

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



**Assoziation von Verarbeitungsgeschwindigkeit und kognitiver
Flexibilität mit *BIN1* Genvarianten**

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

vorgelegt von
Marianne Zippert

aus
Eschwege

Jahr
2024

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

Erster Gutachter:	Priv. Doz. Dr. Ina Giegling
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. Gabrielle Koller
Dritter Gutachter:	Prof. Dr. Michael Ewers
Promovierte Mitbetreuerin:	Priv. Doz. Dr. Susanne Karch
Dekan:	Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung:	10.01.2024

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	III
Abstract.....	V
Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole	VII
1. Einleitung	1
1.1 Kognition	1
1.1.1 Einführung in die Thematik der Kognition	1
1.1.2 Verarbeitungsgeschwindigkeit und kognitive Flexibilität	2
1.1.3 Biologische Grundlagen der Kognition.....	2
1.1.4 Genetik der Kognition	4
1.2 Alzheimer Demenz	6
1.2.1 Pathogenese der Alzheimer Demenz.....	7
1.2.2 Genetische Einflüsse auf die Alzheimer Demenz.....	10
1.3 Bridging-integrator 1-Gen.....	12
1.3.1 Organisation und Expression des <i>BIN1</i> -Gens und seiner Isoformen	13
1.3.2 Beitrag zu Endozytose und Membranfunktionen	14
1.3.3 Regulation des Zytoskeletts	15
1.3.4 Funktion bei DNA-Reparatur und Zelltod	15
1.3.5 Beitrag zur Funktion des Immunsystems.....	16
1.3.6 Assoziierte Erkrankungen.....	16
1.3.7 Assoziation von <i>BIN1</i> mit der <i>Late-onset Alzheimer's disease</i>	17
2. Zielstellung	20
3. Material und Methodik.....	21
3.1 Studiendesign.....	21
3.2 Studienteilnehmer	21
3.3 Psychologische Tests.....	23
3.3.1 Trail-Making-Test	23
3.3.2 Zahlen-Verbindungs-Test.....	25

Inhaltsverzeichnis

3.4	Laborverfahren.....	26
3.4.1	DNA-Extraktion	26
3.4.2	Konzentrationseinstellung der DNA.....	28
3.5	Genotypisierung und Qualitätskontrolle	29
3.6	Imputation.....	32
3.7	Beschreibung der Polymorphismen und <i>Clumping</i>	33
3.8.	Proxy-SNPs der Replikationsstichprobe	33
3.9	Statistische Auswertung.....	34
4.	Ergebnisse	36
4.1	Stichprobenbeschreibung	36
4.2	Ergebnisse der Regressionsanalyse der Screeningstichprobe	37
4.2.1	Nominal signifikant assoziierte Index-Varianten mit den Ergebnissen des TMT A.....	37
4.2.2	Nominal signifikant assoziierte Index-Varianten mit den Ergebnissen des TMT B.....	38
4.2.3	Nominal signifikant assoziierte Index-Varianten mit den Ergebnissen des ZVT	39
4.3	Ergebnisse der Regressionsanalyse der Replikationsstichprobe	40
4.3.1	Nominal signifikant assoziierte Proxy-Varianten mit den Ergebnissen des TMT A	40
4.3.2	Nominal signifikant assoziierte Proxy-Varianten mit den Ergebnissen des TMT B.....	41
5.	Diskussion.....	42
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	42
5.2	Einordnung der Ergebnisse in die aktuelle Studienlage.....	44
5.3	Methodenkritik	57
5.4	Ausblick	61
	Literaturverzeichnis.....	64
	Danksagung.....	X
	Eidesstattliche Versicherung.....	XI

Zusammenfassung

In den letzten Jahren nahm die Bedeutung der Forschung an der Late-Onset Alzheimer Demenz (LOAD) zu. Dies ist nicht nur durch die höhere Lebenserwartung unserer heutigen Gesellschaft zu erklären, sondern auch durch ein unzureichendes Verständnis der Pathogenese der Erkrankung sowie durch fehlende Therapiemöglichkeiten. Bisher sind verschiedene Risikofaktoren für die Entstehung der LOAD bekannt. Dabei spielen auch genetische Einflüsse eine große Rolle. Es wurde durch umfangreiche Genom-weite Assoziationsstudien (GWAS) und Meta-Analysen eine Vielzahl von Suszeptibilitätsgenen identifiziert, zu denen auch das *BIN1*-Gen gehört (Seshadri et al. 2010; Lambert et al. 2013; Kunkle et al. 2019). Dieses Gen zeigt auf zellulärer Ebene Einflüsse auf viele verschiedene Mechanismen wie zum Beispiel die Apoptose, Endozytose und die Regulation der Membranfunktion sowie des Zytoskeletts (Ramjaun et al. 1997; Lee et al. 2002; Meunier et al. 2009; Wechsler-Reya et al. 1997b; Gao et al. 2021; Behfar et al. 2022). In dieser Studie sollte untersucht werden, ob Varianten des *BIN1*-Gens mit den kognitiven Leistungen Verarbeitungsgeschwindigkeit und kognitive Flexibilität in einer Stichprobe aus der Allgemeinbevölkerung ohne kognitive Beeinträchtigungen und ohne Verdacht auf familiäre Belastung durch Demenzen assoziiert sind.

Im Rahmen der Studie wurden Probanden rekrutiert, welche nicht miteinander verwandt waren und welche vor Einschluss in die Studie umfangreiche, standardisierte Testverfahren durchlaufen mussten, um als Teilnehmer eingeschlossen zu werden. Personen mit psychiatrischen und neurologischen Erkrankungen wurden ausgeschlossen. Um die kognitiven Fertigkeiten im Bereich der Verarbeitungsgeschwindigkeit und der kognitiven Flexibilität zu untersuchen, wurden die kognitiven Testverfahren TMT A und B sowie der ZVT durchgeführt. Die Genotypisierung der Probanden-DNA fand mithilfe von Chiptechnologien und Imputation statt. Anschließend wurden die Rohdaten durch lineare Regression analysiert und an Alter, Geschlecht und Bildung adjustiert. In einer Screeningstichprobe ($n = 634$) konnten 510 SNPs im Bereich des *BIN1*-Gens untersucht werden, die zu 26 LD-unabhängigen Regionen (*clumps*) mit jeweils einem Index-SNP zusammengefasst wurden.

Es zeigte sich, dass zwischen 17 dieser 510 untersuchten SNPs und Ergebnissen des TMA A, B und ZVT nominal signifikante Assoziationen bestanden. 8 dieser SNPs waren Index-SNPs. Es zeichneten sich signifikante Assoziationen zu Testergebnissen zweier verschiedener Tests bei 3 signifikant assoziierten Index-SNPs ab. 4 Index-SNPs zeigten Assoziationen mit Ergebnissen des TMT A, 5 Index-SNPs mit Ergebnissen des TMT B und 2 Index-SNPs mit Ergebnissen des ZVT. Als signifikantester SNP dieser Arbeit ging der Polymorphismus rs142568045 hervor, welcher

Zusammenfassung

gleichzeitig mit Ergebnissen des TMT B und ZVT assoziiert war ($p_{\text{TMT B}}: 1,932 \times 10^{-3}$, $p_{\text{ZVT}}: 8,632 \times 10^{-3}$). Durch die Replikationsstichprobe ($n = 617$) konnten Hinweise auf eine Assoziation einiger SNPs des *BIN1*-Gens zu den Testergebnissen repliziert werden: Von 6 untersuchten Proxy-SNPs, welche sich im *linkage disequilibrium* zu den Index-SNPs der Screeningstichprobe befanden, zeigten 2 tendenziell in Richtung Assoziationen mit den Testergebnissen des TMT A, ein dritter mit Testergebnissen des TMT B.

Aus dieser Studie geht hervor, dass zwischen Polymorphismen des Alzheimer-Kandidatengens *BIN1* und kognitiven Fähigkeiten wie Verarbeitungsgeschwindigkeit und kognitiver Flexibilität bei gesunden Probanden signifikante Assoziationen bestehen. Bereits andere Studien wiesen eine Assoziation zwischen dem *BIN1*-Gen und kognitiven Bereichen nach (Vivot et al. 2015; Greenbaum et al. 2016; Ferencz et al. 2014; Sartori et al. 2019; De Rossi et al. 2020; Cruz-Sanabria et al. 2021). Es wurde gezeigt, dass zwischen LOAD-typischen Pathomechanismen und Varianten des *BIN1*-Gens signifikante Assoziationen bestehen (Ubelmann et al. 2017; Johnson et al. 2018; Franzmeier et al. 2019). Zukünftig ist von besonderer Bedeutung, die Funktionen des *BIN1*-Gens, die Einflüsse auf kognitive Funktionen und die Pathogenese der LOAD genauer zu untersuchen. Möglicherweise können so neue Interventionsmöglichkeiten für zukünftige LOAD-Therapieansätze und die Biomarker-Diagnostik geschaffen werden.

Abstract

In recent years, research into late-onset Alzheimer's dementia (LOAD) has become increasingly important. This can not only be explained by the higher life expectancy of our society today, but also by an insufficient understanding of the pathogenesis of the disease and a lack of therapy options. Various risk factors for the development of LOAD are known to date. Genetic influences also play a major role. A large number of susceptibility genes, including the *BIN1* gene, have been identified through genome-wide association studies (GWAS) and meta-analyses (Seshadri et al. 2010; Lambert et al. 2013; Kunkle et al. 2019). This gene influences many different mechanisms at the cellular level, such as apoptosis, endocytosis and the regulation of membrane function and cytoskeleton (Ramjaun et al. 1997; Lee et al. 2002; Meunier et al. 2009; Wechsler-Reya et al 1997b; Gao et al 2021; Behfar et al 2022). The purpose of this study was to investigate whether variants of the *BIN1* gene are associated with the cognitive performances processing speed and cognitive flexibility in a sample of the general population without cognitive impairment and without a suspected family history of dementia.

As part of the study, subjects were recruited who were not related to each other and who had to undergo extensive, standardized test procedures before being included in the study in order to be included as participants. Individuals with psychiatric and neurological disorders were excluded. To assess cognitive function in the area of processing speed and cognitive flexibility, the cognitive test methods TMT A and B and ZVT were used. Genotype data was obtained using chip technologies and imputation. The raw values were analyzed by linear regression and adjusted for age, gender and education. In a screening sample (n = 634), 510 SNPs in the region of the *BIN1* gene were examined, which were grouped into 26 LD-independent regions (clumps), each with an index SNP.

The analysis showed nominal significant associations between 17 of the 510 SNPs and the results of TMA A, B and ZVT. 8 of these SNPs were Index-SNPs. Significant associations to test results of two different tests were found for 3 significantly associated Index-SNPs. 4 Index-SNPs showed associations with TMT A results, 5 Index-SNPs with TMT B results and 2 Index-SNPs with ZVT results. The most significant SNP of this work was the polymorphism rs142568045, which was associated with TMT B and ZVT results ($p_{\text{TMT B}}: 1,932 \times 10^{-3}$, $p_{\text{ZVT}}: 8,632 \times 10^{-3}$). An association of some SNPs of the *BIN1* gene to the test results can be replicated: Out of 6 examined proxy SNPs, which were in linkage disequilibrium to the Index-SNPs of the screening sample, 2 tended towards associations with the test results of TMT A, a third with test results of the TMT B.

Abstract

This study indicates a significant association of polymorphisms of the Alzheimer's candidate gene *BIN1* with cognitive phenotypes such as processing speed and cognitive flexibility in healthy controls. Other studies have already shown an association between the *BIN1* gene and cognitive areas (Vivot et al. 2015; Greenbaum et al. 2016; Ferencz et al. 2014; Sartori et al. 2019; De Rossi et al. 2020; Cruz-Sanabria et al 2021). It has been shown that there are significant associations between LOAD-typical pathomechanisms and variants of the *BIN1* gene (Ubelmann et al. 2017; Johnson et al. 2018; Franzmeier et al. 2019). Further research is essential to investigate the functions of the *BIN1* gene, the influences on cognitive functions and the pathogenesis of LOAD in more detail. It is possible that new intervention options for future LOAD therapy approaches and biomarker diagnostics can be created.

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

F _{het}	Heterozygotenfrequenz
A1	Referenzallel
A2	Vergleichsallel
ABCA7	ATP-binding cassette sub-family A member 7
AD	Alzheimer Demenz
AE-Puffer	Ethylamin-Puffer
AP2	Adaptorprotein2
APOE (ϵ 4)	Apolipoprotein E (ϵ 4 Allel)
APP	Amyloid–Precursor–Protein
A β	β –Amyloid
A β 42	β –Amyloid–42
BACE1	<i>β-site of APP cleaving enzyme</i> , β -Sekretase
BAR	Bin, Amphiphysin, RVS
BIN1	Bridging-Integrator 1
CD2AP	CD2-associated protein
CD33	Cluster of differentiation 33
CERAD-Plus	<i>Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease</i>
CLAP	Clathrin-Adaptorprotein2
CLIP170	Cytoplasmic linker protein170
CLU	Clusterin
CNM	zentronukleäre Myopathie
CpG	Desoxycytidin–Phosphorsäure–Desoxyguanosin
CR1	Complement receptor type 1
DLP4	Defensin-like peptide 4
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EOAD	Early–onset Alzheimer’s disease, Früh beginnende Alzheimer Demenz
EPHA1	Ephrin receptor A1
FHAM	Family History Assessment Module
FRQ	Frequenz, Allelfrequenz
g-Faktor	<i>general-intelligence</i>

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

GHCI	Guanidinhydrochlorid
GWAS	Genome-wide association study, Genomweite Assoziationsstudie
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
IDO1	Indolamin-2,3-Dioxygenase
LD	<i>Linkage disequilibrium</i>
LOAD	<i>Late-onset Alzheimer's disease</i> , Spät beginnende Alzheimer Demenz
MAF	minore Allelfrequenz
MBI	Mild behavioral impairment
MCI	Mild cognitive impairment
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i> , Haupthistokompatibilitätskomplex
MINI	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview</i>
MMST	Mini-Mental-Status-Test
MS4A	Membrane spanning A4
MW	Mittelwert
MYC	<i>Myelocytomatosis</i>
MYCN	<i>N-Myelocytomatosis</i>
NFT	<i>neurofibrillary tangle</i>
p53, p73	Tumor protein p53, bzw. p73
PAGES	Phenomics and Genomics Sample
PARP1	Poly [ADP-ribose] polymerase 1
PBS-Puffer	Phosphat gepufferte Salzlösung
PGC	Psychiatric Genomics Consortium
PI	Phosphoinositide
PICALM	Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein
QUIN	Chinolinsäure
RVS167	Reduced Viability on Starvation167 (Hefeprotein)
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
s-Faktor	<i>specific-intelligence</i>
SH3	<i>Src-homology 3</i>
SKID I, II	Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV I,II
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> , Einzelnukleotid-Polymorphismus
Src	<i>Cellular</i> und <i>sarcoma</i>

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

TMT A	Trail-Making-Test Part A
TMT B	Trail-Making-Test Part B
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
WAIS-IV	<i>Wechsler Adult Intelligence Scale-IV</i>
XRCC4	X-ray repair cross-complementing protein 4
ZVT	Zahlen-Verbindungs-Test
\hat{r}	Verwandtschaftsgrad, Proportion gleicher Allele

1. Einleitung

1.1 Kognition

1.1.1 Einführung in die Thematik der Kognition

Die kognitive Leistungsfähigkeit des Menschen wird durch viele verschiedene Umwelteinflüsse bestimmt und verändert. Zusätzlich zu diesen Faktoren spielen auch genetische Komponenten in der Entwicklung und in dem Verlauf der Kognition entscheidende Rollen (Davies et al. 2014; Davies et al. 2018). Mittlerweile ist bekannt, dass der kognitive Leistungsabfall durch Erkrankungen oder als altersbedingte Veränderung davon nicht ausgeschlossen werden kann (Lin et al. 2017). Die Kognition und gleichsam die Intelligenz sind strittige Begriffe, mit denen sich die Menschheit seit Jahrhunderten beschäftigt. Seit dem 20. Jahrhundert, als Charles Spearman den Begriff der *general intelligence* prägte, ist das Konstrukt der Kognition immer mehr in den Fokus der medizinischen und psychologischen Forschung gerückt. Spearman entwickelte ein aus zwei Faktoren bestehendes Intelligenzmodell, die Zwei-Faktoren-Theorie. Der *g*-Faktor (*general-intelligence*) steht dabei für einen übergeordneten Faktor der allgemeinen Intelligenz und umfasst unter anderem das Denken und die Aufmerksamkeit. Die *s*-Faktoren (*specific-intelligence*) repräsentieren voneinander unabhängige, spezifische und individuelle Leistungsdomänen. Sie bilden jeweils partiell gemeinsam den *g*-Faktor (Spearman 1904). In den folgenden Jahren entstanden viele weitere Intelligenztheorien. Thurstone konstruierte 1938 ein Mehrfaktoren-Modell mit 7 unabhängigen Grundfähigkeiten als Primärfaktoren der Intelligenz. Dazu gehören unter anderem die Gedächtnisleistung, das Sprachverständnis und die Raumvorstellung (Thurstone 1938). Im Zwei-Faktoren-Modell nach Cattell von 1963 wird zwischen der fluiden und der kristallinen Intelligenz unterschieden. Während die fluide Intelligenz angeboren und unabhängig von ihrer Umwelt ist, wird die kristalline Intelligenz erst erworben. Die kristalline Intelligenz zeichnet sich bei der Problemlösung durch den Einsatz von Erfahrungen und Wissen, was im Laufe des Lebens beispielsweise durch Bildung erworben wurde, aus und steigt mit dem Alter an. Im Gegensatz dazu erreicht die fluide Intelligenz ihr Maximum in jungen Jahren und setzt sich zum Beispiel aus der Verarbeitungsgeschwindigkeit, dem logischen Denken und der Problemlösung, ohne auf Erfahrungswerte zurückzugreifen, zusammen (Cattell 1963). Diese Theorien liefern den Grundstein der Forschung in diesem Bereich. Trotz weiterer enormer Anstrengungen, den Begriff und die Zusammensetzung der Intelligenz zu definieren, wurde dies bis heute nicht vollends zufriedenstellend erreicht. Mit der Zeit rückte auch der Begriff der Kognition immer mehr in den Vordergrund. Im Gegensatz zur Intelligenz, welche einen Teil der Kognition

Einleitung

ausmacht, umfasst die Kognition – als Oberbegriff für höhere geistige Funktionen – das Erkennen, den Verstand sowie Denk- und Wahrnehmungsprozesse (Tewes und Wildgrube 1992). Anders formuliert beinhaltet die Kognition Prozesse wie Erinnern, Urteilen, Aufmerksamkeit, Vorstellen, Antizipieren, Planen, Entscheiden, Problemlösen, Mitteilen von Ideen, Klassifizieren und Interpretieren. Der Begriff der Kognition umfasst also alle Formen des Erkennens und Wissens (Zimbardo 1995) und ist breit gefächert.

1.1.2 Verarbeitungsgeschwindigkeit und kognitive Flexibilität

Die Verarbeitungsgeschwindigkeit und die kognitive Flexibilität, um die es in dieser Dissertation vorrangig gehen soll, sind der Kognition als Teilbereiche zuzuordnen. Unter der Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit wird die Geschwindigkeit verstanden, in der Informationen aufgenommen und verarbeitet werden können. Sie ist als ein Grundstein des intelligenten Verhaltens zu verstehen und korreliert mit der Intelligenz (Pawlik 2006). Ebenfalls besteht eine Korrelation zwischen der Verarbeitungsgeschwindigkeit und dem Alter einer Person (Salthouse 2009). Aktuell wird diskutiert, ob die altersbedingte Verlangsamung der Verarbeitungsgeschwindigkeit Ursache oder Indikator des kognitiven Alterns ist (Schubert et al. 2019). Die Verarbeitungsgeschwindigkeit ist mit der Konnektivität der weißen Substanz des Gehirns assoziiert (Kanai und Rees 2011; Kuznetsova et al. 2016).

Die kognitive Flexibilität kann als eine Domäne der exekutiven Funktion verstanden werden. Die exekutive Funktion ist ein Konstrukt der Neuropsychologie und beschreibt komplexe kognitive Prozesse, die an der Problemlösung, dem logischen Denken und der Handlungsplanung beteiligt sind. Hierzu zählen neben der kognitiven Flexibilität auch die kognitive Inhibition und das Arbeitsgedächtnis (Diamond 2013). Die Prüfung der kognitiven Flexibilität untersucht, wie schnell zum Beispiel die räumliche Perspektive oder zwischen verschiedenen Aufgabenanforderungen gewechselt werden kann. Hier sind verschiedene Vorgänge in unterschiedlichen Hirnregionen beteiligt, insbesondere spielt der präfrontale Kortex eine entscheidende Rolle (Pawlik 2006).

1.1.3 Biologische Grundlagen der Kognition

Bisher ist es der Neurowissenschaft nicht gelungen, das komplexe System des Gehirns und seiner Funktionen vollständig zu verstehen. Weiterhin sind trotz großer Anstrengungen Zusammenhänge zwischen Funktion und Struktur unklar. Mittlerweile ist allerdings anzunehmen, dass es sich um ein vielfältiges Netzwerk zwischen verschiedenen Ebenen handeln muss. Einbegriffen sind zum Beispiel Stoffwechsel- und Regulationsmechanismen, aber auch Wechselwirkungen zwischen kortikalen und subkortikalen Bereichen (Bassett und Sporns 2017).

Einleitung

Der präfrontale Kortex, insbesondere die Dicke des Cortexes, ist mit der exekutiven Funktion assoziiert. Vor allem der anteriore cinguläre Cortex, der rechte inferiore frontale Gyrus und das linke mediale frontale Areal, welche sich im Frontalpol und dorsolateralen präfrontalen Cortex erstrecken, erfüllen mit ihren umfangreichen Verknüpfungen einen Teil der exekutiven Aufgaben (Kanai und Rees 2011). Die Verarbeitungsgeschwindigkeit korreliert mit der Integrität der weißen Substanz des Gehirns (Kanai und Rees 2011; Kuznetsova et al. 2016). Bemerkenswert ist, dass es im Laufe des Lebens im Bereich des präfrontalen Kortex und im präzentralen Gyrus zu einer physiologischen Abnahme der grauen und weißen Substanz kommt und dieser Prozess damit Teil des Alterns zu sein scheint. Zwischen der altersbedingten nachlassenden Verarbeitungsgeschwindigkeit und den nachlassenden exekutiven Funktionen bestehen möglicherweise Korrelationen mit einem Verlust der weißen Substanz und der damit einhergehenden kortikalen Diskonnektion (Harada et al. 2013; Kuznetsova et al. 2016). Obwohl die neuronalen Mechanismen der grundlegenden kognitiven Prozesse nicht vollständig verstanden sind, legen Studien an Patienten mit Multipler Sklerose, bei der es sich um eine demyelinisierende Erkrankung handelt, nahe, dass sowohl eine intakte neuronale als auch neurovaskuläre Kopplung sowie ein intakter Blutfluss im Gehirn eine wichtige Rolle bei der Verarbeitungsgeschwindigkeit spielen. Diese Untersuchungen decken sich teilweise mit Prozessen, die sich auch beim gesunden Altern und bei dementiellen Erkrankungen finden lassen (Sivakolundu et al. 2020).

Mittlerweile ist bekannt, dass es eine Vielzahl von Faktoren gibt, die die Kognition beeinflussen. Dazu zählen unter anderem der Bildungsgrad (Bento-Torres et al. 2017) und ein sozial aktiver Lebensstil (Evans et al. 2018). Außerdem beeinflussen Hormone, wie zum Beispiel Sexualhormone, Stress und Schlaf die kognitiven Fähigkeiten (Khadilkar und Patil 2019). Verschiedene vaskuläre Risikofaktoren wirken ebenfalls auf die Kognition ein. Insbesondere die arterielle Hypertension und die hieraus resultierenden Schäden sind als Risikofaktoren für kognitive Einschränkungen – vornehmlich Einschränkungen der Aufmerksamkeit, des Gedächtnisses und der exekutiven Funktionen – bekannt und erhöhen die Wahrscheinlichkeit für vaskuläre Demenzen (Vicario et al. 2005). Verschiedene pathophysiologische Mechanismen können hierbei eine Rolle spielen. Zu nennen sind unter anderem die Schädigung des Gefäßendothels und die dadurch gestörte Mikrozirkulation (Czuriga-Kovács et al. 2016). Mit Sicherheit kann davon ausgegangen werden, dass zwischen dem Lebensstil und den kognitiven Fähigkeiten Verbindungen bestehen. Beeinflussbare Faktoren sind zum Beispiel Alkoholkonsum, physische und geistige Aktivitäten (Clare et al. 2017). Bei der Verarbeitungsgeschwindigkeit lässt

sich beispielsweise nach dem Trainieren der Funktion ein Effekt mit beschleunigten kognitiven Prozessen nachweisen (Takeuchi et al. 2011).

1.1.4 Genetik der Kognition

Genetische Faktoren haben einen erheblichen Effekt auf die kognitive Leistungsfähigkeit. Dies wurde über die letzten Jahrzehnte vielfach bestätigt. In zahlreichen Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien wurde der relative Einfluss der Vererbung auf die kognitiven Fähigkeiten untersucht und auf Heritabilitätswerte zwischen 0,5 und 0,8 geschätzt (Plomin 1999; Plomin und Petrill 1997). Dabei wurde festgestellt, dass der Einfluss der Erbllichkeit bei älteren Menschen stärker ausgeprägt ist als bei jüngeren Menschen und somit der Phänotyp dem Genotyp deutlicher entspricht (Toga und Thompson 2005; Sniekers et al. 2017). Es wurde aufgezeigt, dass die altersbedingten Unterschiede in den kognitiven Domänen auch durch genetische Faktoren beeinflusst werden (Raz et al. 2009). Durch die Entwicklung von größeren genomweiten Assoziationsstudien (*Genome-wide association studies*, GWAS), entstand eine neue Möglichkeit der Identifizierung genetischer Varianten in Bezug auf phänotypische Merkmale. Dabei werden Assoziationen zwischen dem bestimmten Phänotyp und einem Einzelnukleotid-Polymorphismus (*single nucleotide polymorphism*, SNP) hergestellt. Der Zusammenhang ist hierbei rein korrelativ. Wie aus dem Terminus SNP erkennbar, handelt es sich hierbei um eine Variante eines einzelnen Nukleotids beziehungsweise um ein Basenpaar an einer bestimmten Stelle im Genom. Diese Allelvarianten können vererbt werden. Durch die Identifizierung assoziierter SNPs besteht die Möglichkeit, das Wissen über Erkrankungen und deren Phänotypen, aber beispielsweise auch über kognitive Prozesse, zu vermehren (Marees et al. 2018). Mittlerweile wurden durch GWAS viele SNPs gefunden, die mit physiologischen Prozessen, aber auch mit Erkrankungen, assoziiert sind. In Meta-Analysen werden mehrere unabhängige GWAS zusammengefasst, was zu einer höheren statistischen Power der Studien führt. Damit bestätigen und identifizieren Meta-Analysen neue genetische Assoziationen und leisten einen bedeutenden Beitrag beim Aufdecken biologischer Mechanismen physiologischer, wie auch pathologischer Vorgänge (Naj und Schellenberg 2017). Im Jahr 2017 wurden in einer Meta-Analyse 336 SNPs in 18 Genloci, die mit Intelligenz und im weiteren Sinne mit Kognition (Spearman's g-Faktor) assoziiert sind, identifiziert (Sniekers et al. 2017). Weitere umfangreiche GWAS folgten und zeigten ebenfalls Assoziationen zwischen genetischen Loci und der Intelligenz auf (Savage et al. 2018; Zabaneh et al. 2018). Eine weitere Meta-Analyse bestätigte durch die Assoziationen zwischen 178 SNPs in 148 unabhängigen Loci und der generellen kognitiven Funktion die genetische Komponente. Zusätzlich dazu wurde eine Assoziation zwischen der generellen kognitiven Funktion und verschiedenen Gensets, die an der Nerven- und

Einleitung

Zellentwicklung beteiligt sind, gefunden (Davies et al. 2014; Davies et al. 2016; Davies et al. 2018). Darauf aufbauende Studien beschäftigten sich damit, die Genvarianten auf Assoziationen mit verschiedenen neurologischen Outcomes zu untersuchen, um grundlegende Entwicklungspfade und neurodegenerative Prozesse aufzufindig zu machen (Knol et al. 2018; Coleman et al. 2019; Hill et al. 2019). Es zeigten sich beispielsweise Assoziationen mit der kognitiven Leistung, dem intrakraniellen Hirnvolumen, dem Bildungsgrad sowie zu einem gewissen Grad mit dem kognitiven Verfall (Davies et al. 2016; Knol et al. 2018). Eine GWAS an 1,1 Millionen Individuen von Lee et al. (2018) identifizierte 1271 unabhängige und genomweit signifikante SNPs, die mit dem Bildungsniveau assoziiert waren und unterstützte so die Studienergebnisse von Davies et al. (Davies et al. 2016; Lee et al. 2018). Weitere Studien wiesen Assoziationen zwischen Genloci und spezifischen kognitiven Funktionen wie zum Beispiel der episodischen Gedächtnisleistung (Barral et al. 2014), mathematischen Fähigkeiten (Baron-Cohen et al. 2014), der Reaktionszeit (Davies et al. 2016; Pinar et al. 2018), Lese- und sprachbezogenen Fähigkeiten (Eising et al. 2022) und dem Wortgedächtnis (Wang et al. 2022) nach.

Konkrete Ergebnisse in Bezug auf die Vererbung der Verarbeitungsgeschwindigkeit lieferten ebenfalls einige Zwillingsstudien, GWAS und Meta-Analysen: Lee et al. (2012a) schätzen den relativen Einfluss der Vererbung auf die Verarbeitungsgeschwindigkeit auf Werte zwischen 0,35 und 0,62 (Lee et al. 2012a). In GWAS und Meta-Analysen wurde eine Vielzahl an genetischen Varianten identifiziert, die mit der Verarbeitungsgeschwindigkeit assoziiert sind (Luciano et al. 2011; Ising et al. 2014; Ibrahim-Verbaas et al. 2016; Wang et al. 2021). In einer weiteren Assoziationsanalyse wurden auf Chromosom 3q23 zwei Gene mit der psychomotorischen Geschwindigkeit assoziiert. Die psychomotorische Geschwindigkeit kann nach Angaben der Autoren als ein Aspekt der Verarbeitungsgeschwindigkeit verstanden werden (Knowles et al. 2019).

Um den genetischen Einfluss auf die exekutive Funktion zu untersuchen, wurden umfangreiche Zwillingsstudien durchgeführt. Der genetische Einfluss auf die Leistung in der exekutiven Funktion wurde auf relative Werte zwischen 0,34 und 0,68 geschätzt (Swan und Carmelli 2002). Es scheint multiple genetische Faktoren zu geben, welche die Leistung in der exekutiven Funktion vor allem im Alter beeinflussen (Lessov-Schlaggar et al. 2007). Allerdings muss zwischen den verschiedenen Aspekten der exekutiven Funktion unterschieden werden. Während beispielsweise das Arbeitsgedächtnis in einer anderen Heritabilitätsschätzung relative Werte von ungefähr 0,59 aufwies, zeigte die kognitive Flexibilität relative Werte von ungefähr 0,31. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass die Aspekte der exekutiven Kontrolle, welche

Einleitung

ebenfalls geringe phänotypische Korrelationen aufzeigen, unterschiedlich vererbt werden und Bestandteil eines mehrdimensionalen Konstrukts sind (Lee et al. 2012b). In einer GWAS konnten genomweit signifikante Assoziationen zwischen der kognitiven Flexibilität und SNPs im Bereich eines Gens auf Chromosom 15 nachgewiesen werden. Ebenfalls zeigte sich eine Assoziation zwischen der kognitiven Flexibilität und der generellen kognitiven Funktion (Hagenaars et al. 2018; Zhang et al. 2018; Grotzinger et al. 2022). Hagenaars et al. (2018) wiesen ebenso eine genetische Korrelation zu der Verarbeitungsgeschwindigkeit nach (Hagenaars et al. 2018).

1.2 Alzheimer Demenz

Durch die höhere Lebenserwartung der Bevölkerung in den Industriestaaten steigt auch die Wahrscheinlichkeit eine Demenz zu entwickeln (Doblhammer et al. 2013). Das Alter, einer der Hauptrisikofaktoren der Demenz, spielt dabei die entscheidende Rolle. Im Jahr 2018 lebten nahezu 1,7 Millionen an Demenz erkrankte Menschen in Deutschland. Die jährlich weiterhin anwachsende Zahl der Neuerkrankten lag dabei ungefähr bei 300000 pro Jahr und übertraf damit auch die Sterbefälle (Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018). Weltweit leben mehr als 55 Millionen Menschen mit der Erkrankung. Da der Anteil an älteren Menschen an der Bevölkerung zunimmt, könnte diese Anzahl bis 2030 auf 78 Millionen ansteigen (WHO 2022, abgerufen am 14. Februar 2023). Dies stellt die Gesellschaft vor große Herausforderungen (Bickel 2000; WHO 2022). Während die relative Prävalenz in Deutschland im Alter von unter 64 Jahren niedriger als 0,1 ist, steigt sie bei über 100- Jährigen auf bis zu 0,43 an. Ebenso steigt die Inzidenzrate von 0,1/100 gelebten Personenjahren auf bis zu 10,9/100 gelebte Personenjahre bei über 95- Jährigen an (Ziegler und Doblhammer 2009). Die Alzheimer Demenz (AD) ist die häufigste Form der Demenz und macht ungefähr 2/3 der Betroffenen aus (Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018). Die Heritabilität der Late-onset Alzheimer Erkrankung wird auf ungefähr 58–79 % geschätzt, Unterschiede zwischen Männern und Frauen bestehen nicht (Gatz et al. 2006). Auf die Vererbungsmechanismen wird im Verlauf noch gesondert eingegangen.

Bei der AD handelt sich um eine fortschreitende neurodegenerative Erkrankung, die sich insbesondere durch Kognitionseinschränkungen äußert (Holtzman et al. 2011). Erkrankte leiden an einem progressiven Gedächtnisdefizit und an Einschränkungen des Denkvermögens, vor allem die Fähigkeit des Lösen komplexer Aufgaben und des Lernens nimmt kontinuierlich ab. Dies schließt demnach eine verminderte Leistung in den exekutiven Funktionen und so auch in der kognitiven Flexibilität mit ein. Die Prävalenz dieser Funktionseinschränkungen steigt bei Menschen mit AD im Vergleich zu Gesunden deutlich an (Swanberg et al. 2004). In einem leichten bis mittelschweren Stadium der AD kann eine verminderte

Einleitung

Verarbeitungsgeschwindigkeit festgestellt werden (McGuinness et al. 2010). Zu erwähnen ist, dass sowohl die Verarbeitungsgeschwindigkeit als auch die exekutive Funktion ebenfalls beim gesunden Altern mit einem Rückgang in diesen kognitiven Domänen assoziiert ist. Hingegen lässt sich womöglich bei AD-Patienten eine Beschleunigung der Leistungsminderung beobachten (Sperling et al. 2011). Im Verlauf werden Verhalten, Persönlichkeit, Orientierung und Alltagsaktivitäten weiter negativ beeinflusst (Holtzman et al. 2011). Motorik und Sensorik sind in den Anfangsstadien nicht beeinträchtigt, zeigen aber im fortschreitenden Prozess der Erkrankung ebenfalls Einbußen. Die betroffenen Menschen werden hilfsbedürftig und sind in späteren Stadien vollständig abhängig von Hilfeleistenden (Weyerer 2005). Bis heute ist keine effektive Behandlung der AD bekannt, was der Erforschung der molekularen Mechanismen bei dem letalen Verlauf der Erkrankung einen hohen Stellenwert beimisst (Jansen et al. 2022).

Schon Jahre vor der eigentlichen Manifestation einer AD kann es zu der Entwicklung eines sogenannten *Mild cognitive impairment* (MCI) kommen. Hierbei handelt es sich um einen Risikofaktor für die AD (Petersen et al. 1999). Es wird von einem Kontinuum zwischen kognitiv Gesunden, MCI bis hin zur AD ausgegangen (Guo et al. 2013; Stephan et al. 2012). Die Betroffenen, die an einem MCI leiden, zeigen Einschränkungen der Gedächtnisleistung. Die allgemeinen kognitiven Funktionen und die Fähigkeit, Alltagsaktivitäten durchzuführen ist allerdings intakt (Busse et al. 2003).

1.2.1 Pathogenese der Alzheimer Demenz

Es wird angenommen, dass es sich bei der AD um eine multifaktorielle Erkrankung handelt. Genetische Faktoren wirken, ebenso wie Einflüsse aus Umwelt und Lebensstil auf die Erkrankung ein (Holtzman et al. 2011). So zeigt sich bei vaskulären Risikofaktoren wie beispielsweise der arteriellen Hypertension nicht nur ein Zusammenhang zur vaskulären Demenz, sondern auch zur Neuropathologie der AD (Czuriga-Kovács et al. 2016). Wie genau die vaskulären Risikofaktoren die AD beeinflussen ist noch unklar. Es besteht aber die Theorie, dass eine arterielle Hypertension die Expression eines β -Amyloids Rezeptors der Blut-Hirn-Schranke beeinflusst und somit zu der Ablagerung von Amyloid Aggregaten beitragen könnte (Carnevale et al. 2016). Weitere Assoziationen zur AD gelten für andere kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Diabetes mellitus oder Hypercholesterinämie. Demnach könnten diese zerebrovaskulären Faktoren auch das Risiko für eine AD erhöhen (Beeri et al. 2009)

Kennzeichnend für die AD ist die Degeneration von Neuronen und Synapsen sowie der Verlust des Neurotransmitters Acetylcholin (Selkoe 2002). Es gibt Hinweise darauf, dass das cholinerge System zur Neuroplastizität beiträgt, einen Einfluss auf die Kognition hat und dass zwischen

Einleitung

Veränderungen des cholinergen Systems und typischen AD-Pathologien Interaktionen bestehen. Assoziationen bestehen beispielsweise mit hyperphosphoryliertem Tau-Protein und der β -Amyloid Pathologie (Hampel et al. 2018). Generell zeigt sich bei der AD eine Hirnatrophie, anfangs vor allem im entorhinalen Cortex und im Hippocampus (Sabuncu et al. 2011; Harada et al. 2013). Wegweisend sind extrazelluläre senile Plaques, bestehend aus akkumulierten, fehlerhaftgefalteten Peptiden des β -Amyloids. Das β -Amyloid-Peptid entsteht durch Spaltung eines Vorläuferproteins, dem Amyloid-Precursor-Protein (APP), bei dem es sich um ein integrales Membranprotein handelt. Die Spaltung des APP findet durch die α -, β - und eine γ -Sekretrasen im Endosom statt. Durch die Spaltung mittels β - und γ - Sekretase entsteht das β -Amyloid-40 und das schlechter lösliche, etwas längere, β -Amyloid-42 (A β 42). Bei AD-Patienten kommt es zu einer verstärkten Aggregation und Akkumulation des Amyloids (Pensalfini et al. 2014). Dieses Akkumulation des neurotoxischen Produkts bildet unlösliche senile Plaques, die sich zunächst intrazellulär ablagern (Schaeffer et al. 2011). Bei Degeneration der Neuronen kommt es zu einer extrazellulären Ablagerung. Sowohl die intrazellulären, als auch die extrazellulären A β 42 Ablagerungen scheinen eine Rolle in der AD-Pathogenese zu spielen und beeinflussen sich gegenseitig (Takahashi et al. 2017).

In den Neuronen bilden sich außerdem Ablagerungen aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein, sogenannte *neurofibrillary tangles* (NFTs). Diese sind mit den Mikrotubuli assoziiert und dienen diesen als Bindungspartner und Stabilisator (Schaeffer et al. 2011). Es wurde gezeigt, dass die Ablagerungen der NFTs mit neurodegenerativen Prozessen bei AD-Patienten zusammenhängen (Scheltens et al. 2016; Cicognola et al. 2019). Auch korrelieren die NFTs und die Plaquelast mit dem Vorhandensein klinischer Symptome einer AD (Hyman et al. 2012). Unsicher ist hierbei, ob die Ablagerungen sekundär durch die Krankheit entstehen oder diese induzieren.

In Bezug auf den Verlauf der AD ist wichtig zu erwähnen, dass die beschriebenen pathologischen Prozesse schon viele Jahre vor der klinischen Manifestation einer AD auftreten (Preische et al. 2019a). Auffälligkeiten in der Tau-Pathologie zeigen sich ungefähr 15 Jahre, Änderungen in der Amyloid-Pathologie bis zu 20 Jahre vor dem Auftreten der ersten AD Symptome. Es besteht die Theorie, dass nach dem Einsetzen dieser pathologischen Prozesse, strukturelle Veränderungen im Gehirn folgen und es anschließend zu kognitiven Einschränkungen kommt. Aus dieser Theorie entwickelte sich das Konstrukt der präklinischen AD, bei der sowohl Merkmale für die Amyloid-Pathologie als auch für Tau-Pathologie bestehen, es aber noch nicht zur klinischen Manifestation der AD gekommen ist (Dubois et al. 2016). Entscheidend ist auch, dass nicht alle Menschen mit den beschriebenen Pathologien überhaupt eine AD entwickeln. Die Prävalenz der Ablagerungen steigt zwar mit dem Alter an, bei einigen Menschen kommt es aber trotz steigender Menge der

Einleitung

Ablagerungen bis zum Tod nicht zu einem Ausbruch der Erkrankung (Savva et al. 2009). In diesem Zusammenhang ist auch die bereits oben beschriebene Amyloid-Hypothese zu erwähnen, in der angenommen wird, dass die Amyloid-Pathologie Hauptursache der AD ist (Hardy und Higgins 1992). Diese wurde in den letzten Jahren beispielsweise durch das Scheitern der zahlreichen neuentwickelten Medikamente, die ausschließlich auf diesen Pathomechanismus einwirken sollten, als singuläre Ursache der AD abgelöst. Stattdessen wird eher davon ausgegangen, dass zu einer Amyloid-Akkumulation eine mikrogliale Entzündungsreaktion hinzukommt, welche die Tau-Akkumulation sowie Ausbreitung fördert und was schließlich in einer Degeneration von Neuronen mündet. Therapeutische Ziele sollten eher dem Krankheitsstadium und dem jeweiligen Prozess angepasst werden (Boche und Nicoll 2020). Die Frage, welche weiteren Faktoren hinzukommen müssen, damit es zur Neurotoxizität kommt und neurokognitive Einschränkungen auftreten, ist Teil der aktuellen Forschung. Mittlerweile wird eher von einer komplexen und multikausalen Pathogenese der AD als von einer rein linearen Kausalkette durch Ablagerungsmechanismen ausgegangen (Scheltens et al. 2016).

Weitere Entstehungstheorien deuten auf eine frühe Beteiligung von oxidativem Stress, mitochondrialer Fehlfunktion und deren Wechselwirkungen an der Pathogenese der AD hin. Ein verringerter Energiestoffwechsel und Zelldegeneration in Gehirnen von Erkrankten unterstützen diese Theorie (Wang et al. 2014). Zusätzlich ist bekannt, dass mit der Entstehung der AD verschiedene neuroinflammatorische Prozesse assoziiert sind, woran unter anderem das Komplementsystem und die Mikroglia-Zellen beteiligt sind. A β -Ablagerungen zeigen proinflammatorische Eigenschaften (Tuppo und Arias 2005). Erwähnt werden sollte in diesem Zusammenhang auch ein möglicher Einfluss chronisch viraler, bakterieller und mykotischer Infektionen auf die Entstehung der AD (Sochocka et al. 2017) sowie eine mögliche Verbindung zwischen einem hochreguliertem Kynureninstoffwechsel und AD-typischen Ablagerungen im Gehirn von Erkrankten (Guillemin et al. 2005). Einflüsse auf die Pathogenese und die Modulation des A β - und Tau-Proteins werden auch dem Glucose- und Lipidmetabolismus zugeschrieben (Jones et al. 2010). Insbesondere besteht eine Assoziation zwischen dem Gesamtcholesterol im Serum im mittleren Lebensalter und dem Risiko eine AD zu entwickeln (Anstey et al. 2008). Auch bestehen Einflüsse zwischen dem Lipid- und Glucosestoffwechsel auf die Neurodegeneration (Sato und Morishita 2015). Ein ausreichendes Verständnis davon, wie genau die verschiedenen Interaktionen mit oben beschriebenen Ablagerungen und Auswirkungen auf die Pathogenese der AD funktionieren, konnte sich bislang nicht herausbilden.

1.2.2 Genetische Einflüsse auf die Alzheimer Demenz

Unterschieden wird zwischen einer früh beginnenden Alzheimer Demenz (*Early-onset Alzheimer's disease*, EOAD), die vor dem 66. Lebensjahr auftritt und einer später beginnenden Form (*Late-onset Alzheimer's disease*, LOAD) mit Manifestation ab dem 66. Lebensjahr (Sakamoto et al. 2002). Die familiäre Form der EOAD macht ungefähr 5 % der Betroffenen aus und zeigt unter anderem verschiedene Mutationen im APP-Gen, sowie im Presenilin-Gen 1 und 2. Diese Mutationen verändern die Verstoffwechslung des APP. Es kann beispielsweise zu einer erhöhten Produktion der längeren Form des neurotoxischen β -Amyloid ($A\beta_{42}$) kommen, welche akkumuliert und aggregiert (Guimas Almeida et al. 2018). Neben diesen Risikovarianten scheinen auch seltenere Varianten sowie Risikogene, welche keinem klar autosomal-dominantem Erbgang folgen, eine Rolle in der Manifestierung einer EOAD zu spielen. Hier werden beispielsweise epigenetische Modellierungen diskutiert (Sirkis et al. 2022). Im Gegensatz zu der EOAD, bei der teilweise eine monogenetische Vererbung zu beobachten ist, die den Mendelschen Regeln folgt, tragen bei der LOAD mehrere Risikogene mit geringerer Penetranz zum Krankheitsrisiko bei (Naj und Schellenberg 2017). Bei der LOAD ist das $\epsilon 4$ -Allel des Apolipoprotein E-Gens (*APOE*) lange vor weiteren Risikofaktoren als wichtigstes Suszeptibilitätsgen identifiziert worden (Corder et al. 1993). Im Vergleich zu einem $\epsilon 4$ -negativen Genotyp, steigt bei einem $\epsilon 4$ -heterozygoten Genotyp das Risiko an einer LOAD zu erkranken um das 1,8 – 3fache an. Bei einem $\epsilon 4$ -homozygoten Genotyp ist das Risiko um das 6 – 15fache erhöht (Finckh 2006). *APOE* ist am Lipidmetabolismus und -transport beteiligt. Zusätzlich hat es einen Einfluss auf die β -Amyloid-Akkumulation, die Funktion der Synapsen und die Regulation des Immunsystems (Mahley und Rall 2000). Der Einfluss des *APOE*-Gens auf die Pathogenese der LOAD ist jedoch nicht ausreichend, um die Entstehung der LOAD gänzlich zu erklären. Weitere Risikofaktoren, sowohl genetisch als auch nicht genetisch, müssen bestimmt und bedacht werden. Daher wurden in umfangreichen GWAS und Meta-Analysen an immer größer werdenden Stichproben in den letzten Jahren viele weitere SNPs detektiert und LOAD-Risikogene identifiziert. In Tabelle 1 sind einige dieser GWAS und Meta-Analysen vermerkt. Es wird jeweils aufgezeigt, wie groß die Stichproben waren, wie viele Risikogene für eine LOAD identifiziert wurden und welche *BIN1*-Genvarianten darunter waren. Die identifizierten Alzheimer-Risikogene zeigen untereinander in ihrer Funktion oft Zusammenhänge und lassen über verschiedene Effekte auf die Entstehung der LOAD spekulieren (Tan et al. 2013; Morgan 2011; Carter 2011; Lambert et al. 2013; Kunkle et al. 2019; Bellenguez et al. 2022). Zum Beispiel zeigen die Gene *CLU* (Clusterin), *CR1* (Complement receptor type 1), *ABCA7* (ATP-binding cassette sub-family A member 7), *CD33* (Cluster of differentiation 33), *MS4A* (Membrane spanning A4) und *EPHA1* (Ephrin receptor A1) einen Einfluss auf das Immunsystem, was den

Einleitung

neuroinflammatorischen Aspekt der Pathogenese der AD unterstützt (Morgan 2011; Carter 2011; Hollingworth et al. 2011). *CR1*, *ABCA7* und andere Risikogene sind ebenfalls mit Eigenschaften des Komplementsystems assoziiert (Tan et al. 2013; Carter 2011). *CLU*, *APOE* und *ABCA7* sind an der Metabolisierung von Lipiden, vorwiegend von Cholesterol, aber auch von A β beteiligt (Hollingworth et al. 2011). Dies bekräftigt die Annahme, dass es sich beim Amyloid-Stoffwechsel scheinbar um einen komplexen und durch zahlreiche Faktoren beeinflussbaren Prozess handelt (Morgan 2011; Schellenberg und Montine 2012). Einen Einfluss auf verschiedene Membranprozesse, wie sie zum Beispiel in Endozytosevorgängen und an der Synapse vorkommen, zeigen unter anderem die Gene *BIN1* (Bridging-Integrator 1), *PICALM* (Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein), *CD33*, *CD2AP* (CD2-associated protein) und *EPHA1* (Morgan 2011; Schellenberg und Montine 2012; Hollingworth et al. 2011). Mehrere der untersuchten Gene (*BIN1*, *PICALM*, *CD2AP*) legen einen Einfluss auf eine vermehrte endozytäre Bildung des A β in der LOAD nah. Sie sind beispielsweise am Vesikeltransport des APP oder der Sekretasen beteiligt (Guimas Almeida et al. 2018). Auf das *BIN1*-Gen soll im Folgenden genauer eingegangen werden.

Tabelle 1: Übersicht über Auswahl an GWAS/ Meta-Analysen

GWAS/ Meta-Analysen	Anzahl Patienten/ Kontrollen	Anzahl der detektierten Risikogene (angewandter p-Wert)	Detektion von <i>BIN1</i> - Genvarianten
Harold et al. (2009)	5964 AD-Fälle	15	rs744373
	10188 Kontrollen	($p < 1 \times 10^{-5}$)	rs7561528
Seshadri et al. (2010)	8371 AD-Fälle	5	rs744373
	26965 Kontrollen	($p < 1,7 \times 10^{-8}$)	
Lee et al. (2011)	549 AD-Fälle	8	rs7561528
	544 Kontrollen	($p < 0,05$)	
Wijsman et al. (2011)	3310 AD-Fälle	4	rs744373
	529 Kontrollen	($p < 0,05$)	rs7561528
Hu et al. (2011b)	6521 AD-Fälle	2	rs744373
	10360 Kontrollen	($p < 5 \times 10^{-8}$)	rs12989701
Hollingworth et al. (2011)	19870 AD-Fälle	7	rs744373
	39846 Kontrollen	($p < 5 \times 10^{-8}$)	
Naj et al. (2011)	18832 AD-Fälle	9	rs7561528
	35597 Kontrollen	($p < 5 \times 10^{-8}$)	
Kamboh et al. (2012)	2727 AD-Fälle	6	rs11680911
	33366 Kontrollen	($p < 0,05$)	rs7561528
			rs6743470
			rs17014923
Lambert et al. (2013)	25580 AD-Fälle	20	rs6733839
	48466 Kontrollen	($p < 5 \times 10^{-8}$)	
Kunkle et al. (2019)	35274 AD-Fälle	25	rs6733839
	59163 Kontrollen	($p < 5 \times 10^{-8}$)	
Bellenguez et al. (2022)	111326 AD-Fälle	75	rs6733839
	677633 Kontrollen	($p < 5 \times 10^{-8}$)	

1.3 Bridging-integrator 1-Gen

Das Bridging-integrator 1-Gen (*BIN1*-Gen) befindet sich in der Chromosom-Region 14.3 auf dem langen Arm (q) des 2. Chromosoms und lässt sich in verschiedene Isoformen eines nukleozytoplasmatischen Adapterproteins transkribieren. Das *BIN1*-Gen wurde 1996 als

mögliches Tumorsuppressorgen identifiziert und interagiert mit dem Protoonkogen *MYC* (*Myelocytomatosis*) (Sakamuro et al. 1996). *BIN1* gehört zur Amphiphysin-Familie, in der die Proteine ähnliche Aminosäuresequenzen und Funktionsdomänen aufweisen (Butler et al. 1997).

1.3.1 Organisation und Expression des *BIN1*-Gens und seiner Isoformen

Es sind verschiedene transkribierte Proteine des *BIN1*-Gens bekannt. Durch alternatives *Splicing* kommt es zu Unterschieden zwischen den Proteinen, sogenannten Isoformen, für die verschiedene Exons des Gens kodieren. Ursprünglich wurden 19 verschiedene Exons im *BIN1*-Gen identifiziert (Wechsler-Reya et al. 1997a). Die Nummerierung der Exons baut auf dieser erstmaligen Beschreibung auf. Heute sind 22 Exons des Gens bekannt. Die jeweiligen Isoformen ähneln sich in ihrem Aufbau, unterscheiden sich aber in der Lokalisation, ihrer Expression und in der Funktion. Zwei Isoformen (Isoformen 9 und 10) des *BIN1*-Gens werden ubiquitär exprimiert. Verschiedene andere Isoformen zeigen Unterschiede in ihrer Gewebezugehörigkeit (Tsutsui et al. 1997). Die Isoformen 1 bis 7 sind im zentralen Nervensystem lokalisiert. Hier kommt *BIN1* in der weißen Substanz und in Gliazellen vor. Assoziationen bestehen dabei mit myelinisierten Axonen im Neuropil, Oligodendrozyten und Astrozyten (Adams et al. 2016). Dabei ist die Isoform 1 im initialen Segment der Axone hoch konzentriert, ebenso im Bereich der Ranvier'schen Schnürringe (Butler et al. 1997; Ramjaun und McPherson 1998). In anderen immunhistochemischen Analysen wurde gezeigt, dass die neuronale Isoform 1 nur in der grauen Substanz und die häufigere ubiquitäre Isoform sowohl in der grauen als auch in der weißen Substanz, aber überwiegend in den Oligodendrozyten exprimiert wird (De Rossi et al. 2016). In der Skelettmuskelzelle ist die Isoform 8 nahe der T-Tubuli lokalisiert (Butler et al. 1997).

Im folgenden Abschnitt wird genauer auf die verschiedenen funktionellen Domänen der entstehenden Proteine eingegangen. Diese sind je nach Voraussetzungen und Ansprüchen des jeweiligen Gewebes durch alternatives mRNA-*Splicing*, in den verschiedenen Isoformen unterschiedlich exprimiert (Wechsler-Reya et al. 1997a; Ellis et al. 2012). Die hohe strukturelle Ähnlichkeit zwischen den N-terminalen Regionen von *BIN1*, *Amphiphysin1* und *RVS167* (BAR) lässt auf ähnliche Funktionen der Proteine schließen und wird deshalb N-BAR Domäne genannt (Sakamuro et al. 1996). Diese N-terminale funktionelle Gruppe befindet sich ubiquitär in allen Isoformen des Gens und kann in Form eines Dimers an Lipidmembranen binden. Durch seine amphiphile Helix ist die BAR-Domäne an der Membranwölbung beteiligt und kann in die Membran inserieren (Peter et al. 2004). Ebenfalls ubiquitär in allen Isoformen verbreitet ist die *Src-homology 3* (SH3)-Domäne. Mittels dieser ist es möglich Prolin-reiche Bindungsmuster zu binden, wie sie zum Beispiel in dem Protein Dynamin vorhanden sind, das in die Endozytose involviert ist (Leprince et al. 1997). Des Weiteren ist eine Bindungsstelle für das *MYC*-Protein

Einleitung

bekannt. Bei *MYC* handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor, der bei Mutation als Protoonkogen mit der Tumorentstehung assoziiert ist (Sakamuro et al. 1996). Die Clathrin- und Adaptorprotein 2 (CLAP)- Bindungsdomäne kann zur Endozytose beitragen, ist aber bisher nur in Isoformen im Nervensystem ausfindig gemacht worden (Ramjaun et al. 1997; Ellis et al. 2012; Tsutsui et al. 1997). Ein weiteres Bindungsmuster ist die skelettmuskelspezifische Bindungsstelle für Phosphoinositide (PI). Diese erhöht die Affinität zu negativ geladenen Lipiden und steht im Zusammenhang mit der Verformung der Zellmembran und der T-Tubuli (Wechsler-Reya et al. 1997a; Lee et al. 2002). In der muskelspezifischen Isoform 8 kann die PI-Domäne ebenso die eigene SH3-Domäne binden und sie damit für andere Bindungspartner blockieren (Kojima et al. 2004).

1.3.2 Beitrag zu Endozytose und Membranfunktionen

Die *BIN1* Isoformen spielen bei der Endozytose eine wichtige Rolle, allerdings ist dies nicht auf neuronale Zellen begrenzt (David et al. 1996; Ramjaun et al. 1997; Ellis et al. 2012). Dennoch ist *BIN1* in Clathrin-vermittelten Endozytoseprozessen in Neuronen von Bedeutung (Huggett et al. 2022). Es ist bekannt, dass *BIN1* mit mehreren in die Vesikelendozytose involvierten Proteinen interagiert. Dabei trägt die SH3-Bindungsdomäne entscheidend zu der Funktion und Bindung von Dynamin und Synaptojanin bei (McPherson et al. 1996; Leprince et al. 1997; Grelle et al. 2006). Auch unterstützt *BIN1* die Invagination von *Clathrin-coated pits* (vertiefte Bereiche der Membran), welche an der Ausbildung von Transportvesikeln beteiligt sind (Shupliakov et al. 1997; Ramjaun et al. 1997). In der Clathrin-abhängigen synaptischen Vesikelendozytose ist an der finalen Fission der Vesikel zusätzlich auch Dynamin beteiligt. *BIN1* könnte durch seine Beteiligung an diesen beiden Proteinmechanismen das Verbindungstück sein (Takei et al. 1999). Durch die physiologische Konkurrenz zwischen der Clathrin- und Dynamin- Bindung, in der Dynamin Clathrin von seiner Bindungsstelle verdrängen kann, könnte der nächste Schritt der Endozytose eingeleitet werden (McMahon et al. 1997). Ebenso interagiert *BIN1* mit dem AP2-Adapterkomplex, welcher ebenfalls an der Internalisierung der Clathrin-abhängigen Vesikelendozytose beteiligt ist (McMahon et al. 1997; Leprince et al. 1997). Die letzten beiden zu erwähnenden Proteine sind das in die synaptische Vesikelendozytose involvierte Protein Endophilin, welches auch mit *BIN1*-Isoformen in Wechselwirkung treten kann (Micheva et al. 1997), sowie eine Interaktion über die SH3-Domäne mit dem auch beteiligten Protein DLP4 (Grelle et al. 2006). Damit die Induktion der *BIN1* involvierten Endozytose beginnen kann, muss es durch die Calcium abhängige Phosphatase Calcineurin dephosphoryliert werden (Marks und McMahon 1998). Zusätzlich zu dem Beitrag zur Endozytose, ist *BIN1* möglicherweise auch bei Mechanismen der Exozytose, beim prä- und postsynaptischen Transport in Neuronen und auch

Einleitung

beim endozytären Recycling involviert (Schürmann et al. 2020; De Rossi et al. 2020). Bei der Blockierung des *BIN1*-Gens in HeLa-Zellen steigt die Menge an intrazellulärem Transferrin deutlich an, da das Recycling des betroffenen Rezeptors ohne *BIN1* nicht mehr funktioniert (Pant et al. 2009).

Die BAR-Domäne und die Fähigkeit zur Dimerbildung haben einen Einfluss auf die Verformung der Membran. Dabei ertasten die *BIN1*-Proteine die Lipidmembran und unterstützen deren Krümmung und Spaltung (Ramjaun et al. 1999; Lee et al. 2002; Peter et al. 2004). Die skelettmuskelspezifische Isoform ist an der Membrantubulation und der Muskelzelldifferenzierung beteiligt. Lokalisiert ist das Protein hier an den T-Tubuli, genauer gesagt an den tubulären Invaginationen (Butler et al. 1997; Lee et al. 2002; Kojima et al. 2004; Tjondrokoesoemo et al. 2011). Zusammenfassend weist *BIN1* einen Einfluss auf die Spaltung der Lipidmembran, die synaptischen Vesikelendozytose, die Bildung der Membrantubulation und generell auf die Verformung der Lipidmembran auf.

1.3.3 Regulation des Zytoskeletts

Die beiden Proteine Amphiphysin1 und RVS167, welche ebenfalls zur N-BAR-Familie gehören, sind in die Regulation des Zytoskeletts, insbesondere des Aktinzytoskeletts, involviert (Bauer et al. 1993; Yamada et al. 2007; Yamada et al. 2009). Die BAR-Domäne von *BIN1*-Proteinen beeinflusst ebenso das Aktinzytoskelett. Dabei stabilisiert und schützt *BIN1* dieses vor Depolymerisation. Gleichzeitig kann *BIN1* die Stabilität der Aktin-Bündel modifizieren, indem es mit Tau-Protein, welchem ein Einfluss auf die AD-Pathogenese zugeschrieben wird und welches Aktin-Bündel induzieren kann, interagiert (Dräger et al. 2017). Zusätzlich kann *BIN1* durch seine BAR-Domäne an das Mikrotubuli stabilisierende Protein CLIP170 binden und so die Mikrotubuli beeinflussen. *BIN1* dient diesem, möglicherweise als Ankerpunkt an der Lipidmembran. Andererseits unterstützt der Mikrotubuli-Apparat auch bei der Ausbildung von Membrantubulationen. *BIN1* scheint somit ebenfalls einen regulierenden Einfluss auf das Zytoskelett zu haben (Meunier et al. 2009).

1.3.4 Funktion bei DNA-Reparatur und Zelltod

BIN1 führt im Zellkern von proliferierenden und differenzierenden Zellen wichtige Funktionen aus (Wechsler-Reya et al. 1998; Wechsler-Reya et al. 1997b). Dazu gehört die Aktivierung des programmierten Zelltods beziehungsweise auch die Fähigkeit maligne Transformationen durch das Protoonkogen *MYC* zu stoppen (Ge et al. 1999; Elliott et al. 2000). *BIN1* kann den Zelltod über verschiedene Wege induzieren: Über einen Kaspase-unabhängigen Mechanismus kann das Zellwachstum *MYC*-abhängig oder -unabhängig gehemmt werden (Elliott et al. 2000; Elliott et

al. 1999). *BIN1* und seine funktionellen Domänen, um unter anderem das *MYC*-Protein zu binden, spielen dabei als Tumorsuppressor eine wichtige Rolle (Sakamuro et al. 1996). In Tumorzellen führt der Verlust von *BIN1*-Genprodukten zu einem bösartigeren Verlauf, da die Apoptose nur vermindert durchgeführt werden kann (DuHadaway et al. 2001). Der Transkriptionsfaktor E2F1 aktiviert bei aufkommenden DNA-Schäden die *BIN1*-Promoterregion, welche unabhängig von bekannten Apoptose-induzierenden Proteinen wie p53, p73 und Kaspasen zum programmierten Zelltod führt (Cassimere et al. 2009). Weitere Wechselwirkungen bestehen zwischen der BAR-Domäne und dem DNA-Bindungsprotein Ku, welches bei der Telomer-Aufrechterhaltung, der Apoptose und der DNA-Reparatur wirkt. Bei Mutationen, die die krebshemmende Aktivität von *BIN1* zerstören, kann eine Bindung zu Ku nicht mehr hergestellt werden (Ramalingam et al. 2007). Die SH3-Domäne kann ebenfalls ein DNA-Reparatur-Protein binden. Es handelt sich um XRCC4, welches in die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen involviert ist (Grelle et al. 2006). *BIN1* greift mit seiner BAR-Domäne auch direkt in die DNA-Reparatur ein. Dabei hemmt und interagiert es mit der Polymerase PARP1, welche an der Basenexzisionsreparatur beteiligt ist. Durch erhöhte Mengen an *MYC*-Proteinen kommt es zu einer Repression von *BIN1* und damit zu einer erhöhten PARP1 Aktivität und leichterem Überleben der Krebszelle (Pyndiah et al. 2011). Wie genau *BIN1* die Apoptose bei der LOAD beeinflussen könnte, ist noch nicht abschließend untersucht (Gao et al. 2021).

1.3.5 Beitrag zur Funktion des Immunsystems

BIN1 beteiligt sich über verschiedene Mechanismen an der Funktion des Immunsystems. Beispielsweise trägt es zur Phagozytose durch Makrophagen bei (Gold et al. 2004). Außerdem ist *BIN1* an der Expression des Enzyms Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO1) beteiligt, welches einen Einfluss auf die Immunantwort bei Infektionen und die Bildung des neurotoxischen Stoffes Chinolinsäure (QUIN) hat (Tan et al. 2013). Sowohl IDO1 als auch QUIN scheinen über einen hochregulierten Kynureninstoffwechsel in die AD-Pathogenese, insbesondere über Entzündungsmechanismen im Bereich der senilen Plaques, involviert zu sein (Guillemin et al. 2005). Inwieweit *BIN1* über diese Stoffe an der möglichen entzündlichen Genese der AD und an grundsätzlichen Alterungsprozessen im Gehirn beteiligt sein könnte, ist bisher noch unklar (Behfar et al. 2022).

1.3.6 Assoziierte Erkrankungen

Mehreren Tumorerkrankungen sind mit Veränderungen im *BIN1*-Gen assoziiert. Ursachen der erhöhten Krebsprogression können Fehler beim *Splicing*, Deletionen, ein Verlust der Heterozygotie des *BIN1*-Gens oder der Verlust der Fähigkeit zur Apoptoseinduktion sein (Ge et al. 1999; Ge et al. 2000a). Auffälligkeiten in Bezug auf das *BIN1*-Gen ergaben sich in

Einleitung

Melanomzellen (Ge et al. 1999), Prostataatumoren (Ge et al. 2000a), malignen Karzinomen der Brust (Ge et al. 2000b; Ghaneie et al. 2007; Chang et al. 2007a), Zellen des hepatozellulären Karzinoms (Pan et al. 2012), Darm- und Lungenkarzinomen (Chang et al. 2007b) sowie in Neuroblastomzellen (Hogarty et al. 2000). Insgesamt ist die Konsequenz, dass bestimmte Veränderungen in der *BIN1*-Expression einen Einfluss auf die Genese, Pathologie oder Progression verschiedener Tumorerkrankungen haben könnten.

In der Entstehung von Kardiomyozyten zeigt *BIN1* eine Beteiligung an der Entstehung der T-Tubuli und an der Aktivität der Ca_v-1.2-Kalziumkanäle. *BIN1* ist nah an den T-Tubuli lokalisiert und beim über die Mikrotubuli erfolgenden Transport von Kalziumkanälen zur Membran involviert. Hier dient *BIN1* als Anker an der Zellmembran (La Mata et al. 2019; Hong et al. 2010).

Homozygote Mutationen im *BIN1*-Gen sind mit einer autosomal rezessiven Form der angeborenen myotubulären Myopathie (zentronukleäre Myopathie, CNM) assoziiert (Böhm et al. 2013; Nicot et al. 2007). Es handelt sich bei den Mutationen entweder um *Missense*-Mutationen, die die BAR-Domäne betreffen und so die Eigenschaften an der Membran und an der Tubulation beeinflussen oder um Mutationen, die in der SH3-Domäne vorkommen, sodass die Bindung zu Dynamin2 gestört wird (Nicot et al. 2007). Bei der myotonen Dystrophie können ebenfalls Fehler im *Splicing*, vor allem das muskelspezifische Exon betreffend, beobachtet werden (Böhm et al. 2013; Fugier et al. 2011).

Das Mitwirken des *BIN1*-Gens und seinen potenziell veränderten Isoformen an diesen verschiedenen Erkrankungen verdeutlicht die vielschichtige und ausgeprägte Bedeutung, die *BIN1* an grundlegenden molekularen Mechanismen hat (Prokic et al. 2014).

1.3.7 Assoziation von *BIN1* mit der *Late-onset Alzheimer's disease*

Viele Studien unterstützen die Beteiligung des *BIN1*-Gens an typischen pathogenen Faktoren der LOAD. Diese Korrelation könnte beispielsweise über eine veränderte Rezeptor-vermittelte Endozytoseaktivität in Neuronen, die mit neuritischen Plaques belastet sind, erklärt werden (Bhattacharyya et al. 2022). Ein anderer Ansatz könnte der Einfluss über das Aktin-Zytoskelett auf die Tau-Pathologie und die NFTs sein (Adams et al. 2016). Im Jahr 2010 erreichte der erste Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) nahe dem *BIN1*-Gen in einer Meta-Analyse mehrerer GWAS zur LOAD zum ersten Mal genomweite Signifikanz (Seshadri et al. 2010). In weiteren GWAS und Meta-Analysen wurde *BIN1* als Suszeptibilitäts-gen für die LOAD bestätigt. Verschiedene SNPs im *BIN1*-Genabschnitt zeigten – teilweise mehrfach – signifikante Assoziationen (Hollingworth et al. 2011; Lee et al. 2011; Wijsman et al. 2011; Hu et al. 2011b; Naj et al. 2011; Lambert et al. 2013; Kunkle et al. 2019; Bellenguez et al. 2022). In zusätzlichen

Einleitung

Studien wurde der Zusammenhang zwischen den *BIN1*-Genvarianten und der LOAD weiter bekräftigt und untersucht (Masoodi et al. 2013; Carrasquillo et al. 2011). Bei diesen SNPs handelte es sich anfangs meist um rs12989701, rs744373 und rs7561528 (Tan et al. 2013). Dabei liegen rs744373 und rs12989701 zwar dicht beieinander, werden aber unabhängig voneinander vererbt und liegen *upstream* (dem Gen vorgelagert) von dem *BIN1*-Gen in einer Region, die eventuell für die Genexpression und Genregulation zuständig ist (Hu et al. 2011b). Der SNP rs59335482, welcher in Assoziationsanalysen der *BIN1*-Genregion mit der LOAD ebenfalls genomweite Signifikanz erreichte, ist mit einer gesteigerten mRNA-Expression des *BIN1*-Gens assoziiert. Dieser und weitere SNPs (beispielsweise rs4663105, rs6733839) wurden signifikant mit der LOAD assoziiert, liegen mit dem SNP rs744373 in einem *linkage disequilibrium* (LD) und werden demnach abhängig vererbt (Chapuis et al. 2013). Später bestätigten sich über Sequenzierungsmaßnahmen seltene Mutationen und weitere Assoziationen wurden neu entdeckt (Tan et al. 2014; Vardarajan et al. 2015). Es wird vermutet, dass *BIN1* hinter *APOE* das zweitwichtigste Alzheimer Kandidatengen sein könnte (Bertram et al. 2007; Tan et al. 2013; Gao et al. 2021). In der aktuellsten GWAS zur LOAD an 111326 Patienten und 677663 Kontrollen zeigte der *BIN1* Polymorphismus rs6733839 eine genomweite Assoziation von $p = 6,1 \times 10^{-118}$ (OR = 1.17) und zählt damit aktuell zu den wichtigsten Assoziationen mit der LOAD (Bellenguez et al. 2022).

Das *BIN1*-Gen wird in Gehirnen von mit Alzheimer betroffenen Menschen stärker exprimiert. Dies lässt vermuten, dass dies reaktiv, basierend auf den durch AD ausgelösten Pathologien, geschieht oder dass es sich bei dem *BIN1*-Gen um ein LOAD-Risikogen handelt. In immunhistochemischen, genetischen und neuropathologischen Analysen zeigten sich Assoziationen zwischen einer erhöhten *BIN1*-Genexpression und der Tau-Pathologie. Der biologische Mechanismus hinter dieser Assoziation muss noch weiter untersucht werden. Es besteht die Möglichkeit, dass *BIN1* über die Stabilität der Mikrotubuli, die Tau-Phosphorylierung und Aggregation oder die Bildung von NFTs die AD-Pathogenese beeinflussen könnte (Chapuis et al. 2013; Sartori et al. 2019; Jansen et al. 2022). In weiteren Studien wurde die Akkumulation stark phosphorylierten Tau-Proteins im Bereich der Synapsen von Neuronen mit einem *BIN1*-Verlust bei LOAD in Verbindung gebracht. Es zeigte sich, dass eine reduzierte *BIN1*-Expression mit einer Störung der Tau-Funktion und einer durch phosphoryliertes Tau hervorgerufenen Beeinträchtigung der Funktion der Synapsen in Verbindung steht (Glennon et al. 2020). Um welche *BIN1*-Isoform es in den jeweiligen Studien geht, muss unterschieden werden. Während bei LOAD-Patienten die größere neuronale Isoform signifikant vermindert ist (Glennon et al. 2013), ist eine kürzere ubiquitäre Isoform erhöht. Diese kürzere Isoform weist eine signifikante

Einleitung

positive Korrelation mit der Tau-Pathologie, genauer gesagt mit der Menge an NFT, auf (Holler et al. 2014). Die verminderte neuronale Isoform verstärkt die Tau-Pathologie durch vermehrte Internalisierung der entstanden Tau-Aggregate, indem die Endozytose weniger blockiert wird. Umgekehrt zeigt eine Überexpression dieser Isoform eine abgeschwächte Endozytose (Calafate et al. 2016). Des Weiteren interagiert die neuronale Isoform mit dem Protein Clusterin (*CLU*), welches ebenfalls von einem AD-Suszeptibilitätsgen codiert wird. Beide zeigen Assoziationen mit Tau-Ablagerungen in Gehirnen von Erkrankten (Zhou et al. 2014). Mittlerweile konnte eine Assoziation zwischen dem *BIN1*-Gen und der Menge an phosphoryliertem Tau im Liquor bestätigt werden (Jansen et al. 2022).

Weitere Studien deuten auf eine Beteiligung von *BIN1* an der A β -Pathogenese der LOAD hin. Bei verringerter *BIN1*-Expression oder bei Funktionsstörungen steigt die A β -Produktion durch die Akkumulation des APP-bearbeitenden Proteins β -Sekretrase an. Es lässt sich ein intrazellulärer Anstieg an A β 42 beobachten (Miyagawa et al. 2016; Ubelmann et al. 2017). Eine andere Studie bestätigte den regulatorischen Einfluss der neuronalen *BIN1*-Isoform auf die β -Sekretase und A β Entstehung (Bhattacharyya et al. 2022). Bezüglich des Einflusses auf den Erkrankungsbeginn bestehen unterschiedliche Angaben. Einerseits wurde bei einer erhöhten *BIN1* Expression ein verzögerter Eintritt der Erkrankung mit kürzerer Krankheitsdauer, beziehungsweise mit dem schnelleren Progress der LOAD, beobachtet (Karch et al. 2012); andere Studien zeigen stärkere Effekte des *BIN1*-Gens auf jüngere an AD erkrankte Menschen (60 - 79 Jahre) (Lo et al. 2019). Hierzu zeigte eine Untersuchung der Auswirkungen einiger AD-Risikogene auf das Erkrankungsalter, dass eine SNP-Variante des *BIN1*-Gens eher mit einem früheren Alter bei Krankheitsbeginn assoziiert ist (Naj et al. 2014).

Während es viele Hinweise darauf gibt, dass *BIN1* an der Pathogenese der LOAD beteiligt ist, sind die genauen Mechanismen noch nicht vollständig entdeckt. Neben dem Einfluss auf die pathologischen Ablagerungen bei AD-Patienten, bestehen umfangreiche Beteiligungen der *BIN1*-Isoformen an der Endozytose, dem Immunsystem, dem Lipidmetabolismus und der Apoptose. Diese Mechanismen könnten ebenfalls in die Entstehung der AD involviert sein (Tan et al. 2013; Gao et al. 2021).

2. Zielstellung

Die Ätiologie der Late-onset Alzheimer-Erkrankung ist bis zum heutigen Zeitpunkt unklar. Es wird von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen, in der genetische Aspekte eine umfangreiche Rolle zu spielen scheinen. Multiple potentielle Suszeptibilitätsgene wurden in den letzten Jahren entdeckt und bestätigt und dienen als vielversprechender Ansatz für weitere molekularbiologische und zelluläre Untersuchungen in Hinblick auf die Pathogenese der LOAD (Holtzman et al. 2011; Bellenguez et al. 2022).

Das *BIN1*-Gen kristallisierte sich in mehreren GWAS und Meta-Analysen als eines der signifikantesten Alzheimer-Risikogene heraus (Lambert et al. 2013). Die *BIN1*-Genprodukte wirken auf viele verschiedene molekularbiologische Prozesse ein und könnten so möglicherweise auch einen Einfluss auf die Pathogenese der Late-onset Alzheimer-Demenz haben (Kunkle et al. 2019; Bellenguez et al. 2022).

Kognitive Defizite treten als entscheidendes Symptom bei einer LOAD auf (Holtzman et al. 2011). Die Verarbeitungsgeschwindigkeit und die kognitive Flexibilität, welche bei an AD erkrankten Menschen reduziert sind, dienen in der vorliegenden Arbeit als Einschätzung für die kognitive Leistung und werden durch verschiedene Testverfahren ermittelt.

Bei gesunden Probanden wurden innerhalb einer Screening- und einer Replikationsstichprobe die kognitiven Testverfahren durchgeführt, welche die Verarbeitungsgeschwindigkeit sowie die kognitive Flexibilität testen sollten. Nach der Genotypisierung der Probanden-DNA wurden die gewonnenen Daten anschließend mittels linearer Regression analysiert.

Mit der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob Assoziationen zwischen *BIN1*-Genvarianten sowie der Verarbeitungsgeschwindigkeit und der kognitiven Flexibilität gesunder Probanden bestehen. Durch den Einschluss von gesunden Probanden soll insbesondere auch der Frage nachgegangen werden, ob genetische Variationen des *BIN1* Gens spezifisch für die Late-onset Alzheimer-Demenz sind oder ob mögliche Assoziationen auf einen allgemeinen neurobiologischen Mechanismus kognitiver Leistungen hinweisen könnten.

Diese Studie soll somit helfen, die Pathogenese von kognitiven Leistungseinschränkungen und möglicherweise auch von Leistungsdefiziten bei AD-Patienten besser verstehen zu können.

3. Material und Methodik

3.1 Studiendesign

Diese Studie ist Teil einer umfangreichen genetischen Stichprobe für neuropsychiatrische Phänotypen, welche an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität in München im Jahr 1997 begonnen und dort bis zum Jahr 2012 durchgeführt wurde. Anschließend erfolgte an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg die Rekrutierung in den Pool der Studienteilnehmer, bestehend aus gesunden Probanden und Patienten der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Universitätsklinik Halle. In dieser Arbeit werden sowohl eine Screeningstichprobe aus München als auch eine Replikationsstichprobe aus Halle einbezogen.

Es handelt sich um eine Querschnittstudie und die Analyse eines Alzheimer-Kandidatengens.

Die Studie in München, sowie die Rekrutierungen in Halle, wurden von den Ethikkommissionen der Ludwig-Maximilians-Universität München und der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg genehmigt und in Übereinstimmung mit den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

3.2 Studienteilnehmer

Die Rekrutierung der Studienteilnehmer der Screeningstichprobe verlief in mehreren Stufen. Das Einwohnermeldeamt stellte auf Antrag Namen und Anschriften von Bürgerinnen und Bürgern aus dem Raum München zur Verfügung. Diese wurden zufällig ausgewählt und angeschrieben. Hier wurde über die Studie und deren Ziele aufgeklärt und um Rückantwort gebeten, sofern Interesse an der Studie besteht. Anschließend erfolgte bei positiver Rückantwort ein standardisiertes Telefonscreening, welches die Teilnahmebedingungen überprüfen sollte. Die potenziellen Teilnehmer sollten zwischen 18 und 75 Jahren alt und deutscher Abstammung sein. Zusätzlich wurden die Testpersonen nach dem Vorkommen neurologischer, hirnnorganischer und psychiatrischer Erkrankungen, auch bei deren Verwandten ersten Grades, gefragt. Soweit diese Voraussetzungen erfüllt waren, erfolgte das Zusenden einer ausführlichen Anamnese. Diese beinhaltete umfassende soziodemographische Fragen zu Themen wie Geburt, schulischer und beruflicher Ausbildung, Familienstruktur und sozialem Status sowie eine erneute psychiatrische als auch somatische Anamnese bis zu Verwandten dritten Grades. Sofern sich hierbei weiterhin keine Ausschlusskriterien ergaben, wurde der Teilnehmer zu einem Termin in die Klinik eingeladen.

Material und Methoden

Die Studienteilnehmer bestätigten in einer schriftlichen Einverständniserklärung die Freiwilligkeit ihrer Teilnahme an der Studie. Auch wurden sie über die Möglichkeit des Widerrufs ohne Angabe von Gründen aufgeklärt und erneut über Ziele und Ablauf der Studie informiert. Hier wurde ebenfalls das Prinzip der Anonymisierung der Daten und Blutproben erläutert. Vor Ort erfolgte die körperliche und neurologische Untersuchung, um weitere studienrelevante Vorerkrankungen auszuschließen. Außerdem wurden mit jedem Studienteilnehmer die Strukturierten Klinischen Interviews für die DSM-IV-Klassifikation, SKID I und SKID II (Wittchen et al. 1997), durchgeführt. Der SKID I erfasst sogenannte Achse I-Störungen, wie zum Beispiel Schizophrenie und Angststörungen. Im SKID II werden Fragen zu Persönlichkeitsstörungen (Achse II) gestellt. Auch hier kam es bei Auffälligkeiten zu einem Ausschluss aus der Studie. Neben Achse I- und II-Störungen wurden ebenfalls Achse IV (psychosoziale Beeinträchtigungen)- und V- Störungen (allgemeines Funktionsniveau) erfragt. Bei älteren Studienteilnehmern ab Vollendung des 60. Lebensjahres wurde zusätzlich der Mini-Mental-Status-Test (MMST) (Kessler et al. 1990) durchgeführt, um kognitive Leistungsstörungen des Alters auszuschließen. Um ebenso den Gesundheitszustand der Verwandten ersten bis dritten Grades im Hinblick auf psychiatrische Erkrankungen zu erfassen, wurde das Family History Assessment Module (FHAM) (Rice et al. 1995) angewandt. Eine positive psychiatrische Familienanamnese führte zum Ausschluss des Probanden.

Die Rekrutierung der älteren Studienteilnehmer der Replikationsstichprobe aus der Allgemeinbevölkerung der Stadt Halle (Saale) verlief ähnlich. Bedingung für die Teilnahme an der Studie war gleichermaßen die freiwillige schriftliche Zustimmung und die Volljährigkeit. In einem ausführlichen Gespräch erfolgte die Aufklärung über Ziel der Studie, Durchführung, Freiwilligkeit, Widerrufsrecht, Wahrung der strikten Pseudonymisierung, Nutzen, Risiken sowie Belastung. Es erfolgte nur der Einschluss von Probanden, welche mit voller Einwilligungsfähigkeit die schriftliche Zustimmung gaben. Ausschlusskriterien waren kein sicheres Verstehen und Anwenden der deutschen Sprache, aktuelle medizinische und neurologische Zustände, welche die Kognition beeinflussen können sowie Einschränkungen, die die Durchführung einiger Tests beeinträchtigen oder unmöglich machen (beispielsweise Blindheit, Taubheit und Sprachschwierigkeiten). Auch fortgeschrittene schwere progressive und instabile Erkrankungen, welche die Einschätzung der kognitiven Leistungsfähigkeit oder auch die potentielle Diagnose eines dementiellen Syndroms beeinflussen, zählten, genau wie maligne Erkrankungen jeglicher Organsysteme in den letzten 60 Monaten, zu den Ausschlusskriterien.

Auch bei der Replikationsstichprobe wurden bei allen Probanden eine körperliche und neurologische Untersuchung sowie eine ausführliche neuropsychologische Testung

durchgeführt. Ebenso erfolgte die klinische Charakterisierung mit Hilfe von strukturierten psychopathologischen Skalen. Angewandt wurden der WAIS-IV (Wechsler Adult Intelligence Scale-IV) (Petermann, 2012) und die CERAD-Plus (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease) (Memory Clinic, 2009). Der als Bestandteil der CERAD-Plus durchgeführte Mini-Mental-Status-Test (MMST) (Kessler et al. 1990) wurde verwendet, um kognitive Leistungsstörungen auszuschließen. Um potentielle frühe oder aktuelle neuropsychiatrische Symptome auszuschließen, wurde das Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) (Ackenheil et al., 1999) erhoben. Dieses Interview erfasst psychiatrische Störungen auf Grundlage des DSM-IV und des ICD 10.

3.3 Psychologische Tests

3.3.1 Trail-Making-Test

Der Trail-Making-Test besteht aus zwei Teilen. Im Trail-Making-Test Part A (TMT A) müssen die eingekreisten Zahlen 1 bis 25 in aufsteigender Reihenfolge in möglichst kurzer Zeit mit einem Stift verbunden werden. Im Trail-Making-Test Part B (TMT B) sollen die eingekreisten Zahlen 1 bis 13 und Buchstaben A bis L abwechselnd (1 zu A zu 2 zu B usw.) in aufsteigender Reihenfolge so schnell wie möglich verknüpft werden. Die folgenden Erläuterungen sind nach dem Testmanual (Reitan 1992) beschrieben: In dem Test geht es grundsätzlich um das sofortige Erkennen der symbolischen Bedeutung von Zahlen und Buchstaben. Die Version für Erwachsene ist ab 15 Jahren geeignet. Vor der Erläuterung der Instruktionen muss sichergestellt werden, dass der Proband verstanden hat, möglichst zügig zu arbeiten und dabei möglichst keine Fehler zu machen. Proband und Untersucher sollten bequem an einem Tisch sitzen. Begonnen wird mit einem Beispiel des TMT A, welches sich an diesem orientiert und in dem nur die Zahlen 1 bis 8 vorhanden sind. Dem Probanden wird genau erklärt und gezeigt, wie er die Zahlen in den Kreisen in aufsteigender Reihenfolge verbinden muss. Auf ein Startsignal hin beginnt die Testperson. Bei Fehlern werden diese erläutert und das Beispiel gegebenenfalls zusammen durchgeführt. Nach weiteren genauen Erklärungen soll der Proband es erneut versuchen. Wenn eindeutig wird, dass der Test nicht durchgeführt werden kann, wird an dieser Stelle abgebrochen. Bei korrekter Durchführung wird mit dem Hauptteil des TMT A fortgefahren. Hier wird die Aufgabenstellung erneut ausführlich erläutert und demonstriert. Auch wird erneut darauf verwiesen, dass so schnell wie möglich gearbeitet werden soll und die Zeit mit einer Stoppuhr gemessen wird. Während der Durchführung muss die Testperson genau beobachtet werden, da bei einem Fehler auf das letzte richtige Symbol zurückverwiesen werden muss. Wenn der Test komplettiert ist, wird die Zeit in Sekunden notiert.

Material und Methoden

Als nächstes folgt ein Beispiel, das sich am TMT B orientiert (Symbole 1 bis D). Auch hier wird, wie im TMT A, die Vorgehensweise genau erläutert und demonstriert. Deutlich soll hier auf den Wechsel zwischen Zahlen und Buchstaben eingegangen werden. Sobald das Beispiel des TMT B verstanden und korrekt durchgeführt ist, wird mit dem Hauptteil des TMT B fortgefahren. Hier wird die Vorgehensweise wieder genau erklärt, die Zeit gemessen und notiert. Mit Fehlern wird wie im TMT A umgegangen. Gewertet wird bei beiden Testversionen die Gesamtleistungszeit in Sekunden, die der Proband benötigt, um die Symbole vom Startsignal bis zum finalen Symbol zu verbinden.

Der häufigste Untersucherfehler tritt auf, wenn der Proband einen Fehler macht. Wichtig ist dann, den Probanden möglichst schnell zu stoppen und zum letzten korrekten Kreis zurückzuführen. Dies sollte möglichst effizient geschehen, da die Stoppuhr währenddessen weiterläuft. Der Proband sollte nicht durch Korrekturerklärungen aufgehalten werden. Der Fehler geht in die Bewertung der Leistung des Probanden mit ein, indem sich die Gesamtleistungszeit verlängert.

Der TMT gilt als einer der wichtigsten Instrumente für eine Beurteilung der neuropsychologischen Funktion, vor allem der TMT B nutzt der klinischen und neurologischen Evaluation eines Patienten (Reitan 1992). Es erfordert Flexibilität bei der numerischen und alphabetischen Integration und der Erfüllung dieser Anforderung auch unter Zeitdruck. Schwierigkeiten bei Schnelligkeit und Effizienz im TMT können ein generelles Merkmal für unspezifische neuropsychologische Störungen sein. Der TMT dient hier als Indikator für die generelle Hirnfunktionen und organische Hirnschäden (Reitan 1958; Reitan 1992).

Mit dem Trail-Making-Test lassen sich mehrere Bereiche der menschlichen Kognition untersuchen. Beide Unterformen des TMT ermöglichen Rückschlüsse auf die Aufmerksamkeit des Probanden und die Fähigkeiten des visuellen Suchens und Erkennens verschiedener Symbole (Reitan 1992; Strauss et al. 2006). Zusätzlich untersucht insbesondere der leichter aufgebaute TMT A die Verarbeitungsgeschwindigkeit (Salthouse 2011). Ergebnisse des alternierenden TMT B lassen auf verschiedene exekutive Funktionen schließen. Dazu gehören unter anderem das Arbeitsgedächtnis und die kognitive Flexibilität. Diese schließt die Fähigkeit zur Sequenzierung, zur Aufrechterhaltung und zum Umschalten zwischen zwei Abläufen (in diesem Fall zwischen Zahlen und Buchstaben) mit ein (Strauss et al. 2006). Die Validität der Untertests ist gegeben (Salthouse 2011; Groth-Marnat 2003). In Bezug auf die Retest-Reliabilität können TMT A und B eine hohe Reproduzierbarkeit und Äquivalenz zwischen den Ergebnissen vorweisen (TMT A: $r = 0,76 - 0,89$, TMT B: $r = 0,67 - 0,94$) (Groth-Marnat 2003; Wagner et al.

2011). Da die Testdurchführung und die Testauswertung wenig Raum für Willkür und Interpretation lassen, kann von einer hohen Objektivität ausgegangen werden.

3.3.2 Zahlen-Verbindungs-Test

Den Zahlen-Verbindungs-Test (ZVT) gibt es in zwei verschiedenen Varianten: als Einzel- und als Gruppenversuch. Bei dieser Studie wurde der Einzelversuch durchgeführt. Die folgenden Testanweisungen sowie Informationen einschließlich der Testgütekriterien sind der Handanweisung des Tests (Oswald und Roth 1987) entnommen. Der ZVT besteht aus vier Zahlen-Matrizen, die aus je 90 Zahlen bestehen und unterschiedlich angeordnet sind. Das Ziel ist, die verschiedenen Matrizen in möglichst kurzer Zeit zu bearbeiten. Der Test beginnt mit dem Vorlegen der beiden Übungsbeispiele. Anhand dieser wird das Vorgehen genau erläutert und demonstriert. Die Aufgabe ist es, die Zahlen in aufsteigender Reihenfolge miteinander zu verbinden. Dabei soll möglichst schnell und unter größter Anstrengung gearbeitet werden. Der Testleiter sollte den Probanden dazu anhalten, die Zahlen möglichst nicht mit der Hand zu verdecken und das zügige Arbeiten ernst zu nehmen. Nach dem Bearbeiten und korrekten Durchführen der Übungsbeispiele werden die vier Testmatrizen A bis D der Testperson in beliebiger Reihenfolge vorgelegt. Die Konstruktion der Matrizen unterscheidet sich in der Anordnung der Zahlen, nicht aber in der Menge der Zahlen oder der zu bearbeitenden Wegstrecke. Im Gegensatz zum TMT, in dem die Ziffern zufällig angeordnet sind, befindet sich die nächsthöhere Zahl im ZVT in unmittelbarer Nähe. Die Testmatrizen werden nacheinander vollständig bearbeitet und die Zeit für jede einzelne Matrize (Startsignal bis zur Zahl 90) mit einer Stoppuhr in Sekunden gemessen und notiert. Zwischen der Bearbeitung der Matrizen sollte keine Pause liegen. In diesem Test ist das Verbessern der Fehler wie auch im TMT nicht notwendig. Anhand der gemessenen Zeiten wird die mittlere Bearbeitungszeit in Sekunden berechnet.

Hinsichtlich der Testgütekriterien wurden von den Autoren mehrere Analysen durchgeführt. Dabei ergab sich für den ZVT eine hohe Durchführungs- und Auswertungsobjektivität. Standardisierte Vorgänge lassen wenig Interpretationsspielraum zu. Die Testreliabilität ist hoch. Bei einem Testwiederholungsabstand von 6 Monaten fiel eine hohe Stabilität ($r = 0,97$) in den erzielten Ergebnissen auf. Eine ähnlich hohe Äquivalenz ($r = 0,95 - 0,98$), gemessen anhand eines Paralleltests, sowie eine hohe Konsistenz ($r = 0,96$ und $r = 0,97$), ließ sich für den ZVT erkennen. Auf die ebenso hohe Validität wird im nächsten Absatz eingegangen.

Der ZVT misst die Verarbeitungsgeschwindigkeit als ein Maß für die allgemeine Kognition. Außerdem setzt er eine hohe Diskriminationsfähigkeit voraus. Im Vergleich zu traditionellen

Material und Methoden

Intelligenztests ist der ZVT sprach-, motivations- und milieuunabhängig (Oswald und Roth 1987). Die Autoren sprechen von einem sprachfreien und spezifischen Intelligenztest, da zwischen Ergebnissen des ZVTs und Intelligenztestergebnissen hohe Korrelationen ($r = 0,69 - 0,80$) bestehen. Eine unterdurchschnittliche Bearbeitungszeit im ZVT korreliert mit überdurchschnittlichen Intelligenz-Rohwerten in Bezugstests. Der ZVT kann damit als Schätzverfahren für die allgemeine Intelligenz herangezogen werden. Im Gegensatz dazu können schwächere Leistungen im ZVT auf mögliche hirnorganische Schädigungen und Hirnleistungsstörungen hindeuten. Hier kann der Test als sensitives und diagnostisches Instrument und zur Evaluierung von Therapieeffekten dienen (Oswald und Roth 1987).

3.4 Laborverfahren

3.4.1 DNA-Extraktion

Bei den Laborverfahren handelt es sich um standardisierte Labormethoden des Genetiklabors der Arbeitsgruppe. Die venöse Blutentnahme von ungefähr 7 bis 10 ml Blut erfolgte bei allen Studienteilnehmern in Ethylendiamintetraessigsäure(EDTA)-Monovetten. Anschließend wurde sich bei der DNA-Extraktion an das Protokoll des Qiagen *DNA Blood Maxi Kits* gehalten (Qiagen 2005). Die Versuchsmaterialien, sowie die Reagenzien und benötigten Geräte dieses ersten Schritts sind in Tabelle 2 dargestellt. Zuerst wurde das EDTA-Blutvolumen mit 1x PBS-Puffer (Phosphat gepufferte Salzlösung) in 50 ml Zentrifugenröhren auf 10 ml adjustiert. Daraufhin konnten die Zellen lysiert werden. Dafür wurden 500 μ l Qiagen Protease und 12 ml Guanidinhydrochlorid (GHCl)-haltiger Lysepuffer hinzugegeben und dieses Gemisch 60 Sekunden auf einem Vortexmischer homogenisiert. Die darauf folgende Inkubation in einem Wasserbad bei 70 °Celsius dauerte 30 Minuten. Zum Ausfällen der DNA wurden anschließend 10 ml Ethanol hinzugeben und erneut für 2 Minuten auf einem Vortex vermischt. Um die DNA auf einer QIAamp Maxi Säule zu binden, wurde die Flüssigkeit in das die Säulenmatrix enthaltende Gefäß überführt und bei 3000 rpm (*revolutions per minute*, Umdrehungen pro Minute) für 3 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Auf diese Weise bindet die DNA selektiv an die Silikagelmembran. Um die Protein- und RNA-Kontaminationen zu entfernen, erfolgte ein Waschriff mit 5 ml GHCl-haltigem Waschpuffer und eine erneute Zentrifugation bei 4000 rpm für 2 Minuten bei Raumtemperatur. In einem zweiten Waschriff wurden die GHCl-Salze mit Hilfe von 5 ml ethanolhaltigem, salzarmen Waschpuffer und Zentrifugation für 15 Minuten bei 4000 rpm entfernt und die Silikagelmembran getrocknet. Im letzten Schritt der Extraktion wurde die Elution der DNA durch zweimalige Inkubation mit insgesamt 1,5 ml TRIS-haltigem Elutions-Puffer für jeweils 5 Minuten bei Raumtemperatur und anschließender

Material und Methoden

Zentrifugation für 2 Minuten bei 5000 rpm erreicht. Die DNA-Stammlösung wurde daraufhin in 2 ml Micro-Schraubröhren überführt und gelagert.

Tabelle 2: Materialien der DNA-Extraktion

Material, Reagenz, Gerät	Hersteller
EDTA Monovette	Sarstedt, Nümbrecht
50 ml Zentrifugenröhre	Sarstedt, Nümbrecht
Micro-Schraubenröhre, 2 ml	Sarstedt, Nümbrecht
1x PBS-Puffer:	Eigene Herstellung:
- 8 g NaCl	Reagenzien von Carl Roth, Hamburg
- 0,2 g KCL	
- 1,44 g Na ₂ HPO ₄	
- 0,24 g KH ₂ PO ₄	
- Ad 1 l mit Aqua dest	
Mit NaOH auf pH 7,4	
Qiagen DNA Blood Maxi Kit	Qiagen, Hilden
Ethanol Rotipuran (>98 % p. A.)	Carl Roth, Karlsruhe
Vortex Genie	Scientific Industries, New York, USA
Wasserbad WNB 22	Memmert, Schwabhausen
Kühlzentrifuge CF 108-GR	VWR Life Science Competence Center, Erlangen

Abkürzungen: EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure, KCl: Kaliumchlorid, KH₂PO₄: Kaliumdihydrogenphosphat, NaCl: Natriumchlorid, NaOH: Natriumhydroxid, Na₂HPO₄: Dinatriumhydrogenphosphat, PBS: Phosphat gepufferte Salzlösung

3.4.2 Konzentrationseinstellung der DNA

Die bei der Konzentrationseinstellung benutzten Materialien, Reagenzien und Geräte sind in summa in Tabelle 3 beschrieben. Um die Genotypisierung gewährleisten zu können, mussten alle eingesetzten DNA-Lösungen die gleiche Konzentration aufweisen. Um die Proben darauf einzustellen, wurde die PicoGreen-Methode angewandt. Bei PicoGreen handelt es sich um einen fluoreszierenden Farbstoff, welcher selektiv an doppelsträngige DNA binden kann. Für die Quantifizierung der unbekannt DNA-Konzentration wurde zunächst eine Standardverdünnungsreihe aus genomischer DNA humanen Ursprungs hergestellt. Hierfür wurde die auf 100 ng/μl konzentrierte Standard-DNA jeweils 1:2 verdünnt, um eine Standardkurve bestehend aus 8 Punkten zu erreichen (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0 ng/μl). Die Konzentrationsmessung wurde halbautomatisiert mittels eines Roboters (Janus Automated Workstation) durchgeführt. Die Fluoreszenzmessung zur Bestimmung der DNA-Konzentration wurde anschließend wie folgt vorbereitet: Zunächst wurden die zu messenden DNA-Lösungen in einer *96 well* Platte mit Wasser 1:10 verdünnt. In eine schwarze *96 well* Platte mit flachem Boden wurden 50 μl autoklaviertes und destilliertes Wasser pro Vertiefung vorgelegt. Anschließend erfolgte die Zugabe von jeweils 5 μl der Standardverdünnungsreihe beziehungsweise der verdünnten DNA in Duplikaten. Der Farbstoff PicoGreen wurde 1:156 verdünnt und pro Vertiefung wurden 145 μl zu den Proben und der Standard-DNA gegeben. Die Endverdünnung des PicoGreen betrug 1:200. Zur folgenden Fluoreszenzmessung wurde die Platte durch den Greifarm der Janus Workstation in den Victor 3 Multilabel Counter 1420 überführt und im Messgerät 30 Sekunden in horizontaler Ebene in Doppellellipsen geschüttelt. Hierdurch wurde eine homogene Durchmischung der Lösung erreicht. Anschließend folgten die Anregung des Farbstoffes bei einer Wellenlänge von 485 nm und die Emissionsmessung bei 520 nm. Die ermittelten Fluoreszenzwerte wurden von dem Messgerät an einen Computer übermittelt. Die Konzentrationen der DNA-Lösungen wurden mittels der Fluoreszenzwerte der Standardkurve berechnet und anhand dieser Ergebnisse wurde die Menge an DNA und Wasser bestimmt, die benötigt wurde, um eine Konzentration von 50 ng/μl zu erreichen. Die Verdünnung erfolgte automatisch durch den Pipettierroboter.

Tabelle 3: Materialien der Konzentrationseinstellung

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

3.5 Genotypisierung und Qualitätskontrolle

Die bearbeiteten DNA-Proben wurden in der Screeningstichprobe auf unterschiedlichen SNP-Chips verschiedener Plattformen genotypisiert (Tabelle 4). Hierbei wurden die DNA-Proben in 8 *batches* imputiert und anschließend in einem Datensatz zusammengefasst. Aus diesem Datensatz wurden anschließend für die Fragestellung relevante Genotypen extrahiert und die Analysen durchgeführt.

Tabelle 4: Übersicht über die verwendeten Chips

<i>Batch</i>	<i>Chip</i>
<i>Batch 1</i>	Human610-Quadv1_B (Priebe et al. 2013; Drago et al. 2014), Human660W-Quad_v1_A (Priebe et al. 2013)
<i>Batch 2</i>	HumanHap 300 v1.0.0 (Need et al. 2009)
<i>Batch 3</i>	Affymetrix 6.0 (Bramon et al. 2014)
<i>Batch 4</i>	HumanHap 300 v1.0.0 (Stefansson et al. 2008)
<i>Batch 5</i>	Illumina Human OmniExpress 12v1.0 (Lencz et al. 2014)
<i>Batch 6</i>	Illumina Omni1-Quad (Galfalvy et al. 2015)
<i>Batch 7</i>	HumanOmniExpress-24 (Rujescu et al. 2018)
<i>Batch 8</i>	Illumina Global Screening (unveröffentlicht)

Material und Methoden

Die Genotypisierung fand mit Hilfe eines Trägermaterials (*Array*) statt. Beispielsweise befanden sich auf dem *Array* von Illumina für jedes Allel eines zu typisierenden SNPs spezifische Sonden. Diese waren komplementär zu den Basen des entsprechenden Polymorphismus, sodass die Sonden und die entsprechenden Basen aneinander binden konnten. Um diese Bindung eingehen zu können, wurde die Probanden-DNA vorher durch Restriktionsenzyme in Fragmente gespalten und anschließend vervielfältigt. Danach wurde die fragmentierte DNA mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert, um anschließend mit den gebundenen Sonden auf dem *Array* zu hybridisieren. Nach mehreren Reinigungsschritten wurden an hybridisierten Bereichen, wo jeweils Sonde und das entsprechende komplementäre Allel eine Bindung eingegangen sind, Fluoreszenzsignale erhalten, die identifiziert werden konnten (Ragoussis 2006). Bei den anderen *Arrays* wurde ähnlich gearbeitet.

Die Qualitätskontrolle und die Imputation der *batches* 1 bis 3 wurden im Rahmen einer Metaanalyse des PGC (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014) durchgeführt. Bei den *batches* 4 bis 8 wurde anhand der Kriterien des PGC imputiert und die Qualität kontrolliert.

Die Qualitätskontrolle der genotypisierten Daten wurde mit Hilfe des Softwareprogramms PLINK 1.9 (Chang et al. 2015) durchgeführt. Im ersten Schritt wurden SNPs, die nicht ausreichend genotypisiert werden konnten, ausgeschlossen (*missingness* > 0,05). Basierend auf diesem Datenset wurden Probanden mit Nichtübereinstimmungen zwischen genetischem und angegebenem Geschlecht, sowie Proben, die einen bestimmten Schwellenwert zur SNP-Genotypisierung unterschritten (Probanden-*call rate* je nach Größe des *batches* < 0,96 - 0,99), ausgeschlossen. Die Probanden-*call rate* diente dem Ausschluss von Proben mit nicht ausreichender DNA-Qualität. Anschließend wurden folgende Schritte und Schwellenwerte zum Ausschluss von SNPs angewandt: Es wurde bei allen genotypisierten Proben eine SNP-*call rate* von > 0,99 festgelegt. Diese wurde als Schwelle für die gelungene Genotypisierung eines SNPs genutzt. Eine Abweichung vom Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) wurde mit dem exakten Test nach Fischer geprüft. Zudem wurde ein Schwellenwert von $p \leq 10^{-6}$ für Kontrollprobanden festgelegt. Auch dieser Schwellenwert durfte nicht unterschritten werden und diente dem Aufdecken von fehlerhaften Genotypisierungen, da in einer idealen Population das Verhältnis von Allelfrequenz und Genotyp dem HWE folgt.

Bei X-chromosomalen Markern wurden weibliche Probanden für die Bestimmung des HWE-Grenzwerts (Ausschluss bei $p \leq 10^{-6}$) und der SNP-*call rate* (Ausschluss bei weniger als 95 %) ausgeschlossen.

Material und Methoden

herangezogen. Eine haploide Heterozygotenfrequenz von $> 0,02$ in männlichen Probanden führte ebenfalls zum Ausschluss.

Um Probanden ausschließen zu können, die möglicherweise verwandt sein könnten, um Abweichungen von der Heterozygotierate feststellen zu können und um eine Populationsstratifikationsanalyse durchführen zu können, wurde ein Markerset mit stringenteren Qualitätskriterien zusammengestellt.

Hierbei wurde die minore Allelfrequenz (MAF) auf $> 0,05$, das HWE auf $p \geq 0,05$ und eine SNP-call rate auf $> 0,99$ festgelegt und die Anzahl der SNPs durch Pruning reduziert, eine Methode, die sequenziell die genotypisierten Varianten nach Korrelationen absucht und ein LD-unabhängiges SNP-Set kreiert. Dazu wurde der „indep pairwise“ Befehl im Softwareprogramm PLINK genutzt, unter der Vorgabe $r^2 = 0,2$ bei einer Fenstergröße von 1500 SNPs durch Verschiebung eines 150 SNP großen Fensters mit jedem Schritt die Korrelation zwischen zwei Markern bestimmt und einer der beiden SNPs bei $r^2 \geq 0,2$ entfernt. Gen-Regionen mit hohem LD, wie zum Beispiel der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) wurden für die Zusammenstellung dieses Markersets ausgeschlossen.

Um eine Verwandtschaft zwischen den genotypisierten Probanden auszuschließen, wurde \hat{r} verwendet, welches anhand der Proportion gleicher Allele an allen SNPs gemessen wird. Der Grenzwert wurde auf $< 0,1875$ festgelegt. Höhere \hat{r} -Werte deuten auf Verwandte zweiten (0,25) oder ersten Grades (0,5) oder auf Duplikate (1) hin. Wenn Verwandtschaften aufgedeckt wurden, wurde einer der verwandten Teilnehmer aus der Studie ausgeschlossen.

Um kontaminierte oder anderweitig aus dem Rahmen fallende Proben auszuschließen, die sich häufig durch eine auffallend hohe Heterozygotenfrequenz auszeichnen, wurde die Abweichung von der mittleren Heterozygotenfrequenz ($|F_{\text{het}}|$) der Stichprobe geprüft und die Probe bei einer Abweichung um $\geq 0,2$ ausgeschlossen. Zusätzlich wurden der Anteil bei \hat{r} -Werten von $> 0,05$ pro Proband und Abweichungen vom \hat{r} -Mittel verwendet, um Ausreißer auszuschließen.

Mit Hilfe des Software-Programms EIGENSTRAT (Price et al. 2006) wurden Analysen zur Populationsstratifikation durchgeführt. Durch verschiedene Subpopulationen können unterschiedliche Allelfrequenzen in einer Population entstehen. Dies kann unter anderem zu falsch-positiven Ergebnissen in einer Assoziationsstudie führen. Die Populationszugehörigkeit wurde anhand einer Hauptkomponentenanalyse analysiert. Dabei wurden Studienteilnehmer mit zu großen Abweichungen ausgeschlossen.

Material und Methoden

Als letzten Schritt wurden bekannte Duplikate, die auf verschiedenen Chips lagen, auf Konkordanz überprüft. Dabei wurde die Probe mit der besseren Qualität beibehalten, die andere verworfen. Wenn die Proben eine Konkordanzrate von $< 0,99$ aufwiesen, wurden beide Proben aus weiteren Analysen ausgeschlossen.

In die Replikationsstichprobe wurden Genotypen aus einem weiteren *batch* eingeschlossen, der auf dem Illumina Global Screening Array genotypisiert wurde (Ragoussis 2006). Bei der Qualitätskontrolle wurden vergleichbare Abläufe und Grenzwerte angewendet. Probanden mit weniger als 0,98 aller Genotypen eines Filter-NP Sets mit einer *call rate* $\geq 0,95$ und unklarem SNP-Geschlecht wurden genau wie Varianten mit einer SNP *call rate* $< 0,99$, MAF $< 0,01$ und HWE $< 10^{-5}$ ausgeschlossen. Weitere Verwandte, beziehungsweise Dopplungen von Probanden wurden durch die Anwendung eines stringenten SNP-Sets (MAF $\geq 0,05$, HWE $p \geq 0,05$, *call rate* $\geq 0,99$, $r^2 \leq 0,2$ innerhalb von 1500 kb, Ausschluss von Regionen mit bekanntem sehr hohem LD) bestimmt und entfernt. Bei einem $\hat{r} > 0,187$ wurde aus oben beschriebenen Gründen auch hier ein Proband entfernt. Um die Populationsstratifikation zu untersuchen, wurde das Markerset ebenso verwendet. Da die zur Replikation ausgewählten SNPs der Screeningsstichprobe nicht im endgültigen SNP-Set enthalten waren, wurden Proxy-SNPs ausgewählt. Dabei handelt es sich um SNPs, welche sich im *linkage disequilibrium* zu den Index-SNPs der Screeningstichprobe befinden und in der Replikationsstichprobe untersucht wurden. Diese Daten wurden mit Hilfe der Software SNiPA des Helmholtz Zentrum München (Arnold et al., 2015) zugeordnet und basieren auf dem 1000Genomes Project (Phase 3 von 5) (Auton et al. 2015).

3.6 Imputation

Nach der Qualitätskontrolle wurde mit den Datensätzen der Screeningstichprobe in den unterschiedlichen *batches* die Imputation durchgeführt. Mittels der LD-Struktur eines Referenzpanels konnte auf im LD liegende, nicht genotypisierte, Polymorphismen rückgeschlossen werden. Unter Verwendung der Software SHAPEIT (Deleneau et al. 2011) zur Vorbereitung und IMPUTE2 (Howie et al. 2011) zur Imputation wurden die genotypisierten Datensätze separat mit Hilfe des 1000Genomes Referenzpanels (Phase 1, Version 3) (Auton et al. 2015) in die gleiche Phase gebracht und anschließend imputiert. Die Chromosom X-Imputationen wurden für Männer und Frauen getrennt getätigt. Anschließend wurden die 7 *batches* zu einem großen Datensatz zusammengefasst. Dabei wurden SNPs mit einem INFO-Wert $< 0,6$ in den einzelnen *batches* und in dem Gesamtdatensatz ausgeschlossen. Eine erneute Qualitätskontrolle wurde analog zu den oben beschriebenen Kriterien für den Gesamtdatensatz durchgeführt. Wenn die Allelfrequenz zwischen den Markern der verschiedenen Datensätze um mehr als 0,1 voneinander abwich, wurden diese SNPs ausgeschlossen. In dem kombinierten

Datensatz wurden erneut nach obigem Schema Analysen zur Aufdeckung unbekannter Verwandtschaft, Abweichungen von der Heterozygotenfrequenz und Kontrollen auf Vorhandensein von Populationsstratifikation durchgeführt. Die Exklusionskriterien blieben dabei gleich. Die Eigenschaften des stringenten Markersets, das für die Bestimmung verwendet wurde, waren: $INFO > 0,8$, $missingness < 0,01$, $MAF > 0,05$. Dieses Markerset wurde für die Generierung der geschätzten ("best guess") Genotypen mit einer Unsicherheit $< 0,10$ verwendet.

3.7 Beschreibung der Polymorphismen und Clumping

Das *BIN1*-Gen liegt in der Chromosom-Region 2q14.3 und besteht aus 22 Exons. Es umfasst den Bereich der Basenpaar-Positionen 127805599 bis 127864903 (*Assembly*: GRCh37.p13) und ist somit ungefähr 59,3 kb groß. Zusätzlich zu den SNPs, die direkt im Bereich des Gens liegen, wurden weitere Polymorphismen, die im Bereich von 35 kb *up-* und *downstream* des Gens liegen, in die Assoziationsanalyse mit einbezogen. Die Assoziationsanalyse wurde für 510 SNPs der Screeningstichprobe und die Ergebnisse der drei psychologischen Tests (TMT A, TMT B, ZVT) anhand von additiver linearer Regression im Softwareprogramm PLINK 1.9 durchgeführt (Chang et al. 2015). Die untersuchten und der Qualitätskontrolle standgehaltenen SNPs der *BIN1*-Genregion wurden in der Screeningstichprobe mittels *clumping* zusammengefasst, um LD-unabhängige Index-SNPs zu erlangen. Der SNP mit dem signifikantesten p-Wert aus der Assoziationsanalyse diente dabei als erster Index-SNP. Es wurden SNPs, die in einer Distanz von 3000 Kilobasen (kb) und einen r^2 -Wert von $> 0,1$ zu dem Index-SNP aufwiesen, zu einem *clump* zusammengefasst. Anschließend wurde aus den verbliebenen SNPs wieder der signifikanteste ausgewählt und auf dieselbe Weise fortgefahren, bis sämtliche SNPs einem Index-SNP zugeordnet waren. Es entstanden 26 *clumps*.

3.8. Proxy-SNPs der Replikationsstichprobe

Für die Replikationsstichprobe wurden 6 SNPs untersucht, welche in Tabelle 5 dargestellt sind. Hierbei handelt es sich jeweils um bestmögliche Proxy-Variablen, welche im *linkage disequilibrium* zu Index-SNPs der Screeningstichprobe liegen. Für zwei weitere nominal signifikant assoziierte Index-SNPs der Screeningstichprobe (rs142568045, rs148399066) ließen sich keine Proxies identifizieren.

Tabelle 5: Übersicht der Proxy-SNPs der Replikationsstichprobe

Proxy-SNP (Referenzallel)	FRQ	r^2	Dprime	Index-SNP der Screeningstichprobe
rs112882577 (C)	0,03566	0,11	0,39	rs111954920
rs13430599 (T)	0,171	0,20	1	rs185245908
rs3754617 (C)	0,1864	0,37	1	rs113401490
rs7561528 (A)	0,3263	1	1	rs11680911
rs77279236 (T)	0,1175	0,24	1	rs149761241
rs79527490 (T)	0,1467	0,57	0,90	rs68164523

Abkürzungen: r^2 : Korrelationskoeffizient, Dprime: Abhängigkeit zweier Marker, FRQ: Frequenz Referenzallel, SNP: single nucleotide polymorphism

3.9 Statistische Auswertung

Der Datensatz der Screeningstichprobe beinhaltete 634 für die Assoziationsanalyse geeignete Studienteilnehmer. Im Fall des TMT A wurden 4 Ausreißer ausgeschlossen ($n = 630$), beim TMT B kam es zu einem Ausreißer ($n = 633$) und im ZVT zu 3 Ausreißern ($n = 631$). Der Datensatz der Replikationsstichprobe umfasste 617 Probanden. Im Fall des TMT A konnten alle 617 Probanden eingeschlossen werden, beim TMT B erfolgte die Untersuchung von 139 Teilnehmenden.

Die Testrohwerter der Screeningstichprobe wurden mittels linearer Regression für die Kovariablen Alter, Bildung und Geschlecht korrigiert. Die Residuen wurden mittels einer inversen Rang-Transformation normalisiert und standardisiert. Hier gingen hohe Werte der Rohdaten mit hohen Werten der transformierten Variablen einher. Die Residuen dienten als abhängige Variablen. Die drei verschiedenen Genotyp-Wahrscheinlichkeiten wurden mittels einer linearen Transformation in einen einzelnen Wert zwischen 0 und 2 umgewandelt. Die erste Hauptkomponente einer EIGENSTRAT (Price et al. 2006) Analyse wurde zum Zwecke der Populationsstrukturkorrektur als Kovariante verwendet. Für die verschiedenen *batches* fand anhand von Dummy-Variablen eine Korrektur statt.

In der Replikationsstichprobe wurden die Test-Rohwerter (TMT A und TMT B) mittels linearer Regression für Alter, Geschlecht und Bildung adjustiert. Residuen wurden ebenfalls durch eine

Material und Methoden

inverse Rang-Transformation normalisiert und standardisiert, entsprechend korrelierten auch hier hohe Werte der Rohdaten mit hohen Werten der transformierten Variablen.

Die Assoziationsanalyse erfolgte für beide Stichproben mittels additiver linearer Regression mit der Software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015). Es wurde ein nominales Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt. Bezüglich multiplen Testens ist erwähnenswert, dass, wenn in der Screeningstichprobe nach Bonferroni korrigiert würde ($0,05/26$ Index-SNPs), sich das Signifikanzniveau auf $p < 0,0019$ verschieben würde. Da sowohl die durchgeführten Tests, als auch die SNPs nicht unabhängig voneinander sind, ist die Bonferroni-Korrektur zu konservativ für diese Studie. Des Weiteren werden die besten Kandidaten der Screeningstichprobe in einer Replikationsstichprobe überprüft.

4. Ergebnisse

4.1 Stichprobenbeschreibung

Die Stichprobe des ersten Screenings setzte sich insgesamt aus 634 neurologisch und psychiatrisch gesunden Studienteilnehmern zusammen (siehe Tabelle 6). Im Mittel waren die Studienteilnehmer 48,47 Jahre alt (SA = 14,18). Der Anteil der weiblichen Probanden (51 %) war dabei annähernd so groß wie der Anteil der männlichen Teilnehmer (49 %). Zwischen den Bildungsgraden der Teilnehmer gab es größere Unterschiede. Den größten Anteil machten Teilnehmer mit einem hohen Bildungsgrad aus (47 %). Alter, Geschlecht und Bildungsgrad dienten in der linearen Regression als Kovariablen.

Die Teilnehmer der Replikationsstichprobe setzten sich aus 617 Studienteilnehmern zusammen (siehe Tabelle 7). Im Mittel waren die Studienteilnehmer 68,27 Jahre alt (SA = 7,24). Der Anteil der weiblichen Probanden (59 %) war dabei größer als der Anteil der männlichen Teilnehmer (41 %). Den größten Anteil machten Teilnehmer mit einem mittleren Bildungsgrad aus (49 %). Alter, Geschlecht und Bildungsgrad dienten ebenso in der linearen Regression als Kovariablen.

Tabelle 6: Studienteilnehmer der Screeningstichprobe nach Alter, Geschlecht und Bildung

Gesamt n	Alter in Jahren		Geschlecht n (Anteil)		Bildungsgrad n (Anteil)		
	MW	SA	Weiblich	Männlich	Niedrig	Mittel	Hoch
634	48,47	14,18	325 (51 %)	309 (49 %)	115 (18 %)	224 (35 %)	295 (47 %)

Abkürzungen: MW: Mittelwert, n: Anzahl, SA: Standardabweichung

Tabelle 7: Studienteilnehmer der Replikationsstichprobe nach Alter, Geschlecht und Bildung

Gesamt n	Alter in Jahren		Geschlecht n (Anteil)		Bildungsgrad n (Anteil)		
	MW	SA	Weiblich	Männlich	Niedrig	Mittel	Hoch
617	68,27	7,24	362 (59 %)	255 (41 %)	46 (7 %)	302 (49 %)	269 (44 %)

Abkürzungen: MW: Mittelwert, n: Anzahl, SA: Standardabweichung

4.2 Ergebnisse der Regressionsanalyse der Screeningstichprobe

4.2.1 Nominal signifikant assoziierte Index-Varianten mit den Ergebnissen des TMT A

Nominal signifikante Assoziationen mit den Ergebnissen des TMT A fanden sich bei 4 der Index-SNPs. Der SNP rs148399066 zeigte dabei den niedrigsten p-Wert ($p = 2,377 \times 10^{-2}$). In Abbildung 1 ist die Verteilung dieser 4 Polymorphismen im Bereich des *BIN1*-Gens visualisiert. Der SNP rs68164523 liegt außerhalb des *BIN1*-Gens (33,463 kb *downstream*). Bei 3 SNPs war das seltenere Allel häufiger bei besseren Testleistungen zu finden, bei rs185245908 hingegen bei schlechteren Leistungen (Tabelle 8). Für die Analyse des TMT A standen 630 verwertbare TMT A Testwerte der 634 Probanden zur Verfügung.

Tabelle 8: Nominal signifikant assoziierte Index-SNPs mit den Ergebnissen des TMT A

SNP	Clump	Minores Allel	Leistung B	SE	p-Wert	
		(FRQ)				
		Majores Allel				
rs68164523	7	A (15,06 %)	↑	-0,181	0,087	3,804x10 ⁻²
		C	↓			
rs148399066	5	G (1,38 %)	↑	-0,679	0,300	2,377x10 ⁻²
		C	↓			
rs149761241	8	A (2,42 %)	↑	-0,440	0,214	3,991x10 ⁻²
		C	↓			
rs185245908	6	C (4,13 %)	↓	0,339	0,163	3,748x10 ⁻²
		T	↑			

Abkürzungen: B: Regressionskoeffizient, FRQ: Frequenz Referenzallel, Leistung im Test: ↑: schnellere, ↓: langsamere Leistung, SE: Standardfehler, SNP: single nucleotide polymorphism

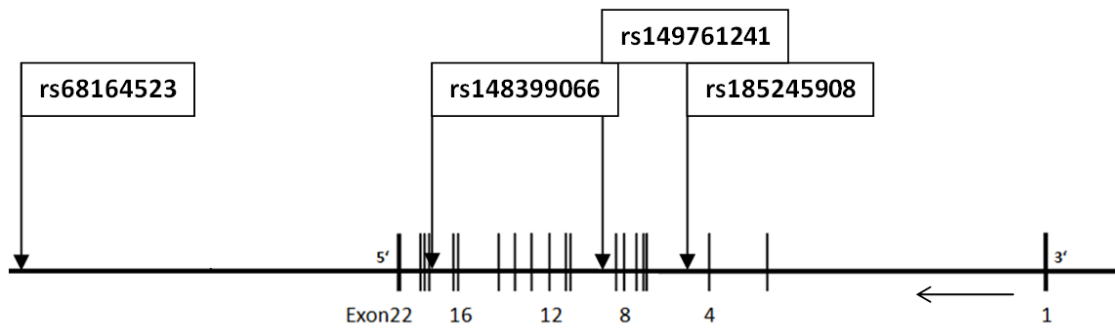


Abbildung 1: Nominal signifikant assoziierte Index-SNPs mit Ergebnissen des TMT A in der *BIN1*-Genregion (+/- 35 kb). Der rechte einzelne Pfeil stellt die Leserichtung des Gens dar. Die 22 Exons sind als einzelne Striche innerhalb des Gens, welches durch die dicken Linien markiert ist, dargestellt. Die 4 assoziierten Index-SNPs sind jeweils einzeln markiert. Die Abbildung basiert auf der NCBI Gen-Datenbank (NCBI Gen-Datenbank, abgerufen am 05.03.2023; Brown et al. 2015).

4.2.2 Nominal signifikant assoziierte Index-Varianten mit den Ergebnissen des TMT B

Zwischen den Ergebnissen des TMT B und den 510 Genvarianten der Screeningstichprobe fanden sich 5 nominal signifikante Assoziationen mit Index-SNPs (Tabelle 9). In Abbildung 2 ist die Verteilung dieser nominal signifikanten Polymorphismen im Bereich des *BIN1*-Gens visualisiert. 2 der 5 SNPs liegen außerhalb des Gens: Der Marker rs68164523 liegt *downstream*, der SNP rs11680911 liegt *upstream*. Die restlichen 3 SNPs liegen in intronischen Bereichen des Gens. Das seltenere Allel kann bei 4 der 5 SNPs mit einer schlechteren Testleistung im TMT B in Verbindung gebracht werden. Die Ausnahme stellt der SNP rs68164523 dar, hier ist das seltenere Allel mit einer besseren Testleistung assoziiert. Für die Analyse des TMT B standen 633 verwertbare TMT B Testwerte der 634 Probanden zur Verfügung.

Tabelle 9: Nominal signifikant assoziierte Index-SNPs mit den Ergebnissen des TMT B

SNP	Clump	Minores Allel (FRQ)	Leistung im Test	B	SE	p-Wert
		Majores Allel				
rs68164523	7	A (14,99 %)	↑	-0,174	0,087	4,502x10 ⁻²
		C	↓			
rs142568045	1	C (3,05 %)	↓	0,597	0,192	1,932x10 ⁻³
		G	↑			
rs113401490	4	T (7,14 %)	↓	0,306	0,132	2,063x10 ⁻²
		C	↑			
rs111954920	3	C (1,11 %)	↓	0,799	0,336	1,753x10 ⁻²
		T	↑			
rs11680911	2	C (32,53 %)	↓	0,147	0,061	1,679x10 ⁻²
		A	↑			

Abkürzungen: B: Regressionskoeffizient, FRQ: Frequenz Referenzallel, Leistung im Test: ↑: schnellere, ↓: langsamere Leistung, SE: Standardfehler, SNP: single nucleotide polymorphism

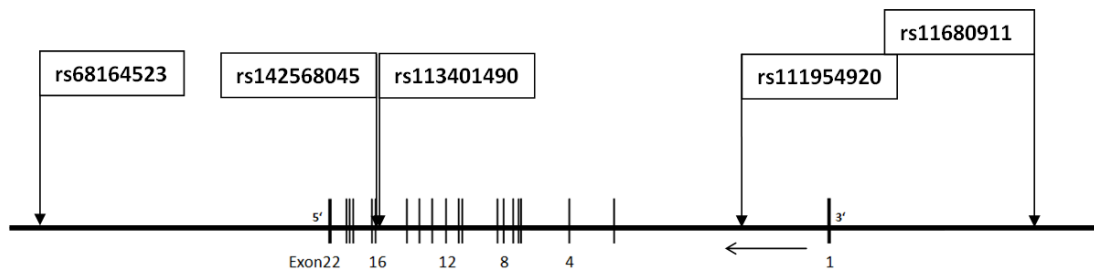


Abbildung 2: Nominal signifikant assoziierte Index-SNPs mit Ergebnissen des TMT B in der BIN1-Genregion (+/- 35 kb). Der rechte einzelne Pfeil stellt die Leserichtung des Gens dar. Die 22 Exons sind als einzelne Striche innerhalb des Gens, welches durch die dicken Linien markiert ist, dargestellt. Die 5 assoziierten Index-SNPs sind jeweils einzeln markiert. Die Abbildung basiert auf der NCBI Gen-Datenbank (NCBI Gen-Datenbank, abgerufen am 05.03.2023; Brown et al. 2015).

4.2.3 Nominal signifikant assoziierte Index-Varianten mit den Ergebnissen des ZVT

Signifikante Assoziationen mit den Ergebnissen des ZVT fanden sich bei 2 Index-SNPs (Tabelle 10). Die höchste nominale Signifikanz erreichte der SNP rs142568045 ($p = 8,632 \times 10^{-3}$). Bei

Ergebnisse

beiden SNPs war das seltenere Allel mit einer schlechteren Testleistung assoziiert. In Abbildung 3 ist die Verteilung der assoziierten Polymorphismen im Bereich des *BIN1*-Gens visualisiert. Für die Analyse des ZVT standen 631 verwertbare ZVT-Testwerte der 634 Probanden zur Verfügung.

Tabelle 10: Nominal signifikant assoziierte SNPs mit den Ergebnissen des ZVT

SNP	Clump	Minores Allel	Leistung im Test	B	SE	p-Wert
		(FRQ)				
		Majores Allel				
rs142568045	1	C (3,06 %)	↓	0,507	0,192	$8,632 \times 10^{-3}$
		G	↑			
rs11680911	2	C (32,53 %)	↓	0,145	0,061	$1,803 \times 10^{-2}$
		A	↑			

Abkürzungen: B: Regressionskoeffizient, FRQ: Frequenz Referenzallel, Leistung im Test: ↑: schnellere, ↓: langsamere Leistung, SE: Standardfehler, SNP: single nucleotide polymorphism

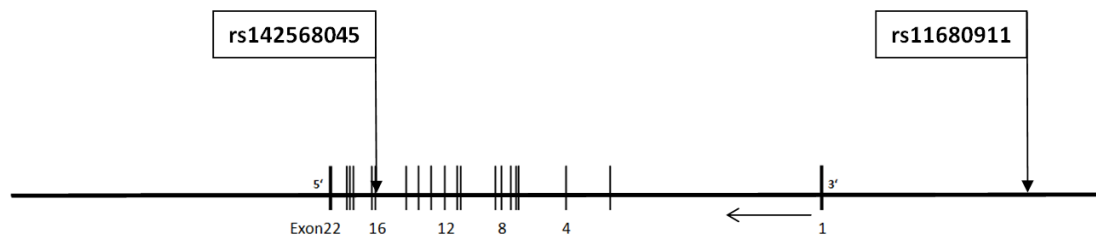


Abbildung 3: Nominal signifikant assoziierte Index-SNPs mit Ergebnissen des ZVT in der *BIN1*-Genregion (+/- 35 kb). Der rechte einzelne Pfeil stellt die Leserichtung des Gens dar. Die 22 Exons sind als einzelne Striche innerhalb des Gens, welches durch die dicken Linien markiert ist, dargestellt. Die 2 assoziierten Index-SNPs sind jeweils einzeln markiert. Die Abbildung basiert auf der NCBI Gen-Datenbank (NCBI Gen-Datenbank, abgerufen am 05.03.2023; Brown et al. 2015).

4.3 Ergebnisse der Regressionsanalyse der Replikationsstichprobe

4.3.1 Nominal signifikant assoziierte Proxy-Varianten mit den Ergebnissen des TMT A

In der Replikationsstichprobe erreichten zwei SNPs nennenswerte Ergebnisse für den TMT A (Tabelle 11). Der Proxy-SNP rs13430599, welcher im LD mit dem Index-SNP rs185245908 liegt ($r^2 = 0,2$, $D' = 1$), zeigte dabei einen p-Wert von $6,052 \times 10^{-2}$ und verfehlte damit knapp eine nominal signifikante Assoziation. Der SNP rs3754617, welcher im LD mit dem Index-SNP rs113401490 liegt ($r^2 = 0,37$, $D' = 1$), erreichte ebenso knapp keine nominal signifikante

Ergebnisse

Assoziation ($p = 6,490 \times 10^{-2}$). In der Screeningstichprobe war dieser SNP nicht mit dem TMT-A assoziiert, sondern mit dem TMT B. Das minore Allel ging bei beiden Stichproben mit einer schlechteren Leistung in den Tests einher. Für die Analyse des TMT A standen alle 617 Testwerte zur Verfügung.

Tabelle 11: Assoziierte SNPs der Replikationsstichprobe mit den Ergebnissen des TMT A

SNP	Screening SNP (Test)	Minores Allel (FRQ)	Leistung im Test	B	SE	p-Wert
		Majores Allel				
rs13430599	rs185245908 (TMT A)	T (17,10 %)	↑	-1,299	0,691	$6,052 \times 10^{-2}$
		G	↓			
rs3754617	rs113401490 (TMT B)	C (18,65 %)	↓	1,125	0,067	$6,490 \times 10^{-2}$
		T	↑			

Abkürzungen: B: Regressionskoeffizient, FRQ: Frequenz Referenzallel, Leistung im Test: Testleistung in Bezug auf das seltenere Allel des Proxy-SNPs, ↑: schnellere, ↓: langsamere Leistung, SE: Standardfehler, SNP: single nucleotide polymorphism

4.3.2 Nominal signifikant assoziierte Proxy-Varianten mit den Ergebnissen des TMT B

In der Replikationsstichprobe erreichte der Proxy-SNP rs112882577, welcher im LD mit dem Index-SNP rs111954920 liegt ($r^2 = 0,11$, $D' = 0,39$), eine Tendenz zur Assoziation mit einem p-Wert von $8,247 \times 10^{-2}$ (Tabelle 12). Das minore Allel C ging in beiden Stichproben mit einer langsameren Bearbeitungszeit im Test einher. Für die Analyse des TMT B standen 139 Testwerte zur Verfügung.

Tabelle 12: Assoziierte SNPs der Replikationsstichprobe mit den Ergebnissen des TMT B

SNP	Screening SNP (Test)	Minores Allel (FRQ)	Leistung im Test	B	SE	p-Wert
		Majores Allel				
rs112882577	rs111954920 (TMT B)	C (3,24 %)	↓	0,483	0,472	$8,247 \times 10^{-2}$
		T	↑			

Abkürzungen: B: Regressionskoeffizient, FRQ: Frequenz Referenzallel, Leistung im Test: Testleistung in Bezug auf das seltenere Allel des Proxy-SNPs, ↑: schnellere, ↓: langsamere Leistung, SE: Standardfehler, SNP: single nucleotide polymorphism

5. Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Studie, welche im Screening an 634 neurologisch und psychiatrisch gesunden Studienteilnehmern und in der Replikation an 617 ebenfalls neuropsychiatrisch unauffälligen Probanden durchgeführt wurde, wurde die Assoziation zwischen Polymorphismen des *BIN1*-Gens mit Testergebnissen des TMT A, TMT B und ZVT untersucht. Von den genotypisierten 510 SNPs des Screenings wiesen 8 Index-SNPs nominal signifikante Assoziationen mit den Testergebnissen auf: 4 Index-SNPs mit Ergebnissen des TMT A, 5 Index-SNPs mit Ergebnissen des TMT B und 2 Index-SNPs mit Ergebnissen des ZVT.

Als signifikantester Polymorphismus kristallisierte sich der SNP rs142568045 heraus, dieser zeigte sowohl mit dem TMT B als auch mit dem ZVT signifikante Assoziationen, konnte aber mangels geeigneten Proxy-SNPs nicht in einer Replikation überprüft werden.

Es gab insgesamt eine Tendenz in Richtung Replikation. Der Proxy-SNP rs112882577, welcher sich im LD mit dem Index-SNP rs111954920 befindet, zeigte sowohl in der Screeningstichprobe als auch in der Replikationsstichprobe Assoziationen des selteneren C-Alleles mit schlechterer Leistung im TMT-B.

Bei rs113401490 gab es bei gleicher Allelrichtung eine Assoziation beim TMT B in der Screeningstichprobe, jedoch mit dem TMT A in der Replikationsstichprobe. Ein dritter SNP (rs185245908) zeigte ebenfalls eine Tendenz zur Assoziation, jedoch mit unterschiedlichen Allelrichtungen. In Tabelle 13 sind die Ergebnisse zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 13: Übersicht der Ergebnisse

SNP Screening (Allel)	Test (assoziierte Testleistung)	p-Wert	SNP Replikation (Allel)	Test (assoziierte Testleistung)	p-Wert
rs148399066 (G)	TMT A (↑)	2,377x10 ⁻²			
rs185245908 (C)	TMT A (↓)	3,748x10 ⁻²	rs13430599 (T)	TMT A (↑)	6,052x10 ⁻²
rs68164523 (A)	TMT A (↑) TMT B (↑)	3,804x10 ⁻² 4,502x10 ⁻²			
rs149761241 (A)	TMT A (↑)	3,991x10 ⁻²			
rs142568045 (C)	TMT B (↓) ZVT (↓)	1,932x10 ⁻³ 8,632x10 ⁻³			
rs11680911 (C)	TMT B (↓) ZVT (↓)	1,679x10 ⁻² 1,803x10 ⁻²			
rs111954920 (C)	TMT B (↓)	1,753x10 ⁻²	rs112882577 (C)	TMT B (↓)	8,247x10 ⁻²
rs113401490 (T)	TMT B (↓)	2,063x10 ⁻²	rs3754617 (C)	TMT A (↓)	6,490x10 ⁻²

Abkürzungen: Assoziierte Testleistung: Testleistung in Bezug auf das minore Allel des SNPs, ↑: schnellere, ↓: langsamere Leistung, SNP: single nucleotide polymorphism

Auswahl von Assoziationen bekannter LOAD-Varianten

Der SNP rs6733839, welcher sowohl bei Kunkle et al. (2019) eine hohe genomweit signifikante Assoziation mit der Late-onset Alzheimer-Demenz ($p = 4,0 \times 10^{-28}$) als auch in der aktuell letzten und größten GWAS von Bellenguez et al. (2022) genomweite Signifikanz ($p = 6,1 \times 10^{-118}$) vorwies, zeigte auch in dieser Arbeit eine nominal signifikante Assoziation mit den Ergebnissen eines Tests (ZVT, $p = 2,823 \times 10^{-2}$, T-Allel mit schlechter Leistung, kein Index-SNP) in der Screeningstichprobe. Das Risikoallel für eine LOAD war bei Kunkle et al. (2019) und bei Bellenguez et al. (2022) ebenso das T-Allel. Der Index-SNP rs11680911 konnte schon früh in einer GWAS von Kamboh et al. (2012) mit der LOAD assoziiert werden (Kamboh et al. 2012). Ein weiterer SNP (rs7561528, kein Index-SNP in dieser Dissertation), der ebenso früher mit der LOAD

Diskussion

in Verbindung gebracht wurde (Kamboh et al. 2012; Tan et al. 2013), zeigt auch in dieser Dissertation eine nominal signifikante Assoziation mit Testergebnissen des TMT B ($p = 1,811 \times 10^{-2}$) und des ZVTs ($p = 1,942 \times 10^{-2}$) in der Screeningstichprobe. Das Allel A ging in dieser Dissertation mit schlechterer Leistung in den Tests einher, dieses Allel war bei Tan et al. (2013) das Risikoallel für eine LOAD ($p = 4,2 \times 10^{-14}$). Eine weitere Meta-Analyse aus dem Jahr 2022 bestätigte den SNP rs7561528 (Risikoallel A) sowie einen weiteren SNP (rs744373, Risikoallel C) als Alzheimer-Risikovarianten. Der SNP rs7561528 zeigte nur in der kaukasischen Bevölkerung ein erhöhtes LOAD-Risiko, der SNP rs744373 hingegen wurde sowohl in der asiatischen, als auch in der kaukasischen Bevölkerung als LOAD-Risikovariante bestätigt (Aziz et al. 2022). Der SNP rs744373 (Risikoallel G), welcher schon früh in einigen GWAS mit der LOAD assoziiert wurde (Hu et al. 2011b), verfehlte in der Screeningstichprobe knapp eine Signifikanz (ZVT, $p = 5,612 \times 10^{-2}$). Hier stimmte die Allelrichtung ebenso überein: Das Allel G konnte in dieser Dissertation am ehesten mit schlechterer Leistung im ZVT in Verbindung gebracht werden. Diese 3 genannten SNPs liegen alle in *clump 2* und befinden sich *upstream* des *BIN1*-Gens.

5.2 Einordnung der Ergebnisse in die aktuelle Studienlage

BIN1-Gen und kognitive Funktionen

In verschiedenen Studien konnten bereits Assoziationen zwischen dem *BIN1*-Gen und verschiedenen Bereichen des breiten Spektrums der Kognition gezeigt werden. Beispielsweise zeigte sich in einer longitudinal angelegten Studie neben *APOE* auch für das *BIN1*-Gen eine Assoziation mit einer verringerten Leistung der globalen Kognition bei demenzfreien, mindestens 65 Jahre alten Studienteilnehmern ($n = 4931$). Eine Assoziation des *BIN1*-Gens und Leistungen im TMT B, welcher auch in dieser Arbeit Anwendung fand, konnte unter Beachtung einiger Limitationen nicht hergestellt werden. Die Autoren diskutierten die Frage, ob der Vorhersagewert verschiedener Risikovarianten auf die AD über eine generell geringere kognitive Leistungsfähigkeit oder über Auswirkungen auf die pathologischen Prozesse der AD und einem möglicherweise schnelleren kognitiven Rückgang zustande kommt (Vivot et al. 2015). Es ergibt sich die Frage, ob die *BIN1*-Genvarianten zu einem bestimmten kognitiven Phänotyp oder über AD-Pathomechanismen zu einer prodromalen AD mit kognitiven Leistungseinbußen beitragen. Demnach besteht insbesondere bei älteren Risikoallelträgern die Möglichkeit, dass deren Leistungseinschränkungen durch eine beginnende Demenz verursacht sein könnten. In einer anderen Studie wurde ebenfalls untersucht, ob zwischen Alzheimer-Risikogenen wie dem *BIN1*-Gen und dem kognitiven Leistungsabfall bei älteren Menschen Assoziationen bestehen. Hierfür wurde in den USA über einen Zeitraum von 10 Jahren Untersuchungen im Rahmen von kognitiven Leistungstests durchgeführt. Für die 3 untersuchten SNPs (rs6733839, rs7561528,

Diskussion

rs744373) des *BIN1*-Gens zeigten sich keine signifikanten Assoziationen mit einem Leistungsabfall in der besagten Zeitspanne. 2 (rs7561528, rs6733839) dieser 3 SNPs waren allerdings in der vorliegenden Arbeit nominal signifikant mit der Kognition verknüpft. Indessen stellte sich in der amerikanischen Studie heraus, dass bei Untersuchungen der gesamten Genregionen des *BIN1*-Gens, diese Genregion signifikante Werte in Zusammenhang mit dem kognitiven Rückgang zeigte. Dies wurde untersucht, indem alle verfügbaren SNPs des *BIN1*-Gens anhand ihres LDs zu Gruppen aggregiert wurden und anschließend gleichzeitig die Assoziation zwischen diesen SNPs und dem Ereignis getestet wurde. Ein Teil der Untersuchung wurde mit den obengenannten 3 SNPs durchgeführt. Der andere Teil ohne diese SNPs und aller SNPs in ihrem LD. Die Genregion zeigte in beiden Untersuchungen signifikante Assoziation mit den kognitiven Einbußen. Die Autoren vertreten die Ansicht, dass die Variation in einer gesamten Genregion, nicht nur ein einzelner SNP, die kognitive Beeinträchtigung beeinflussen könnte (Nettiksimmons et al. 2016). Zu beachten ist, dass die Studie aus zwei verschiedenen Kohorten bestand, welche relevante Unterschiede aufwiesen. In den beiden Kohorten wurden unterschiedliche kognitive Tests, welche die Leistung in der globalen Kognition testen sollten, durchgeführt. Die Anzahl der Testwiederholungen im Lauf der Studie war verschieden, es bestanden relevante Unterschiede in den Studienergebnissen und der Zusammensetzung der Kohorten. Eine Kohorte war männlich, die andere weiblich. Hieraus ergeben sich weitere geschlechtsspezifische Unterschiede, wie beispielsweise in der Immunregulation, im Hormonhaushalt und bei den Komorbiditäten, welche sich möglicherweise verschieden auf kognitive Einschränkungen auswirkten (Nettiksimmons et al. 2016). Aus diesen Gründen wäre die Durchführung weiterer Studien mit einem ähnlichen longitudinalen Vorgehen, größeren Stichproben und standardisierteren Bedingungen sinnvoll. Die Genotypisierung, Imputation und Qualitätskontrollen sind mit der vorliegenden Studie vergleichbar, da strenge Qualitätskriterien eingehalten wurden. Interessanterweise wurde am SNP rs6733839, welcher auch in dieser Dissertation nominal signifikante Assoziationen mit Leistungen im ZVT zeigte und im vorherigen AD-Kapitel vorgestellt wurde, auch in weiteren Studien hinsichtlich der Assoziation zur Kognition untersucht: In einer Studie von Greenbaum et al. (2016), die eine Stichprobe mit an Diabetes mellitus Typ II erkrankten, älteren Probanden (≥ 65 Jahre alt) beinhaltete, zeigte dieser SNP Assoziationen mit der episodischen Gedächtnisleistung, welche ebenfalls bei der Demenz verringert ist. Das Referenzallel T (TT Genotyp) ging dabei mit schlechteren Leistungen in diesem Bereich einher (Greenbaum et al. 2016). Die Studie von Greenbaum et al. (2016) unterstützt die Annahme, dass *BIN1*-Genotypen auch einen Einfluss auf die Kognition, beziehungsweise auf das episodische Gedächtnis Älterer (≥ 65) haben könnte, ohne dass sie an einer LOAD oder MCI erkrankt sind, dies wurde mittels umfangreicher kognitiver Testung und der Einschätzung eines

Diskussion

multidisziplinären Teams ausgeschlossen. Nur sorgfältig geprüfte Probanden mit einer durchschnittlichen kognitiven Leistung wurden in die Studie aufgenommen. Es ist zu beachten, dass die Probanden durch ihre Erkrankung ein höheres Risiko für kognitive Einschränkungen und auch für Demenz aufwiesen. In der Studie wurde ein Einwirken der Erkrankung Diabetes mellitus Typ II auf die Korrelation zwischen dem SNP und dem episodischen Gedächtnis untersucht. Mittels eines linearen Regressionsmodells konnte gezeigt werden, dass der Effekt der Genvariante auf das episodische Gedächtnis unabhängig vom Schweregrad der Erkrankung ist. Da es in der Studie aber keine vollständig gesunden Teilnehmer gab, kann eine grundlegende Wechselwirkung zwischen dem Diabetes mellitus Typ II Status, dem SNP und der kognitiven Domäne nicht vollends ausgeschlossen werden. Es bestand jedoch ebenfalls kein Zusammenhang zwischen der *BIN1*-Genvariante und dem Schweregrad des Diabetes (Greenbaum et al. 2016). Bezogen auf die vorliegenden Daten dieser Dissertation ist zu erwähnen, dass das Referenzallel T des signifikanten SNPs rs6733839 Assoziationen mit der im ZVT gemessenen Verarbeitungsgeschwindigkeit aufwies und mit besseren Testleistungen korrelierte ($p = 2,823 \times 10^{-2}$, $B = 0,1354$). Die Effektrichtung ist also gegensätzlich zu der beschriebenen Studie, allerdings wurden auch unterschiedliche kognitive Domänen untersucht. Die beschriebene Studie von Greenbaum et al. (2016) untersuchte neben den Assoziationen mit dem episodischen Gedächtnis unter anderem auch die Assoziationen mit der Aufmerksamkeit, dem Arbeitsgedächtnis, exekutiven Funktionen und der kognitiven Gesamtleistung. Hier zeigten sich auch in den Domänen der Aufmerksamkeit, des Arbeitsgedächtnisses und in den kognitiven Gesamtleistungen nominal signifikante Assoziationen mit dem besagten SNP. Zwischen der exekutiven Funktion und dem besagten SNP konnte keine Assoziation nachgewiesen werden (Greenbaum et al. 2016). Auch in der vorliegenden Dissertation wurde dieser SNP nicht mit der kognitiven Flexibilität (Domäne der exekutiven Funktion) assoziiert. In diesem Punkt stimmen die Studienergebnisse beider Arbeiten also überein. In Zukunft wäre eine größere Stichprobe auch mit gesunden Probanden sowie ein longitudinales follow-up-Studiendesign aussagekräftiger, um sowohl Effektstärken, als auch die zeitlichen Komponenten, wann und in welchem Zusammenhang es zu kognitiven Einschränkungen kommt, genauer zu untersuchen. In dem Zusammenhang kann ebenfalls diskutiert werden, ob es sich bei den Auffälligkeiten um einen kognitiven Phänotyp oder um ein prodromales Stadium der AD handelt, was sich mit den oben genannten Untersuchungen nicht sicher ausschließen ließ. Auch Barral et al. (2012) zeigten in ihrer Studie mit einer gleichsam kleinen Stichprobe, dass zwischen einigen Alzheimer-Risikogenen und der episodischen Gedächtnisleistung sowohl bei gesunden ($n = 1028$) als auch bei an LOAD erkrankten ($n = 337$) Studienteilnehmern Zusammenhänge bestehen könnten (Barral et al. 2012). Durch *multilocus genotype patterns*, in denen mehrere SNPs verschiedener

Diskussion

AD-Risikogene kombiniert und auch der SNP rs744373 des *BIN1*-Gens mit eingerechnet wurde, könnte ein neuer Ansatz zur Erkennung und zum Verständnis der verringerten Gedächtnisleistung entstehen. Die Ergebnisse der Studie könnten auf eine beginnende Demenz bei den Studienteilnehmern zurückzuführen sein, bei der die kognitive Leistung als Marker für eine beginnende AD genutzt werden könnte. Alternativ steht ebenfalls die Hypothese des kognitiven Phänotyps im Raum. Es gelang nicht, den Einfluss des *BIN1*-SNPs (rs744373) *APOE* unabhängig zu bestätigen (Barral et al. 2012). Auch in einer weiteren Studie von Verhaaren et al. (2013) wurden ohne *APOE* nur schwache Zusammenhänge zwischen der Gedächtnisleistung gesunder Probanden und einem genetischen Alzheimer-Risikoscore, bestehend aus genomweit signifikanten SNPs, entdeckt. Der SNPs rs744373 wurde in dieser Analyse integriert. Der Alzheimer-Risikoscore wurde mit der Leistung in kognitiven Testungen nicht dementer Studienteilnehmer (n = 5171) mittels linearer Regression auf Korrelationen untersucht. Ebenfalls wurde in einer Subkohorte in einem longitudinalen Vorgehen untersucht, ob mittels dieses Risikoscores ein Erkranken an AD vorhergesagt werden kann. Hier ergaben sich ebenfalls keine deutlichen Assoziationen. Die Autoren diskutieren, dass die Ursachen für die mangelnde Assoziation sein könnte, dass die untersuchten Risikoallele einen Einfluss auf andere Risikofaktoren der AD haben und nicht vorrangig die Kognition und die Entstehung einer AD beeinflussen (Verhaaren et al. 2013). In der vorliegenden Dissertation erreichte dieser, von Verhaaren et al. (2013) untersuchte SNP ebenfalls keine signifikante Assoziation mit den ausgewählten kognitiven Tests. In der gerade beschriebenen Studie besteht die Möglichkeit, dass die statistische Power aufgrund zu geringer Stichprobengrößen nicht ausreicht, denn der genannte SNP konnte schon früh mit Alzheimer (Seshadri et al. 2010) und der Kognition, wie dieser Abschnitt zeigt, assoziiert werden. Eine Studie von Ferencz et al. (2014), die den Einfluss eines polygenetischen Risikoscores auf die kognitive Leistungsfähigkeit im Alter an demenzfreien Studienteilnehmern untersuchte und zusätzlich die körperliche Aktivität der Probanden mit einschätzte, wurde der *BIN1*-SNP rs744373 mit zwei SNPs des Gens *PICALM* und einem SNP des Gens *CLU* auf Assoziationen analysiert. Es bestätigte sich, dass diese genetischen Varianten mit einem erhöhten Risiko für eine reduzierte Leistung im episodischen Gedächtnis einhergehen, wobei körperliche Aktivität die Effekte des polygenetischen Risikoscores, bestehend aus den genannten SNPs, abzuschwächen scheint. Die Ergebnisse dieser Studien waren *APOE* unabhängig und bekräftigen damit neben den Studienergebnissen von Barral et al. (2012) die Assoziation zwischen dem *BIN1*-Gen und der kognitiven Leistung, in dem Fall bezogen auf die episodische Gedächtnisleistung (Ferencz et al. 2014). Es sind weitere Studien nötig, die den genauen Zusammenhang zwischen der miteinbezogenen körperlichen Aktivität und dem genetischen Risikostatus untersuchen. Eine chinesische Studie von Zhang et al. (2015) mit

Diskussion

jungen, gesunden Probanden untersuchte denselben *BIN1*-SNP auf Assoziationen mit dem Arbeitsgedächtnis und bildgebenden Verfahren zur Ermittlung der Hirnstruktur. Es zeigte sich, dass Träger des Risikoallels (GG-homozygot) ein erhöhtes Risiko für schlechtere Leistungen im Arbeitsgedächtnis aufwiesen, ein größeres Volumen des Hippocampus besaßen und schlechtere funktionelle Verbindungen zwischen dem bilateralen Hippocampus und dem rechten dorsolateralen, präfrontalen Kortex zeigten. Die Autoren gingen davon aus, dass dieser untersuchte SNP oder durch LD verbundene SNPs zu möglichen genetischen und bildgebenden Kontrollen oder der Identifizierung von Personen mit AD-Risiko beitragen könnten, um zum Beispiel das frühzeitige Erkennen der Erkrankung zu fördern (Zhang et al. 2015). Die Erkenntnisse über die verminderten Interaktionen zwischen Hippocampus und präfrontalem Kortex passen zu früheren Forschungsergebnissen, die eine reduzierte Konnektivität des Hippocampus mit anderen Hirnregionen bei AD-Patienten nachwiesen (Allen et al. 2007). Das vergrößerte Hippocampus-Volumen ist möglicherweise durch eine kompensatorische Rekrutierung neuronaler Ressourcen bei Menschen mit genetischem Risiko für eine AD zu erklären (Bookheimer et al. 2000). Eine Studie von Biffi et al. (2010) belegte im Hinblick auf die Reduktion bestimmter Volumina AD-relevanter Hirnareale eine Assoziation mit einem genetischen Risikoscore, der auch den hier signifikanten SNP rs7561528 des *BIN1*-Gens, welcher sich in einem LD mit dem SNP rs744373 befindet, beinhaltet. Der SNP rs7561528 zeigte signifikante Assoziation in Bezug auf die Dicke des temporalen und des entorhinalen Kortex's (Biffi et al. 2010).

Eine spanische Forschungsgruppe untersuchte die Assoziationen zwischen Alzheimer-Risikopolymorphismen und der kognitiven Leistungsfähigkeit von Studienteilnehmern mit einer MCI sowie von gesunden Probanden. Dem *BIN1*-Gen – insbesondere dem SNP rs744373 – wurden Unterschiede in der Leistung von Sprach- und Gedächtnisleistungen der Probanden nachgewiesen (Cruz-Sanabria et al. 2018, Cruz-Sanabria et al. 2021). Cruz-Sanabria et al. (2018) stellten die Theorie auf, dass die Mechanismen, welche durch die signifikanten Gene reguliert werden, einen Einfluss auf die Kognition haben könnten, auch wenn keine Demenz vorliegt.

Ob und inwiefern die Mechanismen, Funktionen und auch Pathologien des *BIN1*-Gens sich auf die Kognition auswirken, muss in zukünftigen Studien erforscht werden. Weitere Studien mit größeren Stichproben sind nötig, um die Einflüsse des Gens einschließlich einiger umstrittener SNPs auf die Kognition zu bestätigen und aufzuschlüsseln. Die Ergebnisse der genannten Studien weisen lediglich auf einen Zusammenhang zwischen dem *BIN1*-Gen und verschiedenen kognitiven Bereichen sowie AD-typischen Veränderungen von bestimmten Hirnarealen bei gesunden und erkrankten Studienteilnehmern verschiedenen Alters hin.

BIN1-Funktionen und die Pathogenese der Alzheimer-Krankheit

In einigen GWAS und Meta-Analysen der letzten Jahre wurde *BIN1* mehrfach als Alzheimer-Risikogen bestätigt. Durch eine umfangreiche genomweite Meta-Analyse aus dem Jahr 2019 von Kunkle et al. mit fast 60 000 Kontrollen und ungefähr 35 000 an einer LOAD erkrankten Studienteilnehmern wurde der Einfluss von 20 Risikogenen bekräftigt und 5 neue Risikogene identifiziert. Der SNP rs6733839 des *BIN1*-Gens, welcher auch in dieser Dissertation nominal signifikante Assoziationen mit den Leistungen im ZVT zeigte, erreichte in der Studie von Kunkle et al. (2019) eine hohe genomweite Signifikanz ($p = 4,0 \times 10^{-28}$), was die Korrelation des *BIN1*-Gens mit der LOAD bekräftigt (Kunkle et al. 2019). Neben den genomweiten Assoziationen haben Kunkle et al. (2019) zudem Untersuchungen durchgeführt, welche die Assoziationen zwischen den genetischen Varianten und den molekularbiologischen sowie zellulären Mechanismen, die nach aktueller Studienlage einen Einfluss auf die AD-Pathogenese zu haben scheinen, bestätigten (Kunkle et al. 2019). Die aktuell größte GWAS von Bellenguez et al. (2022) an über 110 000 an einer LOAD-erkrankten Studienteilnehmern und über 675 000 Kontrollen zeigte für den SNP eine genomweite Signifikanz von $p = 6,1 \times 10^{-118}$ (Bellenguez et al. 2022).

Kognitive Defizite, die Ablagerungen von Amyloid-Plaques und NFT kennzeichnen die LOAD. Die genauen molekularbiologischen Prozesse, welche zu den Veränderungen in der Kognition und der Pathogenese führen, sind weiterhin noch nicht ausreichend verstanden (Jansen et al. 2022).

In Untersuchungen des Proteoms im Gehirn von AD-Patienten zeigten sich Veränderungen in RNA-Bindungsproteinen und im Spleißen der RNA. Die untersuchende Forschungsgruppe nutzte dabei ein erweitertes proteomisches Datenset und ging unterschiedlichen Exon-Exon Spleiß-Mustern in Proteinen nach, die durch AD-Risikogene codiert wurden. Bei einigen Risikogenen, unter anderem dem *BIN1*-Gen, zeigten sich in AD-Gehirnen alternativ gespleißte Proteinisoformen, die mit den AD-typischen Ablagerungen und kognitiven Defiziten korrelierten (Johnson et al. 2018). Die Autoren spekulieren, dass dies ein Hinweis darauf sein könnte, dass bei der Alzheimer-Erkrankung Veränderungen im Spleißen der RNA auftreten und einige der AD-Risikogene, insbesondere *BIN1*, über die Beteiligung an der AD-Pathogenese auch einen Einfluss auf die molekularen Mechanismen der Kognition haben (Johnson et al. 2018).

In Bezug auf die Amyloid-Pathologie liegen unterschiedliche Forschungsergebnisse vor. In der Studie von Andrew et al. (2019) wurde untersucht, inwiefern die Expression des *BIN1*-Gens hieran beteiligt ist. Dadurch, dass die *BIN1*-Isoformen an der neuronalen Endozytose involviert sind, besteht die Möglichkeit der Beeinflussung der Endozytose des APP. Versuche am Mausmodell bestätigten diese Theorie jedoch nicht: Bei einer Reduktion des *BIN1*-

Diskussion

Proteinspiegels durch einen heterozygoten Knockout, welcher wiederum durch eine Deletion im Gen erreicht wurde, veränderte sich weder der Spiegel noch die Lokalisation der APP-bearbeitenden Sekretase BACE1. Weder zeigten sich Veränderungen in der Produktion und in den Ablagerungen des A β , noch in Verhaltensdefiziten, die mit dem Ablagerungsgeschehen einhergehen. Bei einem vollständigen *BIN1*-Knockout in erregenden Neuronen traten ebenfalls keine Veränderungen von BACE1, APP, Spaltungsfragmenten durch BACE1 und A β -Ablagerungen auf. Es schien, als würde *BIN1* die A β -Entstehung und -Ablagerung in diesem Maus-Model nicht beeinflussen (Andrew et al. 2019). Eine Studie von De Rossi et al. (2017) zeigte ebenfalls, dass in Hirnarealen mit einer hohen Menge an senilen Plaques kein Zusammenhang mit einer erhöhten *BIN1* Expression zu bestehen schien (De Rossi et al. 2017). Im Widerspruch dazu stehen Studien von Miyagawa et al. (2016) und Ubelmann et al. (2017), in denen ein Einfluss von *BIN1* auf die A β -Pathogenese nachgewiesen wurde. Beispielsweise zeigte sich bei einer niedrigeren *BIN1*-Expression oder bei Funktionsstörungen der Expression eine gesteigerte A β -Produktion durch Akkumulation der BACE1-Sekretase. Es ließen sich intrazellulär eine erhöhte Menge an A β 42, jedoch keine Änderungen der Sekretion des A β 42 nach extrazellulär, beobachten (Miyagawa et al. 2016; Ubelmann et al. 2017). Der Grund für diese unterschiedlichen Forschungsergebnisse könnte in der Expression der bereits in der Einleitung ausführlich beschriebenen, verschiedenen Isoformen des *BIN1*-Gens liegen (Ubelmann et al. 2017). Ubelmann et al. (2017) beschäftigten sich hauptsächlich mit der neuronalen Isoform, während Andrew et al. (2019) beim heterozygoten Knockout die ubiquitäre Form und beim vollständigen Knockout ebenfalls die neuronale Form untersuchten (Ubelmann et al. 2017, Andrew et al. 2019). Ferner ist laut Ubelmann et al. (2017) die genaue Interaktion zwischen *BIN1* und BACE1 noch nicht vollständig verstanden. Allerdings ist bekannt, dass es im Axon bei erniedrigtem *BIN1* zu einem ungenügenden BACE1-Recycling kommen könnte (Ubelmann et al. 2017). Eine neuere Studie von Bhattacharyya et al. (2022) wies ebenfalls nach, dass die neuronalen Isoform des *BIN1*-Gens die β -Sekretase und damit die A β -Entstehung zu regulieren scheint (Bhattacharyya et al. 2022). Eine Studie von Adams et al. (2016) wies nach, dass *BIN1* mit Belastung durch neuritische Plaques im Hippocampus assoziiert ist (Adams et al. 2016). Adams et al. (2016) nahmen an, dass *BIN1* und seine Interaktionen mit der Membrandynamik auf diese Weise vielfältig an der AD-Pathogenese beteiligt sein und die axonale Integrität beeinflussen könnte. Andererseits stellten sie fest, dass bei zunehmendem Schweregrad der AD der Zusammenhang zwischen einer erhöhten neuronalen Expression des *BIN1*-Gens nicht mit der NFT-Belastung korrelierte und die Korrelation mit NFT nicht auf von AD betroffenen Hirnarealen beschränkt blieb (Adams et al. 2016). Hinsichtlich der Akkumulation des A β 42 in Form von Plaques vertreten auch Guimas Almeida et al. (2018) in ihrem Review den Standpunkt,

Diskussion

dass einige der neu entdeckten Alzheimer-Risikogene über endozytäre Prozesse in dessen Produktion involviert sein könnten. Dazu gehören laut der Autoren unter anderem die Gene *CD2AP*, *PICALM* und *BIN1*. Durch die Möglichkeit Clathrin zu binden, ist die Wahrscheinlichkeit des Mitwirkens der neuronalen Isoform des *BIN1*-Gens an der Endozytose von A β 42 hoch (Guimas Almeida et al. 2018). In der Studie von Miyagawa et al. (2016) wurde ein weiterer Versuch durchgeführt: Bei einer *BIN1*-Depletion zeigte sich ein intrazellulärer Anstieg von A β 42; hierfür schien auch die Akkumulation von BACE1 beziehungsweise eine Fehlregulierung verantwortlich zu sein (Miyagawa et al. 2016). *BIN1* könnte hierbei eine Rolle bei der Spaltung der BACE1-Tubuli aus frühen Endosomen spielen und so über ungeklärte Mechanismen zum BACE1-Abbau beitragen. Es wäre möglich, dass der Ansatz, die endozytären Vorgänge genauer zu untersuchen, die Entwicklung von therapeutischen Zielen und Präventionsmaßnahmen unterstützen könnte (Ubelmann et al. 2017; Guimas Almeida et al. 2018).

In Hinblick auf die Tau-Pathologie besteht ebenfalls die Möglichkeit des Wechselwirkens mit *BIN1* (Sartori et al. 2019; Gao et al. 2021; Tan et al. 2021). Eine Assoziationsstudie von Tan et al. (2021) untersuchte den Zusammenhang zwischen AD-Risikoallel-Trägern und der Tau-Pathologie. Es ergaben sich signifikante Assoziationen zwischen dem SNP rs744373 des *BIN1*-Gens und der Tau-Last in der Liquor-Diagnostik sowie der detektierten Tau-Last in der PET-Diagnostik. Zwischen den SNPs rs6733839 und rs7561528 des *BIN1*-Gens und der Tau-Pathologie konnten ebenfalls Assoziationen nachgewiesen werden (Tan et al. 2021). Die beiden SNPs rs6733839 und rs7561528 zeigten auch in der hier vorgelegten Dissertation nominal signifikante Assoziation mit mindestens einem Testergebnis. Eine Studie von Franzmeier et al. (2019) belegte die Assoziation zwischen dem Risikoallel des SNPs rs744737 und der Tau-Pathologie (Franzmeier et al. 2019). Die Autoren vermuteten, dass *BIN1* über diesen Mechanismus die Gedächtnisleistung nicht dementer älterer Probanden negativ beeinflussen würde. Analysen, die diesen Zusammenhang und die genauen Auswirkungen auf kognitive Defizite oder eine möglicherweise schnellere Entwicklung einer AD untersuchen, sind noch ausstehend. Franzmeier et al. (2019) diskutierten ebenfalls darüber, ob die *BIN1*-Proteine als potenzielles therapeutisches Ziel zur Reduzierung der Tau-Ablagerungen in Betracht zu ziehen sind (Franzmeier et al. 2019). Dies unterstreicht die zentrale Bedeutung des Verständnisses der wechselwirkenden Mechanismen. Ein möglicher Ansatz, um diesen Mechanismus herzuleiten sei laut Franzmeier et al. (2019), dass *BIN1* über seine SH3-Domäne Tau binden könne und auf diese Weise möglicherweise an der NFT-Pathologie beteiligt ist. Andere Theorien der Autoren besagen, dass auch die Interaktion mit Clathrin, welches sich auf die Endozytose auswirkt und verschiedene Zusammensetzungen der *BIN1*-Isoformen im Gehirn Auswirkungen auf die

Diskussion

Ablagerungen haben könnten. Zusätzlich zu den Untersuchungen bezüglich der Tau-Pathologie, welche unter strengen Qualitätskriterien durchgeführt wurden, zeigte sich hier keine Assoziation zwischen dem besagten SNP und der Amyloid-Pathologie (Franzmeier et al. 2019). Calafate et al. (2016) beschreiben den Zusammenhang zwischen der reduzierten neuronalen Isoform des *BIN1*-Gens in von AD betroffenen Gehirnen mit der Ausbreitung der Tau-Pathologie. Die Autoren sahen die Möglichkeit, dass eine vermehrte Endozytose zu einer erhöhten Tau-Ablagerung führte. Hierzu stellten sie die Theorie auf, dass dies nicht nur mit einem verminderten *BIN1*-Spiegel assoziiert ist, sondern *BIN1* auch die Endozytoserate erhöhen und auf die Tau-Pathologie wirken könnte (Calafate et al. 2016). Andere Autoren unterstützten den Ansatz, dass *BIN1* über die Tau-Pathologie und Endozytosemechanismen an der AD-Pathogenese beteiligt zu sein scheint ebenfalls und werten diese Interaktionen gleichermaßen als mögliches therapeutische Ziel (Tan et al. 2013). Malki et al. (2017) untersuchten diesen Ausgangspunkt mit Hilfe einer Kernspinresonanzspektroskopie genauer: Es stellte sich heraus, dass die SH3-Dmäne der neuronalen Isoform 1 im Gegensatz zu der SH3-Domäne der ubiquitären Form des *BIN1*-Gens intramolekulare Wechselwirkungen eingehen kann und so mit der Clathrin- und AP-2-Bindungsdomäne von Isoform 1 konkurrierte. Beide SH3-Domänen könnten mit Tau-Proteinen interagieren. Dabei ist zu erwähnen, dass die Affinität zu Tau höher als zur intramolekularen Bindung war. Die Autoren untersuchten dies durch die zweidimensionale Kernspinresonanzspektroskopie, in der unter anderem aufgezeigt werden konnte, dass bei einer äquimolaren Konzentration an Tau die intramolekulare Bindung gelöst wird und stattdessen eine Bindung zwischen Tau und der SH3-Domäne eingegangen wird. Durch die Konkurrenz um dieselbe Bindungsstelle, was auch impliziert, dass keine gleichzeitige Wechselwirkung vorliegen kann, wird die Komplexität des biochemischen Mechanismus zwischen *BIN1* und Tau weiter verdeutlicht und die Relevanz, die verschiedenen Isoformen zu untersuchen, hervorgehoben (Malki et al. 2017). In umfangreichen Analysen von Voskobiynyk et al. (2020) an neuronalen Zellkulturen zeigte sich bei einer erhöhten Expression der neuronalen *BIN1*-Isoform eine Tau-abhängige verstärkte neuronale Aktivität. Es ließ sich eine Übererregbarkeit der Neurone, eine erhöhte Frequenz bei der synaptischen Übertragung und ein erhöhter Calciumstrom durch die Zellmembran messen. Die vermehrte neuronale Aktivität wurde von den Autoren auf eine Interaktion zwischen *BIN1* und spannungsabhängigen Calciumkanälen zurückgeführt. Ebenso vermuteten sie, dass diese Interaktion in diesem Tiermodell durch Tau moduliert wurde, da beispielsweise bei einer Tau-Reduktion die Interaktion zwischen *BIN1* und dem Calciumkanälen und die Übererregbarkeit der Zellen nachließ. Sowohl *BIN1* als auch die Calcium-Kanäle tragen eine SH3-Domäne und interagieren über diese Bindungsstelle vermutlich mit Tau (Voskobiynyk et al. 2020). Dieser Absatz

Diskussion

verdeutlicht, dass funktionelle Studien, die insbesondere die Interaktion zwischen *BIN1* und Tau genauer untersuchen, wichtige Hinweise für die Pathogenese der AD und mögliche therapeutische Ziele liefern könnten.

Angesichts der frühen neuropathologischen Ablagerungen in Neokortex und Hippocampus kognitiv unauffälliger Gesunder diskutierten Savva et al. bereits 2009 verschiedene Erklärungstheorien, weshalb es gleichwohl nicht zum Ausbruch der AD kommt. Möglicherweise können unterschiedliche Toleranzen oder bessere Kompensationsmechanismen bezüglich der Ablagerungen bestehen. Auch könnten sich Interaktionen mit anderen vorbestehenden Komorbiditäten auf die Entstehung und den Verlauf der AD auswirken (Savva et al. 2009). Unter Umständen wäre es laut Jack et al. (2010) auch möglich, dass verschiedene Alzheimer-Risikogene Einfluss auf die neuropathologischen Prozesse nehmen und dadurch das Ausbrechen der Erkrankung verändern können. Hier sind neuroprotektive, aber ebenso auch neurodegenerative Kaskaden vorstellbar (Jack et al. 2010). Zukünftig muss die Funktion des *BIN1*-Gens und seiner Isoformen im zentralen Nervensystem genauer untersucht werden. Auch ist es erforderlich die verschiedenen Einflüsse der SNPs des Gens auf die Isoformen sowie deren Funktion und die grundlegenden zellulären Prozesse, an denen *BIN1* beteiligt zu sein scheint, konkreter zu untersuchen.

Bezüglich der Biomarker Diagnostik der LOAD gehen Knol et al. (2018) davon aus, dass Kognitionswerte, welche im Querschnitt aus mehreren Testungen für Leistung in kognitiven Domänen erhoben wurden, nur eingeschränkt als Biomarker in Bezug auf neurodegenerative Erkrankungen genutzt werden können (Knol et al. 2018). Andere Forschungsgruppen nutzen verschiedene andere Ansätze in dieser Exploration. Zhang et al. (2015) spekulieren darauf, dass *BIN1*-Genvarianten durch ihre Assoziation mit der LOAD und den beteiligten neuronalen Mechanismen möglicherweise dazu beitragen können, Biomarker zu identifizieren und neue therapeutische Ziele zu entwickeln (Zhang et al. 2015). In einer Studie von Antonell et al. (2016) wurde das Blut von drei Kohorten auf Unterschiede in den verschiedenen Phasen der Erkrankung und mögliche Biomarker der AD untersucht. Dabei wurden gesunde Probanden, Menschen mit präklinischer AD (in deren Gehirn bereits neuropathologische Veränderungen bestanden) und Menschen mit AD verglichen. Analysiert wurde die Vollblutexpression bestimmter Gene, welche mit dem Calciumsignalweg, Altern, Autophagie, Mitochondrien und oxidativem Stress vergesellschaftet sind. In diesem Rahmen wurde unter anderem auch das *BIN1*-Gen untersucht. Signifikante Unterschiede zwischen den relativ kleinen Gruppen (Kontrollen n = 47, präklinische AD n = 11, Patienten mit AD n = 42) bestanden für die Expression des *BIN1*-Gens nicht. Anders war dies für die Expressionen anderer Gene. Diese Gene zeigten

Diskussion

Assoziation mit dem Calciumsignalweg, Alterungsprozessen und Autophagie (Antonell et al. 2016). Einige Jahre vor dieser Studie zeigte sich bei Sun et al. (2013) vor allem für die *BIN1*-Proteinexpression im Plasma ein signifikanter Unterschied zwischen AD-Patienten und gesunden Probanden. Bei den AD-Patienten bestand ebenfalls eine deutliche negative Korrelation zwischen der *BIN1*-Expression im Plasma und den Ergebnissen im durchgeführten MMST, was bedeutet, dass, je höher die *BIN1*-Expression im Plasma war, desto schlechter schnitten die Patienten im MMST ab. Die Autoren gehen bei der Exploration der *BIN1* Expression im Plasma als Biomarker einer AD von einer Sensitivität von 0,73 und einer Spezifität von 0,75 aus (Sun et al. 2013). Auch aktuellere Studien bestätigen eine Assoziation zwischen einer erhöhten Expression des *BIN1*-Gens im Blut mit einigen Risikovarianten des *BIN1*-Gens (rs744373, rs4663105, rs6733839, rs7561528) (Tan et al. 2021).

Um die Relevanz des Einflusses der AD-spezifischen Pathologien auch auf die Kognition von gesunden Probanden zu unterstreichen, ist eine Meta-Analyse von Duke Han et al. (2017) zu erwähnen. Hier wurde deutlich, dass zwischen Menschen mit und ohne Amyloid-Ablagerungen signifikante Unterschiede in der globalen kognitiven Funktion, der Verarbeitungsgeschwindigkeit und den exekutiven Funktionen bestehen. Weitergehend zeigte sich, dass bei dem zusätzlichen Vorliegen von Tau-Pathologien oder Neurodegeneration bei kognitiv gesunden Probanden eine schlechtere Gedächtnisleistung zu beobachten war. Es schien als könnten im präklinischen Stadium einer AD neuropsychologische Testungen genutzt werden, um Rückschlüsse auf die Belastung des Gehirns zu ziehen. Dies könnte möglich sein, bevor neuropathologische Veränderungen überhaupt mittels Liquordiagnostik nachweisbar sind. Trotz einiger Limitationen dieser Studie könnten kognitive Testungen dementsprechend in der Funktion einer frühen und nicht invasiven Diagnostik eine wichtige Rolle spielen (Duke Han et al. 2017). Noch sind allerdings keine Normierungen für dieses Phänomen bekannt. Auch stellt sich die Frage, ob die Detektion dieser kognitiven Unterschiede als Merkmal der präklinischen AD oder als kognitiver Phänotyp zu verstehen ist.

BIN1 und andere neuropsychiatrische Erkrankungen

Zwischen der AD und dem Morbus Parkinson, insbesondere der kognitiven Beeinträchtigung der Erkrankungen, bestehen einige Parallelen. Dies führt zu einem gesteigerten Interesse daran, auch in der Parkinson-Erkrankung die kognitiven Beeinträchtigungen und mögliche genetische Risikovarianten genauer zu untersuchen, um gegebenenfalls bei der AD die biologischen Mechanismen hinter den kognitiven Einbußen besser verstehen zu können. In einer Studie von Wang et al. (2016) fassten die Autoren zusammen, dass es sich bei beiden Erkrankungen um

Diskussion

häufige neurodegenerative Erkrankungen bei älteren Menschen handelt und dass diese ähnliche Risikofaktoren wie das Alter und bestimmte Umwelteinflüsse teilen (Campdelacreu 2014). Wang et al. (2016) vermuteten, dass beide Erkrankungen ebenso genetische Einflüsse teilen könnten (Wang et al. 2016). Daher untersuchten sie die Assoziation einiger Alzheimer-Kandidatengene mit der Parkinson-Krankheit. Zwischen dem für das *BIN1*-Gen untersuchten SNP rs744373, sowie allen anderen untersuchten SNPs der Alzheimer-Gene, bestanden keine signifikanten Zusammenhänge in der untersuchten chinesischen Stichprobe (M. Parkinson Patienten n = 442, gesunde Kontrollen n = 454). Von diesen M. Parkinson Patienten wurden 265 Studienteilnehmer durch neuropsychologische Testverfahren in drei Gruppen eingeteilt: 91 (34,4 %) kognitive durchschnittliche Probanden, bei 75 (28,3 %) Probanden wurde ein MCI diagnostiziert und 99 (37,4 %) litten an einer Demenz bei M. Parkinson. Es bedarf laut der Autoren aufgrund der kleinen Stichprobe weitere Studien, um die Zusammenhänge zwischen den beiden Erkrankungen zu untersuchen (Wang et al. 2016). Eine Assoziationsstudie reicht nicht aus, um einen Zusammenhang auszuschließen. Insbesondere fehlen auch hier funktionelle Studien, um einen Einfluss des *BIN1*-Gens und biologische Mechanismen der Pathogenese der kognitiven Beeinträchtigung zu untersuchen.

Bezüglich eines Mild behavioral impairment (MBI), welches das Auftreten von neuropsychiatrischen Symptomen (vor allem in den Bereichen Verhalten und Persönlichkeit) im höheren Lebensalter beschreibt (Ismail et al. 2015), wurden in einer Studie von Andrews et al. (2018) Assoziationen mit dem besagten SNP des *BIN1*-Gens (rs744373) und anderen Alzheimer-Risikogenen gefunden (Andrews et al. 2018). Bei mit diesem SNP assoziierten Symptomen handelte es sich in der Studie von Andrew et al. (2018) um abnormale Wahrnehmungs- und Denkinhalte. Die Studie wurde in einer Kohorte bestehend aus 1664 Probanden, welche anhand ihrer kognitiven Leistung (kognitiv unauffällige Probanden, kognitive unauffällige Probanden mit Risiko für ein MCI, MCI-Patienten und AD-Patienten) eingeteilt wurden, durchgeführt. An Demenz erkrankte Probanden wurden ausgeschlossen, sodass 1226 Probanden in die Studie eingeschlossen und hinsichtlich des Vorkommens von einem MBI untersucht wurden (Andrews et al. 2018). Das MBI gilt als potenzielle Vorstufe einer Demenz beziehungsweise grundsätzlich für kognitive Einschränkungen (Andrews et al. 2018; Ruthirakuhan et al. 2022). Im Gegensatz dazu stehen Studien, die den Zusammenhang des SNPs mit dem Mild cognitive impairment (MCI) untersuchten. Hier fanden sich zwischen dem genannten SNP des *BIN1*-Gens und der Krankheitsprogression von einem MCI zu einer AD keine Assoziation (Hu et al. 2011a). Eine Assoziation zwischen dem Polymorphismus rs744373 des *BIN1*-Gens und einem MCI konnte in einer Studie mit einer sehr kleinen Stichprobengröße (MCI-Patienten n = 43, Kontrollen n = 125)

Diskussion

ebenfalls nicht bestätigt werden (Zou et al. 2019). Demgegenüber steht eine dritte, sehr kleine, chinesischen Stichprobe von Chen et al. (2018) (MCI-Patienten n = 107, Kontrollen n = 150). Hier bestand zwischen dem SNP rs744373 und einem amnestischen MCI eine Assoziation, was diesen SNP als möglichen Risikofaktor eines amnestischen MCI identifiziert (Chen et al. 2018). Da das MCI als frühe Form der AD gilt, sollten größere Studien den Zusammenhang zwischen den genetischen Varianten und deren Einfluss auf das MCI genauer untersuchen. Durch funktionelle Studien könnten Rückschlüsse auf potenzielle Pathologien der prodromalen Veränderungen und Krankheitsmechanismen im Übergang der Stadien gezogen und gegebenenfalls schon im asymptomatischen Stadium oder im Stadium des MCI diagnostische und therapeutische Interventionen durchgeführt werden (Petersen et al. 2009).

In einem italienischen Screening von Ferrari et al. (2015) zur Identifikation neuer Risikofaktoren für das Krankheitsbild der frontotemporalen Demenz zeigten sich für den SNP rs744373 keine signifikanten Korrelationen. Für diese Studie sind Replikation allerdings noch notwendig (Ferrari et al. 2015). In einer weiteren Studie von Bungenberg et al. (2016) mit an Temporallappenepilepsie erkrankten Patienten wurde das Risikoallel (C) des SNPs rs744373, welcher sich upstream des *BIN1*-Gens befindet, mit einer eingeschränkten Gedächtnisleistung in Verbindung gebracht. Es zeigte sich im Vergleich zum T-Allel zudem eine erhöhte Genexpression (Bungenberg et al. 2016). Diese Forschungsgruppe fand heraus, dass ein spezifischer Transkriptionsrepressor mit geringerer Affinität an das C-Allel des SNPs bindet und so die Promotorregion des *BIN1*-Gens beeinflussen könnte. Trotz vielversprechender Kovarianzen-Analyse müssen diese Forschungsergebnisse noch weiter repliziert und untersucht werden, um die pathologischen Mechanismen dahinter besser zu verstehen, die Erkenntnisse gegebenenfalls auch auf die Pathologie der AD anzuwenden und im gegebenen Fall therapeutische Optionen aus diesen Erkenntnissen zu gewinnen (Bungenberg et al. 2016). Die Temporallappenepilepsie mit der AD zu vergleichen ist dahingehend spannend, da auch diese mit einer reduzierten Gedächtnisleistung und einer Schädigung des Hippocampus assoziiert ist. Die Autoren diskutieren die erhöhte Genexpression als möglichen Mechanismus zur Kompensation der verringerten Gedächtnisfunktion, anstatt dies geradewegs als pathologischen Effekt zu werten (Bungenberg et al. 2016).

Diese Studienergebnisse stimmen in gewisser Weise mit den Ergebnissen von Chapuis et al. (2013) überein, die bereits früh die Interaktion mit der Tau-Pathologie belegten. In umfangreichen Analysen wurde der SNP rs59335482, welcher sich mit dem SNP rs744373 in einem LD befindet und mit einem erhöhten AD-Risiko assoziiert ist, mit der *BIN1* mRNA-Expression assoziiert. Diese Untersuchungen bekräftigen die These, dass einige SNPs die *BIN1*-

Genexpression und möglicherweise auch darüber das AD-Risiko beeinflussen könnten (Chapuis et al. 2013). Der SNP rs12989701, der sich in dieser Dissertation mit dem SNP rs744373 in einem LD befindet, wurde von Hu et al. (2011b) aufgrund seiner Lokalisation in einer konservierten Region *upstream* des *BIN1*-Gens ebenfalls schon in früheren Analysen mit der Genregulation in Verbindung gebracht (Hu et al. 2011b). In der vorliegenden Dissertation wiesen mehrere SNPs, die sich in einem LD mit dem SNP rs744373 befinden und auch in der besagten Genregion liegen, nominal signifikante Assoziationen mit der kognitiven Leistung auf.

5.3 Methodenkritik

Die beiden Stichproben dieser Dissertation wurden in einem mehrstufigen Prozess sorgfältig rekrutiert. Mehrmals wurde geprüft, ob die teilnehmenden Probanden sowie Familienangehörige gesund waren und ob sie unter neuropsychiatrischen Erkrankungen litten. Dazu wurde ein standardisiertes Anamnese- und Erhebungsprinzip mit einheitlichen Abläufen angewandt. Die Ausschlusskriterien, wie neurologische, hirnorganische und psychiatrische Erkrankungen, auch bei Verwandten dritten Grades, die Einnahme von relevanten Medikamenten und fehlende deutsche Abstammung, wurden explizit überprüft und durch die durchgeführten standardisierten Tests und Methoden sorgfältig angewandt.

Da in dieser Screeningstichprobe nicht nur junge Probanden, sondern Probanden bis zu 75 Jahren und einem Altersmittelwert von 48,47 Jahren untersucht wurden, wäre es möglich, dass ältere Probanden bereits AD-Pathologien entwickelten. Bei der Replikationsstichprobe waren die Probanden im Schnitt noch einmal deutlich älter, es zeigte sich ein Altersmittelwert von 68,27 Jahren. Es kann somit nicht ausgeschlossen werden, dass AD-Pathologien in der Screening- und in der Replikationsstichprobe miterfasst wurden. Durch Biomarker oder longitudinale Untersuchungen könnten diese gezielt miterfasst werden.

Die Geschlechtsverteilung in der Screeningstichprobe war ausgeglichen. In der Replikationsstichprobe zeigte sich die Geschlechtsverteilung weniger ausgeglichen (Anteil der Frauen bei 59 %).

In der Screeningstichprobe ist eine ungleiche Verteilung zwischen niedrigem, mittlerem und hohem Bildungsgrad bei den Teilnehmern anzumerken. Teilnehmer der Screeningstichprobe wiesen durchschnittlich einen höheren Bildungsgrad (47 %) auf. In der Replikationsstichprobe zeigte sich ebenfalls eine ungleiche Verteilung. Hier machten Teilnehmer mit einem mittleren Bildungsgrad den größten Anteil aus (49 %). Nur 7 % wiesen in der Replikationsstichprobe einen niedrigen Bildungsgrad auf.

Diskussion

Alter, Geschlecht und Bildungsgrad wurden in beiden Stichproben dieser Dissertation als Kovariablen innerhalb der Regressionsanalyse mit einbezogen. Auf diese Weise konnten die Unterschiede innerhalb der Stichproben berücksichtigt werden.

Die ethnische Abstammung der Population wurde ebenfalls erhoben und auf populationsgenetische Stratifikationseffekte untersucht. Es wurde zum einen nach der Abstammung gefragt, zudem wurde aber auch anhand der Genotypdaten auf einem größeren Sample auf Populationsstratifikation untersucht. Bei dieser Dissertation kann von einer ethnischen Einheitlichkeit in Bezug auf die kaukasische Abstammung ausgegangen werden.

Hinsichtlich des Studiendesigns ist zu betonen, dass es sich um ein exploratives Vorgehen handelte und so in Zukunft Studien mit umfangreicheren Stichprobengrößen notwendig sind, um auch kleinere Effektgrößen zu bestätigen und nachzuweisen.

Sämtliche neuropsychiatrische Testungen und Untersuchungen wurden durch geschulte Mitarbeiter der Studienzentren in standardisierten Verfahren durchgeführt. Es gilt aber zu bedenken, dass die Leistung in kognitiven Testungen auch von der Motivation und Konzentration der Studienprobanden abhängt. Sowohl der TMT A und B, als auch der ZVT verfügen in der Literatur über gute Testgütekriterien: Retest-Reliabilität (TMT A: $r = 0,76 - 0,89$, TMT B: $r = 0,67 - 0,94$, ZVT: $r = 0,97$), Validität sowie vor allem die Objektivität hinsichtlich der Durchführung und Auswertung waren gegeben (Wagner et al. 2011; Salthouse 2011; Oswald und Roth 1987). Anzumerken ist dennoch, dass ZVT und TMT A, welche beide die Verarbeitungsgeschwindigkeit der Studienteilnehmer messen sollten, bei keinem SNP überlappende Assoziationen aufwiesen. Dies könnte auf die Unterschiede zwischen den beiden Tests zurückzuführen sein. Während der ZVT 4 Durchgänge mit 90 Zahlen beinhaltet, müssen im TMT A nur 25 Zahlen verbunden werden. Es liegt nah, dass sich beispielsweise beim ZVT mehr konzentriert werden muss. Aufmerksamkeit, Konzentration und auch die Fähigkeiten des visuellen Suchens und Erkennens beeinflussen die Testergebnisse beider Tests unterschiedlich.

Alle SNPs, die in der Auswertung berücksichtigt wurden, befanden sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Bezüglich dessen besteht auch unter idealen Studienbedingungen bei einer Genotypisierung eine Fehlerrate von ungefähr 1 - 3 % (Hattersley und McCarthy 2005).

Um zu untersuchen, ob die Allelfrequenz der Screeningstichprobe der europäischen entspricht und somit die europäische Gesellschaft annäherungsweise repräsentieren kann, wurde sie in Tabelle 14 mit den europäischen Daten des 1000Genomes Projects und der genomAD (genome aggregation database) verglichen. Bei der genomAD handelt es sich um einen internationalen

Diskussion

Zusammenschluss von Forschungsgruppen, die umfangreiche Genomsequenzierungen durchführen und öffentlich zugänglich machen (Karczewski et al. 2019). Das 1000Genomes Project verfolgt ein ähnliches Ziel wie die Initiatoren der genomAD. Es wurden Sequenzierungen des gesamten menschlichen Genoms beim 1000Genomes Project an 2504 Probanden und bei der genomAD an 141456 Probanden vorgenommen. Dadurch wurde es möglich, die weltweite Verteilung genetischer Varianten untersuchen zu können und deren Auswirkungen zu studieren. Die Daten sind gleichsam der Öffentlichkeit zugänglich (Auton et al. 2015). Bei der Erstellung beider Datenbanken wurden strenge Qualitätskriterien eingehalten. Die Imputation des Datensatzes dieser Dissertation wurde mithilfe des 1000Genomes Referenzpanels (Phase 1, Version 3) durchgeführt. Wie in Tabelle 14 abgebildet, zeigten sich weitgehende Übereinstimmungen der Allelfrequenzen der beiden Datenbanken (1000Genomes Project, genomAD) mit denen der Referenzallele der Index-SNPs der Screeningstichprobe. Beispielsweise bestehen bei SNP rs148399066 nur geringe Differenzen (0,18 % zum 1000Genomes Project, 0,33 % zur genomAD) zwischen den Frequenzen der Daten, was die Qualität der Genotypisierung dieser Arbeit bekräftigt.

Tabelle 14: Vergleich der Allelfrequenzen

Index-SNP	A1	FRQ	FRQ 1000G project Europe	FRQ genomAD European
rs68164523	A	0,150	0,169	0,172
rs148399066	C	0,986	0,988	0,990
rs142568045	C	0,031	0,051	0,034
rs113401490	T	0,071	0,081	0,077
rs185245908	T	0,959	0,962	0,961
rs149761241	A	0,024	0,037	0,025
rs111954920	T	0,989	0,990	0,981
rs11680911	A	0,674	0,683	0,666

Abkürzungen: A1: Referenzallel, FRQ: Allelfrequenz, 1000G: 1000Genomes, genomAD: genome aggregation database

Weiterhin lässt sich kritisieren, dass durch das willkürlich festgesetzte Signifikanzniveau von $p < 0,05$ potenziell relevante SNPs keine signifikanten Ergebnisse erzielten, obwohl Assoziationen mit den Leistungen in den kognitiven Testungen bestanden. So ergeben sich potentielle falsch-negative Ergebnisse.

Auf eine Korrektur für multiples Testen wurde hier zugunsten der Durchführung eines Replikationsversuchs in einer unabhängigen Stichprobe verzichtet. Die Verwendung einer Bonferroni-Korrektur ist, da einerseits die verschiedenen angewandten kognitiven Testungen miteinander korrelieren (Corrigan und Hinkeldey 1987) und andererseits auch die Genotypverteilung der SNPs aufgrund des LD abhängig voneinander sind, häufig zu konservativ für diese Art von Studie. Werden nur die 26 Index-SNPs in der Screeningstichprobe betrachtet, die per Definition mit $r^2 < 1$ als unabhängig voneinander gelten können, kann eine Bonferroni-Korrektur zumindest für die Anzahl der SNPs als sinnvoll erachtet werden. Hier blieben 2 SNPs noch nahezu signifikant. Aufgrund der Korrelation zwischen den Tests (Corrigan und Hinkeldey 1987) wurden diese in dieser Rechnung nicht mit einberechnet. Dieses Verfahren würde die Wahrscheinlichkeit für falsch-negative Ergebnisse erhöhen, was im Rahmen dieser explorativen Studie nicht zielführend wäre. Alternativ könnten die Holm-Bonferroni-Korrektur oder die Benjamini-Hochberg-Prozedur angewendet werden, welche ein weniger konservatives Alphaniveau verfolgen und mit weniger strikten Fehlerkriterien arbeiten (Victor et al. 2010). In

Diskussion

der hier vorliegenden Dissertation wurde stattdessen, um die Ergebnisse der Screeningstichprobe zu replizieren eine Replikationsstichprobe eingebunden. Die Proxy-SNPs der Replikationsstichprobe wiesen dabei eine hohe Abhängigkeit zu den Index-SNPs der Screeningstichprobe auf (4 von 6 SNPs $D_{prime} = 1$). So wurde eine gute Vergleichbarkeit der Stichproben untereinander ermöglicht, da auf Basis des hohen LDs vom Vorliegen der Allele des Proxy-SNPs auf die des Screening-SNPs geschlossen werden kann.

Es handelt sich bei der vorliegenden Arbeit um eine Kandidatengenstudie. Weitere Replikationsstudien sind nötig um die untersuchten Assoziationen zu bestätigen und weitere Assoziation zu finden. Auch bleibt der genaue Zusammenhang zwischen der Funktion des Gens und den kognitiven Fähigkeiten unklar, sodass noch umfangreiche molekularbiologische Untersuchungen notwendig sind, um die kausalen Zusammenhänge nachvollziehen zu können.

5.4 Ausblick

Die aktuelle Studienlage reicht nicht aus, um die pathologischen Prozesse, die hinter dem Rückgang der kognitiven Leistung oder gar einer Alzheimer-Demenz im Alter stehen, ausreichend erklären zu können. Mittlerweile sind zwar viele Zusammenhänge zwischen umweltbedingten und genetischen Risikofaktoren mit unterschiedlichen Alzheimer-Pathologien und Defiziten in verschiedenen kognitiven Bereichen bekannt, jedoch können bisher über die bedingenden Mechanismen derer bisher keine ausreichenden Erklärungen getroffen werden. Gerade bei der LOAD, die durch die alternde Bevölkerung in den nächsten Jahren noch mehr an Bedeutung gewinnen wird, ist es wichtig, grundlegende Erkrankungsmechanismen besser zu verstehen, um vor allem auch effizientere Therapiemethoden und spezifische Diagnostik entwickeln zu können. *BIN1* scheint durch seine vielfältigen Wechselwirkungen ein mögliches Ziel sein zu können. Es bestehen neue Therapieansätze, die auf verschiedenen Ebenen der Alzheimer-Entwicklung, des -Verlaufes oder der -Symptomatik eingreifen (Boche und Nicoll 2020). Beachtet werden sollte in Bezug auf *BIN1* die Interaktion mit der Tau-Pathologie. Nicht zu vernachlässigen sind ebenfalls die immunregulatorischen Effekte auf IDO1, die Beteiligung bei Apoptose und Endozytose, die Beeinflussung des Calcium-Stoffwechsels und möglicherweise eine Reduktion der A β -Ablagerungen (Tan et al. 2013). Die *BIN1*-Proteine könnten ebenfalls Zielpunkte für neue AD-Arzneimittel sein. Gleichsam vielversprechende Ziele sind Veränderungen in der Immunreaktion und in der Reduktion der Neuroinflammation (Zhang et al. 2016). Aussichtsreich könnten im weiteren Verlauf die Analysen der *BIN1*-Generegulation und –Genexpression mit besonderem Fokus auf den *upstream* liegenden Risikovarianten sein, welche in den vorherigen Kapiteln beschrieben wurden und sowohl mit der LOAD als auch in unter anderem dieser Arbeit mit der kognitiven Domänen Assoziationen vorwiesen.

Diskussion

In der letzten Zeit verfolgen immer mehr Forschungsgruppen auch einen Therapieansatz über epigenetische Genregulationen. Da es sich bei der AD um eine multifaktorielle Erkrankung handelt, wäre eine Therapiestrategie sinnvoll, die gleichzeitig mehrere Zielpunkte in der AD Pathogenese beeinflussen kann. Volmar et al. (2017) verfolgten dabei den Ansatz über den niedermolekularen Histon-Deacetylase-Inhibitor M344 gleich mehrere AD-Pathologien zu beeinflussen, darunter die Tau-Phosphorylierung, die A β -Pathogenese und die *APOE* ϵ 4-Genexpression. Ebenso wird die Expression einiger Alzheimer-Risikogene verändert reguliert, unter anderem auch die des *BIN1*-Gens. Im Mausmodell zeigte sich durch die Beteiligung von M344 ein verringerter kognitiver Abfall (Volmar et al. 2017). Auch in der Pathologie verschiedener Krebserkrankung wurde ein Zusammenhang mit der epigenetischen Methylierung des CpG-Bereichs in der Genpromoterregion des *BIN1*-Gens diskutiert (Kuznetsova et al. 2007; Tan et al. 2013). Die untersuchten Ansätze könnten in der nächsten Zeit weitere entscheidende Fortschritte in Richtung einer möglichen Therapievariante der AD erzielen. Es müssen sowohl präventive, den Progress verlangsamende oder möglicherweise auch heilbare Verfahren bedacht und erforscht werden.

Bezüglich der Frage, ob die Assoziationen der *BIN1*-Genvarianten auf die Beeinflussung eines kognitiven Phänotyps oder durch einen Einfluss auf eine prodromale AD hervorgerufen werden, kann noch keine finale Aussage getroffen werden. Beachtet werden muss in diesem Zusammenhang auch, dass pathologische, mit AD und kognitiver Leistungsminderung assoziierte, Prozesse schon Jahre vor der Manifestation einer AD im Gehirn nachgewiesen werden können. Es sollte berücksichtigt werden, dass Biomarker in der präsymptomatischen Krankheitsphase von großer Wichtigkeit für therapeutische Interventionsmöglichkeiten sind, um möglicherweise schon frühzeitig neurodegenerative Prozesse beeinflussen zu können (Preische et al. 2019b). Ebenso wie bei der Arzneimittelforschung, ist es wichtig, die Prozesse der AD besser zu verstehen, um mögliche Biomarker überhaupt in Betracht ziehen zu können, in weiteren Studien zu untersuchen und zu bestätigen. Demnach sind nun vor allem funktionelle Studien nötig, um die Zusammenhänge zwischen der durch die Meta-Analysen und GWAS gewonnene, umfangreiche Datenmenge und der AD-Ätiologie sowie der Pathogenese des kognitiven Rückgangs erklären zu können. Dahingehend ist zu erwähnen, dass umfangreichere Follow-up Studien, die eine große Anzahl an Probanden enthalten, welche über einen längeren Zeitraum untersucht werden, nötig sind, um die Interaktionen zwischen dem *BIN1*-Gen und kognitivem Leistungsabfall besser verstehen zu können. Ein longitudinales Vorgehen ist auch in Hinblick auf die Untersuchung der bisher bekannten AD-typischen Ablagerungen und der neueren, assoziierten molekularen sowie zellulären Mechanismen wichtig, um eine präzisere

Diskussion

Frühdiagnostik und Therapie in Zukunft gewährleisten zu können. Es wäre denkbar, eine Kombination aus genetischen, neuropsychologischen und bildgebenden Verfahren zu nutzen, um asymptotische Menschen vor der Manifestation einer LOAD zu identifizieren (Wishart et al. 2006; Zhang et al. 2015). Wichtig ist, dass mögliche biochemische Biomarker vor allem hinsichtlich ihrer Validität genau überprüft werden, um sicher zu stellen, dass die Korrelation mit der Diagnose einer AD besteht. Diese explizierte Erwähnung ist begründet durch die oben beschriebene Diskrepanz zwischen im Gehirn von gesunden Menschen befindlichen neurodegenerativen Ablagerungen und dem Auftreten von kognitiven Einschränkungen wie sie bei einer AD vorkommen in Abgrenzung zu einem kognitiven Phänotyp ohne Ausbruch einer AD. Gegebenenfalls müssen neuropsychologische Testungen zu Rate und zur Unterstützung herangezogen werden. Inwieweit eine frühere Diagnostik noch vor dem Ausbruch von AD-Symptomen zielführend ist, hängt zum Beispiel von bisher nicht ausreichenden Präventions- und Therapiemaßnahmen ab, was wiederum den hohen Stellenwert der funktionellen Studien unterstreicht.

Literaturverzeichnis

Ackenheil, M., Stotz, G., Dietz-Bauer, R. & Vossen, A. (1999). Mini International Neuropsychiatric Interview. German version 5.0.0. München: Psychiatrische Universitätsklinik München.

Adams SL, Tilton K, Kozubek JA, Seshadri S, Delalle I (2016) Subcellular Changes in Bridging Integrator 1 Protein Expression in the Cerebral Cortex During the Progression of Alzheimer Disease Pathology. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 75:779–790. doi:10.1093/jnen/nlw056

Allen G, Barnard H, McColl R, Hester AL, Fields JA, Weiner MF, Ringe WK, Lipton AM, Brooker M, McDonald E, Rubin CD, Cullum CM (2007) Reduced hippocampal functional connectivity in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 64:1482–1487. doi:10.1001/archneur.64.10.1482

Andrew RJ, De Rossi P, Nguyen P, Kowalski HR, Recupero AJ, Guerbette T, Krause SV, Rice RC, Laury-Kleintop L, Wagner SL, Thinakaran G (2019) Reduction of the expression of the late-onset Alzheimer's disease (AD) risk-factor BIN1 does not affect amyloid pathology in an AD mouse model. *The Journal of Biological Chemistry* 294:4477–4487. doi:10.1074/jbc.RA118.006379

Andrews SJ, Ismail Z, Anstey KJ, Mortby M (2018) Association of Alzheimer's genetic loci with mild behavioral impairment. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 177:727–735. doi:10.1002/ajmg.b.32684

Anstey KJ, Lipnicki DM, Low L-F (2008) Cholesterol as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: A Systematic Review of Prospective Studies With Meta-Analysis. *The American Journal of Geriatric Psychiatry* 16:343–354. doi:10.1097/01.JGP.0000310778.20870.ae

Antonell A, Lladó A, Sánchez-Valle R, Sanfeliu C, Casserras T, Rami L, Muñoz-García C, Dangla-Valls A, Balasa M, Boya P, Kalko SG, Molinuevo JL (2016) Altered Blood Gene Expression of Tumor-Related Genes (PRKCB, BECN1, and CDKN2A) in Alzheimer's Disease. *Molecular neurobiology* 53:5902–5911. doi:10.1007/s12035-015-9483-9

Arnold M, Raffler J, Pfeufer A, Suhre K, Kastenmüller G (2015) SNIIPA: an interactive, genetic variant-centered annotation browser. https://snipa.helmholtz-muenchen.de/snipa3/index.php?task=proxy_search. Zugegriffen: 03. Januar 2022

Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA, Abecasis GR (2015) A global reference for human genetic variation. *Nature* 526:68–74. doi:10.1038/nature15393

Aziz A, Ashraf G, Safiqul Islam M (2022) Link of *BIN1*, *CLU*, and *IDE* Gene Polymorphisms with the Susceptibility of Alzheimer's Disease: Evidence from a Meta-analysis. *Curr Alzheimer Res* 19(4):302-316. doi: 10.2174/1567205019666220511140955

Literaturverzeichnis

- Baron-Cohen S, Murphy L, Chakrabarti B, Craig I, Mallya U, Lakatošová S, Rehnstrom K, Peltonen L, Wheelwright S, Allison C, Fisher SE, Warrier V (2014) A genome wide association study of mathematical ability reveals an association at chromosome 3q29, a locus associated with autism and learning difficulties: a preliminary study. *PloS one* 9:e96374. doi:10.1371/journal.pone.0096374
- Barral S, Bird T, Goate A, Farlow MR, Diaz-Arrastia R, Bennett DA, Graff-Radford N, Boeve BF, Sweet RA, Stern Y, Wilson RS, Foroud T, Ott J, Mayeux R (2012) Genotype patterns at PICALM, CR1, BIN1, CLU, and APOE genes are associated with episodic memory. *Neurology* 78:1464–1471. doi:10.1212/WNL.0b013e3182553c48
- Barral S, Cosentino S, Christensen K, Newman AB, Perls TT, Province MA, Mayeux R, for the Long Life Family Study (2014) Common Genetic Variants on 6q24 Associated With Exceptional Episodic Memory Performance in the Elderly. *JAMA Neurol* 71:1514–1519. doi:10.1001/jamaneurol.2014.1663
- Bassett DS, Sporns O (2017) Network neuroscience. *Nat Neurosci* 20:353–364. doi:10.1038/nn.4502
- Bauer F, Urdaci M, Aigle M, Crouzet M (1993) Alteration of a Yeast SH3 Protein Leads to Conditional Viability with Defects in Cytoskeletal and Budding Patterns. *Molecular and Cellular Biology* 13:5070–5084
- Beeri MS, Ravona-Springer R, Silverman JM, Haroutunian V (2009) The effects of cardiovascular risk factors on cognitive compromise. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 11:201–212
- Behfar Q, Ramirez Zuniga A, Martino-Adami PV (2022) Aging, Senescence, and Dementia. *J Prev Alzheimers Dis.* 9(3):523-531. doi: 10.14283/jpad.2022.42
- Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE et al. (2022) New insights into the genetic etiology of Alzheimer’s disease and related dementias. *Nature genetics* 54:412–436. doi:10.1038/s41588-022-01024-z
- Bento-Torres NVO, Bento-Torres J, Tomás AM, Costa VO, Corrêa PGR, Costa CNM, Jardim NYV, Picanço-Diniz CW (2017) Influence of schooling and age on cognitive performance in healthy older adults. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 50:e5892. doi:10.1590/1414-431X20165892
- Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE (2007) Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nature genetics* 39:17–23. doi:10.1038/ng1934
- Bhattacharyya R, Teves CAF, Long A et al. (2022) The neuronal-specific isoform of BIN1 regulates β -secretase cleavage of APP and A β generation in a RIN3-dependent manner. *Sci Rep* 12, 3486. doi: 10.1038/s41598-022-07372-4
- Bickel H (2000) Demenzsyndrom und Alzheimer Krankheit: Eine Schätzung des Krankenbestandes und der jährlichen Neuerkrankungen in Deutschland. *Gesundheitswesen*

Literaturverzeichnis

(Bundesverband der Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (Germany)) 62:211–218. doi:10.1055/s-2000-10858

Biffi A, Anderson CD, Desikan RS, Sabuncu M, Cortellini L, Schmansky N, Salat D, Rosand J (2010) Genetic variation and neuroimaging measures in Alzheimer disease. *Archives of neurology* 67:677–685. doi:10.1001/archneurol.2010.108

Boche D, Nicoll JAR (2020) Invited Review - Understanding cause and effect in Alzheimer's pathophysiology: Implications for clinical trials. *Neuropathology and applied neurobiology* 46:623–640. doi:10.1111/nan.12642

Böhm J, Vasli N, Maurer M, Cowling BS, Cowling B, Shelton GD, Kress W, Toussaint A, Prokic I, Schara U, Anderson TJ, Weis J, Tired L, Laporte J (2013) Altered splicing of the BIN1 muscle-specific exon in humans and dogs with highly progressive centronuclear myopathy. *PLoS genetics* 9:e1003430. doi:10.1371/journal.pgen.1003430

Bookheimer SY, Strojwas MH, Cohen MS, Saunders AM, Pericak-Vance MA, Mazziotta JC, Small GW (2000) Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *The New England journal of medicine* 343:450–456. doi:10.1056/NEJM200008173430701

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. *Biological psychiatry* 75:386–397. doi:10.1016/j.biopsych.2013.03.033

Brown GR, Hem V, Katz KS, Ovetsky M, Wallin C, Ermolaeva O, Tolstoy I, Tatusova T, Pruitt KD, Maglott DR, Murphy TD (2015) Gene: a gene-centered information resource at NCBI. *Nucleic Acids Res* 43(Database issue):D36–42. doi: 10.1093/nar/gku1055

Bungenberg J, Surano N, Grote A, Surges R, Pernhorst K, Hofmann A, Schoch S, Helmstaedter C, Becker AJ (2016) Gene expression variance in hippocampal tissue of temporal lobe epilepsy patients corresponds to differential memory performance. *Neurobiology of disease* 86:121–130. doi:10.1016/j.nbd.2015.11.011

Busse A, Bischof J, Riedel-Heller SG, Angermeyer MC (2003) Mild cognitive impairment: prevalence and incidence according to different diagnostic criteria; Results of the Leipzig Longitudinal Study of the Aged (LEILA75+). *Br J Psychiatry* 182:449–454. doi:10.1192/bjp.182.5.449

Butler MH, David C, Ochoa G-C, Freyberg Z, Daniell L, Grabs D, Cremona O, Camilli P de (1997) Amphiphysin II (SH3P9; BIN1), a Member of the Amphiphysin/Rvs Family, Is Concentrated in the Cortical Cytomatrix of Axon Initial Segments and Nodes of Ranvier in Brain and around T Tubules in Skeletal Muscle. *J Cell Biol* 137:1355–1367. doi:10.1083/jcb.137.6.1355

Calafate S, Flavin W, Verstreken P, Moechars D (2016) Loss of Bin1 Promotes the Propagation of Tau Pathology. *Cell reports* 17:931–940. doi:10.1016/j.celrep.2016.09.063

Campdelacru J (2014) Parkinson disease and Alzheimer disease: environmental risk factors. *Neurologia (Barcelona, Spain)* 29:541–549, doi:10.1016/j.nrl.2012.04001

Literaturverzeichnis

- Carnevale D, Perrotta M, Lembo G, Trimarco B (2016) Pathophysiological Links Among Hypertension and Alzheimer's Disease. *High blood pressure & cardiovascular prevention : the official journal of the Italian Society of Hypertension* 23:3–7. doi:10.1007/s40292-015-0108-1
- Carrasquillo MM, Belbin O, Hunter TA, Ma L, Bisceglia GD, Zou F, Crook JE, Pankratz VS, Sando SB, Aasly JO, Barcikowska M, Wszolek ZK, Dickson DW, Graff-Radford NR, Petersen RC, Morgan K, Younkin SG (2011) Replication of BIN1 association with Alzheimer's disease and evaluation of genetic interactions. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 24:751–758. doi:10.3233/JAD-2011-101932
- Carter C (2011) Alzheimer's Disease: APP, Gamma Secretase, APOE, CLU, CR1, PICALM, ABCA7, BIN1, CD2AP, CD33, EPHA1, and MS4A2, and Their Relationships with Herpes Simplex, C. Pneumoniae, Other Suspect Pathogens, and the Immune System. *International journal of Alzheimer's disease* 2011:501862. doi:10.4061/2011/501862
- Cassimere EK, Pyndiah S, Sakamuro D (2009) The c-MYC-interacting proapoptotic tumor suppressor BIN1 is a transcriptional target for E2F1 in response to DNA damage. *Cell death and differentiation* 16:1641–1653. doi:10.1038/cdd.2009.98
- Cattell RB (1963) Theory of fluid and crystallized intelligence: A critical experiment. *Journal of Educational Psychology* 54:1–22. doi:10.1037/h0046743
- 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. doi:10.1186/s13742-015-0047-8
- Chang MY, Boulden J, Sutanto-Ward E, DuHadaway JB, Soler AP, Muller AJ, Prendergast GC (2007a) Bin1 ablation in mammary gland delays tissue remodeling and drives cancer progression. *Cancer research* 67:100–107. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2742
- Chang MY, Boulden J, Katz JB, Wang L, Meyer TJ, Soler AP, Muller AJ, Prendergast GC (2007b) Bin1 ablation increases susceptibility to cancer during aging, particularly lung cancer. *Cancer research* 67:7605–7612. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1100
- Chapuis J, Hansmannel F, Gistelinck M et al (2013) Increased expression of BIN1 mediates Alzheimer genetic risk by modulating tau pathology. *Molecular psychiatry* 18:1225–1234. doi:10.1038/mp.2013.1
- Chen J, Xia Y, Gao CL, Wang RX, Lu ZN (2018) Genes polymorphism of BIN1 and ApoE in patients with amnesic mild cognitive impairment from Enshi Tujia area. *Zhonghua yi xue za zhi* 98:1322–1326. doi:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.17.008
- Cicognola C, Brinkmalm G, Wahlgren J, Portelius E, Gobom J, Cullen NC, Hansson O, Parnetti L, Constantinescu R, Wildsmith K, Chen H-H, Beach TG, Lashley T, Zetterberg H, Blennow K, Höglund K (2019) Novel tau fragments in cerebrospinal fluid: relation to tangle pathology and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica* 137:279–296. doi:10.1007/s00401-018-1948-2

Literaturverzeichnis

- Clare L, Wu Y-T, Teale JC, MacLeod C, Matthews F, Brayne C, Woods B (2017) Potentially modifiable lifestyle factors, cognitive reserve, and cognitive function in later life: A cross-sectional study. *PLoS Med* 14:e1002259. doi:10.1371/journal.pmed.1002259
- Coleman JRI, Bryois J, Gaspar HA, Jansen PR, Savage JE, Skene N, Plomin R, Muñoz-Manchado AB, Linnarsson S, Crawford G, Hjerling-Leffler J, Sullivan PF, Posthuma D, Breen G (2019) Biological annotation of genetic loci associated with intelligence in a meta-analysis of 87,740 individuals. *Molecular psychiatry* 24:182–197. doi:10.1038/s41380-018-0040-6
- Corder E, Saunders A, Strittmatter W, Schmechel D, Gaskell P, Small G, Roses A, Haines J, Pericak-Vance M (1993) Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261:921–923. doi:10.1126/science.8346443
- Corrigan JD, Hinkeldey NS (1987) Relationships between Parts A and Part B of the Trail Making Test. *J. Clin. Psychol.* 43:402-409. doi:10.1002/1097-4679(198707)43:4<402
- 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 (2018) Análisis de desempeños cognitivos y polimorfismos en SORL1, PVRL2, CR1, TOMM40, APOE, PICALM, GWAS_14q, CLU y BIN1 en pacientes con trastorno neurocognitivo leve y en sujetos cognitivamente sanos. *Neurologia (Barcelona, Spain)*. doi:10.1016/j.nrl.2018.07.002
- 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(9):681-691. doi: 10.1016/j.nrleng.2018.07.012
- Czuriga-Kovács KR, Czuriga D, Csiba L (2016) Influence of Hypertension, Alone and in Combination with Other Vascular Risk Factors on Cognition. *CNS & neurological disorders drug targets* 15:690–698. doi:10.2174/1871527315666160518122721
- David C, McPherson PS, Mundigl O, Camilli P de (1996) A role of amphiphysin in synaptic vesicle endocytosis suggested by its binding to dynamin in nerve terminals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93:331–335. doi:10.1073/pnas.93.1.331
- Davies G, Harris SE, Reynolds CA et al (2014) A genome-wide association study implicates the APOE locus in nonpathological cognitive ageing. *Mol psychiatry* 19:76–87. doi:10.1038/mp.2012.159.
- Davies G, Marioni RE, Liewald DC, Hill WD, Hagenaars SP, Harris SE, Ritchie SJ, Luciano M, Fawns-Ritchie C, Lyall D, Cullen B, Cox SR, Hayward C, Porteous DJ, Evans J, McIntosh AM, Gallacher J, Craddock N, Pell JP, Smith DJ, Gale CR, Deary IJ (2016) Genome-wide association study of cognitive functions and educational attainment in UK Biobank (N=112 151). *Mol Psychiatry* 21:758–767. doi:10.1038/mp.2016.45

Literaturverzeichnis

Davies G, Lam M, Harris SE et al (2018) Study of 300,486 individuals identifies 148 independent genetic loci influencing general cognitive function. *Nature communications* 9:2098. doi:10.1038/s41467-018-04362-x

De Rossi P, Buggia-Prévot V, Clayton BLL, Vasquez JB, van Sanford C, Andrew RJ, Lesnick R, Botté A, Deyts C, Salem S, Rao E, Rice RC, Parent A, Kar S, Popko B, Pytel P, Estus S, Thinakaran G (2016) Predominant expression of Alzheimer's disease-associated BIN1 in mature oligodendrocytes and localization to white matter tracts. *Molecular neurodegeneration* 11:59. doi:10.1186/s13024-016-0124-1

De Rossi P, Buggia-Prevot V, Andrew RJ, Krause SV, Woo E, Nelson PT, Pytel P, Thinakaran G (2017) BIN1 localization is distinct from Tau tangles in Alzheimer's disease. *Matters* 2017. doi:10.19185/matters.201611000018

De Rossi P, Nomura T, Andrew RJ, Masse NY, Sampathkumar V, Musial TF, Sudwarts A, Recupero AJ, Le Metayer T, Hansen MT, Shim H-N, Krause SV, Freedman DJ, Bindokas VP, Kasthuri N, Nicholson DA, Contractor A, Thinakaran G (2020) Neuronal BIN1 Regulates Presynaptic Neurotransmitter Release and Memory Consolidation. *Cell Rep.* 30(10):3520-3535.e7. doi:10.1016/j.celrep.2020.02.026

Deleneau O, Marchini J, Zagury J-F (2011) A linear complexity phasing method for thousands of genomes. *Nature Methods*:179–181

Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V., Bickel H (2018) Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen; Informationsblatt 1

Diamond A (2013) Executive functions. *Annual review of psychology* 64:135–168. doi:10.1146/annurev-psych-113011-143750

Doblhammer G, Fink A, Fritze T, Günster C (2013) The demography and epidemiology of dementia. *Geriatric Mental Health Care* 1:29–33. doi:10.1016/j.gmh.2013.04.002

Dräger NM, Nachman E, Winterhoff M, Brühmann S, Shah P, Katsinelos T, Boulant S, Teleman AA, Faix J, Jahn TR (2017) Bin1 directly remodels actin dynamics through its BAR domain. *EMBO reports* 18:2051–2066. doi:10.15252/embr.201744137

Drago A, Giegling I, Schäfer 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. *Pharmacogenetics and genomics* 24:314–319. doi:10.1097/FPC.0000000000000052

Dubois B, Hampel H, Feldman HH et al (2016) Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 12:292–323. doi:10.1016/j.jalz.2016.02.002

DuHadaway JB, Sakamuro, Daitoku, Ewert, Donald L., Prendergast GC (2001) Bin1 Mediates Apoptosis by c - Myc in Transformed Primary Cells. *Cancer research*:3151–3156

Literaturverzeichnis

Duke Han S, Nguyen CP, Stricker NH, Nation DA (2017) Detectable Neuropsychological Differences in Early Preclinical Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Neuropsychology review* 27:305–325. doi:10.1007/s11065-017-9345-5

Eising E, Mirza-Schreiber N, Zeeuw EL de et al (2022) Genome-wide association analyses of individual differences in quantitatively assessed reading- and language-related skills in up to 34,000 people. *bioRxiv:2021.11.04.466897*. doi:10.1101/2021.11.04.466897

Elliott K, Sakamuro D, Basu A, Du W, Wunner W, Staller P, Gaubatz S, Zhang H, Prochownik E, Eilers M, Prendergast GC (1999) Bin1 functionally interacts with Myc and inhibits cell proliferation via multiple mechanisms. *Oncogene* 18:3564–3573. doi:10.1038/sj.onc.1202670

Elliott K, Ge K, Du W, Prendergast GC (2000) The c-Myc-interacting adaptor protein Bin1 activates a caspase-independent cell death program. *Oncogene* 19:4669–4684. doi:10.1038/sj.onc.1203681

Ellis JD, Barrios-Rodiles M, Colak R, Irimia M, Kim T, Calarco JA, Wang X, Pan Q, O'Hanlon D, Kim PM, Wrana JL, Blencowe BJ (2012) Tissue-specific alternative splicing remodels protein-protein interaction networks. *Molecular cell* 46:884–892. doi:10.1016/j.molcel.2012.05.037

Evans IEM, Llewellyn DJ, Matthews FE, Woods RT, Brayne C, Clare L (2018) Social isolation, cognitive reserve, and cognition in healthy older people. *PloS one* 13:e0201008. doi:10.1371/journal.pone.0201008

Ferencz B, Laukka EJ, Welmer A-K, Kalpouzos G, Angleman S, Keller L, Graff C, Lövdén M, Bäckman L (2014) The benefits of staying active in old age: physical activity counteracts the negative influence of PICALM, BIN1, and CLU risk alleles on episodic memory functioning. *Psychology and aging* 29:440–449. doi:10.1037/a0035465

Ferrari R, Grassi M, Salvi E et al (2015) A genome-wide screening and SNPs-to-genes approach to identify novel genetic risk factors associated with frontotemporal dementia. *Neurobiology of aging* 36:2904.e13-2904.e26. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2015.06.005

Finckh U (2006) Genetische Faktoren bei Alzheimer Demenz. *Deutsches Arzteblatt international* 103:1010–1016

Franzmeier N, Rubinski A, Neitzel J, Ewers M (2019) The BIN1 rs744373 SNP is associated with increased tau-PET levels and impaired memory. *Nature communications* 10:1766. doi:10.1038/s41467-019-09564-5

Fugier C, Klein AF, Hammer C et al (2011) Misregulated alternative splicing of BIN1 is associated with T tubule alterations and muscle weakness in myotonic dystrophy. *Nature medicine* 17:720–725. doi:10.1038/nm.2374

Galfalvy H, Haghighi F, Hodgkinson C, Goldman D, Oquendo MA, Burke A, Huang Y-Y, Giegling I, Rujescu D, Bureau A, Turecki G, Mann JJ (2015) A genome-wide association study of suicidal behavior. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 168:557–563. doi:10.1002/ajmg.b.32330

Literaturverzeichnis

- Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, Fiske A, Pedersen NL (2006) Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Archives of general psychiatry* 63:168–174. doi:10.1001/archpsyc.63.2.168
- Gao P, Ye L, Cheng H, Li H (2021) The Mechanistic Role of Bridging Integrator 1 (*BIN1*) in Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol* 41(7): 1431–1440. doi:10.1007/s10571-020-00926-y
- Ge K, DuHadaway J, Du W, Herlyn M, Rodeck U, Prendergast GC (1999) Mechanism for elimination of a tumor suppressor: Aberrant splicing of a brain-specific exon causes loss of function of Bin1 in melanoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96:9689–9694. doi:10.1073/pnas.96.17.9689
- Ge K, Minhas F, Duhadaway J, Mao N-C, Wilson D, Buccafusca R, Sakamuro D, Nelson P, Malkowicz SB, Tomaszewski J, Prendergast GC (2000a) Loss of heterozygosity and tumor suppressor activity of Bin1 in prostate carcinoma. *Int. J. Cancer* 86:155–161. doi:10.1002/(SICI)1097-0215(20000415)86:2<155::AID-IJC2>3.0.CO;2-M
- Ge K, DuHadaway JB, Sakamuro D, Wechsler-Reya R, Reynolds C, Prendergast GC (2000b) Losses of the tumor suppressor BIN1 in breast carcinoma are frequent and reflect deficits in programmed cell death capacity. *Journal International du Cancer* 85:376–383. doi:10.1002/(SICI)1097-0215(20000201)85:3<376::AID-IJC14>3.3.CO;2-T
- Ghaneie A, Zemba-Palca V, Itoh H, Itoh K, Sakamuro D, Nakamura S, Peralta Soler A, Prendergast GC (2007) Bin1 attenuation in breast cancer is correlated to nodal metastasis and reduced survival. *Cancer Biology & Therapy* 6:192–194. doi:10.4161/cbt.6.2.3587
- Glennon EB, Lau DH-W, Gabriele RMC, Taylor MF, Troakes C, Opie-Martin S, Elliott C, Killick R, Hanger DP, Perez-Nievas BG, Noble W (2020) Bridging Integrator-1 protein loss in Alzheimer's disease promotes synaptic tau accumulation and disrupts tau release. *Brain communications* 2. doi:10.1093/braincomms/fcaa011
- Glennon EBC, Whitehouse IJ, Miners JS, Kehoe PG, Love S, Kellett KAB, Hooper NM (2013) BIN1 is decreased in sporadic but not familial Alzheimer's disease or in aging. *PLoS one* 8:e78806. doi:10.1371/journal.pone.0078806
- Gold ES, Simmons RM, Petersen TW, Campbell LA, Kuo C-C, Aderem A (2004) Amphiphysin II is required for survival of *Chlamydia pneumoniae* in macrophages. *The Journal of experimental medicine* 200:581–586. doi:10.1084/jem.20040546
- Greenbaum L, Ravona-Springer R, Lubitz I, Schmeidler J, Cooper I, Sano M, Silverman JM, Heymann A, Beeri MS (2016) Potential contribution of the Alzheimer's disease risk locus BIN1 to episodic memory performance in cognitively normal Type 2 diabetes elderly. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 26:787–795. doi:10.1016/j.euroneuro.2015.11.004
- Grelle G, Kostka S, Otto A, Kersten B, Genser KF, Müller E-C, Wälter S, Böddrich A, Stelzl U, Hänig C, Volkmer-Engert R, Landgraf C, Alberti S, Höhfeld J, Strödicke M, Wanker EE (2006) Identification of VCP/ p97, Carboxyl Terminus of Hsp70 - interacting Protein (CHIP), and

Literaturverzeichnis

- Amphiphysin II Interaction Partners Using Membrane- based Human Proteome Arrays. *Molecular and Cellular Proteomics* 5:234–244
- Groth-Marnat G (2003) *Handbook of psychological assessment*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ
- Grotzinger AD, La Fuente J de, Davies G, Nivard MG, Tucker-Drob EM (2022) Transcriptome-wide and stratified genomic structural equation modeling identify neurobiological pathways shared across diverse cognitive traits. *Nat Commun* 13:1–15. doi:10.1038/s41467-022-33724-9
- Guillemin GJ, Brew BJ, Noonan CE, Takikawa O, Cullen KM (2005) Indoleamine 2,3 dioxygenase and quinolinic acid immunoreactivity in Alzheimer's disease hippocampus. *Neuropathology and applied neurobiology* 31:395–404. doi:10.1111/j.1365-2990.2005.00655.x
- Guimas Almeida C, Sadat Mirfakhar F, Perdigão C, Burrinha T (2018) Impact of late-onset Alzheimer's genetic risk factors on beta-amyloid endocytic production. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 75:2577–2589. doi:10.1007/s00018-018-2825-9
- Guo L-H, Alexopoulos P, Eisele T, Wagenpfeil S, Kurz A, Pernecky R (2013) The National Institute on Aging-Alzheimer's Association research criteria for mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: predicting the outcome. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 263:325–333. doi:10.1007/s00406-012-0349-0
- Hagenaars SP, Cox SR, Hill WD, Davies G, Liewald DCM, Harris SE, McIntosh AM, Gale CR, Deary IJ (2018) Genetic contributions to Trail Making Test performance in UK Biobank. *Mol Psychiatry* 23:1575–1583. doi:10.1038/mp.2017.189
- Hampel H, Mesulam M-M, Cuello AC, Farlow MR, Giacobini E, Grossberg GT, Khachaturian AS, Vergallo A, Cavedo E, Snyder PJ, Khachaturian ZS (2018) The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain : a journal of neurology* 141:1917–1933. doi:10.1093/brain/awy132
- Harada CN, Natelson Love MC, Triebel KL (2013) Normal cognitive aging. *Clinics in geriatric medicine* 29:737–752. doi:10.1016/j.cger.2013.07.002
- Hardy JA, Higgins GA (1992) Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256:184–185. doi:10.1126/science.1566067
- Harold D, Abraham R, Hollingworth P et al (2009) Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nature genetics* 41:1088–1093. doi:10.1038/ng.440
- Hattersley AT, McCarthy MI (2005) What makes a good genetic association study? *The Lancet* 366:1315–1323. doi:10.1016/S0140-6736(05)67531-9
- Hill WD, Marioni RE, Maghzian O, Ritchie SJ, Hagenaars SP, McIntosh AM, Gale CR, Davies G, Deary IJ (2019) A combined analysis of genetically correlated traits identifies 187 loci and a role for neurogenesis and myelination in intelligence. *Molecular psychiatry* 24:169–181. doi:10.1038/s41380-017-0001-5

Literaturverzeichnis

- Hogarty MD, Liu X, Thompson PM, White PS, Sulman EP, Maris JM, Brodeur GM (2000) BIN1 inhibits colony formation and induces apoptosis in neuroblastoma cell lines with MYCN amplification. *Med. Pediatr. Oncol.* 35:559–562. doi:10.1002/1096-911X(20001201)35:6<559::AID-MPO14>3.0.CO;2-J
- Holler CJ, Davis PR, Beckett TL, Platt TL, Webb RL, Head E, Murphy MP (2014) Bridging integrator 1 (BIN1) protein expression increases in the Alzheimer's disease brain and correlates with neurofibrillary tangle pathology. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 42:1221–1227. doi:10.3233/JAD-132450
- 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. *Nature genetics* 43:429–435. doi:10.1038/ng.803
- Holtzman DM, John CM, Goate A (2011) Alzheimer's Disease: The Challenge of the Second Century. *Science translational medicine* 3:77sr1. doi:10.1126/scitranslmed.3002369
- Hong T-T, Smyth JW, Gao D, Chu KY, Vogan JM, Fong TS, Jensen BC, Colecraft HM, Shaw RM (2010) BIN1 localizes the L-type calcium channel to cardiac T-tubules. *PLoS biology* 8:e1000312. doi:10.1371/journal.pbio.1000312
- Howie B, Marchini J, Stephens M (2011) Genotype imputation with thousands of genomes. *G3 (Bethesda, Md.)* 1:457–470. doi:10.1534/g3.111.001198
- Hu X, Pickering EH, Hall SK, Naik S, Liu YC, Soares H, Katz E, Paciga SA, Liu W, Aisen PS, Bales KR, Samad TA, John SL (2011a) Genome-wide association study identifies multiple novel loci associated with disease progression in subjects with mild cognitive impairment. *Translational psychiatry* 1:e54. doi:10.1038/tp.2011.50
- Hu X, Pickering E, Liu YC, Hall S, Fournier H, Katz E, Dechairo B, John S, van Eerdewegh P, Soares H (2011b) Meta-analysis for genome-wide association study identifies multiple variants at the BIN1 locus associated with late-onset Alzheimer's disease. *PloS one* 6:e16616. doi:10.1371/journal.pone.0016616
- Huggett SB, Ikeda AS, McGeary JE, Kaun KR, Palmer RHC (2022) Opioid Use Disorder and Alternative mRNA Splicing in Reward Circuitry. *Genes (Basel)* 13(6):1045. doi:10.3390/genes13061045
- Hyman BT, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Carrillo MC, Dickson DW, Duyckaerts C, Frosch MP, Masliah E, Mirra SS, Nelson PT, Schneider JA, Thal DR, Thies B, Trojanowski JQ, Vinters HV, Montine TJ (2012) National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 8:1–13. doi:10.1016/j.jalz.2011.10.007
- Ibrahim-Verbaas CA, Bressler J, Debette S et al. (2016) GWAS for executive function and processing speed suggests involvement of the CADM2 gene. *Molecular psychiatry* 21:189–197. doi:10.1038/mp.2015.37

Literaturverzeichnis

- Ising M, Mather KA, Zimmermann P, Brückl T, Höhne N, Heck A, Schenk LA, Rujescu D, Armstrong NJ, Sachdev PS, Reppermund S (2014) Genetic effects on information processing speed are moderated by age--converging results from three samples. *Genes, brain, and behavior* 13:501–507. doi:10.1111/gbb.12132
- Ismail Z, Smith EE, Geda Y, Sultzer D, Brodaty H, Smith G, Agüera-Ortiz L, Sweet R, Miller D, Lyketsos CG (2015) Neuropsychiatric Symptoms Professional Interest Area. Neuropsychiatric symptoms as early manifestations of emergent dementia: Provisional diagnostic criteria for mild behavioral impairment. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association* 12(2):195-202. doi: 10.1016/j.jalz.2015.05.017
- Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner MW, Petersen RC, Trojanowski JQ (2010) Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology* 9:119–128. doi:10.1016/S1474-4422(09)70299-6
- Jansen IE, van der Lee SJ, Gomez-Fonseca D et al. (2022) Genome-wide meta-analysis for Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarkers. *Acta Neuropathol.* 144(5):821-842. doi:10.1007/s00401-022-02454-z
- Johnson ECB, Dammer EB, Duong DM, Yin L, Thambisetty M, Troncoso JC, Lah JJ, Levey AI, Seyfried NT (2018) Deep proteomic network analysis of Alzheimer's disease brain reveals alterations in RNA binding proteins and RNA splicing associated with disease. *Molecular neurodegeneration* 13:52. doi:10.1186/s13024-018-0282-4
- Jones L, Holmans PA, Hamshere ML et al. (2010) Genetic evidence implicates the immune system and cholesterol metabolism in the aetiology of Alzheimer's disease. *PLoS one* 5:e13950. doi:10.1371/journal.pone.0013950
- Kamboh MI, Demirci FY, Wang X, Minster RL, Carrasquillo MM, Pankratz VS, Younkin SG, Saykin AJ, Jun G, Baldwin C, Logue MW, Buross J, Farrer L, Pericak-Vance MA, Haines JL, Sweet RA, Ganguli M, Feingold E, Dekosky ST, Lopez OL, Barnada MM (2012) Genome-wide association study of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry* 2:e117. doi:10.1038/tp.2012.45
- Kanai R, Rees G (2011) The structural basis of inter-individual differences in human behaviour and cognition. *Nature reviews. Neuroscience* 12:231–242. doi:10.1038/nrn3000
- Karch CM, Jeng AT, Nowotny P, Cady J, Cruchaga C, Goate AM (2012) Expression of novel Alzheimer's disease risk genes in control and Alzheimer's disease brains. *PLoS one* 7:e50976. doi:10.1371/journal.pone.0050976
- Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G et al. (2019) Variation across 141,456 human exomes and genomes reveals the spectrum of loss-of-function intolerance across human protein-coding genes. *bioRxiv* 42. doi:10.1101/531210
- Kessler J, Folstein SE, Denzler P (1990) MMST Mini- Mental- Status- Test; Deutschsprachige Fassung. Beltz, Weinheim
- Khadilkar SV, Patil VA (2019) Sex Hormones and Cognition: Where Do We Stand? *Journal of obstetrics and gynaecology of India* 69:303–312. doi:10.1007/s13224-019-01223-5

Literaturverzeichnis

Knol MJ, Cremers LGM, Heshmatollah A, Ikram MK, Uitterlinden AG, van Duijn CM, Niessen WJ, Vernooij MW, Ikram MA, Adams HHH (2018) GENETIC VARIATION UNDERLYING COGNITION AND ITS RELATION WITH NEUROLOGICAL OUTCOMES. *Alzheimer's & Dementia* 14:P1652-P1653. doi:10.1016/j.jalz.2018.06.3017

Knowles EEM, Mathias SR, Mollon J, Rodrigue A, Koenis MMG, Dyer TD, Goring HHH, Curran JE, Olvera RL, Duggirala R, Almasy L, Blangero J, Glahn DC (2019) A QTL on chromosome 3q23 influences processing speed in humans. *Genes, brain, and behavior* 18:e12530. doi:10.1111/gbb.12530

Kojima C, Hashimoto A, Yabuta I, Hirose M, Hashimoto S, Kanaho Y, Sumimoto H, Ikegami T, Sabe H (2004) Regulation of Bin1 SH3 domain binding by phosphoinositides. *The EMBO journal* 23:4413–4422. doi:10.1038/sj.emboj.7600442

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. *Nature genetics* 51:414–430. doi:10.1038/s41588-019-0358-2

Kuznetsova KA, Maniega SM, Ritchie SJ, Cox SR, Storkey AJ, Starr JM, Wardlaw JM, Deary IJ, Bastin ME (2016) Brain white matter structure and information processing speed in healthy older age. *Brain structure & function* 221:3223–3235. doi:10.1007/s00429-015-1097-5

Kuznetsova EB, Kekeeva TV, Larin SS, Zemlyakova VV, Khomyakova AV, Babenko OV, Nemtsova MV, Zaletayev DV, Strelnikov VV (2007) Methylation of the BIN1 gene promoter CpG island associated with breast and prostate cancer. *Journal of carcinogenesis* 6:9. doi:10.1186/1477-3163-6-9

La Mata A de, Tajada S, O'Dwyer S, Matsumoto C, Dixon RE, Hariharan N, Moreno CM, Santana LF (2019) BIN1 Induces the Formation of T-Tubules and Adult-Like Ca²⁺ Release Units in Developing Cardiomyocytes. *Stem cells (Dayton, Ohio)* 37:54–64. doi:10.1002/stem.2927

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. *Nature genetics* 45:1452–1458. doi:10.1038/ng.2802

Lee E, Marcucci M, Daniell L, Pypaert M, Weisz OA, Ochoa G-C, Farsad K, Wenk MR, Camilli P de (2002) Amphiphysin 2 (BIN1) and T-Tubule Biogenesis in Muscle. *Science (New York, N.Y.)* 297:1193–1196. doi:10.1126/science.1073031

Lee JH, Cheng R, Barral S, Reitz C, Medrano M, Lantigua R, Jiménez-Velazquez IZ, Rogaeva E, St George-Hyslop PH, Mayeux R (2011) Identification of novel loci for Alzheimer disease and replication of CLU, PICALM, and BIN1 in Caribbean Hispanic individuals. *Archives of neurology* 68:320–328. doi:10.1001/archneurol.2010.292

Lee JJ, Wedow R, Okbay A et al. (2018) Gene discovery and polygenic prediction from a genome-wide association study of educational attainment in 1.1 million individuals. *Nature genetics* 50:1112–1121. doi:10.1038/s41588-018-0147-3

Literaturverzeichnis

Lee T, Mosing MA, Henry JD, Trollor JN, Lammel A, Ames D, Martin NG, Wright MJ, Sachdev PS (2012a) Genetic Influences on Five Measures of Processing Speed and Their Covariation with General Cognitive Ability in the Elderly: The Older Australian Twins Study. *Behav Genet* 42:96–106. doi:10.1007/s10519-011-9474-1

Lee T, Mosing MA, Henry JD, Trollor JN, Ames D, Martin NG, Wright MJ, Sachdev PS (2012b) Genetic influences on four measures of executive functions and their covariation with general cognitive ability: the Older Australian Twins Study. *Behav Genet* 42:528–538. doi:10.1007/s10519-012-9526-1

Lencz T, Knowles E, Davies G et al. (2014) Molecular genetic evidence for overlap between general cognitive ability and risk for schizophrenia: a report from the Cognitive Genomics consortium (COGENT). *Molecular psychiatry* 19:168–174. doi:10.1038/mp.2013.166

Leprince C, Romero F, Cussac D, Vayssiere B, Berger R, Tavitian A, Camonis JH (1997) A New Member of the Amphiphysin Family Connecting Endocytosis and Signal Transduction Pathways. *J. Biol. Chem.* 272:15101–15105. doi:10.1074/jbc.272.24.15101

Lessov-Schlaggar CN, Swan GE, Reed T, Wolf PA, Carmelli D (2007) Longitudinal genetic analysis of executive function in elderly men. *Neurobiology of aging* 28:1759–1768. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2006.07.018

Lin C-H, Lin E, Lane H-Y (2017) Genetic Biomarkers on Age-Related Cognitive Decline. *Frontiers in psychiatry* 8:247. doi:10.3389/fpsy.2017.00247

Lo M-T, Kauppi K, Fan C-C, Sanyal N, Reas ET, Sundar VS, Lee W-C, Desikan RS, McEvoy LK, Chen C-H (2019) Identification of genetic heterogeneity of Alzheimer's disease across age. *Neurobiology of aging*. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2019.02.022

Luciano M, Hansell NK, Lahti J, Davies G, Medland SE, Rääkkönen K, Tenesa A, Widen E, McGhee KA, Palotie A, Liewald D, Porteous DJ, Starr JM, Montgomery GW, Martin NG, Eriksson JG, Wright MJ, Deary IJ (2011) Whole genome association scan for genetic polymorphisms influencing information processing speed. *Biological psychology* 86:193–202. doi:10.1016/j.biopsycho.2010.11.008

Mahley RW, Rall SC (2000) Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annual review of genomics and human genetics* 1:507–537. doi:10.1146/annurev.genom.1.1.507

Malki I, Cantrelle F-X, Sottejeau Y, Lippens G, Lambert J-C, Landrieu I (2017) Regulation of the interaction between the neuronal BIN1 isoform 1 and Tau proteins - role of the SH3 domain. *The FEBS journal* 284:3218–3229. doi:10.1111/febs.14185

Marees AT, Kluiver H de, Stringer S, Vorspan F, Curis E, Marie-Claire C, Derks EM (2018) A tutorial on conducting genome-wide association studies: Quality control and statistical analysis. *International journal of methods in psychiatric research* 27:e1608. doi:10.1002/mpr.1608

Literaturverzeichnis

- Marks B, McMahon HT (1998) Calcium triggers calcineurin-dependent synaptic vesicle recycling in mammalian nerve terminals. *Current Biology* 8:740–749. doi:10.1016/S0960-9822(98)70297-0
- Masoodi TA, Al Shammari SA, Al-Muammar MN, Alhamdan AA, Talluri VR (2013) Exploration of deleterious single nucleotide polymorphisms in late-onset Alzheimer disease susceptibility genes. *Gene* 512:429–437. doi:10.1016/j.gene.2012.08.026
- McGuinness B, Barrett SL, Craig D, Lawson J, Passmore AP (2010) Attention deficits in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 81:157–159. doi:10.1136/jnnp.2008.164483
- McMahon HT, Wigge P, Smith C (1997) Clathrin interacts specifically with amphiphysin and is displaced by dynamin 1. *FEBS Letters* 413:319–322. doi:10.1016/S0014-5793(97)00928-9
- McPherson PS, Garcia EP, Slepnev VI, David C, Zhang X, Grabs D, Sossin WS, Bauerfeind R, Nemoto Y, Camilli P de (1996) A presynaptic inositol- 5- phosphatase. *Nature*:353–356
- Memory Clinic (2009) CERAD-Plus. Universitätsspital Basel. <<http://www.memoryclinic.ch>> [revised ed. 2005, German version]
- Meunier B, Quaranta M, Daviet L, Hatzoglou A, Leprince C (2009) The membrane-tubulating potential of amphiphysin 2/BIN1 is dependent on the microtubule-binding cytoplasmic linker protein 170 (CLIP-170). *European journal of cell biology* 88:91–102. doi:10.1016/j.ejcb.2008.08.006
- Micheva KD, Ramjaun AR, Kay BK, McPherson PS (1997) SH3 domain-dependent interactions of endophilin with amphiphysin. *FEBS Letters* 414:308–312. doi:10.1016/S0014-5793(97)01016-8
- Miyagawa T, Ebinuma I, Morohashi Y, Hori Y, Young Chang M, Hattori H, Maehara T, Yokoshima S, Fukuyama T, Tsuji S, Iwatsubo T, Prendergast GC, Tomita T (2016) BIN1 regulates BACE1 intracellular trafficking and amyloid- β production. *Human molecular genetics* 25:2948–2958. doi:10.1093/hmg/ddw146
- Morgan K (2011) The three new pathways leading to Alzheimer's disease. *Neuropathology and applied neurobiology* 37:353–357. doi:10.1111/j.1365-2990.2011.01181.x
- Naj AC, Schellenberg GD (2017) Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 174:5–26. doi:10.1002/ajmg.b.32499
- Naj AC, Jun G, Beecham GW et al. (2011) Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nature genetics* 43:436–441. doi:10.1038/ng.801
- Naj AC, Jun G, Reitz C et al. (2014) Age-at-Onset in Late Onset Alzheimer Disease is Modified by Multiple Genetic Loci. *JAMA neurology* 71:1394–1404. doi:10.1001/jamaneurol.2014.1491

Literaturverzeichnis

NCBI Gen-Datenbank, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9456>, abgerufen am 01.03.2023

Need AC, Ge D, Weale ME et al. (2009) A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS genetics* 5:e1000373. doi:10.1371/journal.pgen.1000373

Nettiksimmons J, Tranah G, Evans DS, Yokoyama JS, Yaffe K (2016) Gene-based aggregate SNP associations between candidate AD genes and cognitive decline. *Age (Dordrecht, Netherlands)* 38:41. doi:10.1007/s11357-016-9885-2

Nicot A-S, Toussaint A, Tosch V, Kretz C, Wallgren-Pettersson C, Iwarsson E, Kingston H, Garnier J-M, Biancalana V, Oldfors A, Mandel J-L, Laporte J (2007) Mutations in amphiphysin 2 (BIN1) disrupt interaction with dynamin 2 and cause autosomal recessive centronuclear myopathy. *Nature genetics* 39:1134–1139. doi:10.1038/ng2086

Oswald WD, Roth E (1987) *Der Zahlen- Verbindungs- Test (ZVT); Handanweisung*. Hogrefe, Göttingen, Bern, Toronto, Seattle

Pan K, Liang X-t, Zhang H-k, Zhao J-j, Wang D-d, Li J-j, Lian Q, Chang AE, Li Q, Xia J-c (2012) Characterization of bridging integrator 1 (BIN1) as a potential tumor suppressor and prognostic marker in hepatocellular carcinoma. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)* 18:507–518. doi:10.2119/molmed.2011.00319

Pant S, Sharma M, Patel K, Caplan S, Carr CM, Grant BD (2009) AMPH-1/Amphiphysin/Bin1 functions with RME-1/Ehd1 in endocytic recycling. *Nature cell biology* 11:1399–1410. doi:10.1038/ncb1986

Pawlik K(H) (2006) *Handbuch Psychologie; Wissenschaft-Anwendung-Berufsfelder*. Springer Medizin Verlag, Heidelberg

Pensalfini A, Albay R, Rasool S, Wu JW, Hatami A, Arai H, Margol L, Milton S, Poon WW, Corrada MM, Kawas CH, Glabe CG (2014) Intracellular amyloid and the neuronal origin of Alzheimer neuritic plaques. *Neurobiology of disease* 71:53–61. doi:10.1016/j.nbd.2014.07.011

Peter BJ, Kent HM, Mills IG, Vallis Y, Butler PJG, Evans PR, McMahon HT (2004) BAR domains as sensors of membrane curvature: the amphiphysin BAR structure. *Science (New York, N.Y.)* 303:495–499. doi:10.1126/science.1092586

Petermann F (2012) *Deutsche Bearbeitung der Wechsler Adult Intelligence Scale—Fourth Edition WAIS-IV*. Frankfurt: PearsonAssessment.

Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E (1999) Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol* 56:303. doi:10.1001/archneur.56.3.303

Petersen RC, Roberts RO, Knopman DS, Boeve BF, Geda YE, Ivnik RJ, Smith GE, Jack CR (2009) Mild cognitive impairment: ten years later. *Arch Neurol* 66:1447–1455. doi:10.1001/archneurol.2009.266

Pinar A, Hawi Z, Cummins T, Johnson B, Pauper M, Tong J, Tiego J, Finlay A, Klein M, Franke B, Fornito A, Bellgrove MA (2018) Genome-wide association study reveals novel genetic locus

Literaturverzeichnis

- associated with intra-individual variability in response time. *Transl Psychiatry* 8:1–8. doi:10.1038/s41398-018-0262-z
- Plomin R (1999) Genetics and general cognitive ability. *Nature* 402:C25- C29
- Plomin R, Petrill SA (1997) Genetics and intelligence: What's new? *Intelligence* 24:53–77. doi:10.1016/S0160-2896(97)90013-1
- Preisiche O, Schultz SA, Apel A et al. (2019a) Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer's disease. *Nat Med* 25:277–283. doi:10.1038/s41591-018-0304-3
- Preisiche O, Schultz SA, Apel A et al (2019b) Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer's disease. *Nature medicine* 25:277–283. doi:10.1038/s41591-018-0304-3
- Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D (2006) Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature genetics* 38:904–909. doi:10.1038/ng1847
- 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, Mössner R, Nenadic I, Sauer H, Rujescu D, Maier W, Rietschel M, Nöthen MM, Cichon S (2013) Copy number variants in German patients with schizophrenia. *PloS one* 8:e64035. doi:10.1371/journal.pone.0064035
- Ruthirakuhan M, Ismail Z, Herrmann N, Gallagher D, Lanctôt KL (2022) Mild behavioral impairment is associated with progression to Alzheimer's disease: A clinicopathological study. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association* 18:2199-2208. doi:10.1002/alz.12519
- Prokic I, Cowling BS, Laporte J (2014) Amphiphysin 2 (BIN1) in physiology and diseases. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 92:453–463. doi:10.1007/s00109-014-1138-1
- Pyndiah S, Tanida S, Ahmed KM, Cassimere EK, Choe C, Sakamuro D (2011) c-MYC Suppresses BIN1 to Release Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1: A Mechanism by Which Cancer Cells Acquire Cisplatin Resistance. *Science Signaling* 4
- Qiagen (Hrsg) (2005) QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook, Hilden
- Ragoussis J (2006) Genotyping technologies for all. *Drug discovery today. Technologies* 3:115–122
- Ramalingam A, Farmer GE, Stamato TD, Prendergast GC (2007) Bin1 interacts with and restrains the DNA end-binding protein complex Ku. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 6:1914–1918. doi:10.4161/cc.6.15.4514
- Ramjaun AR, McPherson PS (1998) Multiple Amphiphysin II Splice Variants Display Differential Clathrin Binding: Identification of Two Distinct Clathrin-Binding Sites. *Journal of Neurochemistry*:2369–2376

Literaturverzeichnis

- Ramjaun AR, Micheva KD, Bouchelet I, McPherson PS (1997) Identification and Characterization of a Nerve Terminal-enriched Amphiphysin Isoform. *J. Biol. Chem.* 272:16700–16706. doi:10.1074/jbc.272.26.16700
- Ramjaun AR, Philie J, Heuvel E de, McPherson PS (1999) The N Terminus of Amphiphysin II Mediates Dimerization and Plasma Membrane Targeting. *J. Biol. Chem.* 274:19785–19791. doi:10.1074/jbc.274.28.19785
- Raz N, Rodrigue KM, Kennedy KM, Land S (2009) Genetic and vascular modifiers of age-sensitive cognitive skills: effects of COMT, BDNF, ApoE, and hypertension. *Neuropsychology* 23:105–116. doi:10.1037/a0013487
- Reitan RM (1958) Validity of the Trail Making Test as an Indicator of Organic Brain Damage. *Perceptual and Motor Skills*:271–276
- Reitan RM (1992) *Trail Making Test; Manual for Administration and Scoring*. Reitan Neuropsychology Laboratory, Tucson AZ USA
- 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. *Alcoholism Clin Exp Res* 19:1018–1023. doi:10.1111/j.1530-0277.1995.tb00983.x
- 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. *Frontiers in neurology* 9:591. doi:10.3389/fneur.2018.00591
- Sabuncu MR, Desikan RS, Sepulcre J, Yeo BTT, Liu H, Schmansky NJ, Reuter M, Weiner MW, Buckner RL, Sperling RA, Fischl B (2011) The dynamics of cortical and hippocampal atrophy in Alzheimer disease. *Archives of neurology* 68:1040–1048. doi:10.1001/archneurol.2011.167
- Sakamoto S, Ishii K, Sasaki M, Hosaka K, Mori T, Matsui M, Hirono N, Mori E (2002) Differences in cerebral metabolic impairment between early and late onset types of Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences* 200:27–32. doi:10.1016/S0022-510X(02)00114-4
- Sakamuro D, Elliott KJ, Wechsler-Reya R, Prendergast GC (1996) BIN1 is a novel MYC - interacting protein with features of a tumour suppressor. *Nature Publishing Group*:69–77
- Salthouse TA (2009) When does age-related cognitive decline begin? *Neurobiology of aging* 30:507–514. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2008.09.023
- Salthouse TA (2011) What cognitive abilities are involved in trail-making performance? *Intelligence* 39:222–232. doi:10.1016/j.intell.2011.03.001
- Sartori M, Mendes T, Desai S, Lasorsa A, Herledan A, Malmanche N, Mäkinen P, Marttinen M, Malki I, Chapuis J, Flaig A, Vreulx AC, Ciancia M, Amouyel P, Leroux F, Déprez B, Cantrelle FX, Maréchal D, Pradier L, Hiltunen M, Landrieu I, Kilinc D, Herault Y, Laporte J, Lambert JC (2019) BIN1 recovers tauopathy-induced long-term memory deficits in mice and interacts with Tau

Literaturverzeichnis

through Thr348 phosphorylation. *Acta Neuropathol.* 138(4):631-652. doi: 10.1007/s00401-019-02017-9

Sato N, Morishita R (2015) The roles of lipid and glucose metabolism in modulation of β -amyloid, tau, and neurodegeneration in the pathogenesis of Alzheimer disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* 7. doi:10.3389/fnagi.2015.00199

Savage JE, Jansen PR, Stringer S et al (2018) Genome-wide association meta-analysis in 269,867 individuals identifies new genetic and functional links to intelligence. *Nature genetics* 50:912–919. doi:10.1038/s41588-018-0152-6

Savva GM, Wharton SB, Ince PG, Forster G, Matthews FE, Brayne C (2009) Age, neuropathology, and dementia. *The New England journal of medicine* 360:2302–2309. doi:10.1056/NEJMoa0806142

Schaeffer EL, Figueiro M, Gattaz WF (2011) Insights into Alzheimer disease pathogenesis from studies in transgenic animal models. *Clinics* 66:45–54. doi:10.1590/S1807-59322011001300006

Schellenberg GD, Montine TJ (2012) The genetics and neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica* 124:305–323. doi:10.1007/s00401-012-0996-2

Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, Strooper B de, Frisoni GB, Salloway S, van der Flier WM (2016) Alzheimer's disease. *The Lancet* 388:505–517. doi:10.1016/S0140-6736(15)01124-1

Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2014) Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*:421–427. doi:10.1038/nature13595

Schubert A-L, Hagemann D, Löffler C, Frischkorn GT (2019) Disentangling the Effects of Processing Speed on the Association between Age Differences and Fluid Intelligence. *Journal of Intelligence* 8. doi:10.3390/jintelligence8010001

Schürmann B, Bermingham DP, Kopeikina KJ, Myczek K, Yoon S, Horan KE, Kelly CJ, Martin-de-Saavedra MD, Forrest MP, Fawcett-Patel JM, Smith KR, Gao R, Bach A, Burette AC, Rappoport JZ, Weinberg RJ, Martina M, Penzes P (2020) A novel role for the late-onset Alzheimer's disease (LOAD)-associated protein Bin1 in regulating postsynaptic trafficking and glutamatergic signaling. *Molecular psychiatry* 25:2000–2016. doi:10.1038/s41380-019-0407-3

Selkoe DJ (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science (New York, N.Y.)* 298:789–791. doi:10.1126/science.1074069

Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA et al (2010) Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *JAMA* 303:1832–1840. doi:10.1001/jama.2010.574

Shupliakov O, Löw P, Grabs D, Gad H, Chen H, David C, Takei K, Camilli P de, Brodin L (1997) Synaptic Vesicle Endocytosis Impaired by Disruption of Dynamin - SH3 Domain Interactions. *Science (New York, N.Y.)* 276:259–263

Literaturverzeichnis

- Sirkis, D.W., Bonham, L.W., Johnson, T.P. et al. (2022) Dissecting the clinical heterogeneity of early-onset Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 27: 2674–2688. doi:10.1038/s41380-022-01531-9
- Sivakolundu DK, West KL, Zuppichini M, Turner MP, Abdelkarim D, Zhao Y, Spence JS, Lu H, Okuda DT, Rypma B (2020) The neurovascular basis of processing speed differences in humans: A model-systems approach using multiple sclerosis. *NeuroImage* 215:116812. doi:10.1016/j.neuroimage.2020.116812
- Sniekers S, Stringer S, Watanabe K, Jansen PR, Coleman JRI, Krapohl E, Taskesen E, Hammerschlag AR, Okbay A, Zabaneh D, Amin N, Breen G, Cesarini D, Chabris CF, Iacono WG, Ikram MA, Johannesson M, Koellinger P, Lee JJ, Magnusson PKE, McGue M, Miller MB, Ollier WER, Payton A, Pendleton N, Plomin R, Rietveld CA, Tiemeier H, van Duijn CM, Posthuma D (2017) Genome-wide association meta-analysis of 78,308 individuals identifies new loci and genes influencing human intelligence. *Nature genetics* 49:1107 -1115. doi:10.1038/ng.3869
- Sochocka M, Zwolińska K, Leszek J (2017) The Infectious Etiology of Alzheimer's Disease. *Current neuropharmacology* 15:996–1009. doi:10.2174/1570159X15666170313122937
- Spearman C (1904) "General Intelligence," Objectively Determined and Measured. *The American Journal of Psychology* 15:201. doi:10.2307/1412107
- Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, Iwatsubo T, Jack CR, Kaye J, Montine TJ, Park DC, Reiman EM, Rowe CC, Siemers E, Stern Y, Yaffe K, Carrillo MC, Thies B, Morrison-Bogorad M, Wagster MV, Phelps CH (2011) Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 7:280–292. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.003
- Stefansson H, Rujescu D, Cichon S et al (2008) Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 455:232–236. doi:10.1038/nature07229
- Stephan BCM, Hunter S, Harris D, Llewellyn DJ, Siervo M, Matthews FE, Brayne C (2012) The neuropathological profile of mild cognitive impairment (MCI): a systematic review. *Molecular psychiatry* 17:1056–1076. doi:10.1038/mp.2011.147
- Strauss E, Sherman EMS, Spreen O (2006) *A Compendium of Neuropsychological Tests; Administration, norms and commentary*. Oxford University Press, New York
- Sun L, Tan M-S, Hu N, Yu J-T, Tan L (2013) Exploring the value of plasma BIN1 as a potential biomarker for alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 37:291–295. doi:10.3233/JAD-130392
- Swan GE, Carmelli D (2002) Evidence for genetic mediation of executive control: a study of aging male twins. *The journals of gerontology. Series B, Psychological sciences and social sciences* 57:P133-43. doi:10.1093/geronb/57.2.P133

Literaturverzeichnis

- Swanberg MM, Tractenberg RE, Mohs R, Thal LJ, Cummings JL (2004) Executive dysfunction in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 61:556–560. doi:10.1001/archneur.61.4.556
- Takahashi RH, Nagao T, Gouras GK (2017) Plaque formation and the intraneuronal accumulation of β -amyloid in Alzheimer's disease. *Pathology international* 67:185–193. doi:10.1111/pin.12520
- Takei K, Slepnev VI, Haucke V, Camilli P de (1999) Functional partnership between amphiphysin and dynamin in clathrin-mediated endocytosis. *Nature cell biology* 1:33–39. doi:10.1038/9004
- Takeuchi H, Taki Y, Hashizume H, Sassa Y, Nagase T, Nouchi R, Kawashima R (2011) Effects of training of processing speed on neural systems. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 31:12139–12148. doi:10.1523/JNEUROSCI.2948-11.2011
- Tan M-S, Yu J-T, Tan L (2013) Bridging integrator 1 (BIN1): form, function, and Alzheimer's disease. *Trends in molecular medicine* 19:594–603. doi:10.1016/j.molmed.2013.06.004
- Tan M-S, Yu J-T, Jiang T, Zhu X-C, Guan H-S, Tan L (2014) Genetic variation in BIN1 gene and Alzheimer's disease risk in Han Chinese individuals. *Neurobiology of aging* 35:1781.e1-8. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.151
- Tan M-S, Yang Y-X, Xu W, Wang H-F, Tan L, Zuo C-T, Dong Q, Tan L, Suckling J, Yu J-T (2021) Associations of Alzheimer's disease risk variants with gene expression, amyloidosis, tauopathy, and neurodegeneration. *Alzheimer's research & therapy* 13:15. doi:10.1186/s13195-020-00755-7
- Tewes U, Wildgrube K (1992) *Psychologie - Lexikon*. R. Oldenbourg Verlag GmbH, München
- Thurstone L (1938) *Primary mental abilities*. The University of Chicago Press, Chicago
- Tjondrokoesoemo A, Park KH, Ferrante C, Komazaki S, Lesniak S, Brotto M, Ko J-K, Zhou J, Weisleder N, Ma J (2011) Disrupted membrane structure and intracellular Ca^{2+} signaling in adult skeletal muscle with acute knockdown of Bin1. *PloS one* 6:e25740. doi:10.1371/journal.pone.0025740
- Toga AW, Thompson PM (2005) Genetics of brain structure and intelligence. *Annual review of neuroscience* 28:1–23. doi:10.1146/annurev.neuro.28.061604.135655
- Tsutsui K, Maeda Y, Seki S, Tokunaga A (1997) cDNA cloning of a novel amphiphysin isoform and tissue-specific expression of its multiple splice variants. *Biochemical and biophysical research communications* 236:178–183. doi:10.1006/bbrc.1997.6927
- Tuppo EE, Arias HR (2005) The role of inflammation in Alzheimer's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 37:289–305. doi:10.1016/j.biocel.2004.07.009
- Ubelmann F, Burrinha T, Salavessa L, Gomes R, Ferreira C, Moreno N, Guimas Almeida C (2017) Bin1 and CD2AP polarise the endocytic generation of beta-amyloid. *EMBO reports* 18:102–122. doi:10.15252/embr.201642738

Literaturverzeichnis

- Vardarajan BN, Ghani M, Kahn A, Sheikh S, Sato C, Barral S, Lee JH, Cheng R, Reitz C, Lantigua R, Reyes-Dumeyer D, Medrano M, Jimenez-Velazquez IZ, Rogaeva E, St George-Hyslop P, Mayeux R (2015) Rare coding mutations identified by sequencing of Alzheimer disease genome-wide association studies loci. *Annals of neurology* 78:487–498. doi:10.1002/ana.24466
- Verhaaren BFJ, Vernooij MW, Koudstaal PJ, Uitterlinden AG, van Duijn CM, Hofman A, Breteler MMB, Ikram MA (2013) Alzheimer's disease genes and cognition in the nondemented general population. *Biological psychiatry* 73:429–434. doi:10.1016/j.biopsych.2012.04.009
- Vicario A, Martinez CD, Baretto D, Diaz Casale A, Nicolosi L (2005) Hypertension and cognitive decline: impact on executive function. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)* 7:598–604. doi:10.1111/j.1524-6175.2005.04498.x
- Victor A, Elsässer A, Hommel G, Blettner M (2010) Judging a plethora of p-values: how to contend with the problem of multiple testing--part 10 of a series on evaluation of scientific publications. *Deutsches Arzteblatt international* 107:50–56. doi:10.3238/arztebl.2010.0050
- 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. *Molecular psychiatry* 20:1173–1178. doi:10.1038/mp.2015.62
- Volmar C-H, Salah-Uddin H, Janczura KJ, Halley P, Lambert G, Wodrich A, Manoah S, Patel NH, Sartor GC, Mehta N, Miles NTH, Desse S, Dorcius D, Cameron MD, Brothers SP, Wahlestedt C (2017) M344 promotes nonamyloidogenic amyloid precursor protein processing while normalizing Alzheimer's disease genes and improving memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114:E9135-E9144. doi:10.1073/pnas.1707544114
- Voskobiyuk Y, Roth JR, Cochran JN, Rush T, Carullo NV, Mesina JS, Waqas M, Vollmer RM, Day JJ, McMahon LL, Roberson ED (2020) Alzheimer's disease risk gene BIN1 induces Tau-dependent network hyperexcitability. *eLife* 9. doi:10.7554/eLife.57354
- Wagner S, Helmreich I, Dahmen N, Lieb K, Tadic A (2011) Reliability of three alternate forms of the trail making tests a and B. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists* 26:314–321. doi:10.1093/arclin/acr024
- Wang X, Wang W, Li L, Perry G, Lee H-g, Zhu X (2014) Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochimica et biophysica acta* 1842:1240–1247. doi:10.1016/j.bbadis.2013.10.015
- Wang Y-q, Tang B-s, Yang Y, Cui Y-t, Kang J-f, Liu Z-h, Li K, Sun Q-y, Xu Q, Yan X-x, Guo J-f (2016) Relationship between Alzheimer's disease GWAS-linked top hits and risk of Parkinson's disease with or without cognitive decline: a Chinese population-based study. *Neurobiology of aging* 39:217.e9-11. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2015.11.024
- Wang K, Xu C, Smith A, Xiao D, Navia RO, Lu Y, Xie C, Piamjariyakul U (2021) Genome-wide association study identified INSC gene associated with Trail Making Test Part A and Alzheimer's

disease related cognitive phenotypes. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 111:110393. doi:10.1016/j.pnpbp.2021.110393

Wang B, Giannakopoulou O, Austin-Zimmerman I, Irizar H, Harju-Seppänen J, Zartaloudi E, Bhat A, McQuillin A, Kuchenbäcker K, Bramon E (2022) Adolescent Verbal Memory as a Psychosis Endophenotype: A Genome-Wide Association Study in an Ancestrally Diverse Sample. *Genes* 13:106. doi:10.3390/genes13010106

Wechsler-Reya R, Sakamuro D, Zhang J, Duhadaway J, Prendergast GC (1997a) Structural Analysis of the Human BIN1 Gene; Evidence for tissue- specific transcriptional regulation and alternate RNA splicing. *The Journal of Biological Chemistry*:31453–31458

Wechsler-Reya R, Elliott K, Herlyn M, Prendergast GC (1997b) The Putative Tumor Suppressor BIN1 Is a Short- Lived Nuclear Phosphorprotein, the Localization of Which Is Altered in Malignant Cells. *Cancer research*:3258–3263

Wechsler-Reya RJ, Elliott KJ, Prendergast GC (1998) A Role for the Putative Tumor Suppressor Bin1 in Muscle Cell Differentiation. *Mol. Cell. Biol.* 18:566–575. doi:10.1128/MCB.18.1.566

Weyerer S (2005) Themenheft 28 "Altersdemenz". *Gesundheitsberichterstattung des Bundes*

WHO (2022) Dementia; Key facts. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>, abgerufen am 14. Februar 2023

Wijsman EM, Pankratz ND, Choi Y, Rothstein JH, Faber KM, Cheng R, Lee JH, Bird TD, Bennett DA, Diaz-Arrastia R, Goate AM, Farlow M, Ghetti B, Sweet RA, Foroud TM, Mayeux R (2011) Genome-wide association of familial late-onset Alzheimer's disease replicates BIN1 and CLU and nominates CUGBP2 in interaction with APOE. *PLoS genetics* 7:e1001308. doi:10.1371/journal.pgen.1001308

Wishart HA, Saykin AJ, Rabin LA, Santulli RB, Flashman LA, Guerin SJ, Mamourian AC, Belloni DR, Rhodes CH, McAllister TW (2006) Increased brain activation during working memory in cognitively intact adults with the APOE epsilon4 allele. *The American journal of psychiatry* 163:1603–1610. doi:10.1176/ajp.2006.163.9.1603

Wittchen H-U, Zaudig M, Fydrich T (1997) SKID Strukturiertes klinisches Interview für DSM- IV. Hogrefe, Göttingen

Yamada H, Ohashi E, Abe T, Kusumi N, Li S-A, Yoshida Y, Watanabe M, Tomizawa K, Kashiwakura Y, Kumon H, Matsui H, Takei K (2007) Amphiphysin 1 is important for actin polymerization during phagocytosis. *Molecular biology of the cell* 18:4669–4680. doi:10.1091/mbc.e07-04-0296

Yamada H, Padilla-Parra S, Park S-J, Itoh T, Chaineau M, Monaldi I, Cremona O, Benfenati F, Camilli P de, Coppey-Moisan M, Tramier M, Galli T, Takei K (2009) Dynamic interaction of amphiphysin with N-WASP regulates actin assembly. *The Journal of Biological Chemistry* 284:34244–34256. doi:10.1074/jbc.M109.064204

Literaturverzeichnis

Zabaneh D, Krapohl E, Gaspar HA, Curtis C, Lee SH, Patel H, Newhouse S, Wu HM, Simpson MA, Putallaz M, Lubinski D, Plomin R, Breen G (2018) A genome-wide association study for extremely high intelligence. *Molecular psychiatry* 23:1226–1232. doi:10.1038/mp.2017.121

Zhang X, Yu J-T, Li J, Wang C, Tan L, Liu B, Jiang T (2015) Bridging Integrator 1 (BIN1) Genotype Effects on Working Memory, Hippocampal Volume, and Functional Connectivity in Young Healthy Individuals. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 40:1794–1803. doi:10.1038/npp.2015.30

Zhang M, Schmitt-Ulms G, Sato C, Xi Z, Zhang Y, Zhou Y, St George-Hyslop P, Rogaevea E (2016) Drug Repositioning for Alzheimer's Disease Based on Systematic 'omics' Data Mining. *PloS one* 11:e0168812. doi:10.1371/journal.pone.0168812

Zhang H, Zhou H, Lencz T, Farrer LA, Kranzler HR, Gelernter J (2018) Genome-wide association study of cognitive flexibility assessed by the Wisconsin Card Sorting Test. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 177:511–519. doi:10.1002/ajmg.b.32642

Zhou Y, Hayashi I, Wong J, Tugusheva K, Renger JJ, Zerbinatti C (2014) Intracellular clusterin interacts with brain isoforms of the bridging integrator 1 and with the microtubule-associated protein Tau in Alzheimer's disease. *PloS one* 9:e103187. doi:10.1371/journal.pone.0103187

Ziegler U, Doblhammer G (2009) Prävalenz und Inzidenz von Demenz in Deutschland--Eine Studie auf Basis von Daten der gesetzlichen Krankenversicherungen von 2002. *Gesundheitswesen (Bundesverband der Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (Germany))* 71:281–290. doi:10.1055/s-0028-1119384

Zimbardo PG (1995) *Psychologie*; Deutsche Bearbeitung von Siegfried Hoppe- Graff, Barbara Keller und Irma Engel. Springer -Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

Zou T, Chen W, Zhou X, Duan Y, Ying X, Liu G, Zhu M, Pari A, Alimu K, Miao H, Kabinur K, Zhang L, Wang Q, Duan S (2019) Association of multiple candidate genes with mild cognitive impairment in an elderly Chinese Uygur population in Xinjiang. *Psychogeriatrics* 11:e0138866. doi:10.1111/psyg.12440

Danksagung

Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gehört zunächst dem ehemaligen Direktor der Universitätsklinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu und Frau PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling, die mir die Möglichkeiten zur Durchführung dieser Dissertation gaben. Ebenso aufrichtig bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. med. Gabriele Koller und Frau PD Dr. rer. biol. hum. Susanne Karch für die Betreuung dieser Dissertation.

Ich möchte mich auch bei Herrn Dr. med. Stephan Maul bedanken. Seine engagierte und stets freundliche Betreuung, die offene Kritik und seine nie endende Geduld haben mich beim Erstellen dieser Arbeit immer weitergebracht. Danke!

Ein herzliches Dankeschön gebührt Frau Dr. rer. nat. Bente Flier. Ihre warmen Worte, das Korrekturlesen und die professionelle Beratung waren mir stets eine große Hilfe. Auch Frau Bettina Konte und Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann standen mir beratend zur Seite. Vielen Dank für die fachliche und kompetente Betreuung sowie Unterstützung bei der Datenanalyse.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern des Studienzentrums der Psychiatrie. Ich danke ihnen und vor allem meinen Mitdoktoranden für die angenehme Atmosphäre, den freundlichen Austausch und die große Unterstützung während des Erstellens dieser Arbeit. Explizit möchte ich Frau Luzie Linke und Frau Lisa Endlich erwähnen. Ich danke euch für alles.

Abschließend danke ich im Besonderen Herrn Maik Dubberke (und natürlich Herrn Dr. jur. Tim Gebauer als Korrekturleser), meiner Familie und meinen Freunden, die mir mit einem offenen Ohr zur Seite standen, mich aufmunterten und immer für mich da waren.

Eidesstattliche Versicherung



Eidesstattliche Versicherung

Zippert, Marianne

Name, Vorname

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

Assoziation von Verarbeitungsgeschwindigkeit und kognitiver Flexibilität mit *BIN1*
Genvarianten

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.

Halle, 18.01.2024

Marianne Zippert

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin

Eidesstattliche Versicherung

Stand: 10.02.2023