

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Neurologie

Prof. Dr. med.

Christian Gerloff

Assoziation von Serum neurofilament light chain (NfL) mit Motorik, Kognition und subklinischen kardialen Schäden bei fortgeschrittenem Morbus Parkinson

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin an der Medizinischen
Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Louisa Therese Niemann
aus Soltau

Hamburg 2022

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 09.02.2023

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

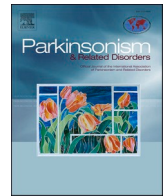
Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Tanja Zeller

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Chi-un Choe

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in:

Inhaltsverzeichnis

1. Publikation	4
2. Darstellung der Publikation	9
2.1 Einleitung	9
2.2 Methoden	10
2.2.1 Studiendesign und Probanden	10
2.2.2 Klinische Beurteilung	11
2.2.3 Laboranalysen	11
2.2.4 Statistische Analysen	12
2.3 Ergebnisse	13
2.3.1 Merkmale der Probanden	13
2.3.2 Zusammenhang zwischen Serum-NfL-Werten, motorischer und kognitiver Funktion	13
2.3.3 Zusammenhang zwischen Serum-NfL-Werten, motorischer und kognitiver Verschlechterung	14
2.3.4 Zusammenhang zwischen Serum-NfL-Werten und subklinischen kardialen Schäden	15
2.3.5 Altersadaptierte Serum-NfL-Cut-Off-Werte	16
2.4 Diskussion	17
2.5 Zusammenfassung	21
2.5 Summary	22
2.6 Abkürzungsverzeichnis	23
2.7 Literaturverzeichnis	24
3. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation	28
4. Danksagung	29
5. Lebenslauf	30
6. Eidesstattliche Erklärung	31



Short communication

Serum neurofilament is associated with motor function, cognitive decline and subclinical cardiac damage in advanced Parkinson's disease (MARK-PD)

Louisa Niemann^a, Susanne Lezius^b, Aleksandra Maceski^c, David Leppert^c, Catrin Englisch^a, Edzard Schwedhelm^{d,e}, Tanja Zeller^{e,f}, Christian Gerloff^a, Jens Kuhle^{g,1}, Chi-un Choe^{a,*,1}

^a Department of Neurology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

^b Institute of Medical Biometry and Epidemiology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

^c Department of Biochemistry, University Hospital Basel, Basel, Switzerland

^d Institute of Clinical Pharmacology and Toxicology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

^e German Centre for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Hamburg/Kiel/ Luebeck, Hamburg, Germany

^f Clinic of Cardiology, University Heart and Vascular Center Hamburg, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

^g Neurologic Clinic and Policlinic, MS Center and Research Center for Clinical Neuroimmunology and Neuroscience Basel (RC2NB), Departments of Biomedicine and Clinical Research, University Hospital Basel, University of Basel, Switzerland

ARTICLE INFO

Keywords:

UPDRS
Hoehn&Yahr
MOCA
Biomarker
NT-proBNP
motor decline
Cognitive decline

ABSTRACT

Introduction: Serum neurofilament light chain (NfL) levels are associated with disease severity in early Parkinson's disease (PD). We assessed the association of serum NfL with motor and cognitive function and decline in advanced PD patients.

Methods: NfL concentrations were analyzed with single molecule array (Simoa) assay in serum of 289 PD patients with advanced disease from the single-center prospective observational biobank study *Biomarkers in Parkinson's disease* (MARK-PD). Motor and cognitive symptoms were assessed with MDS-UPDRS III, Hoehn&Yahr stages and Montreal Cognitive Assessment (MoCA) at baseline and during 520 [364, 674] days of follow-up.

Results: Serum NfL concentrations were associated with Hoehn&Yahr stages. During follow-up, baseline NfL levels were associated with time to cognitive decline in adjusted Cox regression models (hazard ratio: 3.23; 95% CI [1.16, 9.00], $P < 0.025$). Serum NfL was associated with NT-proBNP in adjusted models linking neuronal and cardiac damage in advanced PD patients.

Conclusion: In advanced PD patients, serum NfL concentrations are associated with motor function, cognitive decline and subclinical cardiac damage.

1. Introduction

Neurofilament light chain (NfL) is a structural protein highly expressed in large myelinated axons and released upon neuronal damage. Recent advances have shown that neuronal injury is quantifiable based on serum neurofilament light chain (NfL) levels. For Parkinson's disease (PD), some studies have reported increased NfL levels compared with healthy controls, whereas others did not observe a difference [1,2]. In addition to comparing healthy controls and PD patients, associations of NfL with clinical parameters have been a focus of recent studies. A Taiwanese cross-sectional study showed an association of serum NfL

levels with motor function [2], whereas a Dutch study did not observe any association with motor severity scores [3]. In contrast to motor function, consistent inverse associations of blood NfL levels with cognitive scores have been reported in PD [2,3]. A recent report suggested that increased serum NfL levels predict motor and cognitive decline [2]. Most PD studies have evaluated patients with prodromal and earlier disease to shed more light on disease onset and enable differentiation of PD and atypical PD patients, but associations of NfL with clinical parameters and prognosis in advanced PD are missing.

In addition to NfL, cardiac microdamage and vascular risk factors have shown associations with motor symptoms and progression [4,5]. Furthermore, genetic PD mouse models revealed signs of

* Corresponding author. University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, 20246 Hamburg, Germany
E-mail address: cchoe@uke.de (C.-u. Choe).

¹ These authors contributed equally to this work.

Abbreviations

H&Y	Hoehn and Yahr
LED	L-DOPA equivalent daily dose
PD	Parkinson's disease
MOCA	Montreal cognitive assessment
UPDRS III	Movement Disorders Society Unified Parkinson's disease rating scale part III

cardiomyopathy suggesting a common pathophysiological mechanism of neuronal and cardiac damage by PD risk genes [6–8]. However, the association of markers of neuronal and cardiac damage in patients with PD is unknown.

Therefore, we analyzed serum NfL levels in 289 PD patients with advanced disease from the *Biomarkers in Parkinson's disease* (MARK-PD) study and evaluated the association of serum NfL with disease severity and worsening. Furthermore, we investigated potential links between neuronal and cardiac damage using established neuronal and cardiac biomarkers.

2. Methods

2.1. Study design, ethical approval and patient consent

The *Biomarkers in Parkinson's disease* (MARK-PD) study is a prospective observational single-center biobank at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf, which details have been described previously [4]. For the current study, we included 292 patients with Parkinson's disease. The inclusion criteria were as follows: age >18 years and clinical diagnosis of Parkinson's disease fulfilling Queen Square Brain Bank criteria. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Hamburg Board of Physicians (PV5298). The investigation was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from all participants.

2.2. Clinical assessment

Clinical assessment was performed as previously described [4]. Motor examination (MDS-UPDRS III, Hoehn&Yahr stage) and cognitive assessment (MoCA) were performed in the ON state with medication and in case of deep brain stimulation ON stimulation state. Past medical history, including comorbidities (arterial hypertension, hypercholesterolemia, diabetes mellitus, prior stroke, prior myocardial infarction, heart failure, atrial fibrillation) and laboratory parameters (CRP, GFR) were documented from medical records. Motor and cognitive decline were defined as an increase of more than 4 points in the MDS-UPDRS III and more than 2 points in the MoCA score during the follow-up period [2,9,10].

2.3. Laboratory analysis

The laboratory measurements were obtained from blood samples collected at baseline and processed as previously described [4]. After centrifugation, serum samples were frozen at -80°C until biomarker analyses. The cardiac structure protein high sensitivity troponin I (hs-TnI) was measured using a high sensitive TnI immunoassay (STAT high sensitive troponin-I, Abbott Diagnostics, USA, ARCHITECT i2000SR). The limit of detection for the assay was 1.9 ng/L (range 1.9–50,000 ng/L). The inter-assay (inter) coefficient of variation (CV) was 4.5% and the intra-assay (intra) CV was 5.4%. NT-proBNP levels were measured on the Cobas e411 using an electrochemiluminescence immuno-assay (proBNP II, ECLIA, Roche Diagnostics). The analytical range is 5–35,000 ng/L. The inter CV was 5.4% and the intra CV was

1.1%. ApoA1, ApoB, HDL-Cholesterol (HDL-C) and LDL-Cholesterol (LDL-C) were measured using clinical chemistry assays on the Abbott c8000 system (Apolipoprotein A1, Apolipoprotein B, ULTRA HDL And Direct LDL; Abbott Diagnostics, USA). The CVs were as follows: ApoA1: inter CV 0.5%, intra CV 0.7–3.4%. ApoB: 0.4%; intra CV 1.0–2.3%, HDL-C: inter CV 1.0, intra CV 1.2–4.1%; LDL-C: inter CV 0.4%, intra CV 1.4–4.1%. Serum NfL levels were determined by single molecule array (Simoa) NF-Light assay (Quanterix) on the HDX platform. Intra- and interassay variability of the measurements were evaluated with three native serum samples in three consecutive runs on independent days. The mean CVs of duplicate determinations for concentration were 8.5% (9.5 pg/mL, sample 1), 5.4% (23.2 pg/mL, sample 2) and 7.8% (98.5 pg/mL, sample 3). Inter CVs for serum were 7.8% (sample 1), 8.3% (sample 2) and 4.9% (sample 3).

2.4. Statistical analysis

Continuous variables are given as mean $\pm$ standard deviation (SD) if normally distributed, otherwise as median [25th–75th percentile], and categorical variables are given as numbers (percentage) of participants. Given that NfL values were not normally distributed, relationships between NfL and continuous variables were assessed by Spearman correlation with FDR-correction for multiple comparison analyses. For linear regression analyses, log values of NfL concentrations were used as predictors (beta coefficient and 95% confidence interval, CI). For linear regression analysis, we calculated mean differences and mean factors for different models: unadjusted (model 1), adjusted for age, sex, disease duration, LEDD and BMI (model 2), and additionally adjusted for dysautonomia, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, prior myocardial infarction, prior stroke, atrial fibrillation, congestive heart failure and eGFR <60% (model 3). Statistical comparisons of two independent groups were made by *t*-test, Mann-Whitney test or χ^2 test, as appropriate. Log rank tests were used to compare NfL level groups regarding time to event data and Kaplan-Meier curves were used for illustration. The independent association between NfL and events was determined by multivariable Cox regression analyses with results presented as hazard ratio (HR) with corresponding 95% CI. For Cox regression analysis, we calculated different models: unadjusted (model 1) and adjusted for age, sex, disease duration and the respective baseline score, i.e. UPDRS part III or MoCA (model 2). Unadjusted P values from single analyses are shown. Significance is judged using FDR correction accounting for multiplicity in the respective analyses. Statistical analysis was performed with IBM SPSS Statistics (version 27, IBM Corp., Armonk, NY) and GraphPad Prism (version 9 for Windows, La Jolla, USA).

2.5. Data availability

The data that support the findings of this study are available on reasonable request from the corresponding author.

3. Results

3.1. NfL, motor and cognitive function

For this study, 292 PD patients from the MARK-PD study were evaluated. Three patients were omitted from further analysis, because blood was drawn one day after deep brain stimulation (DBS) surgery and NfL levels were significantly higher compared with PD patients without surgery (Supplementary Fig. 1). The other 289 patients were 63.9% male, on average 66.7 ± 9.4 years old and had a disease duration of 11.0 [7.0, 16.0] years (Supplementary Table 1). Within our PD cohort, we observed a significant correlation between serum NfL concentrations with age, body mass index (BMI), UPDRS III, Hoehn&Yahr stages and MoCA scores (Supplementary Table 2 and Supplementary Fig. 2). In univariable linear regression a significant association of NfL with

Hoehn&Yahr stages was shown and remained significant after adjustment (Table 1). In line with this finding, serum NfL was associated with UPDRS III in Spearman correlation analysis as well as in unadjusted and adjusted linear regression models (Supplementary Table 2 and Table 1). However, the adjusted regression model between serum NfL with UPDRS III was not significant after FDR-adjustment for multiple comparisons anymore (Table 1). Although serum NfL was significantly associated with cognitive function (MoCA score) in Spearman correlation analysis and the unadjusted linear regression models (Supplementary Table 2 and Table 1), this association did not remain significant in the adjusted linear regression model (model 2, Table 1).

3.2. NfL, motor and cognitive decline

During a follow-up of 520 [364, 674] days, 54 of 114 patients (39.5%) experienced a motor decline. In time to event analysis, no association of NfL levels above or below the median was observed with motor decline (Fig. 1A and B). During the follow-up period, 21 of 106 patients displayed a cognitive decline. PD patients with serum NfL levels above and below the median were significantly different concerning their time to cognitive decline (Fig. 1C). In Cox regression analysis, NfL concentrations above the median remained as independent predictor of cognitive worsening after adjusting for age, sex, disease duration and baseline MoCA (Fig. 1D).

3.3. NfL and cardiac micro-damage

Finally, we evaluated potential links between serum NfL concentrations and blood-based biomarkers of cardiac micro-damage to further explore the heart-brain axis in PD. Serum NfL was strongly and significantly correlated and associated with cardiac biomarkers, i.e. high sensitivity troponin I (hsTnI) and N terminal pro brain-natriuretic peptide (NT-proBNP) in models adjusted for age, sex, disease duration and BMI (Table 1 and Supplementary Table 2). After additional adjustment for vascular risk factors, only NT-proBNP remained significantly associated with serum NfL in fully adjusted model 3 (Table 1). Among vascular risk factors, serum NfL levels were different between PD patients with or without arterial hypertension, prior myocardial infarction or prevalent heart failure (Supplementary Table 3).

3.4. Age-adjusted serum NfL cut-off values

Finally, we converted serum NfL values of each PD patient into age-adjusted percentiles according to published values of healthy controls [11]. The median percentile of PD patients in the MARK-PD study was 95.0 [83.0, 99.2] and 42.5% (137/289) of PD patients had serum NfL concentrations exceeding the 95th percentile of healthy controls [11]. Similar results were obtained after dividing the PD cohort into patients with serum NfL concentrations according to the 95th percentile of healthy controls compared with median split analysis. Age, BMI,

vascular risk factors (i.e. dysautonomia, hypertension, prior myocardial infarction), UPDRS III scores, Hoehn&Yahr stages, MoCA scores, proportion of patients with eGFR<60 mL/min, hsTnI and NT-proBNP concentrations were significantly different between both groups (Supplementary Table 4). In linear regression analysis, stratification by age-adjusted percentiles rendered significant unadjusted associations with UPDRS III, Hoehn&Yahr stages, MoCA scores, hsTnI and NT-proBNP. However, only the association of serum NfL with Hoehn&Yahr stage and NT-proBNP remained significant in fully adjusted models (Supplementary Table 5). Therefore, the main findings remained robust and unaltered using age-adjusted percentiles.

4. Discussion

In our study of advanced PD patients, we show that serum NfL concentrations are associated with (1) motor function, (2) cognitive decline and (3) subclinical cardiac micro-damage. Our study extends the diagnostic potential of serum NfL from PD patients with earlier to more advanced stages. Most published studies evaluating serum NfL have analyzed PD patients with early disease, whereas our hospital-based PD study included patients with long disease duration (11 years), motor fluctuations (63%) and DBS (33%). Here, we observed a significant association of serum NfL with motor impairment underlining the robust relationship. Although increased baseline serum NfL levels were associated with motor decline in PD patients in a Taiwanese study, we did not observe this association in our study [2]. This discrepancy could possibly be attributed to the assessment of motor decline (i.e. >4 points UPDRS III ON in our study, >2 points UPDRS III OFF in Lin et al.). But our findings may also suggest that NfL as marker of neuro-axonal damage might be less predictive in PD patients at advanced stages and long disease durations compared with early disease. Limitations in performance of the clinical scales to quantify motor disability may also apply.

Although we did not observe an association of serum NfL with cognitive function in cross-sectional analysis, baseline serum NfL levels predicted cognitive decline in our study. In contrast to motor decline, NfL levels have been consistently associated with cognitive worsening [2,3]. Similarly, higher baseline plasma NfL levels were associated with cognitive impairment and worsening of global cognition in studies evaluating individuals with and without dementia [12]. Therefore, NfL represents a biomarker with high sensitivity, but low specificity for cognitive impairment also in manifest and advanced PD patients. But our data imply that in the course of disease progression serum NfL levels indicate cognitive worsening.

Discrepancies between cross-sectional and longitudinal findings are due to different parameters measured. In cross-sectional analysis, we evaluated motor and cognitive function itself, whereas for longitudinal assessments we analyzed the further motor or cognitive decline after adjusting for baseline scores. Unfortunately, motor and cognitive scores were not available at one fixed time point for all participants after study

Table 1
Linear regression analysis of NfL levels with clinical and laboratory parameters.

	Model	UPDRS		Hoehn&Yahr		MOCA		hsTnI		NT-proBNP	
		mean difference (95% CI)	P value	mean difference (95% CI)	P value	mean difference (95% CI)	P value	mean factor (95% CI)	P value	mean factor (95% CI)	P value
NfL (per 2-fold increase)	1	2.89 (1.43, 4.36)	<0.001*	0.26 (0.18, 0.34)	<0.001*	-1.25 (-1.76, -0.74)	<0.001*	1.46 (1.30, 1.63)	<0.001*	1.93 (1.70, 2.20)	<0.001*
	2	1.84 (0.06, 3.61)	0.042	0.17 (0.08, 0.27)	0.001*	-0.45 (-1.03, 0.13)	0.125	1.20 (1.07, 1.36)	0.002*	1.49 (1.30, 1.71)	<0.001*
	3							1.18 (1.04, 1.34)	0.012	1.43 (1.24, 1.66)	<0.001*

Linear regression analysis of serum NfL levels with clinical and laboratory parameters

Linear regression analysis with estimated mean differences (beta coefficients), 95% confidence intervals (95% CI) and P values; model 1: unadjusted; model 2: adjusted for age, sex, disease duration, LEDD and BMI; 3: additionally adjusted for dysautonomia, hypertension, hypercholesterolemia, diabetes, prior MI, prior stroke, atrial fibrillation, heart failure, eGFR<60 mL/min * indicates statistical significance after FDR-adjustment for 14 tests. (*P < 0.05).

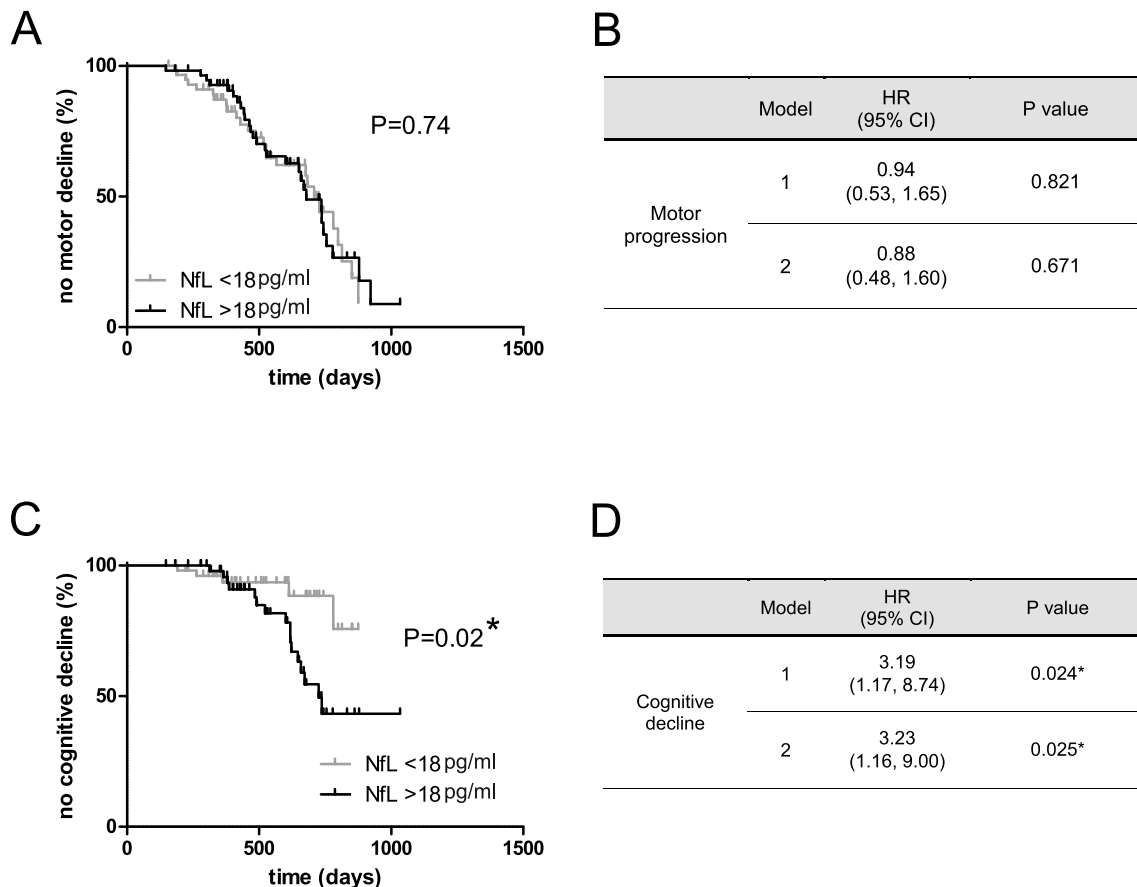


Fig. 1. Serum NfL levels, motor and cognitive decline. (A) Kaplan-Meier plot of motor decline free survival stratified by NfL levels (Log Rank test, $n = 114$). (B) Cox-regression analysis of NfL levels and motor decline free survival with hazard ratios and 95% confidence interval (95% CI); model 1: unadjusted; model 2: adjusted for age, sex, disease duration and baseline UPDRS III). (C) Kaplan-Meier plot of cognitive decline free survival stratified by NfL levels (Log Rank test, $n = 106$). (D) Cox-regression analysis of NfL levels and cognitive decline free survival with hazard ratios and 95% CI; model 1: unadjusted; model 2: adjusted for age, sex, disease duration and baseline MoCA.

inclusion.

Recent biomarker studies have emphasized a link between PD and cardiovascular disease [4,5]. Cardiovascular risk factors predicted worse motor progression in PD patients [5]. Furthermore, subclinical cardiac micro-damage (NT-proBNP, hsTnI) was associated with motor severity in PD patients [4]. Orthostatic hypotension and autonomic dysfunction are potential mechanistic links to explain the association of motor severity with cardiac micro-damage. Although increased NT-proBNP levels were reported in PD patients with compared without orthostatic hypotension [13], we did not observe this link in our study (Supplementary Fig. 3) [4]. Given that PARK2, PARK7 and PARK8-deficient mice develop cardiac hypertrophy accompanied by increased oxidative stress and mitochondrial dysfunction [6–8], intrinsic mechanisms of cardiac damage are also possible [14]. In line with these findings, increased NfL levels, disease severity and subclinical cardiac damage revealed a strong and significant association in our study emphasizing the brain-heart-axis in PD pathology. Blood-based biomarkers of neuronal and cardiac micro-damage were closely associated with each other independent of autonomic dysfunction and cardiovascular risk factors. Genetic PD mouse models revealed an impaired mitochondrial function and increased reactive oxygen species in cardiomyocytes leading to heart failure [7,8]. Therefore, mitochondrial dysfunction and accumulation of reactive oxygen species represent potential common mechanisms for neuronal and cardiac damage in PD.

Limitations of our study are the single center design of our cross-sectional study. Furthermore, a healthy control group was not available, therefore direct case-control comparisons were not possible. Given

that NfL is unspecific and linked with a number of neurological diseases, we cannot rule out that we considered all possible processes of neuronal injury in our PD patients. Furthermore, the follow-up period is quite short for a chronic slowly progressing neurodegenerative disease.

In summary, our study is the first to evaluate the role of NfL in patients with advanced PD. Our findings emphasize the potential of serum NfL to support diagnosis, clinical evaluation and prognosis of PD patients.

Author contributions

C.U.C. and J.K. conceived and designed the study. L.N., A.M., D.L., C.E., J.K. and C.U.C. acquired and analyzed the data. All authors interpreted the data. C.U.C. drafted the manuscript. All other authors revised the manuscript for intellectual content. C.U.C. supervised the clinical part of the study. J.K. supervised the laboratory part of the study. All authors approved the final version of the article to be submitted.

5. Funding agencies

Dr. Choe was supported by an Else Kröner Exzellenzstipendium from the Else Kröner-Fresenius Stiftung (grant number: 2018_EKES.04).

6. Financial disclosures

L.N., S.L., A.M., D.L., C.E. and T.Z. report no disclosures relevant to this manuscript. E.S. reports grants from German Center for

Cardiovascular Research outside the submitted work. C.G. reports personal fees from AMGEN, personal fees from Boehringer Ingelheim, personal fees from Daiichi Sankyo, personal fees from Abbott, personal fees from Prediction Biosciences, personal fees from Novartis, and personal fees from Bayer outside the submitted work. Dr Choe reports personal fees from Pfizer outside the submitted work. J.K.'s institution (University Hospital Basel) received and used exclusively for research support: consulting fees from Novartis and Protagen AG; speaker fees from the Swiss MS Society, Biogen, Novartis, Roche, and Genzyme; travel expenses from Merck Serono and Novartis; and grants from ECTRIMS Research Fellowship Programme, University of Basel, Swiss MS Society, Swiss National Research Foundation, Bayer (Schweiz) AG, Genzyme, Novartis, and Roche.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2021.07.028>.

References

- [1] O. Hansson, S. Janelidze, S. Hall, N. Magdalino, A.J. Lees, U. Andreasson, N. Norgren, J. Linder, L. Forsgren, R. Constantinescu, H. Zetterberg, K. Blennow, F. s. Swedish Bio, Blood-based NfL: a biomarker for differential diagnosis of parkinsonian disorder, *Neurology* 88(10) (2017) 930–937.
- [2] C.H. Lin, C.H. Li, K.C. Yang, F.J. Lin, C.C. Wu, J.J. Chieh, M.J. Chiu, Blood NfL: a biomarker for disease severity and progression in Parkinson disease, *Neurology* 93(11) (2019) e1104–e1111.
- [3] L.P. Oosterveld, I.M.W. Verberk, N.K. Majbour, O.M. El-Agnaf, H.C. Weinstein, H. W. Berendse, C.E. Teunissen, W.D.J. van de Berg, CSF or serum neurofilament light added to alpha-Synuclein panel discriminates Parkinson's from controls, *Mov Disord* 35(2) (2020) 288–295.
- [4] C.U. Choe, L. Niemann, C. Englisch, E. Petersen, C. Buhmann, M. Potter-Nerger, S. Blankenberg, C. Gerloff, E. Schwedhelm, T. Zeller, Subclinical cardiac microdamage, motor severity, and cognition in Parkinson's disease, *Mov Disord* 35(10) (2020) 1863–1868.
- [5] B. Mollenhauer, J. Zimmermann, F. Sixel-Doring, N.K. Focke, T. Wicke, J. Ebentheuer, M. Schaumburg, E. Lang, T. Friede, C. Trenkwalder, G. DeNoPa Study, Baseline predictors for progression 4 years after Parkinson's disease diagnosis in the De Novo Parkinson cohort (DeNoPa), *Mov. Disord.* 34 (1) (2019) 67–77.
- [6] P. Bhandari, M. Song, Y. Chen, Y. Burelle, G.W. Dorn 2nd, Mitochondrial contagion induced by Parkin deficiency in Drosophila hearts and its containment by suppressing mitofusin, *Circ Res* 114(2) (2014) 257–265.
- [7] F. Billia, L. Hauck, D. Grothe, F. Konecny, V. Rao, R.H. Kim, T.W. Mak, Parkinson-susceptibility gene DJ-1/PARK7 protects the murine heart from oxidative damage in vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110 (15) (2013) 6085–6090.
- [8] F. Billia, L. Hauck, F. Konecny, V. Rao, J. Shen, T.W. Mak, PTEN-inducible kinase 1 (PINK1)/Park6 is indispensable for normal heart function, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108 (23) (2011) 9572–9577.
- [9] A. Faust-Socher, S. Duff-Canning, A. Grabovsky, M.J. Armstrong, B. Rothberg, P. J. Eslinger, C.A. Meaney, R.B. Schneider, D.F. Tang-Wai, S.H. Fox, C. Zadikoff, N. Kennedy, K.L. Chou, C. Persad, I. Litvan, B.T. Mast, A.T. Gerstenecker, S. Weintraub, W. Reginold, C. Marras, Responsiveness to change of the montreal cognitive assessment, mini-mental state examination, and SCOPA-cog in Non-Demented patients with Parkinson's disease, *Dement. Geriatr. Cognit. Disord.* 47 (4–6) (2019) 187–197.
- [10] K. Horvath, Z. Aschermann, P. Acs, G. Deli, J. Janszky, S. Komoly, E. Balazs, K. Takacs, K. Karadi, N. Kovacs, Minimal clinically important difference on the Motor Examination part of MDS-UPDRS, *Park. Relat. Disord.* 21 (12) (2015) 1421–1426.
- [11] R. Sutter, L. Hert, G.M. De Marchis, R. Twerenbold, L. Kappos, Y. Naegelin, G. M. Kuster, P. Benkert, J. Jost, A.M. Maceski, S. Ruegg, M. Siegemund, D. Leppert, S. Tschudin-Sutter, J. Kuhle, Serum neurofilament light chain levels in the intensive care unit: comparison between severely ill patients with and without coronavirus disease 2019, *Ann Neurol* 89(3) (2021) 610–616.
- [12] M.M. Mielke, J.A. Syrjanen, K. Blennow, H. Zetterberg, P. Vemuri, I. Skoog, M. M. Machulda, W.K. Kremers, D.S. Knopman, C. Jack Jr., R.C. Petersen, S. Kern, Plasma and CSF neurofilament light: relation to longitudinal neuroimaging and cognitive measures, *Neurology* 93 (3) (2019) e252–e260.
- [13] M. Alves, D. Caldeira, S. Reimao, J.M. Ferro, J.J. Ferreira, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in Parkinson's disease, *Mov Disord* 35(10) (2020) 1886–1887.
- [14] C.U. Choe, M. Potter-Nerger, C. Buhmann, S. Blankenberg, C. Gerloff, E. Schwedhelm, T. Zeller, Reply to: "Parkin deficiency appears not to be associated with cardiac damage in Parkinson's disease, *Mov Disord* 36(1) (2021) 273–274.

2. Darstellung der Publikation

2.1 Einleitung

Morbus Parkinson gehört zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen in Mitteleuropa und Nordamerika (Berg 2016) und ist nach der Alzheimer-Erkrankung die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung der Welt (Tysnes und Storstein 2017). Abgesehen vom obligaten Hauptsymptom der Hypo-/Bradykinese äußert sich der Morbus Parkinson neben Rigor, Tremor und posturaler Instabilität auch durch nicht-motorische Symptome wie autonome Störungen, neuropsychiatrische Symptome und kognitive Störungen (Berg 2016). Zur Diagnostik und Einordnung der Schwere der Erkrankung werden unter anderem motorische und kognitive Scores eingesetzt, wodurch die Diagnose insbesondere klinisch gestellt wird (Berg 2016). Bezüglich Blut-basierter Biomarker in Hinblick auf Diagnosestellung und Einschätzung der Schwere der Erkrankung gibt es viele verschiedene Ansätze, die aktuell untersucht werden. Einer davon bezieht sich auf Neurofilament light chain (NfL). Neurofilament light chain ist eine der verschiedenen Untereinheiten von Neurofilamenten und damit ein spezifisches Protein des neuronalen Zytoskeletts (Gaetani et al. 2019, Lin et al. 2018). Bei axonalem Schaden, welcher gehäuft z.B. bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Parkinson entsteht, wird NfL in den Liquor sowie auch in das Blut freigesetzt (Gaetani et al. 2019, Lin et al. 2018). Verschiedene Studien haben bereits die Serum-NfL-Konzentration bei Patienten mit Morbus Parkinson im Vergleich zu gesunden Kontrollen untersucht, wobei sich unterschiedliche Ergebnisse zeigten. Schließlich wurden auch Assoziationen der Serum-NfL-Konzentration mit klinischen Parametern untersucht. So konnte in einer Studie von Hansson et al. bei Patienten mit Morbus Parkinson im Gegensatz zu gesunden Kontrollen keine besondere Erhöhung der Serum-NfL-Konzentration nachgewiesen werden, während die Serum-NfL-Konzentration bei Patienten mit atypischen Parkinson-Syndromen signifikant erhöht war. Auch bezüglich der motorischen Funktion war nicht in allen Kohorten eine Korrelation mit den Serum-NfL-Werten zu erkennen (Hansson et al. 2017, Parnetti et al. 2019). Dagegen konnte beispielsweise in einer Studie von Lin et al. aus 2019 eine Korrelation der Plasma-NfL-Konzentrationen mit Erkrankungsschwere und Progression in Bezug auf Motorik und Kognition nachgewiesen werden. Probanden mit höheren NfL-Ausgangswerten hatten dort ein höheres Risiko für eine motorische und kognitive Verschlechterung im Verlauf (Lin et al. 2019). Eine niederländische Studie, in welcher in einer Kohorte von 139 Patienten mit Morbus Parkinson sowie 52 gesunden Kontrollen die Liquor- sowie Serum-Konzentrationen von NfL untersucht wurden, ergab eine inverse Assoziation der Serum-NfL-Werte mit der kognitiven Funktion, während dort keine Assoziation mit der motorischen Funktion ersichtlich war (Oosterveld et al. 2019). Die meisten bisherigen Studien untersuchen Patienten in einem

frühen Stadium des Morbus Parkinson und versuchen beispielsweise eine frühe Diagnose von Parkinson-Syndromen zu ermöglichen beziehungsweise die Unterscheidung zwischen Morbus Parkinson und atypischen Parkinson-Syndromen zu erleichtern, während es kaum Studien zu Assoziationen der Serum-NfL-Konzentration zu klinischen Parametern und Prognose bei Patientenkollektiven mit fortgeschrittenem Morbus Parkinson gibt. Des Weiteren konnten auch Assoziationen zwischen subklinischen kardialen Schäden und vaskulären Risikofaktoren mit der motorischen Funktion und Progression des Morbus Parkinson dargestellt werden. So konnten wir bereits 2020 in einem Patientenkollektiv von 285 Patienten der MARK-PD-Studie eine signifikante Erhöhung der Konzentration von N-terminalem pro B-Typ natriuretischem Peptid (NT-proBNP) im Vergleich zu gesunden Kontrollen nachweisen (Choe et al. 2020). Weiterhin waren erhöhte Konzentrationen von hochsensitivem Troponin I (hs-TnI) sowie erhöhte NT-proBNP-Konzentrationen mit einer schlechteren motorischen Funktion zum Ausgangszeitpunkt sowie einer motorischen Verschlechterung nach einem Jahr assoziiert, sodass gemeinsame pathophysiologische und zelluläre Mechanismen für neuronale und kardiale Schäden vermutet werden (Choe et al. 2020). Passend dazu existieren genetische Morbus Parkinson-Mausmodelle, die Zeichen von Kardiomyopathie zeigen (Billia et al. 2011). Insgesamt ist die Assoziation von Biomarkern neurologischer und kardialer Schäden bei Patienten mit Morbus Parkinson wenig untersucht.

In dieser Studie soll die Assoziation von NfL im Serum zu Motorik, Kognition und subklinischen kardialen Schäden bei Patienten mit fortgeschrittenem Morbus Parkinson untersucht werden. Hierfür analysierten wir die Serum-NfL-Konzentrationen von 289 Patienten mit Morbus Parkinson aus der „Biomarker in Parkinson's disease“-Studie und verglichen diese mit der motorischen und kognitiven Funktion sowie auch kardialen Biomarkern.

2.2 Methoden

2.2.1 Studiendesign und Probanden

Die „Biomarker in Parkinson's disease“-Studie (Mark-PD-Studie) ist eine prospektive unizentrische Beobachtungsstudie mit Biobank, die am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchgeführt wird (Choe et al. 2020). In diese Studie wurden bisher 292 Patienten mit Morbus Parkinson eingeschlossen. Die Einschlusskriterien waren ein Alter über 18 Jahre sowie die klinische Diagnose von Morbus Parkinson durch das Erfüllen der Queen Square Brain Bank-Kriterien. Alle Probanden unterzeichneten eine schriftliche Einverständniserklärung. Das Studienprotokoll wurde durch das Ethikkomitee der Hamburger Ärztekammer genehmigt (PV5298).

2.2.2 Klinische Beurteilung

Die motorische und kognitive Funktion der Patienten wurden mithilfe des Movement Disorders Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale – Teil III (MDS-UPDRS III), des Hoehn & Yahr -Stadiums beziehungsweise des Montreal Cognitive Assessment-Tests (MoCA) erhoben. Der MDS-UPDRS III ist einer von vier Teilen eines klinischen Assessments zur Beurteilung von Morbus Parkinson. In Teil III wird die motorische Funktion des Probanden evaluiert, während in den anderen Abschnitten auch nicht-motorische und motorische Erfahrungen des täglichen Lebens sowie motorische Komplikationen beurteilt werden (Goetz et al. 2008). So wird im MDS-UPDRS III unter anderem die Sprache, der Gesichtsausdruck sowie mittels verschiedener kurzer motorischer Übungen die Motorik in Bezug auf die typischen Symptome des Morbus Parkinson wie Tremor, posturaler Instabilität, Bradykinese, Rigor und auch das Gangbild beurteilt (Goetz et al. 2008). Es können dort insgesamt bis zu 132 Punkte erreicht werden, wobei eine hohe Punktzahl für eine stärkere motorische Beeinträchtigung spricht (Goetz et al. 2008). Der MoCA ist ein durch Z.S. Nasreddine entwickelter einseitiger, in ca. zehn Minuten durchführbarer Test zur Beurteilung der kognitiven Funktion. In dem Test können bis zu 30 Punkte erreicht werden. Dabei werden die Probanden mittels kurzer Aufgaben unter anderem in den Bereichen Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Konzentration, visuospatialer Funktion, Sprache und exekutiver Funktionen beurteilt (Nasreddine et al. 2005). So müssen hierbei beispielsweise Tiere benannt werden, Wörter erinnert werden und ein Würfel sowie eine Uhr mit einer bestimmten Zeitangabe gezeichnet werden (Nasreddine et al. 2005). Die Tests wurden bezüglich Medikation und Tiefer Hirnstimulation im ON-Status durchgeführt. Als motorische beziehungsweise kognitive Verschlechterung wurde ein Anstieg um mehr als 4 Punkte im MDS-UPDRS III und ein Abfall um mehr als 2 Punkte im MoCA-Test definiert. Die medizinische Vorgeschichte bezüglich Vorerkrankungen wie arteriellem Hypertonus, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, stattgehabtem Myokardinfarkt oder Schlaganfall, Herzinsuffizienz und Vorhofflimmern sowie die aktuelle Medikation, die Krankheitsdauer, das Vorhandensein von Hirnschrittmachern und Laborparameter wie CRP und GFR wurden aus Patientenakten sowie durch Befragung der Patienten erfasst.

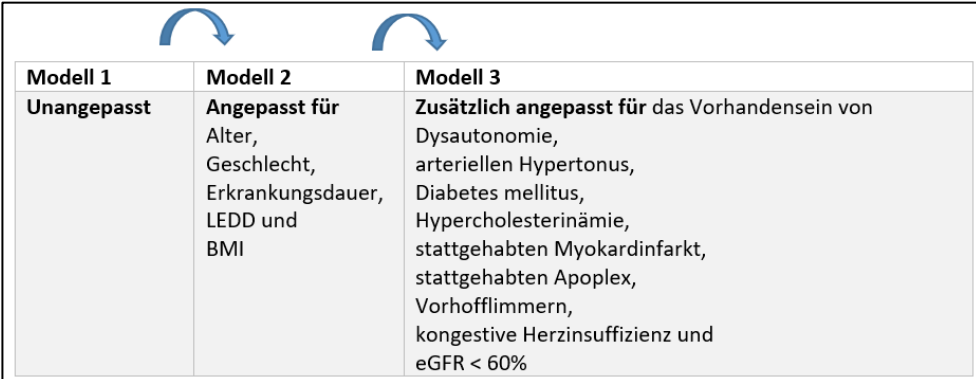
2.2.3 Laboranalysen

Die laborchemischen Analysen erfolgten mithilfe bei Studieneinschluss beziehungsweise bei Zeitpunkt des Follow-ups entnommenen Blutproben. Nach Zentrifugation der Blutproben wurden diese bis zu den Biomarker-Analysen bei – 80°C eingefroren. Das hochsensitive Troponin I (hs-TnI) wurde mittels hochsensitivem TnI-Immunoassay (STAT high sensitive troponin-I, Abbott Diagnostics, USA, ARCHITECT i2000SR) gemessen. Die Messung von NT-proBNP erfolgte mithilfe eines Elektrochemiluminescence-Immunoassays des Cobas e411 (proBNBPtII, ECLIA, Roche Diagnostics). Die Messwerte von ApoA1,

ApoB, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin (LDL-C) wurden mithilfe Clinical chemistry Assays des Abott c8000 Systems (Apolipoprotein A1, Apolipoprotein B, ULTRA HDL And Direct LDL; Abbott Diagnostics, USA) bestimmt. Die Bestimmung der Serum-NfL-Werte erfolgte mittels Single Molecule array (Simoa) NF-Light Assay (Quanterix) auf der HDX-Plattform.

2.2.4 Statistische Analysen

Kontinuierliche Variablen wurden, wenn normalverteilt, als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben, ansonsten als Medianwert (25.-75. Perzentile). Kategoriale Variablen wurden als Anzahl beziehungsweise prozentualer Anteil der Teilnehmer angegeben. Da NfL nicht normalverteilt ist, wurden Zusammenhänge zwischen NfL und kontinuierlichen Variablen mittels Spearman-Korrelation mit FDR-Korrektur für multiple Vergleichsanalysen ermittelt. Für lineare Regressionsanalysen wurden die logarithmierten Werte der NfL-Konzentrationen genutzt (Beta-Koeffizient und 95%-Konfidenzintervall). Für die linearen Regressionsanalysen wurden je nach Variable die mittlere Differenz beziehungsweise die mittleren Faktoren für drei verschiedene Modelle berechnet (siehe Abbildung 1). Statistische Vergleiche von zwei unabhängigen Gruppen erfolgten durch den T-Test, den Mann-Whitney-Test oder den χ^2 -Test. Um NfL-Level-Gruppen in Bezug auf die Ereigniszeitanalyse zu beschreiben wurden Log-rank-Tests benutzt und diese in Kaplan-Meier-Kurven dargestellt. Die unabhängige Assoziation zwischen NfL und verschiedenen Ereignissen wurde mittels multivariabler Cox-Regressionsanalyse bestimmt und als Hazard Ratio mit korrespondierendem 95%-Konfidenzintervall angegeben. Für die Cox-Regressionsanalyse wurden ebenfalls verschiedene Modelle berechnet: Ein unangepasstes Modell (Modell 1) und ein für Alter, Geschlecht, Krankheitsdauer und den jeweiligen Ausgangsscore (z.B. UPDRS Teil III oder MoCA) angepasstes Modell (Modell 2). Die Signifikanz der Ergebnisse wurde mithilfe der FDR-Korrektur beurteilt. Die statistischen Analysen erfolgten mithilfe IBM SPSS Statistics (Version 27, IBM Corp., Armonk, NY) und Graph Pad Prism (Version 9 für Windows, La Jolla, USA).



Modell 1	Modell 2	Modell 3
Unangepasst	Angepasst für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, LEDD und BMI	Zusätzlich angepasst für das Vorhandensein von Dysautonomie, arteriellen Hypertonus, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie, stattgehabten Myokardinfarkt, stattgehabten Apoplex, Vorhofflimmern, kongestive Herzinsuffizienz und eGFR < 60%

Abbildung 1: Modelle für die lineare Regressionsanalyse

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Merkmale der Probanden

In diese Studie wurden 292 Probanden der MARK-PD-Studie eingeschlossen. Hiervon wurden drei Patienten, bei denen die Blutentnahme einen Tag nach Operation mit Tiefer Hirnstimulation (DBS) stattfand und deren NfL-Serum-Wert signifikant höher war als bei Patienten ohne kurz vorangegangene Operation, ausgeschlossen. Von den insgesamt 289 Patienten waren 63,7% männlichen und 36,3% weiblichen Geschlechts. Das Durchschnittsalter betrug $66,7 \pm 9,4$ Jahre, die durchschnittliche Krankheitsdauer lag bei 11 [7,0; 16,0] Jahren. Ein Follow-up mit motorischen Scores wurde bei 114 Probanden durchgeführt, während ein Follow-up mit kognitiven Scores bei 106 Patienten durchgeführt wurde (siehe Abbildung 2).

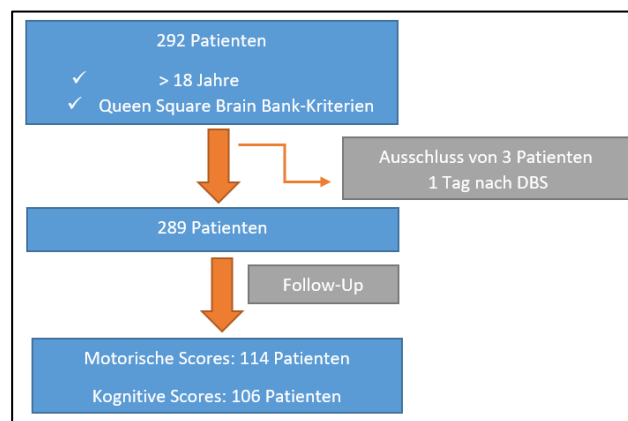


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Probandenmerkmale

2.3.2 Zusammenhang zwischen Serum-NfL-Werten, motorischer und kognitiver Funktion

Es war eine signifikante Korrelation der Serum-NfL-Konzentrationen mit Alter, Body-Mass-Index, UPDRS III, Hoehn & Yahr -Stadium sowie MoCA-Score in unserer Morbus-Parkinson-Kohorte erkennbar. Die univariable lineare Regressionsanalyse zeigte eine signifikante Assoziation von NfL mit dem Hoehn & Yahr -Stadium, welche auch nach Anpassung für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, LEDD und BMI signifikant blieb. Bei einer Verdopplung der Serum-NfL-Konzentration zeigte sich eine Erhöhung des Hoehn & Yahr -Stadiums um 0,17 (siehe Tabelle 1). In der Spearman-Korrelationsanalyse sowie auch in unangepassten und für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, LEDD und BMI angepassten linearen Regressionsmodellen zeigte sich eine Assoziation zwischen den Serum-NfL-Werten und den UPDRS III-Werten. Nach FDR-Korrektur für multiple Vergleichsanalysen war dieser Zusammenhang jedoch nicht mehr signifikant. In der Spearman-Korrelationsanalyse sowie in der unangepassten linearen Regression zeigte sich

eine signifikante inverse Assoziation der Serum-NfL-Werte mit der kognitiven Funktion in Form des MoCA-Scores. Wie in Tabelle 1 ersichtlich, zeigte sich bei einer Verdopplung der Serum-NfL-Konzentration eine Abnahme des MoCA-Scores. Diese war nach Anpassung für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, LEDD und BMI jedoch nicht mehr signifikant.

		UPDRS		Hoehn&Yahr		MOCA	
Model		mean difference (95% CI)	P value	mean difference (95% CI)	P value	mean difference (95% CI)	P value
NfL (per 2-fold increase)	1	2.89 (1.43, 4.36)	<0.001*	0.26 (0.18, 0.34)	<0.001*	-1.25 (-1.76, -0.74)	<0.001*
	2	1.84 (0.06, 3.61)	0.042	0.17 (0.08, 0.27)	0.001*	-0.45 (-1.03, 0.13)	0.125
	3						

Tabelle 1: Lineare Regressionsanalyse der NfL-Serum-Werte mit klinischen Parametern

Lineare Regressionsanalyse mit den geschätzten mittleren Differenzen (Beta-Koeffizienten), 95%-Konfidenzintervallen (95% CI) und P-Werten; für die unterschiedlichen Modelle siehe Abbildung 1; * gibt statistische Signifikanz nach FDR-Anpassung für 14 Tests an (* P <0.05)

2.3.3 Zusammenhang zwischen Serum-NfL-Werten, motorischer und kognitiver Verschlechterung

Nach einem Follow-Up von 520 [364, 674] Tagen kam es bei 54 von 114 Patienten (47,36%) zu einer motorischen Verschlechterung. Nach Einteilung der Probanden in Gruppen mit Serum-NfL-Werten ober- und unterhalb des Medians ergab sich in der Ereigniszeitanalyse keine Assoziation zur motorischen Verschlechterung. Insgesamt kam es bei 21 von 106 Patienten im Rahmen des Follow-ups zu einer kognitiven Verschlechterung. Wie in Abbildung 3 erkennbar, zeigte sich hierbei ein signifikanter Unterschied zwischen Morbus Parkinson-Patienten mit Serum-NfL-Werten ober- und unterhalb des Medians bezüglich der Zeit bis zur kognitiven Verschlechterung. Nach Anpassung für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer und Ausgangs-MoCA-Score blieben Serum-NfL-Konzentrationen oberhalb des Medians ein unabhängiger Prädiktor für eine kognitive Verschlechterung in der Cox-Regressionsanalyse.

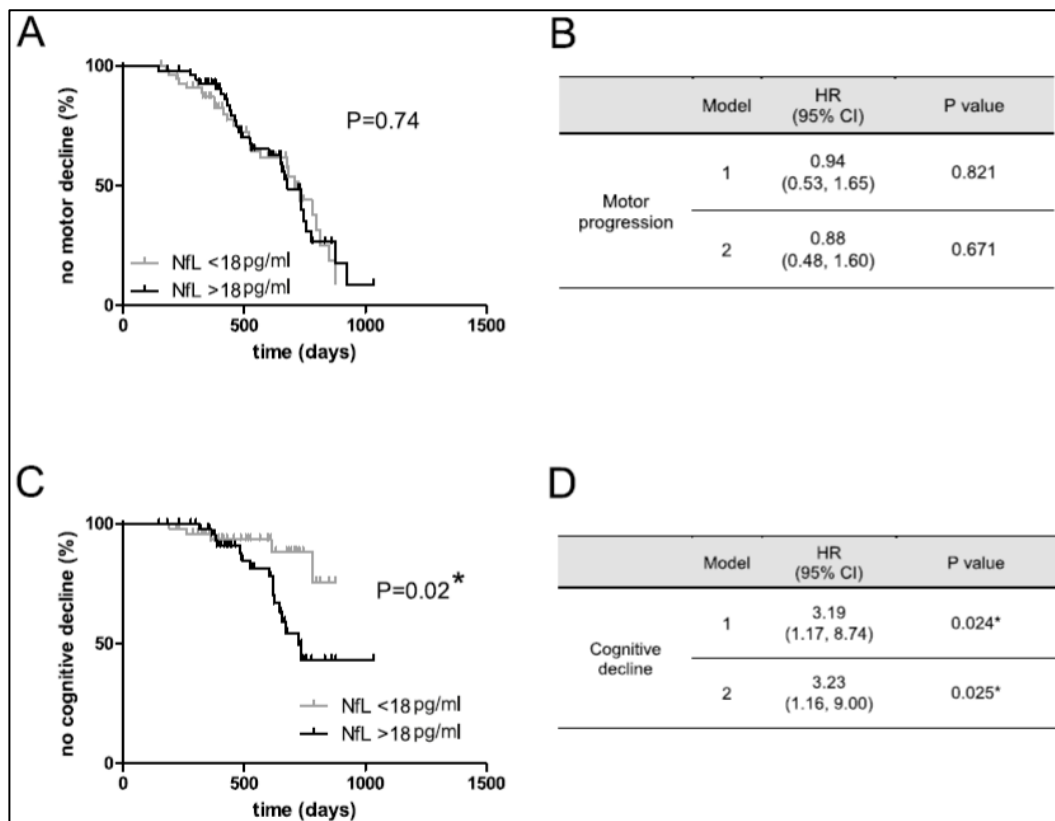


Abbildung 3: Serum-NfL-Werte, motorische und kognitive Verschlechterung

A) Kaplan-Meier-Kurve für motorische Verschlechterung eingeteilt nach NfL Serum-Werten unterhalb und oberhalb des Medians von 18 pg/ml (Log Rank test, n = 114).

B) Cox-Regressionsanalyse von Serum-NfL-Leveln mit motorischer Verschlechterung mit Hazard Ratios und 95%-Konfidenzintervall (95% CI); Modell 1: unangepasst; Modell 2: angepasst für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, und Ausgangs-UPDRS III

C) Kaplan-Meier-Kurve für kognitive Verschlechterung eingeteilt durch NfL-Serum-Werte unterhalb und oberhalb des Medians von 18 pg/ml (Log Rank test, n = 106).

D) Cox-Regressionsanalyse von Serum-NfL-Leveln mit kognitiver Verschlechterung mit Hazard Ratios und 95%-Konfidenzintervall; Modell 1: unangepasst; Modell 2: angepasst für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, und Ausgangs-MoCA

2.3.4 Zusammenhang zwischen Serum-NfL-Werten und subklinischen kardialen Schäden

Zur weiteren Betrachtung der Herz-Gehirn-Achse bei Morbus Parkinson wurden zudem potenzielle Verbindungen zwischen der Serum-NfL-Konzentration und Blut-basierten Biomarkern subklinischen Schadens, wie hochsensitives Troponin I und NT-proBNP, untersucht. Hierbei zeigte sich in für Alter, Geschlecht, Krankheitsdauer und BMI-angepassten Modellen eine starke und signifikante Korrelation zwischen der Serum-NfL-Konzentration und hsTnI sowie NT-proBNP. Nach zusätzlicher Anpassung für vaskuläre Risikofaktoren (siehe Modell 3 in Tabelle 2) blieb nur die Assoziation zwischen Serum-NfL und NT-proBNP signifikant. So konnte bei einer Verdopplung der Serum-NfL-Konzentration ein 1,43-fach erhöhtes NT-proBNP nachgewiesen werden. Nach Unterteilung der Morbus Parkinson-Patienten in Gruppen mit oder ohne den jeweiligen Risikofaktor arterieller Hy-

hypertonus, stattgehabter Myokardinfarkt und vorbestehender Herzinsuffizienz, zeigten sich in den jeweiligen Gruppen signifikante Unterschiede in Bezug auf die Höhe der Serum-NfL-Konzentrationen.

Model	hsTnI		NT-proBNP	
	mean factor (95% CI)	P value	mean factor (95% CI)	P value
1	1.46 (1.30, 1.63)	<0.001*	1.93 (1.70, 2.20)	<0.001*
NfL (per 2-fold increase)				
2	1.20 (1.07, 1.36)	0.002*	1.49 (1.30, 1.71)	<0.001*
3	1.18 (1.04, 1.34)	0.012	1.43 (1.24, 1.66)	<0.001*

Tabelle 2: Lineare Regressionsanalyse der NfL-Serum-Werte mit laborchemischen Parametern

Lineare Regressionsanalyse mit den geschätzten mittleren Differenzen (Beta-Koeffizienten), 95%-Konfidenzintervallen (95% CI) und P-Werten; für die unterschiedlichen Modelle siehe Abbildung 1; * gibt statistische Signifikanz nach FDR-Anpassung für 14 Tests an (* P <0.05)

2.3.5 Altersadaptierte Serum-NfL-Cut-Off-Werte

Da NfL eine starke Altersabhängigkeit zeigt, erfolgte noch die Umwandlung der Serum-NfL-Werte der Probanden in altersangepasste Perzentilen und der Vergleich mit veröffentlichten Serum-NfL-Werten gesunder Kontrollen aus der Studie von Sutter (Sutter et al. 2021). Das mediane Perzentil von Morbus Parkinson-Patienten in der MARK-PD-Studie lag bei 95,0 [83,0; 99,2]. 47,4% der Patienten mit Morbus Parkinson hatten adjustierte NfL-Werte oberhalb der 95. Perzentile bezogen auf ein gesundes Normalkollektiv. Nach Unterteilung der Probanden mit Morbus Parkinson in Probanden mit Serum-NfL-Konzentrationen ober- und unterhalb der 95. Perzentile gesunder Kontrollen durch mediane Split-Analyse zeigten sich ähnliche Ergebnisse. Alter, BMI, vaskuläre Risikofaktoren (z.B. Dysautonomie, arterieller Hypertonus, stattgehabter Myokardinfarkt), UPDRS-III-Score, Hoehn & Yahr -Stadium, MoCA-Score, der Anteil an Probanden mit einer eGFR < 60 ml/min, hsTnI- und NT-proBNP-Konzentrationen zeigten sich signifikant unterschiedlich zwischen beiden Gruppen. In der linearen Regressionsanalyse ohne Anpassung für weitere Merkmale zeigten sich nach Gliederung in altersadaptierte Perzentilen signifikante Unterschiede bezüglich UPDRS-III, Hoehn & Yahr -Stadium, MoCA-Score, hsTnI und NT-proBNP in den beiden Gruppen. Nur die Assoziation zwischen Serum-NfL-Werten mit dem Hoehn & Yahr -Stadium und mit NT-proBNP blieb auch in für Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, LEDD und BMI bzw. bei NT-proBNP zusätzlich für vaskuläre Risikofak-

toren angepassten Modellen signifikant. Somit blieben die Hauptergebnisse beim Gebrauch von altersangepassten Perzentilen unverändert.

2.4 Diskussion

In dieser Studie werden Zusammenhänge zwischen der Serum-NfL-Konzentration und Motorik, Kognition sowie subklinischen kardialen Schäden bei Patienten mit fortgeschrittenem Morbus Parkinson beleuchtet. Während vorausgegangene Studien, wie zum Beispiel die Studie von Mollenhauer et al. aus 2020, vor allem Patienten mit beginnendem Morbus Parkinson untersuchen, zeigt diese Studie das diagnostische Potenzial der Serum-NfL-Konzentration bei Patienten mit fortgeschrittenem Morbus Parkinson auf. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer in dieser Studie betrug elf Jahre. Bei 63% der Probanden bestanden motorische Fluktuationen, bei 33% der Probanden erfolgte zudem eine Therapie durch tiefe Hirnstimulation.

Nebenbefundlich zeigten sich bei drei Probanden, bei denen die Blutentnahme unmittelbar einen Tag nach der Implantation von Elektroden zur Tiefen Hirnstimulation stattfand, im Vergleich zu Probanden ohne kürzlich stattgehabte Operation signifikant erhöhte Serum-NfL-Werte, sodass diese von der Studie ausgeschlossen wurden. Unsere Messungen decken sich hierbei mit den Ergebnissen von Frank et al., welche eine erhöhte Serum-NfL-Konzentration bei Patienten nach kürzlich stattgefundener Implantation von Elektroden für Tiefe Hirnstimulation nachwiesen (Frank et al. 2022) und den Ausschluss der drei Probanden unserer Studie damit rechtfertigen. Circa 8 Monate nach der Operation waren die Serum-NfL-Werte der Probanden in der Studie von Frank et al. wieder auf das Ausgangsniveau abgefallen und es zeigte sich nach Aktivieren der Elektroden zur Tiefen Hirnstimulation kein Anstieg der Serum-NfL-Werte, sodass der temporäre Serum-NfL-Anstieg auf den operativen Eingriff und nicht auf die Stimulation an sich bezogen wurde. (Frank et al. 2022)

Wir konnten eine signifikante Assoziation zwischen der Serum-NfL-Konzentration und der motorischen Beeinträchtigung im Hinblick auf das Hoehn & Yahr -Stadium beobachten. Eine aktuellere Studie von Huang et al. aus 2022, welche bei Patienten mit Morbus Parkinson signifikant erhöhte Serum-NfL-Konzentrationen im Vergleich zu Patienten mit essentiell Tremor sowie gesunden Kontrollen nachwies, zeigte ebenfalls eine positive Korrelation der Serum-NfL-Werte mit dem Hoehn & Yahr -Stadium (Huang et al. 2022). Die bei Huang et al. auch nachgewiesene positive Korrelation der Serum-NfL-Werte mit dem UPDRS-III-Score (Huang et al. 2022) war in der MARK-PD-Kohorte nicht signifikant. Eine in verschiedenen Studien, wie beispielsweise in der Studie von Lin et al. 2019 nachgewiesene Assoziation zwischen erhöhten Ausgangs-NfL-Serum-Konzentrationen und motorischer Verschlechterung im Verlauf (Lin et al. 2019), konnten wir in unserer Studie

nicht feststellen. Dieses kann möglicherweise auch darin begründet sein, dass das Kriterium einer motorischen Verschlechterung in den beiden Studien unterschiedlich definiert wurde. Während wir eine motorische Verschlechterung bei einer Erhöhung des UPDRS III um mehr als 4 Punkte im ON-Stadium definierten, wurde diese bei Lin et al. als Erhöhung des UPDRS III um mehr als 2 Punkte im OFF-Stadium definiert (Lin et al. 2019). Eine weitere mögliche Ursache der Diskrepanz kann sein, dass die Serum-NfL-Konzentration bei fortgeschrittener Erkrankung weniger aussagekräftig ist als bei Patienten in einem frühen Krankheitsstadium des Morbus Parkinson.

Während in Querschnittsdaten dieser Studie keine Assoziation zwischen der Serum-NfL-Konzentration und der kognitiven Funktion ersichtlich war, war anhand der Serum-NfL-Konzentration jedoch die kognitive Verschlechterung prognostizierbar. Morbus Parkinson-Patienten mit Serum-NfL-Leveln ober- beziehungsweise unterhalb des Medians unterschieden sich signifikant in Bezug auf die Zeit bis zur kognitiven Verschlechterung. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Ergebnissen weiterer Studien. So war ebenso in der Studie von Lin et al. aus 2019 ein höherer Serum-NfL-Wert bei Patienten mit Morbus Parkinson mit einem höheren Risiko einer kognitiven Verschlechterung assoziiert (Lin et al. 2019). Auch in einer Studie von Sampedro et al. zeigten sich erhöhte Serum-NfL-Werte bei Patienten mit Morbus Parkinson, welche mit einer schlechteren kognitiven Funktion vergesellschaftet waren (Sampedro et al. 2020). Genauso war in einer Studie von Oosterveld et al. aus 2019 eine höhere Serum-NfL-Konzentration mit einem niedrigeren MMSE-Score assoziiert (Oosterveld et al. 2019). Es muss jedoch bedacht werden, dass Neurofilament light chain ein sehr unspezifischer Marker ist und mit vielen neurologischen Erkrankungen assoziiert ist (Gaetani et al. 2019), sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass andere Prozesse neurologischer Schädigung eine Rolle in der Höhe des Serum-NfL-Wertes spielen. So war eine erhöhte Ausgangs-Serum-NfL-Konzentration auch in einer Studie mit kognitiv unbeeinträchtigten Probanden bzw. Probanden mit leichter kognitiver Störung (MCI) ein prognostischer Marker für kognitive Verschlechterung (Mielke et al. 2019). Eine Studie von Lin et al. aus 2018 untersuchte die Plasma-NfL-Konzentrationen bei Patienten mit Alzheimer-Demenz, Patienten mit Morbus Parkinson mit und ohne Demenz sowie kognitiv gesunden Kontrollen und Patienten mit leichter kognitiver Störung (MCI). Hierbei zeigten sich signifikant höhere Plasma-NfL-Konzentrationen bei Patienten mit Alzheimer-Demenz im Vergleich zu allen anderen genannten Gruppen. Zudem waren die Plasma-NfL-Werte bei Patienten mit Morbus Parkinson mit Demenz signifikant höher als bei Parkinson-Patienten ohne Demenz. Insgesamt zeigte sich in allen Gruppen eine Erhöhung der Plasma-NfL-Werte mit dem Alter (Lin et al. 2018). In einer Studie von Park et al. wurde neben einer unabhängigen positiven Korrelation mit dem Alter zudem eine unabhängige positive Korrelation der Plasma-NfL-Konzentration mit Er-

krankungsdauer und orthostatischer Hypotension nachgewiesen (Park et al. 2021). In einer Gruppe von Parkinson-Patienten in einem frühen Erkrankungsstadium sowie Kontrollen, zeigten sich hier die höchsten Plasma-NfL-Konzentrationen bei Patienten, die zusätzlich unter einer mit einem schlechteren klinischen Outcome verbundenen orthostatischen Hypotension litten sowie bei Patienten, bei denen im Verlauf letztendlich atypische Parkinson-Syndrome diagnostiziert wurden (Park et al. 2021). So hat NfL eine hohe Sensitivität, aber niedrige Spezifität. Trotzdem zeigen die Daten unserer Studie, dass hohe Serum-NfL-Level im Krankheitsverlauf einen Indikator für eine kognitive Verschlechterung darstellen. In einer aktuelleren Studie der MARK-PD-Kohorte zeigten Patienten mit Serum-NfL-Konzentrationen über der altersadaptierten 95. Perzentile eine signifikant schnellere kognitive Verschlechterung als Patienten unterhalb der 95. Perzentile, sodass eine unabhängige Assoziation von Serum-NfL-Konzentrationen über der altersadaptierten 95. Perzentile mit kognitiver Verschlechterung angenommen wird (Buhmann et al. 2022). Eine Studie von Aamodt et al., welche nach der Veröffentlichung unserer Studie erschien, zeigte ebenfalls, dass Patienten mit Morbus Parkinson mit einer hohen Plasma-NfL-Konzentration häufiger zu einer kognitiven Verschlechterung im Verlauf tendierten (Aamodt et al. 2021). Nach weiteren Analysen diente hier ein Plasma-NfL-Wert von 14,6 pg/ml als optimaler Cut-Off-Wert und damit Hinweis für eine kognitive Verschlechterung im Verlauf (Aamodt et al. 2021). Eine Anwendung dieses Cut-off-Werts in der MARK-PD-Kohorte ergab hier keine Assoziation zu einer schnelleren kognitiven Verschlechterung, sodass auch in dieser Hinsicht altersadaptierte Cut-off-Werte vielversprechender erscheinen (Buhmann et al. 2022).

Im Weiteren konnte in unserer Studie eine signifikante Assoziation zwischen erhöhten Serum-NfL-Konzentrationen, Krankheitsschwere und subklinischen kardialen Schäden dargestellt werden, welche die Theorie einer Herz-Gehirn-Achse bestärkt. So zeigte sich in dieser Studie auch nach Anpassung von vaskulären Risikofaktoren eine signifikante Assoziation zwischen der Serum-NfL-Konzentration und NT-proBNP. Bereits in einer vorherigen Studie mit der MARK-PD-Kohorte zeigten sich im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant erhöhte hsTnI- sowie NT-proBNP-Werte bei Patienten mit Morbus Parkinson (Choe et al. 2020). Dort war ebenso eine Assoziation zwischen der Höhe der Blutkonzentrationen von den mit subklinischen kardialen Schäden verbundenen Markern hsTnI und NT-proBNP sowie der motorischen Funktion nachweisbar (Choe et al. 2020). Eine Assoziation zwischen Morbus Parkinson und kardiovaskulären Erkrankungen war auch in einer Studie von Mollenhauer et al. ersichtlich, welche neben dysregulierten Blut-Glucose-Spiegeln sowie Harnsäuremetabolismus und Entzündung kardiovaskuläre Risikofaktoren als Risikomarker für eine schnellere Krankheitsprogression identifizierten (Mollenhauer et al. 2019). Ein möglicher Erklärungsansatz für die Assoziation von motorischer

Funktion mit subklinischen kardialen Schäden sind die orthostatische Hypotonie und autonome Dysfunktion. Es zeigten sich in einer Studie von Alves et al. erhöhte NT-proBNP-Konzentrationen bei Morbus Parkinson-Patienten mit im Vergleich zu Morbus Parkinson-Patienten ohne orthostatische Hypotonie (Alves et al. 2020). Solch eine Assoziation konnte in der MARK-PD-Kohorte nicht nachgewiesen werden. Auch intrinsische Mechanismen sind mögliche Erklärungsansätze kardialer Schäden. So waren in verschiedenen mit Morbus Parkinson-assoziierten Suszeptibilitätsgenen-defizienten Mausmodellen kardiale Hypertrophie verbunden mit mitochondrialer Dysfunktion und oxidativem Stress nachweisbar (Billia et al. 2011, Billia et al. 2013). Daher sind mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress ein möglicher pathophysiologischer Ansatz für neuronale und kardiale Schäden beim Morbus Parkinson.

Limitationen der Studie sind unter anderem das Single-Center-Design. Zudem gibt es keine gesunde Kontrollgruppe, sodass keine direkten Vergleiche möglich sind. Weiterhin ist aufzuführen, dass vor allem in motorische Tests wie den UPDRS III eine gewisse subjektive Bewertung einfließt und diese bei Durchführung durch verschiedene Beurteilende als nicht komplett objektiv zu beurteilen sind. Schließlich muss auch noch bedacht werden, dass ein Follow-up von durchschnittlich 520 Tagen ein kurzer Zeitraum für eine langsam progrediente chronische neurodegenerative Erkrankung ist. Ein längerer Zeitraum eines Follow-ups beziehungsweise weitere Follow-ups im Verlauf könnten Assoziationen zwischen NfL und kognitiven sowie motorischen Veränderungen möglicherweise noch besser darstellen.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, dass diese Studie als eine der ersten Studien den Stellenwert von Serum-NfL bei Patienten mit fortgeschrittenem Morbus Parkinson untersucht und seine potenzielle Bedeutung im Hinblick auf die Diagnosestellung, die klinische Beurteilung und Prognose aufzeigt, welche in weiteren Studien untersucht werden sollte.

2.5 Zusammenfassung

Neurofilament light chain ist ein spezifisches Protein des neuronalen Zytoskeletts, welches bei axonalem Schaden und damit unter anderem gehäuft bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie zum Beispiel auch Morbus Parkinson, freigesetzt wird. Verschiedene Studien haben bereits die NfL-Konzentration im Serum bei Patienten mit Morbus Parkinson im Hinblick auf unterschiedliche Aspekte wie Motorik und Kognition untersucht. Im Gegensatz zu den meisten vorherigen Studien, die vor allem Patienten in einem frühen Erkrankungsstadium untersuchen, betrachtet unsere Studie Patienten mit fortgeschrittenem Morbus Parkinson bei einer mittleren Erkrankungsdauer von elf Jahren und einem durchschnittlichen Alter von 66,7 Jahren. Nach dem Ausschluss von drei Patienten, deren Blutentnahme unmittelbar einen Tag nach Operation mit Tiefer Hirnstimulation stattfand, wurden bei 289 Patienten aus der MARK-PD-Studie, einer prospektiven unizentrischen Beobachtungsstudie, die Serum-NfL-Konzentration sowie die Serum-Konzentrationen von NT-proBNP und hs-TnI untersucht. Zusätzlich wurde die motorische und kognitive Funktion mithilfe des MDS-UPDRS III und Hoehn & Yahr -Stadiums beziehungsweise des MoCA-Tests erhoben. Bei 114 und 106 Personen wurde zudem ein Follow-up nach 520 [364, 674] Tagen mit motorischer beziehungsweise kognitiver Evaluation durchgeführt. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation der Serum-NfL-Werte mit der motorischen Beeinträchtigung in Bezug auf das Hoehn & Yahr -Stadium. Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit Serum-NfL-Konzentrationen ober- und unterhalb des Medians in Bezug auf die Zeit bis zu einer kognitiven Verschlechterung. So stellten hohe Serum-NfL-Werte einen Indikator für eine kognitive Verschlechterung dar. Darüber hinaus konnten in dieser Studie auch signifikante Assoziationen zwischen der Serum-NfL-Konzentration und subklinischen kardialen Schäden dargestellt werden. So zeigten sich bei Patienten mit höheren Serum-NfL-Konzentrationen ebenfalls höhere NT-proBNP-Konzentrationen, was die Vermutung gemeinsamer Ursachen von neurologischen und kardialen Schäden anstellen lässt. Hierbei kommen, wie auch in verschiedenen Studien unter anderem an Mausmodellen untersucht wird, beispielsweise mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress infrage. Insgesamt lässt sich sagen, dass die Serum-NfL-Konzentration auch bei Patienten mit fortgeschrittenem Morbus Parkinson mit der motorischen und kognitiven Funktion sowie auch subklinischen kardialen Schäden assoziiert ist und weitere Studien, möglicherweise auch mit einem längeren Follow-up, zur Bestätigung und weiteren Analyse der Bedeutung von Serum-NfL wünschenswert wären.

2.5 Summary

Neurofilament light chain is a specific protein of the neuronal cytoskeleton that is released upon axonal damage. In context of neurodegenerative diseases like Parkinson's disease, increased serum NfL concentrations are reported. Different studies already evaluated the serum NfL concentration in view of different aspects like motor and cognitive function. In contrast to previous studies which particularly assessed patients in early stages of Parkinson's disease, our study examines patients with advanced stages of Parkinson's disease. The mean age of our patients was 66,7 years with a disease duration of 11 years. After excluding 3 patients from further analysis because blood was drawn one day after deep brain stimulation surgery, we assessed the NfL concentration as well as the concentration of NT-proBNP and hs-TnI in the serum of 289 patients with Parkinson's disease of the MARK-PD-study, a single-center prospective observational biobank study. In addition, the motor and cognitive function was assessed with MDS-UPDRS III, Hoehn & Yahr stages and the MoCA. During a follow-up of 520 [364, 74] days, the motor and cognitive function was reassessed in 114 and 106 patients. We found a significant correlation between the serum NfL concentration and the Hoehn & Yahr stages. On top of that, there was a significant difference between patients with serum NfL concentrations above and below the median concerning their time to cognitive decline. High baseline levels of serum NfL acted as an indicator for cognitive decline. Furthermore, our study showed significant associations between serum NfL concentration and subclinical cardiac damage. Thus, patients with higher serum NfL concentrations had higher concentrations of NT-proBNP. Hence, there might be a common source of neurological and cardiac damage. Different studies, especially mouse models, reveal that mitochondrial dysfunction and oxidative stress are potential common mechanisms for neurological and cardiac damage. In summary, our study shows an association between serum NfL concentration and motor and cognitive function as well as subclinical cardiac damage in patients with advanced stages of Parkinson's disease. For validation and further analysis of serum NfL's meaning, extensive studies, especially with a longer follow-up period, appear essential.

2.6 Abkürzungsverzeichnis

ApoA1	Apolipoprotein A1
ApoB	Apolipoprotein B
BMI	Body-Mass-Index
CRP	C-reaktives Protein
DBS	Deep Brain Stimulation (Tiefe Hirnstimulation)
FDR-Korrektur	False Discovery Rate (Falscherkennungsrate)-Korrektur
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
H&Y-Stadium	Hoehn & Yahr -Stadium
HDL-Cholesterin	High-Density-Lipoprotein
hsTnI	hochsensitives Troponin I
LDL-Cholesterin	Low-Density-Lipoprotein
LEDD	L-Dopa equivalent daily dose
MCI	Mild Cognitive Impairment
MDS-UPDRS III	Movement Disorders Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale – Teil III
MMSE	Mini Mental Status Examination
MoCA	Montreal Cognitive Assessment
NfL	Neurofilament light chain
NT-proBNP	N-terminales pro B-Typ natriuretisches Peptid
ON-Status	Status während Einnahme der Medikation/bei angeschaltetem tiefen Hirnstimulator

2.7 Literaturverzeichnis

Aamodt WW, Waligorska T, Shen J, Tropea TF, Siderowf A, Weintraub D, Grossman M, Irwin D, Wolk DA, Xie SX, Trojanowski JQ, Shaw LM, Chen-Plotkin AS. Neurofilament Light Chain as a Biomarker for Cognitive Decline in Parkinson Disease. *Mov Disord*. 2021 Dec;36(12):2945-2950. doi: 10.1002/mds.28779. Epub 2021 Sep 4. PMID: 34480363; PMCID: PMC8688198.

Alves M, Caldeira D, Reimão S, Ferro JM, Ferreira JJ. N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Levels in Parkinson's Disease. *Mov Disord*. 2020 Oct;35(10):1886-1887. doi: 10.1002/mds.28276. PMID: 33068471.

Berg D. (2016) Krankheiten der Basalganglien. In: Hacke W. (eds) *Neurologie*. Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg, 589-604.

Billia F, Hauck L, Grothe D, Konecny F, Rao V, Kim RH, Mak TW. Parkinson-susceptibility gene DJ-1/PARK7 protects the murine heart from oxidative damage in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Apr 9;110(15):6085-90. doi: 10.1073/pnas.1303444110. Epub 2013 Mar 25. PMID: 23530187; PMCID: PMC3625258.

Billia F, Hauck L, Konecny F, Rao V, Shen J, Mak TW. PTEN-inducible kinase 1 (PINK1)/Park6 is indispensable for normal heart function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Jun 7;108(23):9572-7. doi: 10.1073/pnas.1106291108. Epub 2011 May 23. PMID: 21606348; PMCID: PMC3111326.

Buhmann C, Lezius S, Pötter-Nerger M, Gerloff C, Kuhle J, Choe CU. Age-Adjusted Serum Neurofilament Predicts Cognitive Decline in Parkinson's Disease (MARK-PD). *Mov Disord*. 2022 Feb;37(2):435-436. doi: 10.1002/mds.28909. Epub 2022 Jan 17. PMID: 35040209.

Choe CU, Niemann L, Englisch C, Petersen E, Buhmann C, Pötter-Nerger M, Blankenberg S, Gerloff C, Schwedhelm E, Zeller T. Subclinical Cardiac Microdamage, Motor Severity, and Cognition in Parkinson's Disease. *Mov Disord*. 2020 Oct;35(10):1863-1868. doi: 10.1002/mds.28129. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32557851.

Frank A, Bendig J, Schniewind I, Polanski WH, Sobottka SB, Reichmann H, Akgün K, Ziemssen T, Klingelhoefer L, Falkenburger BH. Serum neurofilament indicates that DBS surgery can cause neuronal damage whereas stimulation itself does not. *Sci Rep*. 2022 Jan 27;12(1):1446. doi: 10.1038/s41598-022-05117-x. PMID: 35087088; PMCID: PMC8795190.

Gaetani L, Blennow K, Calabresi P, Di Filippo M, Parnetti L, Zetterberg H. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019 Aug;90(8):870-881. doi: 10.1136/jnnp-2018-320106. Epub 2019 Apr 9. PMID: 30967444.

Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, Stebbins GT, Fahn S, Martinez-Martin P, Poewe W, Sampaio C, Stern MB, Dodel R, Dubois B, Holloway R, Jankovic J, Kulisevsky J, Lang AE, Lees A, Leurgans S, LeWitt PA, Nyenhuis D, Olanow CW, Rascol O, Schrag A, Teresi JA, van Hilten JJ, LaPelle N; Movement Disorder Society UPDRS Revision Task Force. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord*. 2008 Nov 15;23(15):2129-70. doi: 10.1002/mds.22340. PMID: 19025984.

Hansson O, Janelidze S, Hall S, Magdalinou N, Lees AJ, Andreasson U, Norgren N, Linder J, Forsgren L, Constantinescu R, Zetterberg H, Blennow K, Swedish BioFINDER study (2017) Blood-based NfL: a biomarker for differential diagnosis of parkinsonian disorder. *Neurology*. 88(10): 930-937.

Huang Y, Huang C, Zhang Q, Shen T, Sun J. Serum NFL discriminates Parkinson disease from essential tremor and reflect motor and cognition severity. *BMC Neurol*. 2022 Jan 27;22(1):39. doi: 10.1186/s12883-022-02558-9. PMID: 35086487; PMCID: PMC8793176.

Lin CH, Li CH, Yang KC, Lin FJ, Wu CC, Chieh JJ, Chiu MJ. Blood NfL: A biomarker for disease severity and progression in Parkinson disease. *Neurology*. 2019 Sep 10;93(11):e1104-e1111. doi: 10.1212/WNL.0000000000008088. Epub 2019 Aug 16. PMID: 31420461.

Lin YS, Lee WJ, Wang SJ, Fuh JL. Levels of plasma neurofilament light chain and cognitive function in patients with Alzheimer or Parkinson disease. *Sci Rep*. 2018 Nov 26;8(1):17368. doi: 10.1038/s41598-018-35766-w. PMID: 30478269; PMCID: PMC6255914.

Mielke MM, Syrjanen JA, Blennow K, Zetterberg H, Vemuri P, Skoog I, Machulda MM, Kremers WK, Knopman DS, Jack C Jr, Petersen RC, Kern S. Plasma and CSF neurofilament light: Relation to longitudinal neuroimaging and cognitive measures. *Neurology*. 2019 Jul 16;93(3):e252-e260. doi: 10.1212/WNL.0000000000007767. Epub 2019 Jun 10. PMID: 31182505; PMCID: PMC6656645.

Mollenhauer B, Dakna M, Kruse N, Galasko D, Foroud T, Zetterberg H, Schade S, Gera RG, Wang W, Gao F, Frasier M, Chahine LM, Coffey CS, Singleton AB, Simuni T, Weintraub D, Seibyl J, Toga AW, Tanner CM, Kieburts K, Marek K, Siderowf A, Cedarbaum

JM, Hutten SJ, Trenkwalder C, Graham D. Validation of Serum Neurofilament Light Chain as a Biomarker of Parkinson's Disease Progression. *Mov Disord*. 2020 Nov;35(11):1999-2008. doi: 10.1002/mds.28206. Epub 2020 Aug 15. PMID: 32798333; PMCID: PMC8017468.

Mollenhauer B, Zimmermann J, Sixel-Döring F, Focke NK, Wicke T, Ebentheuer J, Schaumburg M, Lang E, Friede T, Trenkwalder C; DeNoPa Study Group. Baseline predictors for progression 4 years after Parkinson's disease diagnosis in the De Novo Parkinson Cohort (DeNoPa). *Mov Disord*. 2019 Jan;34(1):67-77. doi: 10.1002/mds.27492. Epub 2018 Nov 23. PMID: 30468694.

Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc*. 2005 Apr;53(4):695-9. doi: 10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x. Erratum in: *J Am Geriatr Soc*. 2019 Sep;67(9):1991. PMID: 15817019.

Oosterveld LP, Verberk IMW, Majbour NK, El-Agnaf OM, Weinstein HC, Berendse HW, Teunissen CE, van de Berg WDJ. CSF or serum neurofilament light added to α -Synuclein panel discriminates Parkinson's from controls. *Mov Disord*. 2020 Feb;35(2):288-295. doi: 10.1002/mds.27897. Epub 2019 Nov 18. PMID: 31737952; PMCID: PMC7027879.

Park DG, Kim JW, An YS, Chang J, Yoon JH. Plasma neurofilament light chain level and orthostatic hypotension in early Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2021 Dec;128(12):1853-1861. doi: 10.1007/s00702-021-02423-y. Epub 2021 Sep 27. PMID: 34568970.

Parnetti L, Gaetani L, Eusebi P, Paciotti S, Hansson O, El-Agnaf O, Mollenhauer B, Blennow K, Calabresi P. CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2019 Jun;18(6):573-586. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30024-9. Epub 2019 Apr 10. PMID: 30981640.

Sampedro F, Pérez-González R, Martínez-Horta S, Marín-Lahoz J, Pagonabarraga J, Kulisevsky J. Serum neurofilament light chain levels reflect cortical neurodegeneration in de novo Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2020 May;74:43-49. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.04.009. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32334380.

Sutter R, Hert L, De Marchis GM, Twerenbold R, Kappos L, Naegelin Y, Kuster GM, Benkert P, Jost J, Maceski AM, Rüegg S, Siegemund M, Leppert D, Tschudin-Sutter S, Kuhle J. Serum Neurofilament Light Chain Levels in the Intensive Care Unit: Comparison

between Severely Ill Patients with and without Coronavirus Disease 2019. *Ann Neurol*. 2021 Mar;89(3):610-616. doi: 10.1002/ana.26004. Epub 2021 Jan 11. PMID: 33377539.

Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017 Aug;124(8):901-905. doi: 10.1007/s00702-017-1686-y. Epub 2017 Feb 1. PMID: 28150045.

3. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

Die Doktorarbeit habe ich unter der Betreuung durch Priv.-Doz. Dr. med. Chi-un Choe und Prof. Dr. Edzard Schwedhelm in der Klinik und Poliklinik für Neurologie durchgeführt.

Der Entwurf der MARK-PD-Studie wurde insbesondere durch Priv.-Doz. Dr. med. Chi-un Choe und Prof. Dr. Edzard Schwedhelm gestaltet. Ich war gemeinsam mit Nele Tigelaar sowie Catrin Englisch für den Einschluss der Probanden in die Studie zuständig. So führte ich die Befragungen der Patienten und auch einen Teil der motorischen und kognitiven Testungen durch. Zudem habe ich nach der Erhebung der klinischen und epidemiologischen Daten diese in der Datenbank dokumentiert. Weiterhin war ich für die Gewinnung der Blutproben sowie deren Asservierung im Labor zuständig.

Die laborchemischen Messungen, insbesondere der kardialen Parameter, erfolgten im Biomarker-Labor von Prof. Dr. rer. nat. Tanja Zeller. Die Messung der Serum-NfL-Konzentrationen erfolgte durch Prof. Jens Kuhle am Universitätsspital Basel.

Die statistische Auswertung erfolgte durch Priv.-Doz. Dr. med. Chi-un-Choe und Susanne Lezius aus dem Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie.

An der Erstellung des Manuskriptes habe ich unter der Supervision von Priv.-Doz. Dr. med. Chi-un Choe mitgewirkt.

Die Zusammenfassung der Publikation erfolgte durch mich.

4. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei und während der Durchführung der Studie sowie der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt haben. Ein ganz besonderes Dankeschön möchte ich meinem Doktorvater Priv.-Doz. Dr. Chi-un Choe sowie meinem Betreuer Prof. Dr. Edzard Schwedhelm aussprechen, die diese Studie grundlegend gestaltet haben, mich unterstützt haben und jederzeit für die Beantwortung von Fragen zur Seite standen. Auch möchte ich mich ganz herzlich bei Nele Tigelaar und Catrin Englisch bedanken, mit denen in guter Zusammenarbeit die Rekrutierung der Probanden sowie Probenasservierung stattfand. Weiterhin bedanke ich mich bei allen Ober- und Assistenzärzt:innen der Klinik und Poliklinik für Neurologie, die uns bei der Probandenrekrutierung unterstützt haben. Ich möchte auch Kirstin Geppert, Claudia Winkelmann und Martina Peter stellvertretend für alle Mitarbeiter aus dem Labor für die technische Unterstützung bei der Probenasservierung danken. Zudem gilt mein Dank dem Team der Hamburg City Health Study sowie auch der Abteilung für Biochemie und der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universität Basel für die Zusammenarbeit und die Durchführung verschiedener Messungen für diese Studie. Ebenfalls bedanke ich mich an dieser Stelle bei Susanne Lezius, die einen großen Teil zur statistischen Auswertung beigetragen hat, sowie Beate Schönwald aus der Parkinson-Tagesklinik, die mich in die motorische und kognitive Testung der Probanden eingearbeitet hat und uns ebenfalls bei der Probandenrekrutierung unterstützt hat. Mein Dank gilt auch den Probanden, welche ihre Zeit in diese Studie investiert haben. Schließlich möchte ich mich auch herzlich bei meiner Familie und meinen Freunden bedanken, welche mich jederzeit unterstützt und motiviert haben.

5. Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

6. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: