aus drei französischen Städten stammten (Durchschnittsalter zu Beginn: 74,0 Jahre), bekannte AD Risikogene, u.a. CR1 rs3818361, auf Assoziationen zu einer veränderten kognitiven Leistung, gemessen anhand von MMST (globale Kognition), *Isaac's Test* (Wortflüssigkeit), *Benton Visual Retention Test* (visuelles Gedächtnis), *Trail Making Test A/B* (Informationsverarbeitung) und *National Adult Reading Test* (Lese- und Schreibkompetenz). Diese wurden im *follow up* über einen Zeitraum von 10 Jahren 4 weitere Male erhoben. Bezüglich des minoren A-Allels von rs3818361 zeigte sich im Verlauf eine signifikante Assoziation zu einem Abbau im Bereich der Wortflüssigkeit (Vivot et al., 2015).

Sweet et al. (2012) entwickelten ein Bayes'sches Modell, anhand dessen der Verlauf der kognitiven Leistungsfähigkeit bei an AD Erkrankten geschätzt und in einer Kurve festgehalten werden kann. Es wurde folgender Kurvenverlauf angenommen: eine relativ stabile Testleistung in der präklinischen Phase, dann Übergang in eine Phase sich schnell verringernder Testleistung, dann Abflachung und asymptotische Annäherung an den minimalen Testscore.

Alle untersuchten Probanden waren US-Amerikaner und stammten aus der *Cardiovascular Health Cognition Study*. Bei allen war der APOE- ϵ 4-Trägerstatus bekannt. Die globale Kognition wurde gemessen anhand des modifizierten MMST (3MS), die Aufmerksamkeit anhand des *Digit Symbol*

Einleitung

Substitution Test (DSST), das Vorliegen von Psychosen in der Vergangenheit wurde erhoben anhand des neuropsychiatrischen Inventars.

Zunächst wurde überprüft, ob das erstellte Modell in der Lage ist, bei Probanden mit AD die bekannten Effekte von APOE- ϵ 4 auf das frühere Einsetzen des geistigen Abbaus sowie den Effekt einer in der Vergangenheit bestandenen Psychose auf die Geschwindigkeit des Abbaus abzubilden. Hierzu wurde der geistige Abbau bei 802 kaukasischen und nicht-kaukasischen Probanden (Durchschnittsalter zu Beginn: 73,8 Jahre), die zu Beginn keine AD hatten und im Verlauf eine AD oder ein MCI entwickelten, im *follow up* untersucht. 3MS und DSST wurden von 1990 – 1999 jährlich wiederholt. Es zeigte sich bei APOE- ϵ 4-Trägern ein früheres Einsetzen eines geistigen Abbaus gegenüber APOE- ϵ 4 negativen Probanden. Bei Probanden mit Vorliegen einer Psychose in der Vergangenheit zeigte sich ein beschleunigter geistiger Abbau gegenüber Probanden, die nie an einer Psychose gelitten hatten.

Im Anschluss wurde untersucht, welchen Effekt Varianten in den bekannten AD Risikogenen CR1, CLU und PICALM auf den Verlauf der AD ausüben. Bei CR1 wurde der SNP rs3818361 betrachtet. Untersucht wurden 1831 kaukasische, gesunde Probanden (Durchschnittsalter zu Beginn: 71,7 Jahre), die im Verlauf gesund blieben oder AD/MCI entwickelten und bei denen Genotypisierungen von mindestens einem der drei Risikogene vorlagen. 3MS und DSST wurden jährlich von 1992 - 1999 wiederholt. Bezüglich dem minoren Allel von CR1 rs3818361 zeigte sich unabhängig vom APOE- ϵ 4-Trägerstatus eine Assoziation zu einem beschleunigten geistigen Abbau, gemessen anhand des DSST (Sweet et al., 2012).

Chung et al. (2014) untersuchten die Assoziation zwischen 12 zuvor mittels GWAS ermittelten AD Risikogenen, u.a. CR1, und einer Veränderung der Leistungsfähigkeit in verschiedenen kognitiven Domänen bei Probanden mit AD. Bei den Probanden handelte es sich um 211 Personen koreanischer Abstammung (Durchschnittsalter 71,6 Jahre), die in einem Alter von ≥ 60 Jahren an AD erkrankt waren. Es wurde die *Seoul Neuropsychological Screening Battery* durchgeführt (enthielt MMST, *Korean Instrumental Activities of Daily Living*, *Clinical Dementia Rating*, *Zahlenspanne*, *Boston Naming Test*, *Controlled Oral Word Association Test*, *Geriatric Depression Scale*, *Seoul Verbal Learning Test* und *Rey Complex Figure Test*), anhand derer die Domänen Aufmerksamkeit, Gedächtnis, Sprache, visuospatiale Fähigkeiten und Exekutivfunktionen erhoben wurden.

Es zeigte sich eine signifikante Assoziation zu einer besseren Leistung im MMST mit dem minoren C-Allel des CR1-SNPs rs11803956. Es wurde daraus der Schluss gezogen, dass CR1 mit dem Abbau globaler kognitiver Funktionen bei Personen mit AD in Zusammenhang steht (Chung et al., 2014).

Einleitung

Zijlstra et al. (2018) untersuchten 73 SNPs in der CR1-Region auf Assoziationen zur Kognition in einer Stichprobe aus 5244 älteren Probanden (Durchschnittsalter 75,3 Jahre) aus der *PROspective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk*, die aus Irland, Schottland und den Niederlanden stammten und alle ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko hatten. Die kognitive Leistungsfähigkeit wurde zunächst gemessen mittels MMST, wobei ein Punktwert unter 24 zum Ausschluss führte. Es folgten *Stroop Color-Word Test*, *Letter-Digit Coding Test* und *Picture-Word Learning Test*. Es wurden 18 SNPs für die Assoziationsanalysen gewählt. Bei 3 SNPs zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen dem minoren Allel und einer schlechteren, bei 9 zu einer besseren kognitiven Leistung in mindestens einem der Tests. In der Studie sind drei SNPs genannt, deren minore Allele eine signifikante Assoziation zu allen vier kognitiven Tests zeigten: bei rs9429944 (T), rs11117956 (G) und rs12734030 (T) lag eine schlechtere Leistung im Stroop Test und eine bessere Leistung in den übrigen drei Tests vor. Zijlstra et al. (2018) zogen den Schluss, dass CR1 nicht nur mit der AD, sondern mit der kognitiven Funktion im höheren Lebensalter, auch bei Gesunden, in Verbindung steht (Zijlstra et al., 2018).

Keiner der in den o.g. Studien vorbeschriebenen SNPs (rs6656401, rs3818361, rs11803956, rs9429944, rs4844599, rs11117956, rs12734030) stellte in unserer Studie einen Index-SNP dar. Sie liegen jedoch teilweise im LD mit Index-SNPs, was im Diskussionsteil näher betrachtet werden soll.

3.7 Fragestellung

Lambert et al. (2009) zeigten mittels genomweiter Assoziationsstudien einen Zusammenhang zwischen der AD und den SNPs rs6656401 (A) und rs3818361 (A) im Komplementrezeptor Typ 1- (CR1) Gen. Die Assoziation von CR1 mit AD konnten von Lambert et al. (2014), Kunkle et al. (2019) und Bellinguez et al. (2022) in GWAS repliziert werden. CR1 ist ein Komplementrezeptor, der die Komplementfaktoren C3b und C4b bindet, das Komplementsystem inhibitorisch reguliert und auf der Oberfläche von Erythrozyten und phagozytierenden Zellen an der A β -Clearance beteiligt ist und somit in der Pathogenese der AD eine Rolle spielen könnte.

In der vorliegenden Arbeit sollen mögliche Assoziationen von SNPs in der CR1-Genregion mit der kognitiven Leistungsfähigkeit in zwei Stichproben aus der Allgemeinbevölkerung ohne eigene und familiäre Belastung durch EOAD oder LOAD untersucht werden. In der ersten Stichprobe soll zur kognitiven Testung die WMS-R herangezogen werden, in der zweiten Stichprobe die CERAD.

Die Frage ist, ob die Genregion CR1 mit kognitiven Funktionen in zwei für EOAD und LOAD unauffälligen Stichproben assoziiert ist und diese Genregion somit möglicherweise nicht spezifisch mit der Late-

Einleitung

onset Alzheimer Demenz assoziiert ist, sondern die kognitiven Funktionen auf einen neurobiologisch übergreifenden Mechanismus zurückzuführen sein könnten, der sich nicht nur auf die LOAD begrenzt.

4 Material und Methoden

4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Im Vorfeld der Studie wurde die Zustimmung der lokalen Ethikkommissionen der Ludwig-Maximilians-Universität, München und der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale) eingeholt und in Übereinstimmung mit den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Teilnahme der Probanden erfolgte auf freiwilliger Basis. In einem ersten Gespräch wurden sie informiert über Ablauf, Umfang und Zielsetzung der Studie und aufgeklärt über die anonymisierte Verwendung der erhobenen Daten und der Blutproben und darüber, dass auf Wunsch ein Ausscheiden aus der Studie zu jedem Zeitpunkt möglich ist. Daraufhin erfolgte die Unterzeichnung der schriftlichen Einwilligungserklärung. Die Durchführung der Studie fand initial in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität in München statt und wurde in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg fortgeführt.

Der Eigenanteil lag im Rahmen der Tätigkeit als Doktorandin im Studienzentrum der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg sowohl in der Rekrutierung als auch Untersuchung der Probanden der Replikationsstichprobe. Zunächst erfolgte im Zuge der Rekrutierung die Anamneseerhebung mittels eines strukturierten Interviews, anhand dessen ein Screening auf mögliche kognitiv beeinträchtigende medizinische oder neurologische Zustände sowie schwerwiegende somatische Erkrankungen erfolgte. Nach Studieneinschluss wurden die Probanden eigenständig untersucht, wobei die neuropsychologische Testbatterie des *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease* inkl. *Trail Making Test A* und *B* und dem Test auf phonematische Flüssigkeit (CERAD-Plus) (Aebi, 2002; Memory Clinic, 2009), der Uhrentest (Shulman et al., 1993), der Hamburger-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (WAIS-IV) (Petermann, 2012) und der Wortschatztest (WST) (Schmidt und Metzler, 1992) erhoben wurden. Im Anschluss erfolgte die elektronische Erfassung der erhobenen Daten.

4.2 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine Assoziationsstudie, in der in einer gesunden Kohorte aus der Allgemeinbevölkerung ohne eigene oder familiäre EOAD oder LOAD die Assoziation von 380 SNPs in der CR1-Genregion mit der Gedächtnisleistung, gemessen anhand des Wechsler Gedächtnistests - Revidierte Fassung (WMS-R) (Härting et al., 2000), untersucht wurde. Im Anschluss

erfolgte die Replikation der besten SNPs in einer weiteren Stichprobe kognitiv unauffälliger älterer Probanden, deren Gedächtnisleistung u.a. anhand des *Consortium to Establish a Registry for Alzheimers' Disease* (CERAD-Plus) (Morris et al., 1988) gemessen wurde.

4.3 Studienkollektiv

4.3.1 Screening-Stichprobe

Die erste Gruppe der Probanden bestand aus einer anhand von Verzeichnissen des Einwohnermeldeamtes zufällig ausgewählten Stichprobe von Personen aus der Münchener Allgemeinbevölkerung. Per Post wurden Einladungsschreiben zur Studienteilnahme verschickt, in denen über Hintergrund, Ziele und Ablauf der Studie informiert wurde. Bei Interesse an einer Studienteilnahme erfolgte ein strukturiertes Telefoninterview, in dem psychiatrische oder neurologische Vorerkrankungen, sowie Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenmissbrauch, Suizidalität, sowohl bei den Probanden als auch bei ihren Angehörigen bis ersten Grades, ausgeschlossen wurden. Gab es anhand des Interviews keinen Anlass zum Ausschluss aus der Studie, wurde den Probanden ein Anamnesebogen zugeschickt, in dem, ebenfalls sowohl für den Probanden als auch für seine biologischen Angehörigen, die somatische und neuropsychiatrische Vorgeschichte erfasst wurde. Darüber hinaus wurde eine ausführliche biographische Anamnese erhoben. Waren die nötigen Voraussetzungen zur Studienteilnahme erfüllt, wurden die Probanden in die Klinik eingeladen. Hier erfolgte eine körperlich-neurologische Untersuchung zum Ausschluss bestehender neurologischer Erkrankungen. Um eventuell in der Vorgeschichte aufgetretene psychiatrische Störungen sicher ausschließen zu können, wurde in der Klinik die deutsche Version des *Strukturierten Klinischen Interviews* (SKID) zur Exploration gemäß des *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* der *American Psychiatric Association* in seiner vierten Revision (DSM-IV), 1994 (Wittchen et al., 1997) durchgeführt. Das SKID-I diene hierbei der Erfassung von Achse-I-Störungen (psychische Störungen), das SKID-II diene der Erfassung von Achse-II-Störungen (Persönlichkeitsstörungen) (First et al., 1996; First et al., 1997). Des Weiteren wurden Faktoren der Achsen V (psychosoziale Belastungsfaktoren) und III (globales Funktionsniveau) exploriert und beurteilt. Mit Hilfe des Leipziger Ereignis- und Belastungsinventars (LEBI) (Richter und Guthke, 1996) wurden belastende Lebensereignisse und deren Auswirkungen auf das Leben und die Gesundheit der Probanden erfragt. Um die psychische Verfassung der biologischen Verwandtschaft ersten Grades zu erfassen, wurde das *Family History Assessment Module* (Rice et al., 1995) eingesetzt. Bei Probanden über 60 Jahren wurde der *Mini-Mental-Status-*

Material und Methoden

Test (MMST) (Kessler et al., 1990) erhoben, um ggf. Personen mit kognitiver Einschränkung auszuschließen.

Eingeschlossen in das Kollektiv der Probanden wurden nur diejenigen, bei denen eine neurologische oder psychiatrische Erkrankung in der Vorgeschichte ausgeschlossen werden konnte. Die Familienanamnese durfte keine psychiatrischen Erkrankungen bei Familienangehörigen ersten Grades aufweisen. Ein weiteres Ausschlusskriterium war eine erreichte Punktzahl von weniger als 27 von 30 Punkten im MMST. Ebenso mussten die Probanden Kaukasier sein.

4.3.2 Replikationsstichprobe

Bei der Replikationsstichprobe handelt es sich um 664 ältere Probanden aus der Allgemeinbevölkerung von Halle (Saale). Voraussetzung für den Einschluss in die Studie war die Unterzeichnung einer freiwilligen schriftlichen Zustimmung für die Teilnahme an dieser Studie. Die Probanden wurden eingehend über Ziel, Durchführung, Nutzen, Risiken, Belastung, Freiwilligkeit, Widerrufsrecht und die Wahrung der strikten Pseudonymisierung aufgeklärt. Es wurden nur Probanden mit voller Einwilligungsfähigkeit für die schriftliche Zustimmung eingeschlossen. Zu den Ausschlusskriterien gehörten: 1. kein sicheres Anwenden und Verstehen der deutschen Sprache, 2. Unzulänglichkeiten, welche die Durchführung bestimmter Tests beeinträchtigen oder unmöglich machen wie z.B. Blindheit, Taubheit, Sprachschwierigkeiten oder ähnliche, 3. aktuelle medizinische oder neurologische Zustände, die die Kognition beeinflussen können, 4. fortgeschrittene schwere progressive oder instabile Krankheiten, die die Beurteilung der kognitiven Leistungsfähigkeit bzw. der möglichen Diagnose einer demenziellen Störung beeinträchtigen, 5. Malignität jeglicher Organsysteme innerhalb der vergangenen 60 Monate.

Neben der klinischen Charakterisierung mittels strukturierter psychopathologischer Skalen wurden bei allen Probanden eine ausführliche neuropsychologische Testung sowie eine körperliche und neurologische Untersuchung durchgeführt. Hinsichtlich der kognitiven Testung kam u.a. die CERAD-Plus (Memory Clinic, 2009) zum Einsatz. Personen, die im Mini-Mental-Status Test, der als Teil der CERAD durchgeführt wurde, einen Wert kleiner 27 erreichten, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Mögliche frühere oder aktuelle neuropsychiatrische Symptome wurden mittels des Mini International Neuropsychiatric Interview (Ackenheil et al., 1999) erhoben. Dieses Interview erfasst psychiatrische Störungen auf Grundlage des DSM-IV und des ICD 10.

4.4 Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (WMS-R)

Der Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung in seiner deutschen Adaptation (Härting et al., 2000) ist eine Gedächtnis-Testbatterie, die vor allem im klinisch-neuropsychologischen Bereich breite Anwendung findet. Die ursprüngliche Version von 1987 war englischsprachig (Wechsler, 1987) und erschien im Jahr 2000 in einer deutschsprachigen Version mit eigener Normierung.

Die Testbatterie besteht aus 13 Untertests, aus denen sich fünf Gesamt-Indizes berechnen lassen: Verbales Gedächtnis, Visuelles Gedächtnis, deren Summenwert den Index Allgemeines Gedächtnis ergibt, Aufmerksamkeit/Konzentration und Verzögerte Wiedergabe (s. Tabelle 2).

Die WMS-R wird als Einzeluntersuchung durchgeführt und dauert zwischen 45 und 60 Minuten. Das Vorgehen bei der Durchführung des Tests und die anschließende Auswertung erfolgen anhand des zugehörigen Handbuches. Die WMS-R ist normiert für einen Altersbereich von 16 bis 75 Jahren und entsprechend dem Wechsler Intelligenztest (Wechsler, 1956) wurde ein Mittelwert von 100 mit einer Standardabweichung von 15 definiert.

Tabelle 2: Übersicht über die Untertests und die Zusammensetzung der Gesamt-Indizes der WMS-R (In Klammern: Gewichtung des Ergebnisses bei der Auswertung)

Untertest	Leistungsaspekt	
Information und Orientierung		
Logisches Gedächtnis I (2)	Verbales Gedächtnis	Allgemeines Gedächtnis
Verbale Paarerkennung I (1)		
Figurales Gedächtnis (1)	Visuelles Gedächtnis	
Visuelle Paarerkennung I (1)		
Visuelle Wiedergabe I (1)		
Mentale Kontrolle (1)	Aufmerksamkeit/Konzentration	
Zahlenspanne (2)		
Blockspanne (2)		
Logisches Gedächtnis II (1)	Verzögerte Wiedergabe	
Visuelle Paarerkennung II (2)		
Verbale Paarerkennung II (2)		
Visuelle Wiedergabe II (1)		

Material und Methoden

4.4.1 Untertests des Wechsler Gedächtnistests - Revidierte Fassung

Information und Orientierung

Der Testperson werden 16 kurze Fragen zur Orientierung bezüglich der eigenen Person, Ort und Zeit, sowie allgemeine Informationsfragen gestellt. Die Fragen 1-14 werden mit 0 oder 1 Punkt bewertet, die Fragen 15 und 16 werden nicht bewertet, sodass der maximal erreichbare Wert bei 14 Punkten liegt. Die erreichte Punktzahl geht nicht in die allgemeine Bewertung der WMS-R ein, sondern soll der untersuchenden Person einen Anhalt zur Durchführbarkeit und Interpretierbarkeit der Einzelergebnisse der Untertests liefern.

Mentale Kontrolle

Die Testperson wird gebeten, in drei Unteraufgaben innerhalb eines vorgegebenen Zeitrahmens Zahlen- bzw. Buchstabenreihen aufzusagen: 1. Zahlen rückwärts von 20 bis 1, 2. das Alphabet und 3. Zählen in 3er-Schritten von 1 bis 40. Jede fehlerfrei ausgeführte Aufgabe wird mit 2 Punkten bewertet. Bei Auftreten eines Fehlers innerhalb des Zeitrahmens wird die Aufgabe mit 1 Punkt bewertet, bei Auftreten mehrerer Fehler innerhalb des Zeitrahmens wird die Aufgabe mit 0 Punkten bewertet. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 6 Punkte.

Figurales Gedächtnis

Zunächst wird der Testperson in einem Stimulusheft für fünf Sekunden ein Muster gezeigt, welches sie im Anschluss aus einer Auswahl von 3 Mustern wiedererkennen soll. Für die Antwort besteht ein Zeitfenster von fünf Sekunden. Es folgen drei weitere Aufgaben des gleichen Prinzips, wobei bei diesen der Schwierigkeitsgrad höher ist. Die Testperson soll sich in den Aufgaben 2-4 jeweils innerhalb von 15 Sekunden 3 Muster einprägen und diese dann aus 9 Mustern wiedererkennen, wofür ihr ein Zeitfenster von je 30 Sekunden gewährt wird. Jede richtige Antwort wird mit 1 Punkt bewertet, sodass der maximal erreichbare Wert bei 10 Punkten liegt.

Logisches Gedächtnis I (Textreproduktion I)

Der Testperson werden zwei kurze Geschichten vorgelesen, die sie dann jeweils im Anschluss möglichst genau nacherzählen soll. Die protokollierten Antworten werden mittels Tabellen ausgewertet. Die Testperson wird darauf hingewiesen, dass sie diese Geschichten am Ende des Tests möglichst exakt reproduzieren soll. Pro Geschichte sind 25 Punkte erreichbar, sodass der maximal erreichbare Wert 50 Punkte beträgt.

Material und Methoden

Visuelle Paarererkennung I

Aus dem Stimulusheft werden der Testperson nacheinander insgesamt sechs Strichfiguren, die jeweils mit einer bestimmten Farbe gepaart sind, dargeboten. Sie hat pro Figur drei Sekunden Zeit, sich diese einzuprägen. Im Anschluss wird die Testperson aufgefordert, innerhalb von fünf Sekunden die zugehörige Farbe in einer Farbtafel wiederzuerkennen. Es gibt insgesamt maximal sechs Durchgänge dieser Aufgaben, bei denen dieselben Figuren verwendet werden wie im ersten Durchgang, jedoch in veränderter Reihenfolge. Sollte die Testperson den dritten Durchgang bereits fehlerfrei absolvieren, wird der Test an dieser Stelle abgebrochen. Die Testperson wird darauf hingewiesen, dass ihr mit einer Latenzzeit von 30 Minuten erneut dieselben Figuren zwecks Farbzuzuordnung gezeigt werden. Zur Gesamtpunktzahl tragen nur die ersten drei Durchgänge bei, wobei hier jede richtige Antwort 1 Punkt erhält, sodass insgesamt maximal 18 Punkte erreicht werden können.

Verbale Paarererkennung I

Der Testperson werden pro Durchgang acht Wortpaare vorgelesen, die sie sich einprägen soll. Im Anschluss an jeden Durchgang werden der Testperson nur die jeweils ersten Worte der acht Paare vorgelesen und sie hat nun die Aufgabe, jeweils das zugehörige zweite Wort zu erinnern. Für jede Antwort hat sie fünf Sekunden Zeit. Es werden mindestens drei Durchgänge durchgeführt. Sollten im dritten Durchgang keine Fehler auftreten, wird der Test an dieser Stelle abgebrochen. Im Fall, dass hier nicht alle Antworten korrekt sind, wird ein vierter Durchgang abgeschlossen. Nach diesem Prinzip können maximal sechs Durchgänge stattfinden. Für jede richtige Antwort erhält die Testperson 1 Punkt. Die Wortpaare sind aufgeteilt in leichte und schwere Kombinationen, für diese werden die Punkte getrennt summiert. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt insgesamt 24, davon entfallen jeweils 12 auf die leichten und 12 auf die schweren Kombinationen.

Visuelle Wiedergabe I

Der Testperson werden vier Figuren für jeweils zehn Sekunden gezeigt. Direkt im Anschluss an jede Darbietung wird sie aufgefordert, die Figur aus dem Gedächtnis zu reproduzieren. Die Auswertung erfolgt anhand eines Auswertungsbogens mit Beispielzeichnungen. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 41.

Zahlenspanne

In diesem Untertest gibt es zwei Aufgabentypen, die „Zahlenspanne vorwärts“ und die „Zahlenspanne rückwärts“, in denen der Testperson jeweils Zahlenreihen vorgelesen werden, die sie im Anschluss in gleicher (Zahlenspanne vorwärts) bzw. in umgekehrter (Zahlenspanne rückwärts) Reihenfolge

Material und Methoden

wiederholen soll. Jeder der beiden Aufgabentypen besteht aus sechs Durchgängen. In jedem Durchgang werden zwei Zahlenfolgen gleicher Länge vorgelesen. Die Zahlenfolgen bestehen zunächst aus drei Zahlen und steigen mit jedem Durchgang um eine Zahl an. Werden beide Reihen eines Durchganges falsch wiederholt, wird der Test abgebrochen. Für jede korrekt wiederholte Zahlenfolge erhält die Testperson 1 Punkt, sodass die maximale Punktzahl 24 beträgt.

Visuelle Merkspanne (Blockspanne)

Analog zur Zahlenspanne ist der Untertest Blockspanne in die beiden Aufgabentypen „Blockspanne vorwärts“ und „Blockspanne rückwärts“ unterteilt. Die Testperson hat die Aufgabe, Blockspannen steigender Länge in gleicher, bzw. in umgekehrter Reihenfolge zu repetieren. Hier gibt es einmal sieben und einmal sechs Durchgänge mit jeweils zwei Blockspannen gleicher Länge. Im ersten Durchgang besteht eine Blockspanne aus zwei Zahlen, mit jedem Durchgang wird die Spanne um eine Zahl länger. Die Zahlen werden der Testperson nicht vorgelesen, sondern die untersuchende Person tippt unregelmäßig auf einen Zahlenwürfel, der auf einem Blockspannbrett montiert ist. Die Testperson wird aufgefordert, die entsprechenden Zahlen im Anschluss ebenfalls anzutippen. Werden beide Reihen eines Durchganges falsch wiederholt, wird der Test abgebrochen. Für jede korrekt wiederholte Zahlenfolge erhält der Proband 1 Punkt, sodass die maximale Punktzahl 26 beträgt.

Logisches Gedächtnis II (Verzögerte Textreproduktion)

30 Minuten nach Beendigung des Untertests Logisches Gedächtnis I wird die Testperson gebeten, die dort vorgelesenen Geschichten noch einmal zu reproduzieren. Kann die Testperson sich nicht erinnern, können vorgegebene Hilfestellungen geleistet werden. Die Auswertung erfolgt entsprechend zu „Logisches Gedächtnis I“. Der maximal erreichbare Gesamtwert beträgt 50 Punkte.

Visuelle Paarererkennung II

Zwischen den Untertests Visuelle Paarererkennung I und II müssen ebenfalls 30 Minuten liegen. Der Testperson werden erneut die Figuren aus Visuelle Paarererkennung I gezeigt. Sie wird aufgefordert, die korrekten Farben erneut zuzuordnen, wobei nur ein Durchgang absolviert wird. Jede korrekte Antwort wird mit 1 Punkt bewertet, sodass die maximal erreichbare Punktzahl 6 beträgt.

Verbale Paarererkennung II

Der Testperson werden erneut die ersten Worte der Wortpaare aus dem Untertest Verbale Paarererkennung I genannt und sie wird aufgefordert, das jeweils zugehörige Wort zu erinnern. Es wird ein Durchgang absolviert. Pro richtige Antwort erhält der Proband 1 Punkt, der maximale Gesamtwert beträgt 8 Punkte.

Material und Methoden

Visuelle Wiedergabe II

Die Testperson wird gebeten, die Figuren aus dem Untertest Visuelle Wiedergabe I erneut in willkürlicher Reihenfolge zu reproduzieren. Die Auswertung erfolgt analog zu Visuelle Wiedergabe I, die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 41.

4.4.2 Auswertung des Wechsler Gedächtnistests - Revidierte Fassung

Stichprobe und Datenerhebung

Die Normierung der deutschen Adaptation der WMS-R erfolgte für einen Altersbereich von 16 bis 75 Jahren. Es wurden hierzu die Daten einer quotierten Stichprobe (Friedrichs, 1985) von insgesamt 210 deutschstämmigen Probanden, die in sieben Altersgruppen à 30 Personen unterteilt wurden, erhoben. Die Stichprobe wurde anhand von demographischen Stichproben des Statistischen Jahrbuchs für die Bundesrepublik Deutschland von 1995 geschichtet, die Probanden wurden anhand von im Vorhinein festgelegten Geschlechts- und Bildungskriterien zufällig auf die Altersgruppen verteilt. Die Rohwerte der Untertests weichen in ihrer Größenordnung stark voneinander ab, sodass eine Zusammenfassung und Gewichtung der Punkte erfolgen musste. Die Rohwerte wurden in Indizes mit einem Mittelwert von 100 und einer Standardabweichung von 15 umgewandelt, die Skalenwerte wurden zur Normalverteilung hin normalisiert und abweichende Werte wurden geglättet. Die Altersabhängigkeit der Ergebnisse wurde dabei berücksichtigt.

Einfluss demographischer Faktoren auf den Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung

Mögliche Unterschiede in den Summenrohwerten der fünf zusammengefassten Leistungsaspekte bezüglich Geschlecht, Alter und Bildung wurden mittels univariaten Varianzanalysen (ANOVA) überprüft, um ggf. entsprechende Anpassungen in der Normierung vornehmen zu können (s. Tabelle 3). Bezüglich des Geschlechts gab es keine signifikanten Effekte in den univariaten F-Tests. Mit steigender Altersgruppe sanken die erreichten Rohwerte signifikant, sodass hier eine altersabhängige Normierung zum Ausgleich notwendig war. Die Schulbildung zeigte ebenfalls Auswirkungen auf die Ergebnisse der Untertests: Es stellte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen Höhe des Bildungsgrades und erbrachter Gedächtnisleistung dar, die auch hier eine Anpassung der Normierung rechtfertigte.

Tabelle 3: F-Werte der ANOVA für die einzelnen Summenrohwerte (Härting et al., 2000)

Skalenwerte	Altersgruppe	Schulabschluss	Geschlecht
Allgemeines Gedächtnis	8,87***	39,99***	2,56
Verbales Gedächtnis	3,68**	46,93***	1,81
Visuelles Gedächtnis	5,74***	23,60***	1,93
Aufmerksamkeit/Konzentration	10,52***	42,00***	2,10
Verzögerte Wiedergabe	11,93***	47,66***	2,07

***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$

Reliabilität

Zur Bestimmung von Stabilitätskoeffizienten für alle Untertests wurden mit 40 Probanden, bei denen alle Altersgruppen vertreten waren, Wiederholungsuntersuchungen durchgeführt. Um Lerneffekte zu vermeiden, lag der Abstand zur ersten Untersuchung bei 6 Monaten. Für die einzelnen Untertests und die zusammengefassten Indizes ergaben sich Reliabilitätskoeffizienten von 0,42 bis 0,88 mit einem Median von 0,78.

Die Auswertung der Untertests Logisches Gedächtnis und Visuelle Wiedergabe ist im Gegensatz zu der der anderen Untertests komplex, weswegen hier die Interrater-Reliabilität bestimmt wurde. Diese lag bei 0,99 (Logisches Gedächtnis) bzw. 0,97 (Visuelle Wiedergabe).

Validität

Zur Überprüfung der Validität wurden 125 Patientenprotokolle einer klinischen Stichprobe analysiert. Es wurden sieben Untergruppen mit jeweils gleich lokalisierter Hirnschädigung gebildet und darüber hinaus wurden zwei psychiatrische Patientengruppen verglichen, nämlich Patienten mit einer Major Depression und Patienten mit einer wahrscheinlichen milden oder moderaten AD. Zusammengefasst ergab die Auswertung der Daten, dass die WMS-R trotz Sprachlastigkeit der Untertests sowohl die Schwere als auch die Art von klinisch relevanten Gedächtnisstörungen valide darzustellen vermag.

4.4.3 Darstellung von Demenz im Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung

Im Vergleich zu an einer Major Depression erkrankten Patienten liegen sowohl der Gesamt-Index als auch der verzögerte Reproduktions-Index bei Patienten mit einer AD drei Standardabweichungen unterhalb des Mittelwertes. Bei depressiven Patienten liegt diese Abweichung durchschnittlich bei lediglich einer Standardabweichung. Die Messung des relativen Behaltensverlusts kann einen richtungsweisenden Hinweis in der Demenzdiagnostik geben und einen wichtigen Beitrag zur Abgrenzung einer mnestischen Beeinträchtigung im Rahmen einer Major Depression gegenüber einer

beginnenden Demenz leisten (Hart et al., 1987; Welsh et al., 1991; Lachner und Engel, 1994). Die WMS-R eignet sich aufgrund ihres hohen Schwierigkeitsgrades jedoch nur zur Diagnostik früher Stadien der Demenz.

4.5 Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD)

Mit dem Ziel der Entwicklung einer standardisierten Testbatterie zur Diagnostik einer Alzheimer Demenz, welche die für diese Erkrankung typischen Defizite in den Bereichen Gedächtnis, Sprache, Praxie und Orientierung abbilden sollte, gründete das *National Institute on Aging* (NIA) 1986 das *Consortium to Establish a Registry for Alzheimers' Disease* (CERAD) (Morris et al., 1988). Es entstand die englischsprachige neuropsychologische (NP) Testbatterie CERAD-NP, für welche in Studien eine gute Reliabilität, Validität und Auswertungsobjektivität nachgewiesen werden konnte (Morris et al., 1988; Morris et al., 1989; Satzger et al., 2001). Die deutsche Übersetzung erfolgte durch die Memory Clinic des Universitätsspitals Basel, später erfolgte zur verbesserten Abklärung subkortikaler Störungen die Erweiterung zur CERAD-Plus (Aebi, 2002; Memory Clinic Basel, 2005).

Die CERAD-Plus setzt sich zusammen aus 8 Tests (ursprüngliche CERAD) sowie 3 zusätzlichen, optionalen Aufgaben („Plus“). Diese sollen im Folgenden vorgestellt werden.

4.5.1 Klassische CERAD

1. Verbale Flüssigkeit: Kategorie „Tiere“

Aufgabe: Die Testperson wird aufgefordert, eine Minute lang so viele verschiedene Tiere wie möglich aufzählen.

Erfasste Leistungen: verbale Produktion, semantisches Gedächtnis

2. 15 Items des Boston Naming Test (BNT)

Aufgabe: Der Testperson werden je 5 häufig, mittelhäufig und weniger häufig im allgemeinen Sprachgebrauch vorkommende Items in Form von Strichzeichnungen dargeboten, die sie benennen soll. Bewertet wird die Anzahl der spontan richtig erfolgten Antworten.

Erfasste Leistungen: visuelle Wahrnehmung, Wortfindung

3. Mini Mental Status Test (MMST)

Aufgabe: Etabliertes Testinstrument zur Detektion basaler kognitiver Fähigkeiten, bestehend aus mehreren Untertests.

Material und Methoden

Erfasste Leistungen: Orientierung, Merkfähigkeit, Sprache, konstruktive Praxis

4. Wortliste Lernen

Aufgabe: Der Testperson werden schriftlich 10 gebräuchliche Wörter vorgelegt, die diese laut vorlesen und im Anschluss in beliebiger Reihenfolge aus der Erinnerung verbal reproduzieren soll. Es erfolgen 2 weitere Durchgänge, in denen dieselben Wörter in veränderter Reihenfolge vorgelegt werden und reproduziert werden sollen.

Erfasste Leistungen: Erinnern neu erlernter Informationen

5. Figuren Abzeichnen

Aufgabe: Der Testperson werden Zeichnungen von 4 einfachen geometrischen Figuren dargeboten, die in ihrer Komplexität zunehmen. Diese sollen abgezeichnet werden.

Erfasste Leistungen: konstruktive Praxis

6. Wortliste Abrufen

Aufgabe: Die Testperson soll die 10 in Aufgabe 4 erlernten Wörter erneut wiedergeben.

Erfasste Leistungen: verbales episodisches Gedächtnis

7. Wortliste Wiedererkennen (Diskriminabilität)

Aufgabe: Der Testperson werden nacheinander 20 Wörter dargeboten, von denen 10 aus Aufgabe 4 stammen. Sie soll angeben, welche neu sind und welche bereits erlernt wurden in Aufgabe 4.

Erfasste Leistungen: Differenzierung zwischen Abruf- und Speicherstörung des Gedächtnisses

8. Figuren Abrufen

Aufgabe: Die Testperson wird aufgefordert, die in Aufgabe 5 abgezeichneten Figuren aus dem Gedächtnis zu zeichnen.

Erfasste Leistungen: nonverbales Gedächtnis

Zusätzlich berechenbare Variablen

Wortliste Intrusionen:

Anzahl der in den Aufgaben *Wortliste Abrufen* und *Wortliste Lernen* falsch genannte Wörter.

Wortliste Savings (in %):

Darstellung der verbalen Behaltensleistung mittels des Verhältnisses aus den Ergebnissen den Aufgaben *Wortliste Abrufen* und *Wortliste Lernen* (unmittelbar nach dem 3. Durchgang):

Material und Methoden

$$\text{Wortliste Savings} = \frac{\text{Wortliste Abrufen}}{\text{Wortliste Lernen Durchgang 3}} \times 100$$

Figuren Savings (in %):

Darstellung der nonverbalen Behaltensleistung mittels des Verhältnisses aus den Ergebnissen den Aufgaben *Figuren Abrufen* und *Figuren Abzeichnen*:

$$\text{Figuren Savings} = \frac{\text{Figuren Abrufen}}{\text{Figuren Abzeichnen}} \times 100$$

4.5.2 „Plus“-Erweiterung

Trail Making Test (TMT)

Trail Making Test A (TMT A)

Aufgabe: Der Testperson werden auf einem Blatt eingekreiste Zahlen (1-25) dargeboten. Diese sollen so schnell wie möglich in aufsteigender Reihenfolge verbunden werden.

Erfasste Leistungen: psychomotorische Geschwindigkeit

Trail Making Test B (TMT B)

Aufgabe: Der Testperson werden auf einem Blatt eingekreiste Zahlen und Buchstaben dargeboten. Zahlen und Buchstaben sollen so schnell wie möglich abwechselnd in aufsteigender numerischer bzw. alphabetischer Reihenfolge verbunden werden.

Erfasste Leistungen: Exekutivfunktionen

Phonematische Flüssigkeit (S-Wörter)

Aufgabe: Die Testperson soll innerhalb von 1 Minute so viele Wörter wie möglich nennen, die mit „S“ beginnen.

Erfasste Leistungen: Wortflüssigkeit

4.6 Laborverfahren

4.6.1 DNA-Extraktion

In der folgenden Tabelle (Tabelle 4) sind die für die DNA-Extraktion verwendeten Materialien, Reagenzien und Geräte aufgeführt.

Tabelle 4: Verbrauchsmaterialien, Puffer und Reagenzien für die DNA-Extraktion

Material, Reagenz, Gerät	Hersteller
EDTA Monovette	Sarstedt, Nümbrecht
Qiagen DNA Blood Maxi Kit	Qiagen, Hilden
Ethanol	Carl Roth, Karlsruhe
50 ml Zentrifugenröhre	Sarstedt, Nümbrecht
Vortex Genie	Scientific Industries, New York, USA

Jedem Studienteilnehmer wurden 7 ml venöses Blut entnommen. Hierzu wurden Ethylendiamintetraessigsäure- (EDTA-) Monovetten verwendet. Um trotz Anonymisierung eine korrekte Zuordnung der Proben zu den erhobenen Daten gewährleisten zu können, wurden die Blutröhrchen mit Barcodes versehen. Die Extraktion der DNA erfolgte nach dem Protokoll des Qiagen DNA Blood Maxi Kits (Qiagen, 2005).

Zur Zellyse wurden zunächst 500 µl Qiagen Protease und 12 ml des Guanidinhydrochlorid (GHCl)-haltigen Lysepuffers zu der Blutprobe gegeben, welche dann für 60 Sekunden auf einem Vortex homogenisiert wurde. Danach erfolgte im Wasserbad eine Inkubation bei 70 °C für 30 Minuten. Zur Ausfällung der DNA wurden 10 ml Ethanol zugegeben, im Anschluss erfolgte für 2 Minuten eine Durchmischung auf dem Vortex.

Die Probe wurde nun bei Raumtemperatur schrittweise auf eine QIAamp Maxi Säule aufgebracht und nach jedem Schritt für 3 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert, sodass eine selektive Bindung der DNA an die Silikagelmembran erfolgen konnte. Das Eluat wurde jeweils verworfen. Verbliebene Protein- und RNA-Kontaminationen wurden in einem ersten Waschschrift mit 5 ml Puffer AW1 und anschließender Zentrifugation für 2 Minuten bei 4000 rpm entfernt. In einem zweiten Waschschrift mit 5 ml ethanolhaltigem, salzarmen AW2-Puffer und 15-minütiger Zentrifugation bei 4000 rpm wurden die übrigen GHCl-Salze ausgewaschen und die Silikagelmembran getrocknet. Um die DNA zu eluieren, wurde die Silikagelmembran-Säule in ein neues Auffangröhrchen umgesetzt und nach

Material und Methoden

zweimaliger Inkubation bei Raumtemperatur für jeweils 5 Minuten mit insgesamt 1,5 ml TRIS-(Tris(hydroxymethyl)aminomethan-) haltigem AE-Puffer bei 5000 rpm für 2 Minuten zentrifugiert.

4.6.2 Konzentrationseinstellung der DNA

In der folgenden Tabelle (Tabelle 5) sind die für die Konzentrationsbestimmung der DNA verwendeten Materialien, Reagenzien und Geräte aufgeführt.

Tabelle 5: Verbrauchsmaterialien, Puffer und Reagenzien für die DNA-Konzentrationseinstellung

Material, Reagenz, Gerät	Hersteller
96 well Flat Bottom Plate Black	Greiner Bio-One, Frickenhausen
Human genomic DNA 100 ng/ μ l	Clontech, Mountain View, USA
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Thermo Fast 96 well Plate	ABgene, Hamburg
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA

Für eine erfolgreiche Hochdurchsatzgenotypisierung müssen alle zu analysierenden DNA-Lösungen eine einheitliche Konzentration aufweisen. Die Bestimmung der Ausgangskonzentrationen der DNA-Lösungen erfolgte indirekt mittels des Fluoreszenzfarbstoffes PicoGreen, der selektiv an doppelsträngige DNA bindet.

Zunächst wurde eine DNA Verdünnungsreihe zur Erstellung einer Standardkurve hergestellt. Hierbei handelte es sich um eine 1:2 Verdünnungsreihe eines 100 ng/ μ l DNA-Standards, die aus acht Punkten mit 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,5625 und 0 ng/ μ l bestand. Als Verdünnungsmittel wurde bidestilliertes Wasser verwendet. Die zu quantifizierenden DNA-Lösungen wurden in einer 96 well Platte 1:10 vorverdünnt. Auf eine schwarze 96 well Platte wurden in jede Vertiefung 50 μ l autoklaviertes, destilliertes Wasser pipettiert. Danach wurden je 5 μ l der Standardverdünnungsreihe bzw. der verdünnten DNA-Lösung nachgelegt. In jede Vertiefung wurden 145 μ l 1:156 vorverdünntes PicoGreen zugegeben, sodass die Endverdünnung des PicoGreens bei 1:200 lag. Mit Hilfe eines Roboters (Janus Automated Workstation) erfolgte die halbautomatische Messung der Konzentration. Der Greifarm des Roboters überführte die Mikrotiterplatte in den Victor Multilabel Counter 1420, in dem diese in horizontaler Ebene doppelellipsenförmig geschüttelt wurde, wodurch eine gleichmäßige

Material und Methoden

Durchmischung der Lösungen erfolgte. Der Fluoreszenzfarbstoff wurde bei 485 nm angeregt, die Messung der Emission erfolgte bei 520 nm. Mit Hilfe der Standardkurve wurden die Konzentrationen der DNA-Lösungen bestimmt. Die notwendige Verdünnung, um eine Konzentration von 50 ng/μl zu erhalten, wurde berechnet und die Verdünnung erfolgte automatisch durch den Pipettierroboter.

4.6.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung erfolgte mittels SNP Arrays, die es ermöglichen, zahlreiche DNA-Sequenzen gleichzeitig zu untersuchen. Auf einer Trägerplatte, dem Array, werden Oligonukleotidsequenzen immobilisiert. Diese Sequenzen besitzen an definierter Lokalisation spezifische Sonden, die sich zu den zu bestimmenden SNPs in der Probanden-DNA (Target-DNA) komplementär verhalten. Die Probanden-DNA wird zunächst fluoreszenzmarkiert und nach enzymatischer Spaltung und Replikation mit den Sonden in Kontakt gebracht. Wenn Probanden-DNA auf eine komplementäre Sonde trifft, erfolgt eine Hybridisierung. Nach mehreren Waschschrritten können die Fluoreszenzsignale der gebundenen Target-DNA mittels eines Scanners detektiert werden. Da die Lokalisation der Sonden bekannt ist, kann daraus auf das Vorhandensein bestimmter Target-Sequenzen rückgeschlossen werden.

Die Genotypisierung erfolgte auf SNP Chips. Dazu wurde die DNA in der auf 50 ng/μl eingestellten Verdünnung zur Verfügung gestellt. Die Imputation erfolgte in sechs Chargen, zum Teil auf verschiedenen Plattformen. Die Qualitätskontrolle und Imputation von Charge 1 [Human610-Quadv1_B (Priebe et al., 2013; Drago et al., 2014), Human660W-Quad_v1_A (Priebe et al., 2013)], Charge 2 [HumanHap 300 v1.0.0 (Need et al., 2009)] und Charge 3 [Affymetrix 6.0 (Bramon et al., 2014)] erfolgten im Rahmen der größten Schizophrenie Metaanalyse (Psychiatric GWAS Consortium). Charge 4 [HumanHap 300 v1.0.0 (Stefansson et al., 2008)], Charge 5 [Illumina Human OmniExpress 12v1.0 (Lencz et al., 2013)] und Charge 6 [Illumina Omni1-Quad (Galfalvy et al., 2015)] wurden anhand derselben Kriterien qualitätskontrolliert und imputiert.

Die Genotypisierung der 664 Probanden der Replikationsstichprobe erfolgte mittels Global Screening Arrays von Illumina.

4.6.4 Qualitätskontrolle

Um Fehler in den Assoziationsanalysen zu vermeiden, erfolgten sorgfältige Qualitätskontrollen, anhand derer sowohl Probanden als auch SNPs ein- bzw. ausgeschlossen wurden. Für die Qualitätskontrollen kam die Software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015) zum Einsatz. In einem ersten Schritt wurde in der Screeningstichprobe ein qualitätskontrolliertes Set von SNPs gefiltert (*missingness*

Material und Methoden

< 0,05), anhand dessen Probanden, bei denen das in der Probe ermittelte vom tatsächlichen Geschlecht abwich, detektiert und aussortiert wurden. Die Schwellenwerte für die Probanden *call rates*, welche ein Maß für die Qualität der DNA und mögliche Prozessierungsfehler darstellen, waren spezifisch für die einzelnen Chips und lagen bei 96-99 %. Proben, die unterhalb dieses Schwellenwertes lagen, wurden ebenfalls eliminiert.

Im Anschluss wurde die Qualität der SNPs bewertet. Ausschlusskriterien waren eine SNP *call rate* < 99 %, Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) bei den Kontrollen ($p \leq 10^{-6}$) oder bei den Fällen ($p \leq 10^{-10}$) und SNPs mit Differenzen in den SNP *call rates* von $\geq 0,02$ zwischen den Kontrollen und den Fällen. Bei weiblichen Teilnehmern galten als zusätzliche Ausschlusskriterien das Vorliegen von X-chromosomalen Markern mit einer Heterozygotenrate > 2 %, einer *missingness* $\geq 0,05$ oder HWG $p \leq 10^{-6}$. Um versteckte Verwandtschaft, Abweichungen von der Heterozygotenfrequenz zu detektieren und Populationsstratifikationsanalysen durchzuführen, wurde ein streng kontrolliertes Set von autosomalen Markern (MAF $\geq 0,05$, HWG $p \geq 0,05$, *call rate* $\geq 0,99$) verwendet, die sich nicht im LD ($r^2 \leq 0,2$) befanden. Mehrere Regionen, die sich in hohem LD befanden, wurden ausgeschlossen. Hierzu zählten u. a. verlängerte MHC-Regionen.

Um versteckte Verwandtschaft auszuschließen, wurden bei Paaren, bei denen $\hat{r} > 0,2$ betrug, ein Proband entfernt. Fälle wurden mit Priorität über Kontrollen behalten. Individuen mit einer Abweichung der Heterozygotenfrequenz von $|F_{\text{het}}| \geq 0,2$ wurden ebenfalls eliminiert. Mögliche Populationsstratifikationseffekte wurden mittels einer Hauptkomponentenanalyse anhand von EIGENSTRAT untersucht. Outlier wurden ausgeschlossen.

Nach Abschluss der chip-weisen Qualitätskontrolle wurden bekannte Duplikate auf verschiedenen Chips miteinander verglichen. Wenn die Konkordanzrate unter 99 % lag, wurden beide Proben verworfen, lag sie darüber, wurde die Probe mit der schlechteren Qualität von weiteren Analysen ausgeschlossen.

Eine komplette detaillierte Beschreibung aller Schritte findet sich in einer genomweiten Assoziationsstudie von Rujescu et al. (Rujescu et al., 2018), wobei die vorliegende Arbeit eine Charge weniger umfasst.

Für die Replikationsstichprobe wurden ähnliche Qualitätsschritte durchgeführt. Mögliche Populationsstratifikationseffekte innerhalb der ausgewählten Probanden wurden mittels einer Hauptkomponentenanalyse anhand von EIGENSTRAT untersucht. Outlier wurden ausgeschlossen. Die verbliebenen Probanden bildeten ein homogenes Cluster kaukasischer Abstammung.

4.6.5 Pre-phasing und Imputation

Es erfolgten ein *pre-phasing* der Datensätze mit Hilfe der Software SHAPEIT (Delaneau et al., 2011) und anschließend eine Imputation auf das 1000 *Genomes* Referenzsample (Phase 1 Version 3) mittels der Software IMPUTE2 (Howie et al., 2009; Howie et al., 2011) in der Screeningstichprobe. Die Imputation für das X-Chromosom wurde für Männer und Frauen separat durchgeführt. Nach der Imputation wurden die sechs Chargen zu einem großen Datensatz kombiniert, wobei alle Marker mit INFO <0,6 sowohl in den einzelnen Chargen als auch in dem gesamten Set ausgeschlossen wurden. Marker, deren MAF zwischen den Datensätzen um mehr als 0,1 abwich, wurden ebenfalls ausgeschlossen. Die Analysen zur Detektion unbekannter Verwandtschaft, Abweichungen von der Heterozygotenfrequenz und Populationsstratifikation wurden auf dem kombinierten Datensatz ebenso durchgeführt wie auf den einzelnen Chips.

4.7 Analyse

557 Kontrollprobanden mit validen Genotyp- und Phänotypdaten wurden für die erste Assoziationsanalyse ausgewählt. Die Rohwerte der fünf Index-Skalen wurden mittels linearer Regression für Alter, Geschlecht und Bildungsgrad adjustiert. Residuen wurden durch eine inverse *Rang-Transformation* normalisiert und standardisiert. Hohe Werte der Rohdaten korrelierten mit hohen Werten der transformierten Variablen. Die Assoziationsanalyse erfolgte mittels additiver linearer Regression mit der Software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015). Für die verschiedenen Chargen wurde mittels Dummy Variablen korrigiert. Die Kodierung des Genotyps erfolgte anhand der Anzahl der Effektallele unter Verwendung eines additiven Modells.

Die Assoziationsanalyse erfolgte für 380 Marker, die in der CR1 Region, bzw. 20 kb *up-* und *downstream* von dieser lokalisiert sind. Um LD unabhängige Loci zu erhalten, wurden die SNPs basierend auf allen Assoziationsergebnissen nach folgendem Schema „geclumpt“: Der SNP mit dem niedrigsten *p*-Wert in einer der fünf durchgeführten linearen Regression wurde ausgewählt und als Index-SNP definiert. Alle Marker im LD ($r^2 > 0,1$) und in einer Distanz von 3000 kb zum Index-SNP wurden diesem zugeordnet. Anschließend wurde mit den verbleibenden Varianten genauso verfahren, bis alle SNPs einem Index-Marker zugewiesen waren. Das Resultat waren 20 Index-SNPs, die jeweils unabhängige Loci repräsentieren und deren Assoziationsergebnisse im Weiteren diskutiert werden.

Material und Methoden

Eine Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni z.B. für die Anzahl der LD-unabhängigen Index-SNPs erfolgte nicht, da eine zweite unabhängige Replikationsstichprobe eingesetzt wurde. Auch in dieser Stichprobe wurde die Assoziation ausgewählter Varianten zwischen Genotypverteilung und kognitiver Leistung mittels linearer Regression im additiven Modell durchgeführt. Als Kovariablen wurden ebenfalls Alter, Geschlecht und Schulbildung mit eingeschlossen.

5 Ergebnisse

5.1 Beschreibung der Stichprobe

Für die vorliegende Untersuchung der Assoziation zwischen genetischen Markern in der CR1-Genregion und der Gedächtnisfunktion wurde bei 557 Probanden der Screeningstichprobe und 664 Probanden der Replikationsstichprobe sowohl eine Genotypisierung vorgenommen als auch eine kognitive Testung durchgeführt (für die Screeningstichprobe die WMS-R (Härting et al., 2000), für die Replikationsstichprobe die CERAD (Morris et al., 1988). Das Durchschnittsalter der 283 (50,81 %) weiblichen und 274 (49,19 %) männlichen Probanden der Screeningstichprobe lag bei 50,64 (SD 13,49) Jahren. 114 (20,47 %) der Probanden hatten einen Hauptschulabschluss, 200 (35,91 %) einen Realschulabschluss und 243 (43,63 %) hatten Abitur. In der Replikationsstichprobe beendeten 51 Personen (7,7 %) die Schule mit einem Hauptschulabschluss, 337 (50,8 %) mit einem Realschulabschluss und 276 (41,5 %) mit dem Abitur. Im Mittel zeigte die Stichprobe ein Alter von 68,81 Jahren (SD 7,15). 277 (41,72 %) Männer und 387 (58,28 %) Frauen konnten eingeschlossen werden.

Alter, Geschlecht und Bildungsgrad wurden in den Berechnungen beider Stichproben als Kovariablen berücksichtigt.

Die beiden Stichproben unterschieden sich signifikant in der Geschlechtsverteilung (Chi-Quadrat nach Pearson: $p = 0,009$, $df = 1$, $\chi^2 = 6,84$), der Schulbildung (Chi-Quadrat nach Pearson: $p < 0,01$, $df = 2$, $\chi^2 = 48,1$), wie auch in Hinblick auf das mittlere Alter signifikant (*Mann-Whitney-U-Test*: $p < 0,01$).

5.2 Beschreibung der Polymorphismen

Die insgesamt 380 SNPs, die auf Chromosom 1q32.2 in der Region von CR1 und den 20 kb *up-* und *downstream* flankierenden Regionen liegen, stehen teilweise im Kopplungsungleichgewicht zueinander. Die genaue Position, Funktion und Lokalisation der Index-Marker ist Abb. 4 und Tabelle 6 zu entnehmen.

Vier SNPs liegen im CR2-Gen, wobei es sich dabei um eine *missense* Variante und drei Varianten in intronischen Bereichen handelt. In CR1 bzw. dicht flankierend liegen eine *upstream* Genvariante und neun Intronvarianten. Die übrigen sechs Index-SNPs liegen in intronischen Bereichen von CR1L.

Tabelle 6: Lokalisation der Index-SNPs in der CR1-Genregion auf Chromosom 1

SNP	Position*	Nächstgelegenes Gen	Funktion
rs17045328	207478831	CR2	Intronvariante
rs17258982	207480019	CR2	<i>missense</i> Variante
rs17258996	207480099	CR2	Intronvariante
rs4314882	207484680	CR2	Intronvariante
rs80141998	207494970	CR1	2 kb <i>upstream</i> Variante
rs114467562	207501158	CR1	Intronvariante
rs61822964	207502367	CR1	Intronvariante
rs115854345	207515067	CR1	Intronvariante
rs144015064	207521833	CR1	Intronvariante
rs186998459	207524880	CR1	Intronvariante
rs116146912	207575043	CR1	Intronvariante
rs6681449	207577009	CR1	Intronvariante
rs34720009	207582157	CR1	Intronvariante
rs116125277	207617072	CR1	Intronvariante
rs34775017	207651031	CR1L	Intronvariante
rs6540438	207651093	CR1L	Intronvariante
rs147774007	207655896	CR1L	Intronvariante
rs115664697	207656493	CR1L	Intronvariante
rs113630340	207659983	CR1L	Intronvariante
rs6686325	207660012	CR1L	Intronvariante

*Build: GRCh38

5.3 Assoziation der Polymorphismen mit den Leistungen im Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung

Die Assoziation zwischen den untersuchten Markern in der CR1 Region und der Gedächtnisleistung wurde in der Screeningstichprobe mittels linearer Regression für jeden der fünf Gesamt-Indizes der WMS-R bestimmt: Verbales Gedächtnis, Visuelles Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis, Aufmerksamkeit/Konzentration und Verzögerte Wiedergabe. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefasst und werden anschließend für alle 5 Hauptbereiche gesondert dargestellt.

Tabelle 7: Nominal signifikante Assoziationen der Index-SNPs in der CR1-Region mit den Indizes der WMS-R

SNP	A1	A2	MAF	Gesamt-Indizes	B _{A1}	SE	P
rs4314882	T	C	0,029	Visuelles Gedächtnis	-0,604	0,192	0,0017
rs114467562	T	C	0,034	Allgemeines Gedächtnis	-0,443	0,177	0,0129
				Verzögerte Wiedergabe	-0,472	0,178	0,0081
				Verbales Gedächtnis	-0,451	0,178	0,0114
rs61822964	G	A	0,097	Verzögerte Wiedergabe	0,273	0,105	0,0098
rs186998459	A	T	0,014	Aufmerksamkeit/ Konzentration	0,592	0,287	0,0395
rs116146912	T	C	0,024	Allgemeines Gedächtnis	-0,415	0,210	0,0492
				Verbales Gedächtnis	-0,625	0,209	0,0030
rs6681449	G	A	0,188	Visuelles Gedächtnis	0,190	0,077	0,0145
rs116125277	C	G	0,012	Verzögerte Wiedergabe	0,657	0,323	0,04285
				Verbales Gedächtnis	0,654	0,323	0,0435
rs34775017	G	C	0,045	Visuelles Gedächtnis	0,544	0,158	0,0006
rs6540438	C	A	0,059	Allgemeines Gedächtnis	0,275	0,125	0,0284
				Verzögerte Wiedergabe	0,338	0,125	0,0071
				Verbales Gedächtnis	0,343	0,125	0,0063
rs6686325	A	G	0,244	Verzögerte Wiedergabe	0,143	0,069	0,0381

A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, MAF = minore Allelfrequenz, B_{A1} = Regressionskoeffizient in Bezug auf A1, SE = Standardfehler, P = *p*-Wert (signifikante Assoziation: *p* < 0,05)

5.3.1 Allgemeines Gedächtnis

In der Domäne Allgemeines Gedächtnis lagen nominal signifikante Assoziationen mit drei Varianten vor. Schlechtere Leistungen fanden sich bei Vorliegen des selteneren Allels der SNPs rs114467562 (T, *p* = 0,013) und rs116146912 (T, *p* = 0,050). Hinsichtlich des SNPs rs6540438 war das minore C-Allel mit einer besseren Leistung assoziiert (C, *p* = 0,028) (Tabelle 8).

Ergebnisse

Tabelle 8: Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Allgemeines Gedächtnis

SNP	BP	A1	A2	MAF	B _{A1}	SE	P
rs114467562	207674503	T	C	0,034	-0,443	0,177	0,013
rs116146912	207748388	T	C	0,024	-0,415	0,210	0,050
rs6540438	207824438	C	A	0,059	0,275	0,125	0,028

A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, MAF = minore Allelfrequenz, B_{A1} = Regressionskoeffizient in Bezug auf A1, SE = Standardfehler, P = *p*-Wert

5.3.2 Verbales Gedächtnis

Die Domäne Allgemeines Gedächtnis der WMS-R setzt sich zusammen aus den Unterkategorien Verbales Gedächtnis und Visuelles Gedächtnis. Für das Verbale Gedächtnis zeigten die drei mit der Domäne Allgemeines Gedächtnis assoziierten SNPs ebenfalls Assoziationen (Tabelle 9). Das minore T-Allel von rs116146912 ($p = 0,003$) sowie das ebenfalls seltenere T-Allel von rs114467562 ($p = 0,012$) waren mit einer schlechteren Leistung verknüpft, während das minore Allel C des SNPs rs6540438 ($p = 0,006$) gehäuft bei besseren Leistungen beobachtet wurde. Darüber hinaus zeigte sich eine Assoziation mit dem SNP rs116125277. Träger des selteneren C-Allels ($p = 0,044$) zeigten im verbalen Gedächtnis ebenfalls eine bessere Leistung.

Tabelle 9: Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Verbales Gedächtnis

SNP	BP	A1	A2	MAF	B _{A1}	SE	P
rs114467562	207674503	T	C	0,034	-0,451	0,178	0,012
rs116146912	207748388	T	C	0,024	-0,625	0,209	0,003
rs6540438	207824438	C	A	0,059	0,343	0,125	0,006
rs116125277	207790417	C	G	0,012	0,654	0,323	0,044

A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, MAF = minore Allelfrequenz, B_{A1} = Regressionskoeffizient in Bezug auf A1, SE = Standardfehler, P = *p*-Wert

5.3.3 Visuelles Gedächtnis

Für das Visuelle Gedächtnis zeigten sich drei Assoziationen mit SNPs, die bisher in dieser Untersuchung weder mit dem Allgemeinen Gedächtnis noch mit dem Verbalen Gedächtnis in Verbindung gebracht worden waren. Dabei waren in Bezug auf die selteneren Allele für

Ergebnisse

rs4314882 ($T, p = 0,002$) schlechtere, für rs6681449 ($G, p = 0,015$) und rs34775017 ($G, p = 0,0007$) im Mittel bessere Leistungen zu beobachten (Tabelle 10).

Tabelle 10: Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Visuelles Gedächtnis

SNP	BP	A1	A2	MAF	B _{A1}	SE	P
rs4314882	207658025	T	C	0,029	-0,604	0,192	0,002
rs6681449	207750354	G	A	0,188	0,190	0,077	0,015
rs34775017	207824376	G	C	0,045	0,544	0,158	0,0007

A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, MAF = minore Allelfrequenz, B_{A1} = Regressionskoeffizient in Bezug auf A1, SE = Standardfehler, P = p -Wert

5.3.4 Verzögerte Wiedergabe

Für die Domäne Verzögerte Wiedergabe ließen sich fünf Assoziationen mit folgender Assoziationsrichtung in Bezug auf die seltenere Allele ermitteln: Das G-Allel von rs61822964 ($p = 0,010$), das C-Allel von rs116125277 ($p = 0,043$), das C-Allel von rs6540438 ($p = 0,007$) sowie das A-Allel von rs6686325 ($p = 0,038$) waren mit einer besseren Leistung assoziiert, das T-Allel von rs114467562 ($p = 0,0082$) hingegen mit einer schlechteren Leistung (Tabelle 11).

Tabelle 11: Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Verzögerte Wiedergabe

SNP	BP	A1	A2	MAF	B _{A1}	SE	P
rs114467562	207674503	T	C	0,034	-0,472	0,178	0,008
rs61822964	207675712	G	A	0,097	0,273	0,105	0,010
rs116125277	207790417	C	G	0,012	0,657	0,323	0,043
rs6540438	207824438	C	A	0,059	0,338	0,125	0,007
rs6686325	207833357	A	G	0,244	0,143	0,069	0,038

A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, MAF = minore Allelfrequenz, B_{A1} = Regressionskoeffizient in Bezug auf A1, SE = Standardfehler, P = p -Wert

Interessanterweise zeigten die SNPs rs6540438 und rs114467562 nicht nur Assoziationen mit der Verzögerten Wiedergabe, sondern, wie oben erwähnt, auch mit dem Allgemeinen Gedächtnis und dem Verbalen Gedächtnis. Zusätzlich konnte für SNP rs116125277 neben einem Zusammenhang mit der Verzögerten Wiedergabe auch eine Assoziation mit dem Verbalen

Ergebnisse

Gedächtnis (s.o.) identifiziert werden, während der SNP rs116146912 neben dem Allgemeinen Gedächtnis auch ein Assoziationssignal für das Verbale Gedächtnis zeigte.

5.3.5 Aufmerksamkeit/Konzentration

Die Domäne Aufmerksamkeit/Konzentration war lediglich mit einem SNP assoziiert: das A-Allel von rs186998459 ($p = 0,040$) war mit einer besseren Leistung in diesem kognitiven Bereich signifikant verknüpft (Tabelle 12).

Tabelle 12: Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Aufmerksamkeit/Konzentration

SNP	BP	A1	A2	MAF	B _{A1}	SE	P
rs186998459	207698225	A	T	0,014	0,592	0,287	0,040

A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, MAF = minore Allelfrequenz, B_{A1} = Regressionskoeffizient in Bezug auf A1, SE = Standardfehler, P = p -Wert

5.4 Replikation der Ergebnisse an der zweiten Stichprobe

Für alle nominal signifikanten Assoziationen in der Screeningstichprobe sollte ein Replikationsversuch in der zweiten Stichprobe erfolgen. Die zehn SNPs, die zuvor mittels WMS-R Assoziationen zur kognitiven Leistung zeigte hatten, sollten in einer Replikationsstichprobe mit der CERAD in Assoziation gebracht werden. Da im Rahmen der Genotypisierung der Replikationsstichprobe eine andere genetische Plattform zur Anwendung kam, konnten nicht alle vorbeschriebenen SNPs in der zweiten Stichprobe detektiert werden bzw. mussten entsprechende Proxies ermittelt werden. Für zwei SNPs (rs114467562 und rs116146912) konnten keine Proxies ermittelt werden, sodass diese nicht in die Analysen eingingen (Tabelle 13).

Tabelle 13: Darstellung der signifikant assoziierten SNPs (Stichprobe 1) und deren Proxies (Stichprobe 2)

SNP _{STP1}	A1 _{STP1}	SNP _{STP2}	A1 _{STP2}	r ²	D'
rs4314882	T	rs78042401	C	0,7	0,96
rs114467562*	T				
rs61822964	G	rs61822963	A	1	1
rs186998459	A	rs41274768	A	0,4	1
rs116146912*	T				
rs6681449	G	rs17046851	G	1	1
rs116125277**	C	rs116125277	C	1	1
rs34775017	G	rs115360994	G	0,4	1
rs6540438	C	rs41303261	A	1	1
rs6686325	A	rs4844614	T	1	1

STP = Stichprobe; A1 = minores Allel, r² = r-Quadrat, D' = D-Prime, * kein Proxy vorhanden; ** SNP sowohl in Stichprobe 1 als auch in Stichprobe 2 genotypisiert.

Für rs61822964, rs116125277, rs34775017 und rs6686325 konnten keine Assoziationen mit der CERAD berichtet werden. Ebenso gab es für keinen der getesteten SNPs eine Assoziation mit den CERAD Unterskalen TMT A/B, den 15 Items des Boston Naming Test oder der Wortflüssigkeit. Im Folgenden soll deshalb nur auf die verbliebenen vier SNPs und die CERAD-Subtests MMST, verbales Gedächtnis (Wortliste Lernen, Abrufen, Intrusionen, Wiedererkennen) und visuelles Gedächtnis (Figuren Abzeichnen, Abrufen, Savings) eingegangen werden.

5.4.1 SNP rs4314882 (Proxy: rs78042401, r² = 0,70)

Für rs4314882 konnte in der Screeningstichprobe eine signifikante Assoziation mit der Domäne Visuelles Gedächtnis detektiert werden ($p = 0,002$). Träger des selteneren T-Allels zeigten hierbei eine schlechtere Leistung.

In der Replikationsstichprobe zeigte sich für den Proxy rs78042401 ein signifikanter Zusammenhang mit dem Untertest Wortliste Wiedererkennen (Diskriminabilität) ($p = 0,007$; $B = -3,951$) und es ergaben sich für die visuellen Untertests folgende Assoziationen: Figuren Abzeichnen: $p = 0,065$ ($B = -0,379$), 4 Figuren Abrufen: $p = 0,021$ ($B = -0,867$), 5 Figuren Abrufen: $p = 0,030$ ($B = -0,945$) und Figuren Savings: $p = 0,771$ ($B = -2,454$). Für alle Werte zeigten Träger des minoren C-Allels schlechtere Leistungen. Somit kann von einer indirekten Replikation

Ergebnisse

ausgegangen werden, bei der Träger des jeweils selteneren Allels schlechtere Leistungen im visuellen Gedächtnis zeigten.

5.4.2 SNP rs186998459 (Proxy: rs41274768, $r^2 = 0,43$)

In der Screeningstichprobe ergab sich für den SNP rs186998459 eine marginale Assoziation mit der Domäne Aufmerksamkeit/Konzentration ($p = 0,040$). Träger des selteneren A-Alleles lieferten bessere Leistungen.

In der Replikationsstichprobe zeigten für den Proxy rs41274768 Träger des ebenfalls selteneren A-Alleles hingegen schlechtere Leistungen im MMST ($p = 0,037$, $B = -0,273$) sowie eine höhere Anzahl an Intrusionen ($p = 0,023$, $B = 0,389$). Darüber hinaus zeigten Träger des selteneren A-Alleles schlechtere Leistungen in den CERAD-Untertests zum visuellen Gedächtnis: 4 Figuren Abrufen ($p = 0,022$, $B = -0,788$), 5 Figuren Abrufen ($p = 0,020$, $B = -0,935$) und einen Trend mit dem Wert Figuren Savings ($p = 0,083$, $B = -13,180$).

Aufgrund der gegensätzlichen Allel-Assoziationen der beiden mit $r^2 = 0,43$ im LD liegenden und daher nur sehr begrenzt vergleichbaren Variationen zeigt sich zwar keine direkte Replikation, trotzdem gibt es Assoziationen mit beiden SNPs in beiden Stichproben.

5.4.3 SNP rs6681449 (Proxy: rs17046851, $r^2 = 0,99$)

Für rs6681449 zeigte sich in der Screeningstichprobe eine Assoziation mit der Domäne Visuelles Gedächtnis ($p = 0,015$), wobei Träger des selteneren G-Allels bessere Leistungen zeigten.

In der Replikationsstichprobe ergab sich für den entsprechenden Proxy-SNP rs17046851 eine Assoziation mit den verbalen Werten der CERAD: Wortliste Lernen ($p = 0,019$, $B = 0,490$) und ein Trend mit der Wortliste Abrufen ($p = 0,051$, $B = 0,219$). Träger des selteneren G-Allels zeigten jeweils bessere Leistungen. Damit ergibt sich bezüglich genereller Gedächtnisleistungen jeweils eine indirekte Replikation. Bei der Screeningstichprobe ist jedoch das visuelle Gedächtnis betroffen und bei der Replikationsstichprobe das verbale Gedächtnis.

5.4.4 SNP rs6540438 (Proxy: rs41303261, $r^2 = 0,98$)

Für die Domäne Allgemeines Gedächtnis zeigte sich in der Screeningstichprobe eine marginale Signifikanz für den SNP rs6540438 ($p = 0,028$). Träger des selteneren C-Allels zeigten hierbei bessere Leistungen. Interessanterweise konnten bezüglich dieses Allels auch bessere Leistungen in den Domänen Verbales Gedächtnis ($p = 0,006$) und Verzögerte Wiedergabe ($p = 0,007$) festgestellt werden.

Ergebnisse

In der Replikationsstichprobe zeigten Träger des selteneren A-Allels bei dem Proxy rs41303261 schlechtere Leistungen im MMST ($p = 0,040$, $B = -0,670$) sowie eine erhöhte Anzahl an Intrusionen ($p = 0,002$; $B = 0,409$). Somit ergeben sich für diese Variante zwar Assoziationen in beiden Stichproben, jedoch keine Replikation der Assoziationsrichtung.

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Ergebnisse

Die letzten Jahre hat es in der Genetik der Alzheimer Erkrankung durch genomweite Assoziationsstudien eine rasante Entwicklung gegeben. In der letzten, größten genomweiten Assoziationsstudie zur Late onset Alzheimer Demenz (LOAD) wurden insgesamt 111326 AD-Fälle und 677663 Kontrollen untersucht. Viele der bereits mehrfach in der Literatur replizierten mit der LOAD in Zusammenhang stehenden Assoziationsgene konnten auch in dieser genomweiten Studie bestätigt werden. Innerhalb der bereits bekannten LOCI ergab sich für einen SNP (rs679515) des CR1 Gens die drittbeste Signifikanz von $p = 7,2 \times 10^{-46}$, OR = 1,13 [1,11 – 1,15] (Bellenguez et al., 2022). Das CR1 Gen zählt somit zu einem der vielversprechendsten Gene bei der Suche nach den Ursachen der Alzheimer Demenz und einer damit hoffentlich eingehenden Detektion möglicher Behandlungsmöglichkeiten. Da die Entstehung der Alzheimer Demenz sehr komplex ist und mit hoher Wahrscheinlichkeit durch viele unterschiedliche, u.a. neurobiologische und genetische Prozesse beeinflusst wird, stellt sich die Frage, wie spezifisch das CR1 Gen für die LOAD ist. Es besteht die Möglichkeit, dass das CR1 Gen sich nicht nur auf die LOAD auswirkt, sondern generelle, grundlegende Prozesse der Kognition beeinflusst.

In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb 380 genetische Varianten der CR1-Region, vertreten durch 20 Index SNPs, auf ihre Assoziation zu kognitiven Leistungen in einer Kohorte aus der Allgemeinbevölkerung (n = 557) untersucht, sowie in einer zweiten unabhängigen Stichprobe (n = 664) teilweise repliziert. Die kognitive Leistungsfähigkeit der Screening-Kohorte wurde anhand der *Wechsler Memory Scale* in ihrer revidierten deutschen Fassung (WMS-R) gemessen, die der Replikationsstichprobe anhand der erweiterten Testbatterie des *Consortium to Establish a Registry for Alzheimers' Disease* (CERAD-Plus). Die Fragestellung war insbesondere, ob ohne das Vorliegen einer Alzheimer Demenz bzw. eines *Mild Cognitive Impairments* (MCI) Polymorphismen der CR1 Genregion mit kognitiven Leistungen signifikant assoziiert sind und somit generell eine Assoziation des Gens zur Kognition besteht.

Insgesamt konnten in der Screeningstichprobe signifikante Ergebnisse bezüglich 10 Index-SNPs und der WMS-R detektiert werden. In der Replikationsstichprobe konnten aufgrund unterschiedlicher Genotypisierungsplattformen nur 8 der 10 SNPs weiterverfolgt werden.

Für rs61822964, rs116125277, rs34775017 und rs6686325 konnten keine Assoziation mit der CERAD berichtet werden. Ebenso gab es für keinen der getesteten SNPs Assoziationen mit den CERAD Unterskalen TMT A/B, Boston Naming Test oder Wortflüssigkeit. In der folgenden

Diskussion

Diskussion sollen demzufolge zunächst die Hauptergebnisse für die verbliebenen vier SNPs diskutiert werden.

Es konnten indirekte Replikationen für zwei der vier SNPs aus der Screeningstichprobe anhand der Proxy-SNPs aus der Replikationsstichprobe gefunden werden. Träger des seltenen T-Allels von rs4314882 bzw. des seltenen C-Allels des Proxies rs78042401 ($r^2 = 0,70$) zeigten jeweils schlechtere Leistungen in visuellen Gedächtnisdomänen. Zum anderen zeigten das seltene G-Allel rs6681449 und das seltene G-Allel seines Proxies rs17046851 (G-Allel; $r^2 = 0,99$) beide Assoziationen zu einer besseren Leistung, jedoch in unterschiedlichen Gedächtnisbereichen (Kategorie Visuelles Gedächtnis der WMS-R in der Screening- und verbale Gedächtnisaspekte der CERAD-Plus in der Replikationsstichprobe).

Für die übrigen beiden SNPs aus der Screeningstichprobe ergaben sich keine Replikationen. Zwar zeigten sich jeweils Assoziationen zur Gedächtnisleitung, diese waren jedoch gegensätzlich: In der Screeningstichprobe war das seltene A-Allel von rs186998459 mit einer besseren Leistung in der Kategorie Aufmerksamkeit/Konzentration assoziiert, während das seltene A-Allel des Proxy rs41274768 ($r^2 = 0,43$) mit schlechteren Leistungen im MMST sowie in visuellen Untertests assoziiert war. Des Weiteren war in der Screeningstichprobe das seltene C-Allel des SNPs rs6540438 assoziiert mit besseren Leistungen in den 3 Kategorien Allgemeines Gedächtnis, Verbales Gedächtnis und Verzögerte Wiedergabe, während das seltene A-Allel des Proxy-SNPs rs41303261 ($r^2 = 0,98$) assoziiert war mit schlechteren Leistungen im MMST sowie höheren Werten im Bereich Intrusionen, was schlechteren verbalen Gedächtnisleistungen entspricht. Im Folgenden sollen die vier genannten SNPs näher diskutiert werden.

6.1.1 Rs4314882 (T-Allel)

Das seltene T-Allel des SNPs rs4314882 zeigte in der Screeningstichprobe eine Assoziation zu einer schlechteren Leistung in der Kategorie Visuelles Gedächtnis der WMS-R ($p = 0,002$). Dies ließ sich anhand der Ergebnisse der Replikationsstichprobe indirekt replizieren: die Assoziationen des seltenen C-Allel des Proxies rs78042401 ($r^2 = 0,70$) wiesen in dieselbe Richtung. Hier bestand eine Assoziation zu einer schlechteren Leistung in den CERAD-Untertests Figuren Abzeichnen ($p = 0,065$), 4 Figuren Abrufen ($p = 0,021$) und 5 Figuren Abrufen ($p = 0,030$), welche jeweils visuelle Gedächtnisdomänen abbilden, sowie den Untertest Wortliste Wiedererkennen (Diskriminabilität) ($p = 0,007$). Somit zeigten in beiden Stichproben Träger des selteneren Allels eine Assoziation zu einer schlechteren Leistung im Bereich des visuellen Gedächtnisses.

Diskussion

Rs4314882 ist bisher nicht in anderen Studien vorbeschrieben, liegt jedoch im LD mit dem SNP rs4844609 ($r^2 = 0,67$). Keenan et al. (2012) beobachteten einen Zusammenhang zwischen der seltenen Variante von rs4844609 (A-Allel) und einem Abbau des episodischen Gedächtnisses, welcher in Abhängigkeit einer Interaktion des SNPs mit APOE- ϵ 4 und dabei vermehrt auftretende AD-typische Neuropathologien zu entstehen scheint (Keenan et al. 2012). Zhu et al. (2017) stellten einen Zusammenhang zwischen derselben minoren Variante und vermehrten zerebralen A β -Ablagerungen bei Probanden mit MCI und gesunden Kontrollprobanden fest.

Sowohl das T-Allel von rs4314882 als auch das C-Allel des Proxies rs78042401 ($r^2 = 0,7$) stellen die selteneren Allele dar. Dass beide mit einem schlechteren Abschneiden in den visuellen Kategorien assoziiert sind, kann auf eine Bestätigung des Ergebnisses aus der Screeningstichprobe durch die Replikationsstichprobe gewertet werden.

Rs4314882 liegt in CR2/5'CR1. In den bisherigen großen GWAS wurde CR2 nicht als AD-Kandidatengen beschrieben (Bellenguez et al., 2022). Lediglich in einer Studie von Lancour et al. (2018) zeigte sich eine Assoziation zwischen CR2 und der AD. Sie vermuteten, dass diese auf der Beeinflussung zerebraler immunologischer Prozesse, ähnlich wie bei CR1, beruhen könnte (Lancour et al., 2018). Die Studie von Lancour et al. (2018) beruht auf Gen-Gen-Interaktionen und der Beeinflussung gemeinsamer biologischer Prozesse durch verschiedene Gene, die mit der Entstehung einer AD in Zusammenhang stehen könnten. Entsprechend kann nicht deutlich differenziert werden, ob der Einfluss von CR1 bzw. seinem 5'-Ende oder direkt von CR2 ausgeht. Es unterstreicht jedoch ebenfalls den Einfluss der CR1 einschließenden Genregion.

6.1.2 Rs6540438 (C-Allel)

In der Screeningstichprobe war das seltene C-Allel des SNPs rs6540438 assoziiert mit besseren Leitungen in 3 Kategorien der WMS-R: Allgemeines Gedächtnis ($p = 0,028$), Verbales Gedächtnis ($p = 0,006$) und Verzögerte Wiedergabe ($p = 0,007$). Das seltene A-Allel des Proxy-SNPs rs41303261 ($r^2 = 0,98$) dagegen war assoziiert mit schlechteren Leitungen im MMST ($p = 0,040$) sowie höheren Werten im Bereich Intrusionen ($p = 0,002$), was schlechteren verbalen Gedächtnisleistungen entspricht. Somit zeigen beide Stichproben Assoziationen zu Gedächtnisleistung sowohl in verbalen als auch in allgemeinen Domänen, jedoch sind die Assoziationsrichtungen gegensätzlich.

Ein Grund hierfür kann darin liegen, dass der MMST, welcher in der CERAD als Summenwert erhoben wird, die Gedächtnisleistung zu breit abbildet. Eine Stärke des MMST liegt in der Heterogenität seiner verschiedenen Untertests, wodurch Demenzen sowohl in frühen als auch in späteren Stadien detektiert werden können, d.h. er bildet einen breiten Messbereich ab (Aebi,

Diskussion

2002). Die einzelnen Untertests sind je nach Demenzstadium unterschiedlich aussagekräftig. So bilden die Untertests zu Gedächtnis und Orientierung bereits frühe Stadien ab, der MMST beinhaltet jedoch auch Tests zum Benennen von Gegenständen und das Befolgen von Anweisungen, welche keine Gedächtnisleistung abprüfen und eher spätere Stadien abbilden. Somit sind einige der Tests also im oberen Leistungsbereich nicht differenzierungsfähig, was sich auf die Ergebnisse der Assoziation in einer gesunden Stichprobe auswirken kann (Satzger et al., 2001; Luck et al., 2009). Ferner kann eine weitere Begründung für zwischen den Stichproben divergierende Ergebnisse darin liegen, dass die WMS-R Gedächtnisleistungen abprüft, der MMST jedoch auch andere kognitive Aspekte (Härting et al., 2000; Satzger et al., 2001).

Rs6540438 ist in CR1L lokalisiert. Die Funktion von CR1L ist beim Menschen bislang nicht abschließend geklärt, über mögliche regulatorische Eigenschaften des Gens wird spekuliert (Birmingham und Hebert, 2001). Eine genomweite DNA Methylierungsstudie zeigte, dass CR1L unterschiedlich zwischen AD und Kontrollen methyliert war (Bahado-Singh et al., 2021). Rs6540438 liegt in geringem LD mit den in der Publikation von Brouwers et al. (2012) beschriebenen SNPs rs646817 (LD zu rs6540438: $r^2 = 0,16$) und rs1746659 (LD zu rs6540438 $r^2 = 0,16$). Brouwers et al. (2012) entdeckten in einer Studie an einem flämischen Kollektiv eine signifikante Assoziation zwischen dem selteneren G-Allel von rs646817 und dem minoren A-Allel von rs1746659 und einer erhöhten A β 1-42-Konzentration im Liquor. Zwar würde es hierbei eine gewisse Kongruenz zu der Assoziation des seltenen A-Allels des Proxy-SNPs rs41303261 (LD zu rs6540438: $r^2 = 0,98$, zu rs646817 und rs1746659: $r^2 = 0,16$) mit schlechteren Leistungen im MMST und einer erhöhten Anzahl an Intrusionen in der eigenen Replikationsstichprobe ergeben, da die Assoziationsrichtung in der Screeningstichprobe jedoch entgegengesetzt war, und die r^2 -Werte der LDs sehr gering ausfallen, ist ein möglicher Vergleich zwischen den Ergebnissen der Studie von Brouwers et al. (2012) und den eigenen Ergebnissen mit Vorsicht zu betrachten.

6.1.3 Rs6681449 (G-Allel)

In der Screeningstichprobe zeigte sich bezüglich des seltenen G-Allels eine Assoziation zu einer besseren Leistung in der Kategorie Visuelles Gedächtnis der WMS-R ($p = 0,015$). Auch in der Replikationsstichprobe zeigte sich eine Assoziation zwischen dem seltenen Allel des Proxies rs17046851 (G-Allel; $r^2 = 0,99$) und einer besseren Leistung, jedoch in den CERAD-Untertests Wortliste Lernen ($p = 0,019$) und Wortliste Abrufen ($p = 0,051$), welche jeweils verbale Leistungsaspekte abbilden. Demnach kann von einer indirekten Replikation ausgegangen werden, die zwar keine eindeutige Assoziation zu einem einzelnen Gedächtnisbereich abbilden

Diskussion

konnte, jedoch auf einen Zusammenhang zu einer besseren generellen Gedächtnisleistung hinweisen kann.

Rs6681449 liegt in einem Intron in CR1 und ist bisher in keinen anderen Studien vorbeschrieben worden. Er liegt im LD mit den SNPs rs11117956 ($r^2 = 0,80$) und rs12734030 ($r^2 = 0,84$), welche Zijlstra et al. (2018) auf Assoziationen zur Kognition in einer Stichprobe aus 5244 älteren, gesunden Probanden untersuchten. Rs11117956 und rs12734030 liegen miteinander im LD ($r^2 = 0,67$). Die minoren Allele der beiden genannten SNPs zeigten eine signifikante Assoziation zu einer veränderten Leistung in den vier erhobenen kognitiven Tests. Rs11117956 (G) und rs12734030 (T) waren signifikant assoziiert mit einer schlechteren Leistung im *Stroop Color-Word Test* (testet Aufmerksamkeit) und mit besseren Leistungen in den Tests MMST (allgemeine kognitive Testung), *Letter-Digit Coding Test* (testet Verarbeitungsgeschwindigkeit), *Picture-Word Learning Test* (testet verbales Lernen). Zijlstra et al. (2018) zogen den Schluss, dass CR1 nicht nur mit der AD, sondern mit der kognitiven Funktion im höheren Lebensalter, auch bei Gesunden, in Verbindung steht (Zijlstra et al., 2018). Die in der Studie gefundenen Zusammenhänge weisen teilweise in dieselbe Richtung wie die Ergebnisse unserer Untersuchungen. Es zeigte sich sowohl bei Zijlstra et al (2018) als auch in unserer Replikationsstichprobe eine Assoziation zu einer besseren Leistung der Träger des selteneren Allels in verbalen kognitiven Domänen (Wortliste lernen und abrufen bzw. *Picture-Word Learning Test*). Darüber hinaus zeigten bei Zijlstra et al. (2018) Träger der minoren Allele eine bessere Leistung im MMST. Auch wenn wir keine direkte Assoziation mit dem MMST in unseren Stichproben finden konnten, scheint dieses Ergebnis kongruent zu unseren Ergebnissen, dass Träger der minoren Allele sowohl bessere Leistungen im visuellen Gedächtnis (WMS-R) als auch im verbalen Bereich (Wortliste lernen und abrufen, CERAD) aufwiesen, da sowohl das visuelle Gedächtnis als auch das verbale Gedächtnis Bestandteil des MMST sind.

Des Weiteren liegt rs6681449 im, wenn auch nur geringen, LD mit den SNPs rs11803956 ($r^2 = 0,33$) und rs12034383 ($r^2 = 0,33$). Bezüglich rs11803956 (minores T-Allel) und rs12034383 (minor es G-Allel) entdeckten Brouwers et al. (2012) einen Zusammenhang zu einer erhöhten Konzentration von $A\beta_{1-42}$ im Liquor bei Probanden mit AD. Bei Zhu et al. (2017) war ein vermindertes Volumen des Temporallappens assoziiert mit rs12034383 (majores A-Allel), wobei die größte Signifikanz bei den Probanden mit MCI gefunden wurde (Zhu et al., 2017). Chung et al. (2014) wiesen eine signifikante Assoziation zu einer besseren Leistung im MMST mit dem minoren C-Allel des von rs11803956 (C-Allel) in einer koreanischen Stichprobe mit AD nach.

Diskussion

Insgesamt kam hiermit festgehalten werden, dass es sowohl bei Chung et al. (2014) als auch bei Zijlstra et al. (2018) eine Assoziation zu besseren Leistungen im MMST mit dem jeweils minoren Allel des proxy-SNPs gab und dass wir zwar keine direkte Assoziation mit dem Gesamtwert des MMST finden konnten, jedoch mit besseren Leistungen in Aspekten des visuellen und verbalen Gedächtnisses, die beide Bestandteile des MMST sind.

6.1.4 Rs186998459 (A-Allel)

In der Screeningstichprobe war das seltene A-Allel von rs186998459 mit einer besseren Leistung in der Kategorie Aufmerksamkeit/Konzentration assoziiert ($p = 0,039$), während das seltene A-Allel des Proxy rs41274768 ($r^2 = 0,43$) mit schlechteren Leistungen im MMST ($p = 0,037$) sowie in den visuellen Untertests 4 Figuren Abrufen ($p = 0,022$), 5 Figuren Abrufen ($p = 0,020$) und Figuren Savings ($p = 0,083$) assoziiert war. Demnach konnte bezüglich dieses SNPs keine Replikation erzielt werden. Es zeigten sich somit in beiden Stichproben Assoziationen zu Gedächtnisleistungen, jedoch sind diese gegensätzlich und betreffen unterschiedliche Domänen. Es ist jedoch anzumerken, dass aufgrund des geringen LD nur von einer eingeschränkten Vergleichbarkeit auszugehen ist.

6.1.5 Rs114467562 (T-Allel)

In der Screeningstichprobe war das T-Allel (minor) von rs114467562 signifikant assoziiert mit schlechteren Leistungen in den WMS-R Untertests Allgemeines Gedächtnis, Verzögerte Wiedergabe und Verbales Gedächtnis. Da zu diesem SNP in der Replikationsstichprobe kein Proxy vorlag, konnte keine Replikation erfolgen. Der SNP liegt in einem Clump mit dem in mehreren Studien vorbeschriebenen SNP rs6656401 (s. Abschnitt 3.6 „CR1 und Kognition“).

Chibnik et al. (2011) beobachteten vermehrte zerebralen A β -Ablagerungen im Zusammenhang mit rs6656401 (A-Allel, minor) (Chibnik et al., 2011).

Cruz-Sanabria et al. (2021) zeigten einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer schlechteren kognitiven Leistung und dem minoren A-Allel (rs6656401), sowohl bei Gesunden als auch bei Probanden mit MCI.

Pedraza et al. (2014) wiesen bezüglich rs6656401 (A, minor) eine nominal signifikante Assoziation zu einer schlechteren Leistung im Bereich Logisches Gedächtnis I in einer schwarzen US-amerikanischen Kohorte, sowohl bei LOAD Fällen als auch bei gesunden Kontrollen nach. Sie zogen den Schluss, dass AD Risikogene bereits vor der klinischen Diagnose einer AD die Gedächtnisfunktion messbar beeinflussen könnten.

6.2 Diskussion der Methoden

Laborverfahren

Zur Gewinnung der DNA wurden jedem Studienteilnehmer 7 ml venöses Blut entnommen. Anhand eines normierten Protokolls des Qiagen DNA Blood Maxi Kits (Qiagen, 2005) wurde die DNA extrahiert. Die erhaltenen DNA-Lösungen wurden auf eine einheitliche Konzentration eingestellt, um eine für alle Proben vergleichbare Hochdurchsatzgenotypisierung zu ermöglichen. Sämtliche Schritte wurden von qualifiziertem Personal durchgeführt, das sich an standardisierten Protokollen orientierte, sodass unterschiedliche Probenqualitäten durch verschiedene Labormitarbeiter minimiert werden konnten. Die Messung der Konzentration und die anschließende erforderliche Verdünnung erfolgte halbautomatisch durch einen Pipettierroboter (Janus Automated Workstation), wodurch ebenfalls ein standardisierter Arbeitsablauf sichergestellt wurde. Fehler in den Laborverfahren konnten auf diese Weise minimiert werden. Um mangelhafte Datensätze, die inkorrekte Assoziationsrückschlüsse zur Folge hätten, zu vermeiden, sind strenge Qualitätskontrollen notwendig.

Qualitätskontrolle

Die Genotypisierung erfolgte auf SNP Chips, die Imputation der Screeningstichprobe wurde in sechs Chargen durchgeführt, für die Replikation wurde auf direkt bestimmte SNPs zurückgegriffen. Sämtliche Schritte wurden standardisiert von qualifiziertem Laborpersonal bzw. von qualifizierten Statistikern durchgeführt. Fehlerhafte Verfahrensabläufe und Probenkontamination konnten so minimiert werden. Um Fehler in den Assoziationsanalysen zu vermeiden, erfolgte der Ein- bzw. Ausschluss der Probanden anhand sorgfältiger Qualitätskontrollen mittels der Software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015).

Allelfrequenzen können zum einen durch Einschluss von Probanden abweichender Ethnizitäten, zum anderen durch den Einschluss erst- und zweitgradiger Verwandter oder Duplikate verfälscht werden. Somit wären die erhobenen Daten nicht repräsentativ für eine bestimmte Population. Um dies zu vermeiden, erfolgten Hauptkomponentenanalysen mittels EIGENSTRAT (Price et al. 2006). Der Schwellenwert für Verwandtschaft wurde als $\hat{r} < 0,2$ definiert.

Um trotz qualifizierten Laborpersonals mögliche Kontamination der Proben auszuschließen, wurden starke Abweichungen der heterozygoten Genotypen der autosomalen und X-chromosomalen Marker vom Mittelwert ermittelt. Dies wurde als mögliche Verunreinigung gewertet, woraufhin die Probe ausgeschlossen wurde. Der Schwellenwert für die Heterozygotenfrequenz $|F_{\text{het}}|$ lag bei $\geq 0,2$.

Um Typisierungsfehler zu vermeiden, gab es ebenfalls strenge Kriterien für den Einschluss von

Diskussion

SNPs. Dies waren die SNP call rate mit einem Schwellenwert von > 96-99 %, Analysen auf Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) und die Ermittlung der Minor-Allelfrequenz (MAF). Die Schwellenwerte lagen hier für das HWE bei den Kontrollen bei $p < 10^{-6}$ und bei den Fällen bei $p \leq 10^{-10}$, und für die MAF bei beiden Gruppen bei $\geq 1\%$.

Die Datensätze wurden nach *pre-phasing* auf das 1000 Genomes Referenzsample (Phase 1 Version 3) imputiert mittels der Software IMPUTE2 (Howie et al., 2009; Howie et al., 2011). Im Anschluss wurden die sechs Chargen zu einem großen Datensatz kombiniert. Auch hier galten eine Abweichung von INFO < 0,6 und MAF < 0,01 als Ausschlusskriterium, außerdem ein Abweichen der MAF der Marker zwischen den Datensätzen um mehr als 0,1. Ebenfalls wurden im kombinierten Datensatz und auf den einzelnen Chips Analysen auf Verwandtschaft, Abweichungen von der Heterozygotenfrequenz und Populationsstratifikation durchgeführt.

Lokalisation der Index-SNPs

Sämtliche SNPs, die signifikante Assoziationen zur Gedächtnisleistung zeigten, lagen in nicht-kodierenden Bereichen. Veränderungen in kodierenden Bereichen können direkt zu fehlerhaften oder fehlenden Genprodukten und somit z. B. zur Entstehung von Krankheiten führen (Rose, 2018). Aber auch in nicht-kodierenden Bereichen lokalisierte SNPs können Effekte auf die Genexpression und -regulation ausüben. Zum einen können sie Einfluss auf das Spleißen der mRNA nehmen bzw. zu alternativem Spleißen führen, woraus veränderte Proteine resultieren können (Pan et al., 2008). Auch beeinflussen Introns den Transport und die Transkription der mRNA (Chorev und Carmel, 2012), sodass in Genen, die eine höhere Anzahl an Introns besitzen, die Genexpressionsrate höher zu sein scheint als in Genen mit einer geringeren Zahl an Introns (Shabalina et al., 2010). Des Weiteren scheinen Introns am *nonsense-mediated decay* beteiligt zu sein. Dies bedeutet, dass mRNA mit fehlerhaften, vorzeitigen Stop-Codons, eliminiert wird (Chorev und Carmel, 2012). Studien zeigten, dass Introns unabhängig von Promotoren eine Transkription initiieren können (Rose, 2018). Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, dass die Assoziation eines nichtkodierenden SNPs daraus resultiert, dass er in hohem LD mit einer funktionellen Variante liegt (Jo und Choi, 2015). Um genauere Aussagen darüber zu treffen, ob und welche der Mechanismen jeweils für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten SNPs zutreffen, müssen weiterführende Studien angeschlossen werden. Denkbar wären genetische Replikationsstudien mit größeren Studienkollektiven, in denen die entdeckten Assoziationen noch einmal eingehend überprüft werden. Auch die Untersuchung der funktionellen Relevanz der einzelnen SNPs wäre von Bedeutung. Die in dieser Studie erhobenen Daten können lediglich als Hinweise auf eventuelle Zusammenhänge gewertet werden.

Einschlusskriterien der Screeningstichprobe

Die Gruppe der Probanden der Screeningstichprobe bestand aus zufällig ausgewählten nicht verwandten, deutschstämmigen Personen aus der Münchener Allgemeinbevölkerung. Vor Studienbeginn wurden mögliche psychiatrische und neurologische Vorerkrankungen sowie Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenmissbrauch, Suizidalität sowohl bei den Probanden als auch bei ihren Angehörigen bis ersten Grades, ausgeschlossen. Dies erfolgte detailliert anhand des SKID I und –II, sodass sowohl Achse-I- (psychische Störungen) als auch Achse-II-Störungen (Persönlichkeitsstörungen) bei den Studienteilnehmern sicher eruiert werden konnten (First et al., 1996; First et al., 1997). Belastende Lebensereignisse und deren Auswirkungen auf das Leben und die Gesundheit der Probanden wurde anhand des Leipziger Ereignis- und Belastungsinventars (LEBI) (Richter und Guthke, 1996) ermittelt. Die psychische Verfassung der biologischen Angehörigen wurde mit Hilfe des *Family History Assessment Module* (Rice et al., 1995) erfasst. Da sämtliche Beurteilungen auf Grundlage von Befragungen stattfanden, sind fehlerhafte Studieneinschlüsse durch Falschantworten, z. B. durch mangelnde Information über den Gesundheitsstatus von Angehörigen, nicht gänzlich auszuschließen. Ein weiteres Ausschlusskriterium für die Studienteilnahme war eine erreichte Punktzahl von weniger als 27 von 30 Punkten im MMST. Dies war von großer Bedeutung, da sowohl bereits bestehende Demenzen als auch weitere Erkrankungen, die sich häufig negativ auf die kognitive Leistung auswirken können, die Studienergebnisse beeinflusst hätten. Um aussagekräftige Resultate zu erzielen, mussten diese Faktoren daher sicher ausgeschlossen werden.

Das Studienkollektiv ist in genetischer Hinsicht als repräsentativ für die europäische Allgemeinbevölkerung anzusehen. Dies zeigt ein Vergleich der Effektalallelfrequenzen der Studienpopulation mit der der europäischen Population des 1000 *Genomes Projects Phase 3* (Tabelle 14).

Tabelle 14: Vergleich der Allelfrequenzen der nominal signifikant assoziierten SNPs des Screeningkollektivs mit der europäischen Population des 1000 *Genomes Project* Phase 3

SNP	Effektallel	Frequenz Screening	Frequenz 1000 <i>Genomes Project</i> Phase 3 (Europa)
rs4314882	T	0,030	0,024
rs114467562	T	0,034	0,021
rs61822964	A	0,903	0,929
rs186998459	A	0,014	0,015
rs116146912	T	0,025	0,020
rs6681449	A	0,812	0,817
rs116125277	C	0,013	0,045
rs34775017	C	0,955	0,952
rs6540438	A	0,941	0,952
rs6686325	A	0,244	0,277

Einschlusskriterien der Replikationsstichprobe

Die Replikationsstichprobe bestand aus zufällig ausgewählten deutschstämmigen Probanden aus der Allgemeinbevölkerung von Halle (Saale). Es erfolgte die Erhebung strukturierter psychopathologischer Skalen und eine ausführliche neuropsychologische Testung sowie eine körperliche und neurologische Untersuchung. Hinsichtlich der kognitiven Testung kam u.a. die CERAD-Plus (Memory Clinic, 2009) zum Einsatz, wobei Probanden mit weniger als 27 im MMST erreichten Punkten aus der Analyse ausgeschlossen wurden. Mögliche frühere oder aktuelle neuropsychiatrische Symptome wurden mittels des Mini International Neuropsychiatric Interview (Ackenheil et al., 1999) erhoben, welches psychiatrische Störungen auf Grundlage des DSM-IV und des ICD 10 erfasst. Auch in diesem Kollektiv sind fehlerhafte Studieneinschlüsse durch Falschantworten nicht vollständig auszuschließen.

Dieses Probandenkollektiv kann ebenfalls hinsichtlich der genetischen Allelfrequenzen als repräsentativ für die europäische Allgemeinbevölkerung angesehen werden (Tabelle 15).

Tabelle 15: Vergleich der Allelfrequenzen der Proxy SNPs des SReplikationskollektivs mit der europäischen Population des 1000 *Genomes Project* Phase 3

SNP	Effektallel	Frequenz Replikation	Frequenz 1000 <i>Genomes Project</i> Phase 3 (Europa)
rs78042401	C	0,025	0,030
rs61822963	A	0,094	0,091
rs41274768	A	0,031	0,021
rs17046851	G	0,194	0,193
rs116125277	C	0,019	0,023
rs115360994	G	0,025	0,028
rs41303261	A	0,051	0,049
rs4844614	T	0,252	0,245

Ethnische Herkunft

Die AD weist zwischen verschiedenen Ethnien eine unterschiedlich hohe Prävalenz auf (Prince et al., 2015). Auch die Verteilung der verschiedenen CR1-Isoformen variiert je nach ethnischer Zugehörigkeit (Zhu et al., 2015). Aus diesen Gründen mussten die Studienteilnehmer, um valide Studienergebnisse erlangen zu können, bezüglich ihrer ethnischen Herkunft eine möglichst homogene Gruppe darstellen. Daher wurden in die beiden Studienkollektive nur Probanden aufgenommen, die kaukasischer Abstammung waren. Die Ergebnisse sind daher nicht auf andere Populationen projizierbar. Um Aussagen über die Auswirkung verschiedener SNPs in der CR1-Genregion auf andere Bevölkerungsgruppen treffen zu können, müssten die Untersuchungen in größerem Rahmen mit weiteren ethnischen Gruppen wiederholt werden.

Geschlechts- und Altersverteilung der Stichproben

Frauen erkranken in Europa laut Statistik häufiger an der AD als Männer. Dies wird zum einen der höheren Lebenserwartung von Frauen zugeschrieben, da die Wahrscheinlichkeit, an einer Demenz zu erkranken, mit dem Lebensalter ansteigt (Alzheimer Europe, 2013; Mielke et al., 2014). Weitere Einflussfaktoren wie eine höhere „kognitive Reserve“ bei Männern, bedingt durch einen höheren Bildungsgrad gegenüber Frauen in der entsprechenden Generation, geboren in der ersten Hälfte des 20. Jhd., werden diskutiert (Mielke et al., 2014). Die Geschlechterverteilung im Screeningkollektiv war mit einem Anteil von 49,19 % weiblichen und 50,81 % männlichen Teilnehmern ausgeglichen. Der Altersdurchschnitt der Probanden lag im Mittel bei 50,64 Jahren. Dieser liegt deutlich unterhalb des durchschnittlichen Erkrankungsalters einer LOAD, welches per Definition mit 65 Jahren beginnt, seine höchste Prävalenz aber jenseits

Diskussion

des 80. Lebensjahres hat und mit 90-95 % die häufigste Form der AD ausmacht (Cacace et al., 2016). In der Replikationsstichprobe lag der Anteil der weiblichen Teilnehmer bei 58,67 % und der der männlichen Teilnehmer bei 41,33 %. Der Altersdurchschnitt der Probanden war mit 68,81 Jahren deutlich höher als der der ersten Stichprobe und somit knapp oberhalb des durchschnittlichen Erkrankungsalters einer LOAD. Dies ist von Relevanz, um den Einfluss von Polymorphismen im CR1-, d. h. einem Alzheimer-Kandidatengen, auf die Gedächtnisleistung einer gesunden Stichprobe valide untersuchen zu können.

Stichprobengröße

Die Aussagekraft einer Studie wird maßgeblich durch ihre Teststärke oder statistische *power* bestimmt. Diese gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine Alternativhypothese korrekterweise angenommen wird und ist u. a. abhängig von der Stichprobengröße und der Effektstärke (Schulz und Grimes, 2005). Je größer die Stichprobe ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, assoziierte Varianten aufzudecken. In genetischen Assoziationsstudien, die sich mit häufig vorkommenden Varianten befassen, sollte dieses Kollektiv im Idealfall mindestens einige tausend Probanden umfassen (Colhoun et al., 2003). Das in der vorliegenden Studie untersuchte Kollektiv umfasste 557 Probanden in der ersten und 664 Probanden in der zweiten Stichprobe. Die Probanden wurden anhand strenger Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossen, sodass homogene Stichproben untersucht werden konnten. Dies ist bei einem derartigen Studienansatz zur Generierung aussagekräftiger Ergebnisse von großer Bedeutung. Folgende Studien mit größeren Teilnehmerzahlen wären dennoch zwingend erforderlich, um mögliche Effekte eindeutiger darstellen zu können und um die in dieser Studie erzielten Ergebnisse zu replizieren.

Testverfahren

Die kognitive Leistungsfähigkeit der Probanden der Screeningstichprobe wurde anhand der *Wechsler Memory Scale – Revised Version* (WMS-R) in ihrer deutschen Adaptation (Härting et al., 2000) gemessen. Diese besteht aus einer Batterie von 13 Untertests, aus denen sich die fünf Gesamt-Indizes Verbales Gedächtnis, Visuelles Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis, Aufmerksamkeit/Konzentration und Verzögerte Wiedergabe ergeben.

Die WMS-R wird als Einzeluntersuchung durchgeführt und wurde durch Mitarbeiter geleitet, die im Vorfeld eingehend geschult wurden, um ein standardisiertes Vorgehen sicherzustellen. Sowohl die Abläufe als auch die Auswertung der Ergebnisse anhand des zugehörigen Handbuchs wurden mehrfach geprobt und durch die Studienleitung überprüft. Trotz eines derart standardisierten Vorgehens können individuell unterschiedliche Bewertungen von Testergebnissen, die einen gewissen subjektiven Ermessensspielraum zulassen, jedoch nie ganz

Diskussion

ausgeschlossen werden. Wechsler (1987) beschreibt eine Interrater-Reliabilität für die Unterkategorie Logisches Gedächtnis von 0,99 und für das Visuelle Gedächtnis von 0,97. Für die übrigen Testdomänen wurde diese nicht bestimmt, da die Autoren der WMS-R deren Auswertung aufgrund der deutlich geringeren Antwortvielfalt für weniger komplex hielten (Wechsler, 1987). Es kann also insgesamt von einem hohen Maß an Interpretationsobjektivität ausgegangen werden. Um tageszeitliche Schwankungen der geistigen Leistungsfähigkeit der Probanden auszuschließen, fanden die Testungen möglichst vormittags statt. Hier sind interindividuell unterschiedliche Leistungskurven jedoch nicht berücksichtigt. Darüber hinaus können die Testleistungen der Probanden durch unterschiedliche Copingstrategien in Prüfungssituationen negativ beeinflusst sein. Die WMS-R ist normiert für einen Altersbereich von 16 bis 75 Jahren, welcher vom Probandenkollektiv eingehalten wurde.

Die kognitive Leistungsfähigkeit der Replikationsstichprobe wurde gemessen anhand der CERAD-Plus. Diese stellt eine standardisierte Testbatterie zur Diagnostik einer Alzheimer Demenz dar, welche die für diese Erkrankung typischen Defizite in den Bereichen Gedächtnis, Sprache, Praxie und Orientierung abbildet und für die in Studien eine gute Reliabilität, Validität und Auswertungsobjektivität nachgewiesen werden konnte (Morris et al., 1988; Morris et al., 1989; Satzger et al., 2001; Aebi, 2002; Memory Clinic Basel, 2005). Sie wird als Einzeluntersuchung erhoben, welche nach einheitlichen Standards durchgeführt wurde. Wie oben bei der WMS-R beschrieben, sind auch hier Einflüsse durch interindividuelle tageszeitliche Leistungsschwankungen und Copingstrategien nicht vollständig auszuschließen. Die CERAD-Testbatterie ist normiert für einen Altersbereich von 49 bis 92 Jahren, der Plus-Teil für einen Altersbereich von 55 bis 88 Jahren, was dem Probandenkollektiv entspricht.

Limitationen

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine explorative Studie, deren nominal signifikante Ergebnisse in einer unabhängigen Stichprobe überprüft werden sollten, sodass in der Screeningstichprobe auf eine Korrektur für multiples Testen der 20 Index SNPs verzichtet wurde. Als Limitation muss jedoch angeführt werden, dass in der Replikation aufgrund unterschiedlicher Genotypisierungsmethoden nur im LD liegende Variationen bestimmt werden konnten, sowie eine andere Testmethode für die kognitive Leistungserfassung verwendet wurde, sodass die Ergebnisse nur bedingt vergleichbar waren.

Ausblick

Zukünftige Studien sollten demzufolge größere Stichproben mit einheitlichen Testverfahren innerhalb möglicher Substichproben umfassen. Darüber hinaus wäre es wünschenswert, wenn direkt genomweite Sequenzierdaten mit kognitiven Phänotypen in Zusammenhang gebracht

Diskussion

werden könnten, um die Unsicherheiten durch Proxies und ungenügende LD-Abdeckung zu umgehen. Auch sollten mögliche Zusammenhänge mit der Kognition nicht nur in der Allgemeinbevölkerung ohne Risiko für LOAD oder EOAD untersucht werden, sondern auch in Stichproben anderer Demenzformen und anderer neuropsychiatrischer Erkrankungen. Schlussendlich sollten signifikant erworbene SNPs auf Funktionalität getestet und weiterverfolgt werden.

7 Abkürzungsverzeichnis

3MS	modifizierter Mini Mental Status Test
AA	Alzheimer's Association
AD	Demenz bei Alzheimer-Krankheit
ANOVA	univariate Varianzanalyse
APOE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid Precursor Protein
AS	Aminosäure
A β	β -Amyloid
BNT	Boston Naming Test
CAA	zerebrale Amyloid Angiopathie
CCP	complement control protein
cCT	kraniale Computertomographie
CD46P1	CD46 molecule pseudogene 1
CDCA4P3	cell division cycle associated 4 pseudogene 3
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
CERAD-NP	neuropsychologische Testbatterie des Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
CERAD-Plus	erweiterte neuropsychologische Testbatterie des Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
cMRT	kraniale Magnetresonanztomographie
CR1	Komplementrezeptor 1
CR1L	Komplementrezeptor-1-like
CR2	Komplementrezeptor 2
Crry	CR1-related protein Y
DAA	decay-accelerating activity
DAF	decay-accelerating factor
DSM-IV	Diagnostisches und Statistisches Manual psychischer Störungen, vierte Revision
DSST	Digit Symbol Substitution Test
E-CR1	erythrozytengebundener Komplementrezeptor 1
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EOAD	early-onset Alzheimer's disease
EPMS	Extrapyramidalmotorische Störung

Abkürzungsverzeichnis

F	fast
FCSRT	Free and Cued Selected Reminding Test
F_{het}	Heterozygotenfrequenz
GHCl	Guanidinhydrochlorid
GWAS	genomweite Assoziationsstudien
H	high
HWE	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
L	low
LCR	low copy repeat
LD	Linkage Disequilibrium
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
LHR	long homologous repeat
lincRNA	long intergenic non-coding RNA
LOAD	late-onset Alzheimer's disease
MAF	Minorallelfrequenz
MAK	Membranangriffskomplex
MCI	Mild cognitive impairment
MCP	membrane cofactor of proteolysis
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MMST	Mini-Mental-Status-Test
NFT	neurofibrillary tangles
NIA	National Institute on Aging
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OS	oxidativer Stress
PGC	Psychiatric GWAS Consortium
PMN	polymorphkernige Leukozyten
RCA	regulators of complement activation
RFPL	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RISC	RNA-induced silencing complex
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
S	slow
SCR	short consensus repeat
sCR1	löslicher Komplementrezeptor 1

Abkürzungsverzeichnis

SKID	Strukturierten Klinischen Interviews für DSM-IV
SNP	Single nucleotide polymorphism
TMT A/B	Trail Making Test A/B
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
WAIS-IV	Wechsler Adult Intelligence Scale – Fourth Edition
WST	Wortschatztest
WMS-R	Wechsler Memory Scale - Revised

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Faktoren, die an der Entstehung der LOAD beteiligt sind.....	16
Abb. 2:	Lokalisation von CR1, CR2, CR1L, CD46P1, CDCA4P3 und RP11-78B10 auf Chromosom 1q32.2.	18
Abb. 3:	Aufbau und Struktur der CR1-Isoformen CR1*1 und CR1*2.....	23
Abb. 4:	Lokalisation der Index-SNPs im CR1 Gen und in an diese angrenzenden Regionen auf Chromosom 1. Dargestellt ist die Isoform CR1*2.	55

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	CR1 Isoformen in der europäischen Bevölkerung.....	22
Tabelle 2:	Übersicht über die Untertests und die Zusammensetzung der Gesamt-Indizes der WMS-R (In Klammern: Gewichtung des Ergebnisses bei der Auswertung).....	38
Tabelle 3:	F-Werte der ANOVA für die einzelnen Summenrohwerter (Härtig et al., 2000)...	43
Tabelle 4:	Verbrauchsmaterialien, Puffer und Reagenzien für die DNA-Extraktion.....	47
Tabelle 5:	Verbrauchsmaterialien, Puffer und Reagenzien für die DNA-Konzentrationseinstellung.....	48
Tabelle 6:	Lokalisation der Index-SNPs in der CR1-Genregion auf Chromosom 1.....	54
Tabelle 7:	Nominal signifikante Assoziationen der Index-SNPs in der CR1-Region mit den Indizes der WMS-R	57
Tabelle 8:	Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Allgemeines Gedächtnis	58
Tabelle 9:	Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Verbales Gedächtnis.....	58
Tabelle 10:	Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Visuelles Gedächtnis.....	59
Tabelle 11:	Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Verzögerte Wiedergabe	59
Tabelle 12:	Darstellung der signifikanten Assoziationsergebnisse mit dem Index Aufmerksamkeit/Konzentration.....	60
Tabelle 13:	Darstellung der signifikant assoziierten SNPs (Stichprobe 1) und deren Proxies (Stichprobe 2)	61

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 14: Vergleich der Allelfrequenzen der nominal signifikant assoziierten SNPs des Screeningkollektivs mit der europäischen Population des 1000 *Genomes* *Projects Phase 3*..... 73

Tabelle 15: Vergleich der Allelfrequenzen der Proxy SNPs des SReplikationskollektivs mit der europäischen Population des 1000 *Genomes* *Projects Phase 3*..... 74

10 Literatur

Ackenheil M, Stotz-Ingenlath G, Dietz-Bauer R, Vossen A (Hrsg) (1999) M.I.N.I. Mini International Neuropsychiatric Interview. German version 5.0.0. DSM IV, München: Psychiatrische Universitätsklinik München

Aebi C (2002) Validierung der neuropsychologischen Testbatterie CERAD-NP : eine Multi-Center Studie

Akiyama H, Barger S, Barnum S et al (2000) Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 21:383–421

Almeida VN, Radanovic M (2022) Semantic processing and neurobiology in Alzheimer's disease and Mild Cognitive Impairment. *Neuropsychologia* 174:108337. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2022.108337

Alzheimer Europe (2013) Prevalence of dementia in Europe. <http://www.alzheimer-europe.org/Research/European-Collaboration-on-Dementia/Prevalence-of-dementia/Prevalence-of-dementia-in-Europe>. Zugegriffen: 29. Dezember 2017

Alzheimer's Association (2017) Alzheimer's disease facts and figures. https://www.alz.org/documents_custom/2017-facts-and-figures.pdf. Zugegriffen: 20. Oktober 2017

Andrews SJ, McFall GP, Booth A, Dixon RA, Anstey KJ (2019) Association of Alzheimer's Disease Genetic Risk Loci with Cognitive Performance and Decline: A Systematic Review. *J Alzheimers Dis* 69:1109–1136. doi:10.3233/JAD-190342

Arrighi HM, Neumann PJ, Lieberburg IM, Townsend RJ (2010) Lethality of Alzheimer disease and its impact on nursing home placement. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 24:90–95

Aubry JP, Pochon S, Graber P, Jansen KU, Bonnefoy JY (1992) CD21 is a ligand for CD23 and regulates IgE production. *Nature* 358:505–507

Bäckman L, Small BJ, Fratiglioni L (2001) Stability of the preclinical episodic memory deficit in Alzheimer's disease. *Brain* 124:96–102

Bagyinszky E, Youn YC, An SSA, Kim S (2014) The genetics of Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging* 9:535–551

Bahado-Singh RO, Vishweswaraiah S, Aydas B, Yilmaz A, Metpally RP, Carey DJ, Crist RC, Berrettini WH, Wilson GD, Imam K, Maddens M, Bisgin H, Graham SF, Radhakrishna U (2021) Artificial intelligence and leukocyte epigenomics: Evaluation and prediction of late-onset Alzheimer's disease. *PLoS ONE* 16:e0248375. doi:10.1371/journal.pone.0248375

Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE et al (2022) New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat Genet* 54:412–436. doi:10.1038/s41588-022-01024-z

Belleville S, Fouquet C, Hudon C, Zomahoun HTV, Croteau J (2017) Neuropsychological Measures that Predict Progression from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's type dementia in Older Adults: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychol rev* 27:328–353. doi:10.1007/s11065-017-9361-5

Bhat AA, Younes SN, Raza SS, Zarif L, Nisar S, Ahmed I, Mir R, Kumar S, Sharawat SK, Hashem S, Elfaki I, Kulinski M, Kuttikrishnan S, Prabhu KS, Khan AQ, Yadav SK, El-Rifai W, Zargar MA, Zayed H, Haris M, Uddin S (2020) Role of non-coding RNA networks in leukemia progression, metastasis and drug resistance. *Mol Cancer* 19:57. doi:10.1186/s12943-020-01175-9

Literatur

- Birmingham DJ, Hebert LA (2001) CR1 and CR1-like; The primate immune adherence receptors. *Immunol Rev* 180:100–111
- Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82:239–259
- Bramon E, Pirinen M, Strange A et al (2014) A genome-wide association analysis of a broad psychosis phenotype identifies three loci for further investigation. *Biol Psychol* 75:386–397
- Brouwers N, van Cauwenberghe C, Engelborghs S, Lambert J-C, Bettens K, Le Bastard N, Pasquier F, Montoya AG, Peeters K, Mattheijssens M, Vandenberghe R, Deyn PP de, Cruts M, Amouyel P, Sleegers K, van Broeckhoven C (2012) Alzheimer risk associated with a copy number variation in the complement receptor 1 increasing C3b/C4b binding sites. *Mol Psychiatry* 17:223–233
- Brubaker WD, Crane A, Johansson JU, Yen K, Garfinkel K, Mastroeni D, Asok P, Bradt B, Sabbagh M, Wallace TL, Glavis-Bloom C, Tenner AJ, Rogers J (2017) Peripheral complement interactions with amyloid β peptide; Erythrocyte clearance mechanisms. *Alzheimers Dement* 13:1397–1409
- Brunnström HR, Englund EM (2009) Cause of death in patients with dementia disorders. *Eur J Neurol* 16:488–492
- Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (2020) ICD-10-GM Version 2021; Band I: Systematisches Verzeichnis. Kohlhammer, Stuttgart
- Cacace R, Sleegers K, van Broeckhoven C (2016) Molecular Genetics of Early-onset Alzheimer's Disease Revisited. *Alzheimers Dement* 12:733–748
- Canova C, Neal JW, Gasque P (2006) Expression of innate immune complement regulators on brain epithelial cells during human bacterial meningitis. *J Neuroinflammation* 3:22
- Carroll MC (1998) The role of complement and complement receptors in induction and regulation of immunity. *Annu Rev Immunol* 16:545–568
- Carroll MC, Alicot EM, Katzman PJ, Klickstein LB, Smith JA, Fearon DT (1988) Organization of the genes encoding complement receptors type 1 and 2, decay-accelerating factor, and C4-binding protein in the RCA locus on human chromosome 1. *J Exp Med* 167:1271–1280
- Chang CC, Chow CC, Tellier LC, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ (2015) Second-generation PLINK; Rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience* 4:7
- Chen P, Ratcliff G, Belle SH, Cauley JA, DeKosky ST, Ganguli M (2001) Patterns of cognitive decline in presymptomatic Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* 58:853
- Chêne G, Beiser A, Au R, Preis SR, Wolf PA, Dufouil C, Seshadri S (2015) Gender and incidence of dementia in the Framingham Heart Study from mid-adult life. *Alzheimers Dement* 11:310–320. doi:10.1016/j.jalz.2013.10.005
- Cherry BJ, Buckwalter JG, Henderson VW (2002) Better preservation of memory span relative to supraspan immediate recall in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 40:846–852
- Chibnik LB, Shulman JM, Leurgans SE, Schneider JA, Wilson RS, Tran D, Aubin C, Buchman AS, Heward CB, Myers AJ, Hardy JA, Huentelman MJ, Corneveaux JJ, Reiman EM, Evans DA, Bennett DA, Jager PL de (2011) CR1 is associated with amyloid plaque burden and age-related cognitive decline. *Ann Neurol* 69:560–569
- Chorev M, Carmel L (2012) The Function of Introns. *Front Genet* 3. doi:10.3389/fgene.2012.00055
- Chung SJ, Kim M-J, Kim YJ, Kim J, You S, Jang EH, Kim SY, Lee J-H (2014) CR1, ABCA7, and APOE genes affect the features of cognitive impairment in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 339:91–96. doi:10.1016/j.jns.2014.01.029

Literatur

- Colhoun HM, McKeigue PM, Smith GD (2003) Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 361:865–872
- Cornillet P, Philbert F, Kazatchkine MD, Cohen J (1991) Genomic determination of the CR1 (CD35) density polymorphism on erythrocytes using polymerase chain reaction amplification and HindIII restriction enzyme digestion. *J Immunol Methods* 136:193–197
- Cox MF, Hascup ER, Bartke A, Hascup KN (2022) Friend or Foe? Defining the Role of Glutamate in Aging and Alzheimer's Disease. *Front Aging* 3:929474. doi:10.3389/fragi.2022.929474
- Crehan H, Hardy J, Pocock J (2013) Blockage of CR1 prevents activation of rodent microglia. *Neurobiol Dis* 54:139–149. doi:10.1016/j.nbd.2013.02.003
- Cruz-Sanabria F, Bonilla-Vargas K, Estrada K, Mancera O, Vega E, Guerrero E, Ortega-Rojas J, Mahecha María F, Romero A, Montañés P, Celeita V, Arboleda H, Pardo R (2021) Analysis of cognitive performance and polymorphisms of SORL1, PVRL2, CR1, TOMM40, APOE, PICALM, GWAS_14q, CLU, and BIN1 in patients with mild cognitive impairment and cognitively healthy controls. *Neurologia (Engl Ed)* 36:681–691. doi:10.1016/j.nrleng.2018.07.012
- Danielsson C, Pascual M, French L, Steiger G, Schifferli JA (1994) Soluble complement receptor type 1 (CD35) is released from leukocytes by surface cleavage. *Eur J Neurol* 24:2725–2731. doi:10.1002/eji.1830241123
- Delaneau O, Marchini J, Zagury J-F (2011) A linear complexity phasing method for thousands of genomes. *Nat Methods* 9:179–181. doi:10.1038/nmeth.1785
- Delcayre AX, Salas F, Mathur S, Kovats K, Lotz M, Lernhardt W (1991) Epstein Barr virus/complement C3d receptor is an interferon alpha receptor. *EMBO J* 10:919–926. doi:10.1002/j.1460-2075.1991.tb08025.x
- Derbie AY, Dejenie MA, Zegeye TG (2022) Visuospatial representation in patients with mild cognitive impairment: Implication for rehabilitation. *Medicine* 101:e31462. doi:10.1097/MD.00000000000031462
- Deuschl G, Maier W (2016) S3 Leitlinie Demenzen. 2016. Deutsche Gesellschaft für Neurologie. www.dgn.org/leitlinien. Zugegriffen: 20. Oktober 2017
- Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. (2022) Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen
- Diamond A (2013) Executive functions. *Annu Rev Psychol* 64:135–168. doi:10.1146/annurev-psych-113011-143750
- Doens D, Fernández PL (2014) Microglia receptors and their implications in the response to amyloid β for Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neuroinflammation* 11:48. doi:10.1186/1742-2094-11-48
- Dourlen P, Kilinc D, Malmanche N, Chapuis J, Lambert J-C (2019) The new genetic landscape of Alzheimer's disease: from amyloid cascade to genetically driven synaptic failure hypothesis? *Acta Neuropathol* 138:221–236. doi:10.1007/s00401-019-02004-0
- Drago A, Giegling I, Schafer M, Hartmann AM, Konte B, Friedl M, Serretti A, Rujescu D (2014) Genome-wide association study supports the role of the immunological system and of the neurodevelopmental processes in response to haloperidol treatment. *Pharmacogenet Genomics* 24:314–319. doi:10.1097/FPC.0000000000000052
- Drzezga A, Lautenschlager N, Siebner H, Riemenschneider M, Willoch F, Minoshima S, Schwaiger M, Kurz A (2003) Cerebral metabolic changes accompanying conversion of mild cognitive impairment into Alzheimer's disease; A PET follow-up study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 30:1104–1113. doi:10.1007/s00259-003-1194-1

Literatur

- Dunkelberger JR, Song W-C (2010) Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res* 20:34–50. doi:10.1038/cr.2009.139
- Eichenbaum H (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci* 1:41–50. doi:10.1038/35036213
- Fearon DT, Wong WW (1983) Complement ligand-receptor interactions that mediate biological responses. *Annu Rev Immunol* 1:243–271. doi:10.1146/annurev.iy.01.040183.001331
- Feldman HH, Woodward M (2005) The staging and assessment of moderate to severe Alzheimer disease. *Neurology* 65:10-17. doi:10.1212/WNL.65.6_suppl_3.S10
- First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JB (Hrsg) (1996) Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV). American Psychiatric Press, Inc., Washington, DC
- First MB, Gibbon M, Spitzer RL, Williams JB (Hrsg) (1997) Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis II Personality Disorders. American Psychiatric Press, Inc., Washington, DC
- Fonseca MI, Chu S, Pierce AL, Brubaker WD, Hauhart RE, Mastroeni D, Clarke EV, Rogers J, Atkinson JP, Tenner AJ (2016) Analysis of the putative role of CR1 in Alzheimer's disease; Genetic association, expression and function. *PLoS ONE* 11:e0149792. doi:10.1371/journal.pone.0149792
- Friedrichs J (1985) Methoden empirischer Sozialforschung. Westdt. Verl., Opladen
- Frisoni GB, Altomare D, Thal DR, Ribaldi F, van der Kant R, Ossenkoppele R, Blennow K, Cummings J, van Duijn C, Nilsson PM, Dietrich P-Y, Scheltens P, Dubois B (2022) The probabilistic model of Alzheimer disease: the amyloid hypothesis revised. *Nat Rev Neurosci* 23:53–66. doi:10.1038/s41583-021-00533-w
- Fyfe A, Holme ER, Zoma A, Whaley K (1987) C3b receptor (CR1) expression on the polymorphonuclear leukocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 67:300–308
- Galfalvy H, Haghighi F, Hodgkinson C, Goldman D, Oquendo MA, Burke A, Huang Y, Giegling I, Rujescu D, Bureau A, Turecki G, Mann JJ (2015) A genome-wide association study of suicidal behavior. *Am J Med Genet* 168:557–563. doi:10.1002/ajmg.b.32330
- Ganguli M, Dodge HH, Shen C, Pandav RS, DeKosky ST (2005) Alzheimer disease and mortality: a 15-year epidemiological study. *Arch Neurol* 62:779–784. doi:10.1001/archneur.62.5.779
- Gasque P, Fontaine M, Morgan BP (1995) Complement expression in human brain. Biosynthesis of terminal pathway components and regulators in human glial cells and cell lines. *J Immunol* 154:4726–4733
- Gasque P, Chan P, Mauger C, Schouft MT, Singhrao S, Dierich MP, Morgan BP, Fontaine M (1996) Identification and characterization of complement C3 receptors on human astrocytes. *J Immunol* 156:2247–2255
- Gella A, Durany N (2014) Oxidative stress in Alzheimer disease. *Cell Adh Migr* 3:88–93. doi:10.4161/cam.3.1.7402
- Ghisso J, Tomidokoro Y, Revesz T, Frangione B, Rostagno A (2010) Cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer's disease. *Hirosaki Igaku* 61:111-124
- Ghoshal N (2002) Tau conformational changes correspond to impairments of episodic memory in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 177:475–493. doi:10.1006/exnr.2002.8014

Literatur

- Green RC, Cupples LA, Go R, Benke KS, Edeki T, Griffith PA, Williams M, Hipps Y, Graff-Radford N, Bachman D, Farrer LA (2002) Risk of dementia among white and African American relatives of patients with Alzheimer disease. *JAMA* 287:329–336
- Green KN, LaFerla FM (2008) Linking calcium to Abeta and Alzheimer's disease. *Neuron* 59:190–194. doi:10.1016/j.neuron.2008.07.013
- Hamer I, Paccaud J-P, Belin D, Maeder C, Carpentier J-L (1998) Soluble form of complement C3b/C4b receptor (CR1) results from a proteolytic cleavage in the C-terminal region of CR1 transmembrane domain. *Biochem J* 329:183–190. doi:10.1042/bj3290183
- Hansson HH, Kurtzhals JA, Goka BQ, Rodrigues OP, Nkrumah FN, Theander TG, Bygbjerg IC, Alifrangis M (2013) Human genetic polymorphisms in the Knops blood group are not associated with a protective advantage against *Plasmodium falciparum* malaria in Southern Ghana. *Malar J* 12:400. doi:10.1186/1475-2875-12-400
- Hart RP, Kwentus JA, Taylor JR, Harkins SW (1987) Rate of forgetting in dementia and depression. *J Consult Clin Psychol* 55:101–105. doi:10.1037/0022-006X.55.1.101
- Härting C, Markowitsch HJ, Neufeld H, Calabrese P, Deisinger K, Kessler J (2000) Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung: WMS-R; Deutsche Adaptation der revidierten Fassung der Wechsler Memory Scale, Manual. Hans Huber, Bern
- Hazrati L-N, van Cauwenberghe C, Brooks PL, Brouwers N, Ghani M, Sato C, Cruts M, Sleegers K, St George-Hyslop P, van Broeckhoven C, Rogaeve E (2012) Genetic association of CR1 with Alzheimer's disease; A tentative disease mechanism. *Neurobiol Aging* 33:2949.e5-2949.e12. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2012.07.001
- Herrera AH, Xiang L, Martin S, Lewis J, Wilson JG (1998) Analysis of complement receptor type 1 (CR1) expression on erythrocytes and of CR1 allelic markers in caucasian and African American populations. *Clin Immunol Immunopathol* 87:176–183. doi:10.1006/clin.1998.4529
- Hodges JR, Salmon DP, Butters N (1992) Semantic memory impairment in Alzheimer's disease: failure of access or degraded knowledge? *Neuropsychologia* 30:301–314
- Hollingsworth P, Harold D, Sims R et al (2011) Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 43:429–435. doi:10.1038/ng.803
- Howie B, Marchini J, Stephens M (2011) Genotype imputation with thousands of genomes. *G3 (Bethesda)* 1:457–470. doi:10.1534/g3.111.001198
- Howie BN, Donnelly P, Marchini J (2009) A flexible and accurate genotype imputation method for the next generation of genome-wide association studies. *PLoS Genet* 5:e1000529. doi:10.1371/journal.pgen.1000529
- Humphries C, Kohli MA, Whitehead P, Mash DC, Pericak-Vance MA, Gilbert J (2015) Alzheimer disease (AD) specific transcription, DNA methylation and splicing in twenty AD associated loci. *Mol Cell Neurosci* 67:37–45. doi:10.1016/j.mcn.2015.05.003
- Iqbal K, Liu F, Gong C-X, Grundke-Iqbal I (2010) Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Curr Alzheimer Res* 7:656–664. doi:10.2174/156720510793611592
- Ives DG, Samuel P, Psaty BM, Kuller LH (2009) Agreement between nosologist and cardiovascular health study review of deaths: implications of coding differences. *J Am Geriatr Soc* 57:133–139. doi:10.1111/j.1532-5415.2008.02056.x
- Jack CR, Lowe VJ, Weigand SD, Wiste HJ, Senjem ML, Knopman DS, Shiung MM, Gunter JL, Boeve BF, Kemp BJ, Weiner M, Petersen RC (2009) Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive

Literatur

impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain* 132:1355–1365. doi:10.1093/brain/awp062

Jack CR, Albert MS, Knopman DS, Mckhann GM, Sperling RA, Carrillo MC, Thies B, Phelps CH (2011) Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7:257–262. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.004

Java A, Liszewski MK, Hourcade DE, Zhang F, Atkinson JP (2015) Role of complement receptor 1 (CR1; CD35) on epithelial cells: a model for understanding complement-mediated damage in the kidney. *Mol Immunol* 67:584–595. doi:10.1016/j.molimm.2015.07.016

Jo B-S, Choi SS (2015) Introns: The Functional Benefits of Introns in Genomes. *Genomics Inform.* 13:112. doi:10.5808/GI.2015.13.4.112

Johnson DK, Storandt M, Morris JC, Galvin JE (2009) Longitudinal study of the transition from healthy aging to Alzheimer disease. *Arch Neurol* 66:1254–1259. doi:10.1001/archneurol.2009.158

Kalia M (2003) Dysphagia and aspiration pneumonia in patients with Alzheimer's disease. *Metabolism* 52:36–38. doi:10.1016/S0026-0495(03)00300-7

Kam T-I, Gwon Y, Jung Y-K (2014) Amyloid beta receptors responsible for neurotoxicity and cellular defects in Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci* 71:4803–4813. doi:10.1007/s00018-014-1706-0

Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, Sisodia S, Malinow R (2003) APP processing and synaptic function. *Neuron* 37:925–937. doi:10.1016/S0896-6273(03)00124-7

Karantzoulis S, Galvin JE (2011) Distinguishing Alzheimer's disease from other major forms of dementia. *Expert Rev Neurother* 11:1579–1591. doi:10.1586/ern.11.155

Kessler J, Denzler P, Markowitsch HJ (1990) Mini-Mental-Status-Test; Deutschsprachige Fassung. Beltz, Weinheim

Killick R, Hughes TR, Morgan BP, Lovestone S (2013) Deletion of Crry, the murine ortholog of the sporadic Alzheimer's disease risk gene CR1, impacts tau phosphorylation and brain CFH. *Neurosci Lett* 533:96–99. doi:10.1016/j.neulet.2012.11.008

Kirkitadze MD, Barlow PN (2001) Structure and flexibility of the multiple domain proteins that regulate complement activation. *Immunol Rev* 180:146–161. doi:10.1034/j.1600-065X.2001.1800113.x

Klickstein LB, Wong WW, Smith JA, Weis JH, Wilson JG, Fearon DT (1987) Human C3b/C4b receptor (CR1): demonstration of long homologous repeating domains that are composed of the short consensus repeats characteristic of C3/C4 binding proteins. *J Exp Med* 165:1095–1112

Klos A, Tenner AJ, Johswich K-O, Ager RR, Reis ES, Köhl J (2009) The role of the anaphylatoxins in health and disease. *Mol Immunol* 46:2753–2766. doi:10.1016/j.molimm.2009.04.027

Kremlitzka M, Polgár A, Fülöp L, Kiss E, Poór G, Erdei A (2013) Complement receptor type 1 (CR1, CD35) is a potent inhibitor of B-cell functions in rheumatoid arthritis patients. *Int Immunol* 25:25–33. doi:10.1093/intimm/dxs090

Kremlitzka M, Mácsik-Valent B, Polgár A, Kiss E, Poór G, Erdei A (2016) Complement receptor type 1 suppresses human B cell functions in SLE patients. *J Immunol Res* 2016:5758192. doi:10.1155/2016/5758192

Literatur

- Krych-Goldberg M, Atkinson JP (2001) Structure-function relationships of complement receptor type 1. *Immunol Rev* 180:112–122. doi:10.1034/j.1600-065X.2001.1800110.x
- Krych-Goldberg M, Moulds JM, Atkinson JP (2002) Human complement receptor type 1 (CR1) binds to a major malarial adhesin. *Trends Mol Med* 8:531–537. doi:10.1016/S1471-4914(02)02419-X
- Kucukkilic E, Brookes K, Barber I, Guetta-Baranes T, Morgan K, Hollox EJ (2018) Complement receptor 1 gene (CR1) intragenic duplication and risk of Alzheimer's disease. *Hum Genet* 137:305–314. doi:10.1007/s00439-018-1883-2
- Kumar A, Singh A, Ekavali (2015) A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management; An update. *Pharmacol Rep* 67:195–203. doi:10.1016/j.pharep.2014.09.004
- Kunkle BW, Grenier-Boley B, Sims R et al (2019) Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing. *Nat Genet* 51:414–430. doi:10.1038/s41588-019-0358-2
- Lachner G, Engel RR (1994) Differentiation of dementia and depression by memory tests. *J Nerv Ment Dis* 182:34–39. doi:10.1097/00005053-199401000-00007
- Lambert J-C, Heath S, Even G et al (2009) Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 41:1094–1099. doi:10.1038/ng.439
- Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D et al (2013) Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet* 45:1452–1458. doi:10.1038/ng.2802
- Lancour D, Naj A, Mayeux R, Haines JL, Pericak-Vance MA, Schellenberg GD, Crovella M, Farrer LA, Kasif S (2018) One for all and all for One: Improving replication of genetic studies through network diffusion. *PLoS Genet* 14:e1007306. doi:10.1371/journal.pgen.1007306
- Lane CA, Hardy J, Schott JM (2018) Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 25:59–70. doi:10.1111/ene.13439
- Lee H-G, Perry G, Moreira PI, Garrett MR, Liu Q, Zhu X, Takeda A, Nunomura A, Smith MA (2005) Tau phosphorylation in Alzheimer's disease; Pathogen or protector? *Trends Mol Med* 11:164–169. doi:10.1016/j.molmed.2005.02.008
- Lencz T, Knowles E, Davies G et al (2013) Molecular genetic evidence for overlap between general cognitive ability and risk for schizophrenia: a report from the Cognitive Genomics consortium (COGENT). *Mol Psychiatry* 19:168–174. doi:10.1038/mp.2013.166
- Levy E, Ambrus J, Kahl L, Molina H, Tung K, Holers VM (1992) T lymphocyte expression of complement receptor 2 (CR2/CD21): a role in adhesive cell-cell interactions and dysregulation in a patient with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol* 90:235–244
- Logar CM, Chen W, Schmitt H, Yu CY, Birmingham DJ (2004) A human CR1-like transcript containing sequence for a binding protein for iC4 is expressed in hematopoietic and fetal lymphoid tissue. *Mol Immunol* 40:831–840. doi:10.1016/j.molimm.2003.09.010
- Luck T, Riedel-Heller SG, Wiese B, Stein J, Weyerer S, Werle J, Kaduszkiewicz H, Wagner M, Mösch E, Zimmermann T, Maier W, Bickel H, van den Bussche H, Jessen F, Fuchs A, Pentzek M (2009) CERAD-NP-Testbatterie: Alters-, geschlechts- und bildungsspezifische Normen ausgewählter Subtests. Ergebnisse der German Study on Ageing, Cognition and Dementia in Primary Care Patients (AgeCoDe). *Z Gerontol Geriatr* 42:372–384. doi:10.1007/s00391-009-0031-y

Literatur

- Lyketsos CG, Steinberg M, Tschanz JT, Norton MC, Steffens DC, Breitner JC (2000) Mental and behavioral disturbances in dementia: findings from the Cache County Study on Memory in Aging. *Am J Psychiatry* 157:708–714. doi:10.1176/appi.ajp.157.5.708
- Lynch MA (2004) Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84:87–136. doi:10.1152/physrev.00014.2003
- Mahmoudi R, Kisserli A, Novella J-L, Donvito B, Drame M, Reveil B, Duret V, Jolly D, Pham B-N, Cohen JH (2015) Alzheimer's disease is associated with low density of the long CR1 isoform. *Neurobiol Aging* 36:1766.e5-1766.e12. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2015.01.006
- Mahmoudi R, Feldman S, Kisserli A, Duret V, Tabary T, Bertholon L-A, Badr S, Nonnonhou V, Cesar A, Neuraz A, Novella JL, Cohen JHM (2018) Inherited and Acquired Decrease in Complement Receptor 1 (CR1) Density on Red Blood Cells Associated with High Levels of Soluble CR1 in Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci* 19. doi:10.3390/ijms19082175
- Manns JR, Hopkins RO, Squire LR (2003) Semantic memory and the human hippocampus. *Neuron* 38:127–133. doi:10.1016/S0896-6273(03)00146-6
- Maragos WF, Greenamyre J, Penney JB, Young AB (1987) Glutamate dysfunction in Alzheimer's disease: an hypothesis. *Trends Neurosci* 10:65–68. doi:10.1016/0166-2236(87)90025-7
- Marchbank KJ, Watson CC, Ritsema DF, Holers VM (2000) Expression of Human Complement Receptor 2 (CR2, CD21) in Cr2-/- Mice Restores Humoral Immune Function. *J Immunol* 165:2354–2361. doi:10.4049/jimmunol.165.5.2354
- Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, Munsell L, Kasten T, Morris JC, Yarasheski KE, Bateman RJ (2010) Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science* 330:1774. doi:10.1126/science.1197623
- McCloskey ML, Curotto de Lafaille MA, Carroll MC, Erlebacher A (2011) Acquisition and presentation of follicular dendritic cell-bound antigen by lymph node-resident dendritic cells. *J Exp Med* 208:135–148. doi:10.1084/jem.20100354
- Memory Clinic (2009) Die Neuropsychologische Testbatterie CERAD-Plus. <https://www.memoryclinic.ch/de/main-navigation/neuropsychologen/cerad-plus/>
- Memory Clinic Basel (2005) CERAD-Plus; Neuropsychologische Testbatterie, Revised edition. Manual, Basel
- Mevel K, Chételat G, Eustache F, Desgranges B (2011) The default mode network in healthy aging and Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis* 2011:535816. doi:10.4061/2011/535816
- Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA (2014) Clinical epidemiology of Alzheimer's disease; Assessing sex and gender differences. *Clin Epidemiol* 6:37–48. doi:10.2147/CLEP.S37929
- Mizuno M, Suzuki Y, Ito Y (2017) Complement regulation and kidney diseases: recent knowledge of the double-edged roles of complement activation in nephrology. *Clin Exp Nephrol*:1–12. doi:10.1007/s10157-017-1405-x
- Molin P, Rockwood K (2016) The New Criteria for Alzheimer's Disease - Implications for Geriatricians. *Can Geriatr J* 19:66–73. doi:10.5770/cgj.19.207
- Monti JM, Balota DA, Warren DE, Cohen NJ (2014) Very mild Alzheimer's disease is characterized by increased sensitivity to mnemonic interference. *Neuropsychologia* 59:47–56. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2014.04.007
- Morris JC, Mohs RC, Rogers H, Fillenbaum G, Heyman A (1988) Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD) clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Psychopharmacol Bull* 24:641–652

Literatur

- Morris JC, Heyman A, Mohs RC, Hughes JP, van Belle G, Fillenbaum G, Mellits ED, Clark C (1989) The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 39:1159–1165. doi:10.1212/wnl.39.9.1159
- Mukherjee S, Russell JC, Carr DT, Burgess JD, Allen M, Serie DJ, Boehme KL, Kauwe JSK, Naj AC, Fardo DW, Dickson DW, Montine TJ, Ertekin-Taner N, Kaeberlein MR, Crane PK (2017) Systems biology approach to late-onset Alzheimer's disease genome-wide association study identifies novel candidate genes validated using brain expression data and *Caenorhabditis elegans* experiments. *Alzheimers Dement* 13:1133–1142. doi:10.1016/j.jalz.2017.01.016
- Murphy MP, LeVine H (2010) Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide. *J Alzheimers Dis* 19:311–323. doi:10.3233/JAD-2010-1221
- Need AC, Ge D, Weale ME et al (2009) A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS Genet* 5:e1000373. doi:10.1371/journal.pgen.1000373
- Nemerow GR, Houghten RA, Moore MD, Cooper NR (1989) Identification of an epitope in the major envelope protein of Epstein-Barr virus that mediates viral binding to the B lymphocyte EBV receptor (CR2). *Cell* 56:369–377. doi:10.1016/0092-8674(89)90240-7
- Nettiksimmons J, Tranah G, Evans DS, Yokoyama JS, Yaffe K (2016) Gene-based aggregate SNP associations between candidate AD genes and cognitive decline. *Age (Dordr)* 38:41. doi:10.1007/s11357-016-9885-2
- Oukoloff K, Cieslikiewicz-Bouet M, Chao S, Da Costa Branquinho E, Bouteiller C, Jean L, Renard P-Y (2015) PET and SPECT Radiotracers for Alzheimer's Disease. *Curr Med Chem* 22:3278–3304
- Pan Q, Shai O, Lee LJ, Frey BJ, Blencowe BJ (2008) Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing. *Nat Genet* 40:1413–1415. doi:10.1038/ng.259
- Pascual M, Duchosal MA, Steiger G, Giostra E, Pechère A, Paccaud JP, Danielsson C, Schifferli JA (1993) Circulating soluble CR1 (CD35). Serum levels in diseases and evidence for its release by human leukocytes. *J Immunol* 151:1702–1711
- Pedraza O, Allen M, Jennette K, Carrasquillo M, Crook J, Serie D, Pankratz VS, Palusak R, Nguyen T, Malphrus K, Ma L, Bisceglia G, Roberts RO, Lucas JA, Ivnik RJ, Smith GE, Graff-Radford NR, Petersen RC, Younkin SG, Ertekin-Taner N (2014) Evaluation of memory endophenotypes for association with CLU, CR1, and PICALM variants in black and white subjects. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 10:205–213. doi:10.1016/j.jalz.2013.01.016
- Penke B, Bogár F, Fülöp L (2017) β -Amyloid and the pathomechanisms of Alzheimer's disease; A Comprehensive View. *Molecules* 22. doi:10.3390/molecules22101692
- Petermann F (Hrsg) (2012) Wechsler Adult Intelligence Scale - fourth edition (WAIS-IV); Grundlagen, Testauswertung und Interpretation. Pearson, Frankfurt, M.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E (1999) Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 56:303–308
- Petersen RC (2016) Mild cognitive impairment. *Continuum* 22:404–418. doi:10.1212/CON.0000000000000313
- Pham B-N, Kisserli A, Donvito B, Duret V, Reveil B, Tabary T, Le Pennec P-Y, Peyrard T, Rouger P, Cohen JHM (2010) Analysis of complement receptor type 1 expression on red blood cells in negative phenotypes of the Knops blood group system, according to CR1 gene allotype polymorphisms. *Transfusion* 50:1435–1443. doi:10.1111/j.1537-2995.2010.02599.x

Literatur

- Portet F, Scarmeas N, Cosentino S, Helzner EP, Stern Y (2009) Extrapyrarnidal signs before and after diagnosis of incident Alzheimer disease in a prospective population study. *Arch Neurol* 66:1120–1126. doi:10.1001/archneurol.2009.196
- Povova J, Ambroz P, Bar M, Pavukova V, Sery O, Tomaskova H, Janout V (2012) Epidemiological of and risk factors for Alzheimer's disease: a review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 156:108–114. doi:10.5507/bp.2012.055
- Priebe L, Degenhardt F, Strohmaier J, Breuer R, Herms S, Witt SH, Hoffmann P, Kulbida R, Mattheisen M, Moebus S, Meyer-Lindenberg A, Walter H, Mossner R, Nenadic I, Sauer H, Rujescu D, Maier W, Rietschel M, Nothen MM, Cichon S, Reif A (2013) Copy number variants in German patients with schizophrenia. *PLoS ONE* 8:e64035. doi:10.1371/journal.pone.0064035
- Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali G-C, Wu Y-T, Prina M (2015) World Alzheimer report 2015; The global impact of dementia. An analysis of prevalence, incidence, cost and trends.
- Quental NBM, Brucki SMD, Bueno OFA (2013) Visuospatial function in early Alzheimer's disease—the use of the Visual Object and Space Perception (VOSP) battery. *PLoS ONE* 8:e68398. doi:10.1371/journal.pone.0068398
- Reilly BD, Pfeiffer A, Petney K, Atkinson JP (2010) Human peripheral CD4+ T-cells expressing complement receptor 1 (CR1, CD35). *J Immunol*
- Reitz C, Brayne C, Mayeux R (2011) Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 7:137–152. doi:10.1038/nrneurol.2011.2
- Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI, Schuckit MA, Begleiter H (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19:1018–1023
- Richter V, Guthke J (1996) Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI). Hogrefe Verlag für Psychiatrie, Göttingen
- Rizzo M, Anderson SW, Dawson J, Nawrot M (2000) Vision and cognition in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 38:1157–1169
- Rødgaard A, Thomsen S, Bendixen G, Bendtzen K (1995) Increased expression of complement receptor type 1 (CR1, CD35) on human peripheral blood T lymphocytes after polyclonal activation in vitro. *Immunol Res* 14:69–76. doi:10.1007/BF02918498
- Rohrer D, Salmon DP, Wixted JT, Paulsen JS (1999) The disparate effects of Alzheimer's disease and Huntington's disease on semantic memory. *Neuropsychology* 13:381–388
- Rose AB (2018) Introns as Gene Regulators; A Brick on the Accelerator. *Front Genet.* 9:672. doi:10.3389/fgene.2018.00672
- Rowe JA, Raza A, Diallo DA, Baby M, Poudiogo B, Coulibaly D, Cockburn IA, Middleton J, Lyke KE, Plowe CV, Doumbo OK, Moulds JM (2002) Erythrocyte CR1 expression level does not correlate with a HindIII restriction fragment length polymorphism in Africans; implications for studies on malaria susceptibility. *Genes Immun* 3:497–500. doi:10.1038/sj.gene.6363899
- Rujescu D, Hartmann AM, Giegling I, Konte B, Herrling M, Himmelein S, Strupp M (2018) Genome-Wide Association Study in Vestibular Neuritis; Involvement of the Host Factor for HSV-1 Replication. *Front Neurol.* 9:591. doi:10.3389/fneur.2018.00591
- Sanabria-Castro A, Alvarado-Echeverría I, Monge-Bonilla C (2017) Molecular pathogenesis of Alzheimer's disease: an update. *Ann Neurol* 24:46–54. doi:10.1159/000464422
- Sarma JV, Ward PA (2011) The complement system. *Cell Tissue Res* 343:227–235. doi:10.1007/s00441-010-1034-0

Literatur

- Satzger W, Hampel H, Padberg F, Bürger K, Nolde T, Ingrassia G, Engel RR (2001) Zur praktischen Anwendung der CERAD-Testbatterie als neuropsychologisches Demenzscreening. *Nervenarzt* 72:196–203. doi:10.1007/s001150050739
- Schmidt K-H, Metzler P (1992) WST. Wortschatztest. Beltz, Weinheim
- Schulz KF, Grimes DA (2005) Sample size calculations in randomised trials: mandatory and mystical. *Lancet* 365:1348–1353. doi:10.1016/S0140-6736(05)61034-3
- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT (2011) Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 1:a006189. doi:10.1101/cshperspect.a006189
- Shabalina SA, Ogurtsov AY, Spiridonov AN, Novichkov PS, Spiridonov NA, Koonin EV (2010) Distinct Patterns of Expression and Evolution of Intronless and Intron-Containing Mammalian Genes. *Mol Biol Evol*. 27:1745–1749. doi:10.1093/molbev/msq086
- Shulman KI, Pushkar Gold D, Cohen CA, Zuccherro CA (1993) Clock-drawing and dementia in the community: A longitudinal study. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 8:487–496. doi:10.1002/gps.930080606
- Sims R, Hill M, Williams J (2020) The multiplex model of the genetics of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 23:311–322. doi:10.1038/s41593-020-0599-5
- Singhrao SK, Neal JW, Rushmere NK, Morgan BP, Gasque P (1999) Differential expression of individual complement regulators in the brain and choroid plexus. *Lab Invest* 79:1247–1259
- Sirkis DW, Bonham LW, Johnson TP, La Joie R, Yokoyama JS (2022) Dissecting the clinical heterogeneity of early-onset Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 27:2674–2688. doi:10.1038/s41380-022-01531-9
- Stefansson H, Rujescu D, Cichon S et al (2008) Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 455:232–236. doi:10.1038/nature07229
- Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, Zimmerman S, Twik M, Fishilevich S, Stein TI, Nudel R, Lieder I, Mazor Y, Kaplan S, Dahary D, Warshawsky D, Guan-Golan Y, Kohn A, Rappaport N, Safran M, Lancet D (2016) The GeneCards Suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses. *Curr Protoc Bioinformatics* 54:1.30.1-1.30.33. doi:10.1002/cpbi.5
- Sweet RA, Seltman H, Emanuel JE, Lopez OL, Becker JT, Bis JC, Weamer EA, DeMichele-Sweet MAA, Kuller LH (2012) Effect of Alzheimer's disease risk genes on trajectories of cognitive function in the Cardiovascular Health Study. *Am J Psychiatry* 169:954–962. doi:10.1176/appi.ajp.2012.11121815
- Tampi RR, Tampi DJ, Chandran S, Ghori A, Durning M (2015) Mild cognitive impairment: a comprehensive review. *Healthy Aging Res* 4:1–11. doi:10.12715/har.2015.4.39
- Tanzi RE (2012) The genetics of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:1–10. doi:10.1101/cshperspect.a006296
- Terry AV, Buccafusco JJ (2003) The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *J Pharmacol Exp Ther* 306:821–827. doi:10.1124/jpet.102.041616
- Tetty R, Ayeh-Kumi P, Tetty P, Adjei GO, Asmah RH, Dodoo D (2015) Severity of malaria in relation to a complement receptor 1 polymorphism: a case-control study. *Pathog Glob Health* 109:247–252. doi:10.1179/2047773215Y.0000000011

Literatur

- Török K, Dezső B, Bencsik A, Uzonyi B, Erdei A (2015) Complement receptor type 1 (CR1/CD35) expressed on activated human CD4+ T cells contributes to generation of regulatory T cells. *Immunol lett* 164:117–124. doi:10.1016/j.imlet.2015.02.009
- Torvell M, Carpanini SM, Daskoulidou N, Byrne RAJ, Sims R, Morgan BP (2021) Genetic Insights into the Impact of Complement in Alzheimer's Disease. *Genes* 12. doi:10.3390/genes12121990
- Ulitsky I, Bartel DP (2013) lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. *Cell* 154:26–46. doi:10.1016/j.cell.2013.06.020
- Vinters HV (2015) Emerging concepts in Alzheimer's disease. *Annu Rev Pathol.* 10:291–319. doi:10.1146/annurev-pathol-020712-163927
- Visser PJ, Verhey FRJ, Hofman PAM, Scheltens P, Jolles J (2002) Medial temporal lobe atrophy predicts Alzheimer's disease in patients with minor cognitive impairment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 72:491. doi:10.1136/jnnp.72.4.491
- Vivot A, Glymour MM, Tzourio C, Amouyel P, Chêne G, Dufouil C (2015) Association of Alzheimer's related genotypes with cognitive decline in multiple domains: results from the Three-City Dijon study. *Mol Psychiatry* 20:1173–1178. doi:10.1038/mp.2015.62
- Wang Y (2019) Comprehensive long non-coding RNA expression profiling by RNA sequencing reveals potential biomarkers for acute myeloid leukemia risk. *Cancer Biomark.* 26:93–108. doi:10.3233/CBM-190215
- Webster C, Morais JA, Weidner W (Hrsg) (2022) Chapter 5: Cultural implications for people living with dementia and their families. General background. In: Gauthier S, Webster C, Servaes S, Morais JA, Rosa-Neto P. 2022. *World Alzheimer Report 2022. Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support.* Alzheimer's Disease International., London, England
- Wechsler D (1956) *Die Messung der Intelligenz Erwachsener: Textband zum Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (Hawie).* Hans Huber, Bern
- Wechsler D (1987) *WMS-R: Wechsler Memory Scale - Revised; Manual.* The Psychological Corp, San Antonio, Tex.
- Weintraub S, Wicklund AH, Salmon DP (2012) The neuropsychological profile of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a006171. doi:10.1101/cshperspect.a006171
- Weis JJ, Toothaker LE, Smith JA, Weis JH, Fearon DT (1988) Structure of the human B lymphocyte receptor for C3d and the Epstein-Barr virus and relatedness to other members of the family of C3/C4 binding proteins; 1953-4]. *J Exp Med* 167:1047–1066. doi:10.1084/jem.167.3.1047
- Welsh K, Butters N, Hughes J, Mohs R, Heyman A (1991) Detection of abnormal memory decline in mild cases of Alzheimer's disease using CERAD neuropsychological measures. *Arch Neurol* 48:278–281. doi:10.1001/archneur.1991.00530150046016
- Wilson JG, Murphy EE, Wong WW, Klickstein LB, Weis JH, Fearon DT (1986) Identification of a restriction fragment length polymorphism by a CR1 cDNA that correlates with the number of CR1 on erythrocytes. *J Exp Med* 164:50–59
- Wiltfang J, Trost S, Hampel H (2017) Kapitel 60: Demenz. In: Möller H-J, Laux G, Kapfhammer H-P (Hrsg) *Psychiatrie, Psychosomatik, Psychotherapie.* Band 1: Allgemeine Psychiatrie 1, Band 2: Allgemeine Psychiatrie 2, Band 3: Spezielle Psychiatrie 1, Band 4: Spezielle Psychiatrie 2. Springer, Berlin
- Wittchen H-U, Zaudig M, Fydrich T (1997) *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV: Achse I und II.* Hogrefe Verlag für Psychiatrie, Göttingen, Bern, Toronto, Seattle

Literatur

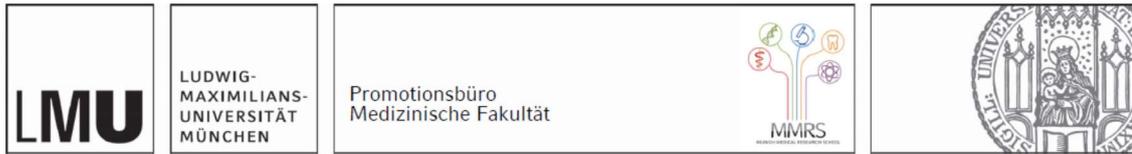
- Wyss-Coray T, Yan F, Lin AH-T, Lambris JD, Alexander JJ, Quigg RJ, Masliah E (2002) Prominent neurodegeneration and increased plaque formation in complement-inhibited Alzheimer's mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:10837–10842. doi:10.1073/pnas.162350199
- Yates A, Akanni W, Amode MR et al (2016) Ensembl 2016. *Nucleic acids research* 44:D710-6. doi:10.1093/nar/gkv1157
- Yoon SH, Fearon DT (1985) Characterization of a soluble form of the C3b/C4b receptor (CR1) in human plasma. *J Immunol* 134:3332–3338
- Zabel MK, Kirsch WM (2013) From development to dysfunction: microglia and the complement cascade in CNS homeostasis. *Ageing Res Rev* 12:749–756. doi:10.1016/j.arr.2013.02.001
- Zanetti O, Solerte SB, Cantoni F (2009) Life expectancy in Alzheimer's disease (AD). *Arch Gerontol Geriatr* 49 Suppl 1:237–243. doi:10.1016/j.archger.2009.09.035
- Zhao Y, Zhao B (2013) Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxid Med Cell Longev* 2013:ID 316523. doi:10.1155/2013/316523
- Zhu X-C, Yu J-T, Jiang T, Wang P, Cao L, Tan L (2015) CR1 in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 51:753–765. doi:10.1007/s12035-014-8723-8
- Zhu X-C, Wang H-F, Jiang T, Lu H, Tan M-S, Tan C-C, Tan L, Tan L, Yu J-T (2017) Effect of CR1 genetic variants on cerebrospinal fluid and neuroimaging biomarkers in healthy, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease cohorts. *Mol Neurobiol* 54:551–562. doi:10.1007/s12035-015-9638-8
- Zijlstra LE, Jukema JW, Mooijaart SP, Vries MA de, Stott DJ, Castro Cabezas M, Trompet S (2018) Association of complement receptor 1 gene polymorphisms with cognitive function. *Physiol Genomics* 50:102–103. doi:10.1152/physiolgenomics.00102.2017

11 Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei allen bedanken, die mich bei meiner Promotion unterstützt haben. Dies sind zum einen Herr Prof. Dr. Dan Rujescu, der mir als Leiter der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg die Promotion ermöglicht hat und Frau PD Dr. Ina Giegling, welche die Betreuung an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München weitergeführt hat. Zum anderen danke ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Studienzentrums, wobei Frau Bettina Konte, Frau Dr. Annette Hartmann und Frau Dr. Bente Flier besonders hervorzuheben sind. Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. Gabriele Koller und Frau PD Dr. Susanne Karch, die in München die Mitbetreuung meiner Arbeit übernommen haben.

Des Weiteren danke ich meiner Familie, die mich mit großer Hilfsbereitschaft in der Zeit meiner Promotion und bei deren Fertigstellung unterstützt hat.

12 Eidesstattliche Versicherung



Eidesstattliche Versicherung

Krusche, Jennifer Tarebi Teresa

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Der Einfluss genetischer Polymorphismen in der CR1-Genregion auf die Gedächtnisleitung

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Hamburg, 08.09.2023

Ort, Datum

Jennifer Krusche

Unterschrift Doktorandin/Doktorand