

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf  
Direktor Prof. Dr. med. Dieter Naber

Die Neuronenspezifische Enolase im Liquor bei Alzheimer-Demenz und  
leichter kognitiver Störung:  
retrospektive Auswertung eines Subdatensatzes einer  
Gedächtnissprechstunde

**D i s s e r t a t i o n**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Evra Köfüncü

aus Izmir

Hamburg 2006

Angenommen vom Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: 25.07.2006

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs  
Medizin der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. med. K. Wiedemann

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Prof. Dr. med. D. Naber

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: PD Dr. med. C. Heesen

*Meinen Eltern, Dr. Ayla und Dr. Ömer Ayhan Köfünçü  
und meinen Grosseltern, Sabahat und Rifat Aydinceren.*

## Abkürzungsverzeichnis

A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Amyloid-Beta-Peptid (1-42)
AD	Alzheimer-Demenz
ApoE	Apolipoprotein E
ApoE- $\epsilon$ 4	ApoE- $\epsilon$ 4-Allel
APP	Amyloid-Präkursor-Protein (“amyloid precursor protein“), Amyloidvorläuferprotein
CDR	Clinical Dementia Rating
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease
CJD	Creutzfeldt-Jakob-Demenz
EC	Enzyme Commission (Number) (Enzym-Kommissions-Nummer)
FTD	Frontotemporale Demenz
GDS	Geriatric Depression Score, Geriatrische Depressions- skala
Gesamt-Tau	Gesamt-Tau-Protein
kDa	Kilo Dalton
LKS	Leichte kognitive Störung (MCI)
MCI	Minimal Cognitive Impairment (LKS)
MMSE	Mini-Mental State Examination
MMST	Mini-Mental-Status-Test
NINCDS-ADRDA	National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer’s Disease and Related Disorders Association
NINCDS-AIREN	National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Association Internationale pour la Recherche et l’Enseignement en Neurosciences
NNE	Nichtneuronale Enolase
NSE	Neuronenspezifische Enolase
NSP	Neuronspezifisches Protein
PPA	Primär progressive Aphasie
p-tau	hyperphosphoryliertes Tau-Protein

p-tau <sub>231</sub>	hyperphosphoryliertes Tau-Protein an Threonin 231
SD	Standarddeviation, Standardabweichung
S-100 B	S-100B-Protein
Tau	Tau-Protein
TMT-A	Trailmaking-Test Teil A
TMT-B	Trailmaking-Test Teil B
UT	Uhrentest
14-3-3	Protein 14-3-3

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	9
1.1 NSE als physiologische Substanz im Nervensystem	9
1.1.1 NSE-Expression in der Neurogenese	11
1.1.2 NSE-Gehalt in verschiedenen Neuronenklassen	12
1.2 NSE im Liquor cerebrospinalis	14
1.2.1 NSE im Liquor unter physiologischen Bedingungen	14
1.2.2 NSE im Liquor unter pathologischen Bedingungen	14
1.2.3 NSE im Liquor bei neurodegenerativen Erkrankungen	15
1.2.4 NSE im Liquor bei der Creutzfeldt-Jacob-Erkrankung	16
1.2.5 NSE im Liquor bei vasculärer Demenz	16
1.3 Demenzerkrankungen	16
1.3.1 Definition, klinische Kriterien	16
1.3.2 Epidemiologie der Demenzen	17
1.3.3 Psychopathologie der Demenzen	18
1.3.4 Sekundäre Demenzsyndrome als Differentialdiagnose	19
1.3.5 Die primär neurodegenerativen Demenzen	19
1.4 Alzheimer-Demenz	20
1.4.1 Klinische Kriterien der Alzheimer Demenz	20
1.4.2 Genetik der AD mit Risikofaktoren und Protektoren	22
1.4.3 Apolipoprotein E	23
1.4.4 Die Pathogenese des Morbus Alzheimer	24
1.4.5 Die Amyloid-Kaskaden-Hypothese	24
1.4.6 NSE im Liquor bei Morbus Alzheimer	26
1.5 Das Syndrom „minimal cognitive impairment“ (MCI)	27
1.6 Ziel der vorliegenden Untersuchung	29

2 Patienten und Methoden	30
2.1 Patienten	30
2.1.1 Klinische Einteilung	30
2.1.2 Routine-Laborparameter	32
2.1.3 ApoproteinE-Genotypisierung	33
2.2 Methoden	33
2.2.1 Liquorentnahme und –analyse	33
2.2.2 Liquor- und Serumanalyse der NSE	34
2.2.3 Sandwich-Testprinzip zur NSE-Bestimmung	35
2.3 Psychometrische Testverfahren	36
2.3.1 Der Minimental-Status-Test	37
2.3.2 GDS (Geriatric Depression Score)	38
2.3.3 Die CERAD-Testbatterie	49
2.3.4 Der Uhrentest (modifiziert nach Shulman, 1993)	40
2.3.5 Der Trailmaking-Test, TMT-A und TMT-B	41
2.3.6 CDR (Clinical Demetia Rating)	42
2.4 Diagnosegruppen des Patientendatensatzes	43
2.4.1 Definition des MCI und der einzelnen Grade der AD	43
2.4.2 Gruppierungsmodell A	45
2.4.3 Gruppierungsmodell B	45
2.5 Statistische Methoden	46
3 Ergebnisse	48
3.1 Das Gesamt-Patientenkollektiv	48
3.1.1 Klinische Befunde im Gesamtkollektiv	48
3.1.2 Laborbefunde im Gesamtkollektiv	50
3.1.3 Neuropsychologische Befunde im Gesamtkollektiv	51
3.2 Klinische und Laborbefunde der Einzelgruppen	53
3.2.1 Klinik und Labor in der Alzheimergruppe	56
3.2.2 Klinik und Labor in der MCI-Gruppe	58
3.2.3 Klinik und Labor in der NAD-Gruppe	60
3.2.4 Klinik und Labor in der Kontrollgruppe	61

3.3 Neuropsychologische Befunde der Einzelgruppen	62
3.3.1 Mini-Mental-State Examination	63
3.3.2 Trailmaking Test A	66
3.3.3 Trailmaking Test B	67
3.3.4 Uhrentest	68
3.4 Liquor-NSE, abhängig vom Grad der Alzheimer-Erkrankung	69
3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse zur NSE	73
4 Diskussion	75
4.1 NSE im Liquor bei Alzheimer-Demenz (AD)	75
4.2 NSE im Liquor bei Minimal Cognitive Impairment (MCI)	78
5 Zusammenfassung	81
6 Literaturverzeichnis	83
Danksagungen	99
Lebenslauf	100



# 1 Einleitung

## 1.1 NSE als physiologische Substanz im Nervensystem

Die Neuronenspezifische Enolase (EC 4.2.1.11) oder auch Gamma-Enolase ist ein zytosolisches, lösliches Enzym der Glykolyse mit einem Molekulargewicht von 78-82,5 kDa und einer Halbwertszeit von etwa 20 Stunden, das als eines der 11 Enzyme der Glykolyse bei der anaeroben Glukoseutilisation die Umwandlung von 2-Phosphoglycerat in Phosphoenolpyruvat unter Abspaltung von Wasser katalysiert.

Grundsätzlich existieren Enolasen (2-Phospho-D-Glycerathydrolasen) im Zytosol jedes Organismus als verschiedene dimere Isoenzyme, die aus drei immunologisch, strukturell und funktionell unterschiedlichen Untereinheiten (Alpha ( $\alpha$ ), Beta ( $\beta$ ), Gamma ( $\gamma$ )) zusammengesetzt sind, welche von unterschiedlichen Genen kodiert werden (Law and Kao, 1982, Sakimura et al., 1987).

Die Neuronenspezifische Enolase liegt entweder als Homodimer aus 2 Gamma-Untereinheiten ( $\gamma/\gamma$ ) oder als Heterodimer aus Alpha- und Gamma-Untereinheit ( $\alpha/\gamma$ ) im Zytosol des Perikaryons, der Axone und Dendriten vor. Entgegen der ursprünglichen Annahme, dass die NSE ausschließlich in Neuronen vorkomme, ist die NSE auch in zentralen und neuroendokrinen Zellen des Gehirns sowie in peripheren Neuronen, peripherem neuroendokrinen Gewebe und deren Tumoren lokalisiert (Marangos and Schmechel, 1987). Nicht nur neuroendokrine Drüsen wie die Epiphyse und Hypophyse (zentral) oder Schilddrüse, Pankreas oder Nebenniere (peripher) enthalten NSE (Schmechel et al., 1979), sondern auch periphere neuroendokrine Gewebe wie das diffuse neuroendokrine Zellsystem in Lunge, Intestinum, Thymus und Haut (Tapia et al., 1981, Schmechel and Marangos, 1983, Wick et al., 1983, Polak and Marangos, 1984) sowie ihre Tumoren.

Im Gehirn sind das Dimer aus den beiden homologen  $\gamma$ -Untereinheiten ( $\gamma/\gamma$ ) und das Heterodimer aus  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Untereinheit ( $\alpha/\gamma$ ) angereichert. In Hirngewebeextrakten können drei Formen der Enolase nachgewiesen werden: 1. die nichtneuronale Enolase (NNE) aus 2  $\alpha$ -Untereinheiten ( $\alpha/\alpha$ ) à 43,5 kD; 2. die Hybridform ( $\alpha/\gamma$ -Untereinheiten), die in adultem Nervengewebe größtenteils als Artefakt der Gewebekomposition ent-

stehen soll (Schmechel and Marangos, 1983) und schliesslich 3. die NSE als Dimer aus 2 homologen  $\gamma$ -Untereinheiten à 39 kD (Übersicht bei Marangos and Schmechel, 1987).

**Tabelle 1:** NSE-Konzentrationen in verschiedenen menschlichen Geweben (Marangos and Schmechel, 1987),S.276

	ng NSE/mg lösliches Protein
Gehirn (Ratte und Mensch)	4000-21000
Peripheres Nervensystem	200-1200
Nebennierenmark	900
Epiphyse	8500
Hypophysenvorderlappen	1300
Hypophysenhinterlappen	3400
Leber	<10
Muskel	<10
Serum (Mensch)	4-12
Liquor (Mensch)	1-3

Die höchsten Konzentrationen der Neuronenspezifischen Enolase weist das Hirngewebe mit 4000-21000 ng NSE/mg lösliches Protein auf (siehe Tabelle 1). Abhängig von der untersuchten Hirnregion schwankt die Menge der NSE von 0,4 bis 2,2% des löslichen Gesamtproteins. Da Gliazellen nur in geringen Konzentrationen NSE enthalten, aber ihrerseits etwa die Hälfte des zytoplasmatischen Volumens des Gehirns ausmachen, liegt in einigen Neuronenpopulationen die NSE-Konzentration mit 3-4% des löslichen Gesamtproteins noch höher. Deutlich niedrigere Konzentrationen an NSE weist das periphere Nervengewebe mit 200-1200 ng pro mg löslichem Protein auf. Eine Zwischenstellung nehmen die endokrinen Drüsen wie beispielsweise die Nebenniere (periphere neuroendokrine Drüse), Hypophyse oder Epiphyse (zentrale neuroendokrine Drüsen) ein. In anderen Körpergeweben, die nicht dem Nervensystem oder dem neuro-

endokrinen System angehören, sind die NSE-Konzentrationen mit weniger als 10 ng/mg löslichem Protein sehr gering (Kato et al., 1982). Ebenso enthalten Körperflüssigkeiten wie Blut (Thrombozyten, Erythrozyten) und Liquor nur sehr geringe NSE-Konzentrationen (Tabelle 1).

### **1.1.1 NSE-Expression in der Neurogenese**

In der neuronalen Differenzierung wird die NSE spät exprimiert, was darauf hinweisen könnte, dass es sich bei der NSE um einen Index für den Reifungszustand der Neuronen handelt (Kaiser et al., 1989). Interessanterweise wird während der neuronalen Reifung von der nichtneuronalen Enolase (NNE) auf die NSE umgeschaltet („switch“), wie Marangos und Goodwin bereits im Jahre 1978 nachweisen konnten (Marangos et al., 1978 b). Erst mit dem Beginn der Neurogenese und während der frühen Phase der neuronalen Differenzierung tritt die Neuronenspezifische Enolase in Erscheinung (Jorgensen and Centervall, 1982). In fetalem Hirngewebe ist die Nichtneuronale Enolase die dominante Isoenzymform der Enolase (Fletcher et al., 1976, Jorgensen and Centervall, 1982, Marangos et al., 1980 b, Yoshida et al., 1983). Für die NSE in fetalem Hirngewebe (Neokortex der Ratte) wurden nur schwache Konzentrationen nachgewiesen und interessanterweise beobachtet (Rosenstein, 1993), dass die NSE 1-2 Wochen postnatal von allen Neuronen in hohen Konzentrationen exprimiert wurde. Immunzytochemische Experimente lieferten Belege dafür, dass in Astrozyten, Gliazellen und in proliferierenden Zellpopulationen, die sich zu Neuronen entwickeln, ebenfalls NSE nachweisbar ist (Schmechel and Marangos, 1983). Diese Ergebnisse implizieren, dass in Neuronen im Laufe der neuronalen Differenzierung ein „switch over“ von der Alpha-Untereinheit auf die Gamma-Untereinheit erfolgt. Es wurde daher postuliert (Marangos et al., 1978a), dass die enge Verknüpfung zwischen NSE-Gehalt und funktioneller Aktivität der Neuronen und neuroendokrinen Zellen Ausdruck einer engen Regulation und Adaptation der metabolischen Enzyme an den aktuellen Status der Nervenzelle ist (von Dorsche et al., 1989).

Neuronenverbände mit hoher Stoffwechselaktivität, beispielsweise die nicht pyramidalen Zellen des Kortex oder die Golgi Typ3-Zellen des Kleinhirns, enthalten NSE in hohen Konzentrationen. Diese Beobachtung stützt die Annahme, dass der NSE-Gehalt einer Nervenzelle abhängig ist von deren synaptischer Aktivität und den daraus resultie-

renden metabolischen Bedürfnissen. Hierfür spricht auch die Beobachtung, dass in fetalem Hirn die Umschaltung der Synthese von NNE auf NSE zuerst in phylogenetisch älteren Regionen wie Medulla, Pons und Thalamus und später erst kortikal erfolgt (Gross et al., 1990). Wahrscheinlich enthalten Neurone in der Frühphase der Zelldifferenzierung, in der switch-over-Phase von der Alpha- auf die Gamma-Untereinheit der Enolase, beide Untereinheiten der Isoenzyme. Adulte Neurone weisen einen geringen NNE-Gehalt auf, da ein nahezu vollständiges Umschalten von NNE auf NSE erfolgt ist. Anders verhält es sich bei den neuroendokrinen Zellen, da bei ihnen nur eine partielle Umstellung von der Nichtneuronalen auf die Neuronenspezifische Enolase erfolgt. Dies erklärt die niedrigeren NSE-Konzentrationen bezogen auf das lösliche Gesamtprotein in neuroendokrinen Zellen (Marangos and Schmechel, 1987).

### **1.1.2 NSE-Gehalt in verschiedenen Neuronenklassen**

Grundsätzlich ist der NSE-Gehalt eines Neurons abhängig von der jeweiligen Neuronenklasse, deren funktionaler synaptischer Aktivität und den metabolischen Bedürfnissen. Der Grad der Stoffwechselaktivität bestimmt das Ausmaß der benötigten Energie, also der konsekutiv betriebenen Glykolyserate, und erklärt die maximalen NSE-Konzentrationen in den nichtpyramidalen Neuronen des Hippokampus und den Golgi-Typ3-Zellen des Zerebellums. Im Erwachsenehirn ist NSE hochkonzentriert in der grauen Substanz (z. B. Neokortex) und in geringeren Konzentrationen in der weißen Substanz (z. B. Pyramidenbahn, Corpus callosum) zu finden. In der Tabelle 2 ist der NSE-Gehalt der Neuronenklassen verschiedener Hirnregionen dargestellt (Marangos and Schmechel, 1987).

**Tabelle 2:** Semiquantitative Konzentration der Nichtneuronalen Enolase (NNE) und Neuronenspezifischen Enolase (NSE) im Nervengewebe des Zentralnervensystems (Marangos and Schmechel, 1987), S.281

	NNE	NSE
<b>Gliazellen</b>		
• Astrozyten	+	-
• Oligodendrozyten	+	-
• Radiale Gliazellen	++	-
• Ependymzellen	+	-
• Tanozyten	+	-
<b>Neurone</b>		
Zerebellum		
• Korbzellen	+	++
• Purkinje-Zellen	-	+++
• Golgi-Typ3-Zellen	-	++++
• Körnerzellen	-	++
• Tiefe zerebelläre Neurone	-	++++
<b>Hippokampus</b>		
• Nicht-pyramidale Neurone	-	++++
• Pyramidale Ca3-Zellen	-	+++
• Dentatus-Körnerzellen	-	++
• Ca1-und 2-Neurone	+	+
<b>Kortex</b>		
• Nicht-pyramidale Neurone	-	++++
• Oberflächliche Pyramidenzellen	+	++
• Tiefe Pyramidenzellen	-	+++
<b>Thalamus</b>		
• Retikuläre Neurone	-	++++
• Sensorische Neurone	-	+
<b>Subkortikale Nuclei</b>		
• Nigrale Neurone (Compacta)	-	+
• Nigrale Neurone (retikulär)	-	++++
• Striatum Neurone	-	+
• Pallidum Neurone	-	++++

Ebenso wie in den verschiedenen Neuronenklassen variiert der NSE-Gehalt auch in den einzelnen neuroendokrinen Zellklassen erheblich. Der NSE-Gehalt der Hypophyse reicht beispielsweise an den Gehalt in Neuronen heran, während das Nebennierenmark nur geringe Mengen an NSE enthält. Überdies enthalten Erythrozyten, Thrombozyten, als nicht- neuronale und nicht neuroendokrine, Zellen ebenfalls NSE, allerdings in geringeren Mengen als Neuronen. Eine 1%ige Hämolyse der Erythrozyten bewirkt einen NSE-Serumspiegel von etwa 5 ng/ml (Brown et al., 1980).

## **1.2 NSE im Liquor cerebrospinalis**

### **1.2.1 NSE im Liquor unter physiologischen Bedingungen**

Unter anderem dient der Liquor cerebrospinalis dem Abtransport vieler Hirnstoffwechselprodukte aus dem Kompartiment Gehirn (Redzic et al., 2005). Dies wird durch einen physiologischen Konzentrationsgradienten zwischen den beiden Kompartimenten Gehirn und Liquor ermöglicht, da die meisten Proteine, unter diesen auch die NSE, im Gehirn in höheren Konzentrationen vorkommen als im Liquor. Aus gelelektrophoretischen (2D-) Untersuchungen zum axonalen Transport in Neuronen ist bekannt, dass die NSE sich innerhalb des Axons mit der sogenannten „slow component b“ (SCb) mit einer Geschwindigkeit von 2 mm pro Tag fortbewegen kann und folglich nicht ausschließlich der freien Zelldiffusion unterliegt (Brady and Lasek, 1981). Wie jedes Enzym folgt die NSE einem physiologischen Abbauprozess. Über Mechanismen der Sekretion und der natürlichen Apoptose enthält auch der Liquor von Gesunden immer NSE.

### **1.2.2 NSE im Liquor unter pathologischen Bedingungen**

Erhöhte Liquorkonzentrationen der NSE zeigen eine stattfindende Neuronenschädigung an (Roine et al., 1988, Roine et al., 1989). Tierexperimentielle Ergebnisse aus Untersuchungen an Ratten zeigten, dass durch experimentell erzeugte Ischämie und durch Zusatz von Kainic-Säure, eines aus der Epilepsieforschung bekannten Neurotoxins, die NSE als Indikator der Hirnschädigung in erhöhter Konzentration im Liquor messbar war (Steinberg et al., 1984a, Steinberg et al., 1984b). Reduzierte Liquorkonzentrationen der NSE wurden als eine Folge einer reduzierten Hirnparenchymmasse mit beeinträchtigter Funktionstüchtigkeit der Neuronen interpretiert (Sulkava et al., 1988).

Es wird angenommen, dass unter pathologischen Bedingungen durch den Nervenzelluntergang, der von einer Schädigung der neuronalen Zellmembran begleitet wird, der Austritt der NSE und anderer zytosolischer Proteinfractionen aus dem Gehirn ins Liquorkompartiment zunimmt. Dies stimmt mit der Beobachtung überein, dass bei Schlaganfallpatienten ein NSE-Anstieg im Liquor gefunden wurde, der mit der Infarktgröße korrelierte (Hay et al., 1984, Li et al., 1995). Letzteres war durch vorausgehende

tierexperimentelle Untersuchungsergebnisse bereits anzunehmen (Hatfield and McKernan, 1992).

Häufiges Begleitphänomen bei hirschädigenden Mechanismen ist eine pathologisch durchlässige Bluthirnschranke (Permeabilitätsstörung), die zu einem Übertritt der pathologischen NSE-Menge vom Liquor ins periphere Blut führt. Membranschädigungen der Neuronen bilden häufig die gemeinsame pathologische Endstrecke zahlreicher Schädigungsmuster wie Ischämie respektive Hypoxie, der epileptischen Aktivität, dem Schädelhirntrauma oder der Neuroinflammation. Letztere initiiert über Zytokine, Komplementaktivierung und Akute-Phase-Proteine die weitere Neurodegeneration über komplexe Stadien der reaktiven Astrozytosis und Makrogliosis. Eine aktuelle Übersicht zur Hypothese der Neuroinflammation in der Pathogenese der AD findet sich bei (Tuppo and Arias, 2005). Häufige Begleitpathologie bei der zerebralen Ischämie bzw. Hypoxie (Hay et al., 1984, Roine et al., 1989), bei den neuroinflammatorischen Prozessen und der epileptischen Aktivität sind neben den neuronalen Membranschädigungen eine pathologisch durchlässige Bluthirn- und Blut-Liquorschranke (Correale et al., 1998). In Übereinstimmung hiermit finden sich bei Erkrankungen mit diesen Pathomechanismen Veränderungen der physiologischen NSE-Konzentration im Liquor.

### **1.2.3 NSE im Liquor bei neurodegenerativen Erkrankungen**

Für zahlreiche neurodegenerative Erkrankungen mit progredientem Neuronenuntergang konnten erhöhte Liquorkonzentrationen der NSE nachgewiesen werden. Zu diesen neurodegenerativen Erkrankungen zählen unter anderen: der Morbus Parkinson (Schaf et al., 2005), die amyotrophe Lateralsklerose, die Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (Cunningham et al., Jimi et al., 1989, Jimi et al., 1992, 1994, Lamerz, 1998, Wakayama et al., 1987,) und die spinozerebelläre Degeneration (Tort et al., 2005). Eine Übersicht findet sich bei (Jacobi and Reiber, 1988) sowie bei Lamers et al., 2003. Die genauere Untersuchung der NSE als möglicher neurodestruktiver Liquormarker bei den primär neurodegenerativen Demenzen als Prototyp einer Erkrankung mit progredientem Neuronenuntergang lag somit nahe. Zu den Demenzerkrankungen mit pathologischen Liquor- oder Hirngewebekonzentrationen der NSE gehören unter anderen die vaskuläre Demenz (Parnetti et al., 1995a, Sulkava et al., 1988,), die Demenz bei Chorea Huntington (Marangos and Paul, 1981) und bei der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (Kohira et

al., 1992, Nooijen et al., 1997, Vermuyten et al., 1990) sowie die frontotemporale Demenz und die Alzheimer-Demenz (Übersicht bei (Blennow et al., 1994). Auf die Liquorpathologie der NSE bei der Alzheimer-Demenz wird im weiteren gesondert eingegangen.

#### **1.2.4 NSE im Liquor bei der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung**

Die Liquor-NSE-Untersuchungen bei der Jacob-Creutzfeldt-Demenz (CJD) erfolgten an kleineren Patientenkollektiven. Bei sechs Patienten im Frühstadium einer CJD fanden (Kohira et al., 2000) erhöhte NSE-Konzentrationen im Liquor, wie auch ein Fallbericht desselben Autors über eine 66jährige CJD-Patientin im Frühstadium mit erhöhtem NSE-Liquorgehalt zuvor gezeigt hatte (Kohira et al., 1992). In der differentialdiagnostischen Abklärung einer CJD wurden bei einem Grenzwert von 35 ng/ml in 78% der Fälle erhöhte Werte der NSE im Liquor gemessen, die Spezifität betrug in dieser Gruppe 88%. Untersuchungen der Demenz bei Chorea Huntington wiesen erniedrigte NSE-Konzentrationen in den Basalganglien und unauffällige kortikale NSE-Konzentrationen nach (Marangos and Paul, 1981).

#### **1.2.5 NSE im Liquor bei der vaskulären Demenz**

Sulkava et al., 1988 zeigten in einem Kollektiv von 35 Patienten mit einer Multiinfarktdemenz erniedrigte NSE-Liquorwerte verglichen mit der Alzheimer- und der Kontrollgruppe. In einer weiteren klinischen Untersuchung wurden dieses an 14 Patienten mit vaskulärer Demenz ebenfalls im Vergleich mit Alzheimer-Patienten bestätigt (Parnetti et al., 1995a). Aus beiden Untersuchungsergebnissen kann allerdings auch die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die NSE im Liquor nicht zufriedenstellend zwischen vaskulärer Demenz und Alzheimer-Demenz trennen konnte.

### **1.3 Demenzerkrankungen**

#### **1.3.1 Definition, klinische Kriterien**

Nach der Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO, 1996) ist eine Demenz „eine erworbene, globale Beeinträchtigung der höheren Hirnfunktionen einschließlich



des Gedächtnisses, der Fähigkeit, Alltagsprobleme zu lösen, der Ausführung sensomotorischer und sozialer Fähigkeiten, der Sprache und Kommunikation sowie der Kontrolle emotionaler Reaktionen ohne ausgeprägte Bewusstseinstörung. Meist ist der Prozess progredient, jedoch nicht notwendigerweise irreversibel.“

Die Diagnose einer Demenz erfolgt anhand der klinischen Demenzkriterien auf der Grundlage der ICD-10-Klassifikation (GM-Version 2005, 2004, SGB-V 2.0 und 1.3) (Band 1, Systematisches Verzeichnis), die einen mindestens sechsmonatigen klinischen Verlauf fordert, und in Anlehnung an die revidierte Fassung des DSM IV (Diagnostisches und Statistisches Manual psychischer Störungen) (Saß et al., 1996), mit denen die Abgrenzung gegenüber anderen organisch bedingten psychischen Syndromen ermöglicht wird.

### **1.3.2 Epidemiologie der Demenzen**

Da es sich bei der Demenz um einen klinisch-deskriptiven und bündelnden Begriff zahlreicher heterogener Syndrome handelt, kommen demographische Schätzungen über Prävalenz und Inzidenz zu teilweise unterschiedlichen Ergebnissen. Tatsache ist, dass Prävalenz und Inzidenz mit dem Lebensalter ansteigen, und dass mit Zunahme des Anteils der Älteren in der Bevölkerung die Zahl Demenzkranker weltweit steigt.

In allen untersuchten Populationen findet sich ein Anstieg der Prävalenz mit zunehmendem Lebensalter, beginnend mit 2-3% bei den 65-70jährigen bis auf mehr als 30% bei den über 90jährigen.

Nach aktuellen Angaben des Statistischen Bundesamtes (2005) gibt es etwa 1,2 Millionen Demenzkranke in Deutschland. Diese Zahl soll sich Schätzungen zufolge bis zum Jahre 2030 verdoppelt haben. Das Lebenszeitrisko für die Entwicklung einer Demenz im Alter zwischen 65 und 100 Jahren beträgt 33 % für Männer und 45% für Frauen. Die Prävalenz in Deutschland beträgt 1,4 % in der siebten Lebensdekade bis über 60% in der zehnten Dekade. Ab dem 65.Lebensjahr verdoppelt sich die Prävalenz der Alzheimerschen Demenz und der vaskulären Demenz alle 5 Lebensjahre (Bancher et al.,1998; Häfner, 1990, Jellinger 1999). Die Inzidenzraten beginnen mit 0,3% bei den 65-69jährigen, betragen etwa 1-2 % in der 7. Lebensdekade und verdreifachen sich alle 10 weiteren Lebensjahre. Bei den über 80jährigen liegt die Inzidenz bei etwa 4%.

Schätzungen von Bickel 2000 zufolge leidet ca.6-8% der Bevölkerung über 65 Jahren unter mittelschweren und schweren Demenzformen und etwa weitere 6-8% unter unklaren oder leichten Demenzen (Bickel, 2000).

In Mitteleuropa sind Alzheimer-Demenzen etwa drei mal so häufig wie vaskuläre Demenzen.

### **1.3.3 Psychopathologie der Demenz**

Die Störungen der kognitiven Leistungsfähigkeit bei der Demenz können unterschiedliche Teilbereiche betreffen: 1. das Lernen und Gedächtnis, 2. das Denken (Problemlösen, schlussfolgerndes Denken, Urteilsbildung), 3. die Sprache (Wortfindung, Wortflüssigkeit, Informationsgehalt), 4. die Aufmerksamkeit (Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, Aufmerksamkeit fokussieren und wechseln), 5. die Praxie (Planen und Durchführen von Einzelbewegungen und Bewegungsabläufen bei intakter Sensorik und Motorik), 6. die Visuokonstruktion (Nachzeichnen und Nachlegen von zwei- und dreidimensionalen Strukturen) und 7. exekutive Funktionen (Fähigkeit, komplexes und zielgerichtetes Verhalten zu planen, zu initiieren und durchzuführen). An fakultativen, „nicht-kognitiven“ Symptomen können häufig Persönlichkeitsveränderungen, Depressivität und Angst, produktiv-psychotische Symptome und Verhaltensstörungen hinzutreten (siehe auch Tabelle 3).

Klinisch erschwerend sind die häufigen Symptomüberlappungen zwischen den unterschiedlichen Demenzenformen. Beispielsweise treten Demenz und Depression häufig in Kombination auf oder die Verhaltensänderungen bei einer frontotemporalen Demenz werden von einer amnestischen Amnesie begleitet, die klinisch nicht von einer Alzheimer-Demenz zu trennen ist. Mischformen der Demenzen sind also häufig und spiegeln sich auch neuropathologisch wieder wie beispielsweise zwischen AD und zerebrovaskulärer Erkrankung, AD und Lewy-Body-Demenz.(Holmes et al., 1999, Lim et al., 1999).

**Tabelle 3:** Kriterien für ein Demenzsyndrom (aus Brandt, Dichgans & Diener, Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen, S. 293), (nach ICD-10 und DSM-IV-TR)

---

Multiple erworbene kognitive Einbussen
Abnahme des Gedächtnisses
Abnahme mindestens einer weiteren kognitiven Fähigkeit (z.B. Denkvermögen, Planen, Exekutivfunktionen bzw. Aphasie, Apraxie, Agnosie)
Störung von Affektkontrolle, Antrieb oder Sozialverhalten
Beeinträchtigung im Alltagsleben
Kein Hinweis auf vorübergehenden Verwirrtheitszustand
Dauer der Störungen mindestens sechs Monate

---

#### **1.3.4 Sekundäre Demenzsyndrome als Differentialdiagnose**

Von besonderem Interesse ist die korrekte diagnostische Zuordnung eines sekundären Demenzsyndroms bei Grunderkrankungen wie den Hypovitaminosen (meist B<sub>12</sub> und Folsäure), Infektionen des Zentralnervensystems, Hydrocephalus oder toxisch-metabolischen Enzephalopathien (Cordes et al., 2000, Hartmann et al., 2000). Klinisch müssen Demenzen überdies von kognitiven Defiziten auf dem Boden einer depressiven Störung (depressive Pseudodemenzen) und eines Delirs abgegrenzt werden. Für letztere Differentialdiagnosen sind keine pathologischen NSE-Konzentrationen im Liquor beschrieben. Häufigste Ursachen sind chronische Intoxikationen mit Medikamenten und Drogen, depressive Syndrome und metabolische Enzephalopathien (Clarfield, 1988).

Durch eine ätiologiespezifische Behandlung lässt sich bei mehr als 10% aller Patienten die partielle oder vollständige Rückbildung einer Demenz erreichen. Feldstudien zur Prävalenz verschiedener Demenzursachen geben potentiell reversible Grund- oder Begleiterkrankungen bei 10-15% (bis 18%) der Demenzkranken an (Srikanth and Nagara-ja, 2005).

#### **1.3.5 Die primär neurodegenerativen Demenzen**

Der überwiegende Teil der Demenzerkrankungen (80-90%) ist durch primär neurodegenerative Demenzen verursacht. Die Alzheimer-Demenz (AD) ist die häufigste Demenzform in den Industrienationen und nach neuropathologischen Untersuchungen für

etwa 50-60% aller primären neurodegenerativen Demenzen, bei den über 80jährigen sogar für mindestens 65%, verantwortlich. An zweiter Stelle stehen die vaskulären Demenzen, die etwa 15-20% der Demenzen ausmachen. Weitere 8-15% stellen Mischdemenzformen dar, die autoptisch neben Alzheimer-typischen Parenchymschäden durch ausgedehnte vaskuläre Nekrosen gekennzeichnet sind. Etwa 8-15% aller Demenzen werden den übrigen nosologischen Gruppen zugeordnet. Eine Übersicht findet sich bei (Jellinger et al., 1990)

## **1.4 Alzheimer Demenz**

### **1.4.1 Klinische Kriterien der Alzheimer-Demenz**

Die Prävalenz der Alzheimer-Demenz (AD) wird auf 1450 auf 100 000 Einwohner geschätzt (Prusiner, 2001). Für die Altersgruppe von 65 bis 69 Jahren wird die Prävalenz mit 1.53% angegeben (Preston, 1986) und steigt wie die Inzidenz mit dem Lebensalter exponentiell an.

Bei dieser häufigsten primär neurodegenerativen Demenzform ist die Gedächtnisstörung obligat und zeigt sich beim Lernen neuer Inhalte und beim Vergessen von früher Gewusstem (Altgedächtnis). Fokalneurologische Symptome wie Aphasie, Apraxie und Agnosie (unter anderem als Prosopagnosie) prägen neben Störungen des Urteils- und Denkvermögens und der Exekutivfunktionen (Frontalhirnsyndrom) zusätzlich das klinische Bild. Störungen von Affektkontrolle, Antrieb und Sozialverhalten sind häufig beobachtete Symptome und äussern sich in Wesensänderung, enthemmtem Verhalten, Affektinkontinenz sowie psychomotorischer Unruhe mit verbalen und tätlichen Aggressionen.

Die Diagnose der Alzheimer-Demenz ist eine klinische Ausschlussdiagnose, die in etwa 80% der Fälle mit dem neuropathologischen Befund übereinstimmt (Knopman et al., 2001). Grundlage bilden die operationalisierten Kriterien der International Classification of Diseases and Related Disorders (ICD-10) der World Health Organization (WHO) und die Richtlinien zur Diagnose der Alzheimer-Erkrankung durch die Arbeitsgruppe des National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA)

(McKhann et al., 1984). Letztere wie auch die Diagnosekriterien der Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) der American Psychiatric Association (Saß et al., 1996) sind bezüglich ihrer Validität als gleichrangig einzustufen. Zur Verlaufsbeurteilung wird die AD in leichte, mittelschwere und schwere Formen unterteilt-operationalisierbar mit den klinischen Beurteilungsskalen GDS (Global Deterioration Scale)(Reisberg et al., 1988) und CDR (Clinical Dementia Rating) (Knopman et al., 2002; Morris, 1993, Reisberg et al., 1997).

Eine temporomediale Hirnatrophie in der cranialen Computertomographie (CCT) oder kranialen Magnetresonanztomographie (MRT) sowie biparietaler und bitemporaler Hypometabolismus in der Positronenemissionstomographie (PET) und Single-Photonen-Emissions-Tomographie (SPECT) stützen die Diagnose einer Alzheimer-Krankheit (Jagust, 2000, Scheltens et al., 2002). Als Frühzeichen gilt eine Aktivitätsminderung im hinteren Gyrus cinguli (Minoshima et al., 1997).

Zusätzlich ist zur endgültigen Diagnosestellung eine neuropathologische Untersuchung zwingend erforderlich (Tierney et al., 1988). Entscheidend für die Diagnose AD ist der neuropathologische Nachweis von Amyloid-haltigen Plaques und Neurofibrillenbündeln.

Die wesentlichen makroskopischen Veränderungen bilden eine kortikale Atrophie mit verringertem Hirngewicht, verbreiterten Sulci und verschmälerten Gyri sowie eine Erweiterung der inneren und äußeren Liquorräume (Tomlinson, 1992). Histopathologisch imponieren vor allem ein Neuronenverlust mit dem Auftreten seniler, aus Beta-Amyloid-Peptid (A $\beta$ ) bestehender Plaques, Neurofibrillenbündel (tangles aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein als sogenannte „paired helical filaments“) sowie einer Amyloidangiopathie (Terry, 1985).

Liquor- oder andere Biomarker werden von der American Academy of Neurology für die Routinediagnostik der AD derzeit nicht empfohlen, da Vergleichsstudien zu anderen diagnostischen Verfahren fehlen (Knopman et al., 2001). Die deutsche Kommission der Deutschen Gesellschaft für Neurologie hält Liquorparameter (z.B. A $\beta$ , Tau-Protein) für „zukünftig vielversprechend“ (Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie 2003, S.98)

### 1.4.2 Genetik der AD mit Risikofaktoren und Protektoren

Die AD ist vorwiegend eine Erkrankung des hohen und höheren Lebensalters und tritt in der Mehrzahl der Fälle (etwa 95%) sporadisch auf. Weniger als 5% der Fälle sind familiär bedingt (Lautenschlager et al., 1999) mit früherem Manifestationsalter und bilden ein genetisch heterogenes Syndrom mit 100%iger Penetranz. Erbliche AD-Fälle folgen einem autosomal-dominanten Erbgang (Martin et al., 1988), beginnen meist vor dem 60. Lebensjahr (Frommelt et al., 1991) und sind nach bisherigem Kenntnisstand auf Mutationen in drei verschiedenen Genen zurückzuführen: im Gen für das „Amyloid Precursor-Protein“ (APP) auf dem Chromosom 21 und den Genen Präsenilin 1 (PS1 auf dem Chromosom 14) und Präsenilin 2 (PS2 auf dem Chromosom 1).

Alle Mutationen führen zu einer verstärkten Produktion von A $\beta$ , dem Hauptbestandteil der extrazellulären Amyloid-Plaques beim Morbus Alzheimer. APP bildet das Vorläuferprotein des A $\beta$ .

Der Nachweis von Mutationen des Amyloid-Precursor Proteins (APP) (Goate et al., 1991, Hardy et al., 1991) als Vorstufe des Beta-Amyloid-Peptids (A $\beta$ ) von Mutationen des PS-1-Gens hat hohen Voraussagewert (fast 100%) für die Entwicklung der AD. Patienten mit einer PS-1-Genmutation erkranken besonders früh, meist zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr. Die Expressierung des APP spielt eine wesentliche Rolle während der Hirnreifung, da es an der Bildung und dem Erhalt synaptischer Verbindungen und neuronaler Plastizität beteiligt ist. (Kirazov et al., 2001) APP ist ein Typ I-Transmembranprotein und beschreibt eine heterologe Gruppe von Molekulargewichten von 110-140 kDa. Überdies ist APP in Stressantworten und neuronale Reparaturmechanismen involviert (Übersicht bei (Panegyres, 2001)

Das Erkrankungsrisiko in der allgemeinen Bevölkerung wird mit 5% angegeben. Das Lebenszeitrisiko für Geschwister und Kinder eines Erkrankten liegt bei 19%.

### 1.4.3 Apolipoprotein E

Wichtiger genetischer Risikofaktor für die überwiegend sporadische Alzheimer-Demenz mit frühem Beginn (vor dem 65. Lebensjahr) und mit spätem Beginn (nach dem 65. Lebensjahr) ist das  $\epsilon 4$ -Allel des Apolipoprotein E4 (ApoE4) auf Chromosom 19, das zur Pathogenese von etwa 20% aller AD-Fälle beiträgt (Growdon, 1999, Poirier et al., 1993). Das ApoE-Gen kommt beim Menschen in drei Allelen ( $\epsilon 2, \epsilon 3, \epsilon 4$ ) vor. Während das  $\epsilon 4$ -Allel in der Durchschnittsbevölkerung in ca. 12% auftritt, findet es sich bei der AD mit 38-40% signifikant häufiger, wobei 64-80% der Alzheimer-Patienten gegenüber 31% bei gesunden Kontrollen zumindest ein  $\epsilon 4$ -Allel besitzen (Corder et al., 1998). ApoE- $\epsilon 4$ -Allele senken bei der Alzheimer-Demenz das Alter bei Krankheitsbeginn um etwa 8-16 Jahre, erhöhen das Erkrankungsrisiko bei einem Allel um das 2-4fache, bei Homozygoten ( $\epsilon 4/\epsilon 4$ ) sogar um das 10-13fache (Growdon, 1999). Rund 60% aller AD-Fälle unter 65 Jahren und 92% über 65 Jahren sind vermutlich durch ApoE- $\epsilon 4$  bedingt. Doch ist der alleinige Nachweis eines  $\epsilon 4$ -Allels aufgrund zu geringer Sensitivität (65%) und Spezifität (62%) für einen diagnostischen Test für die AD nicht ausreichend (Tsuang et al., 1999). Sein Nachweis beweist weder das Vorliegen einer AD, noch schließt das Fehlen des  $\epsilon 4$ -Allels eine AD als Demenzursache aus. ApoE ist Bestandteil mehrerer Plasma-Lipoproteine und besitzt bei der Reifung des Gehirns und bei der Regeneration nach peripheren Nervenverletzungen spezifische Funktionen im Lipidstoffwechsel (Mahley, 1988, Poirier et al., 1991). Das Vorliegen des ApoE- $\epsilon 4$ -Allels dürfte die Zunahme des AD-Risikos ohne seine Effekte auf Dyslipidämie und Atherogenese bewirken (Prince et al., 2000). ApoE kumuliert extrazellulär in Plaques und intrazellulär in Neurofibrillen (Strittmatter et al., 1993), so dass ein pathogenetischer Zusammenhang zur Alzheimer-Demenz naheliegt.

Als gesicherte Risikofaktoren der mit >90% häufigeren sporadischen AD gilt das Lebensalter sowie der ApolipoproteinE-(ApoE)-Genotyp

Für die familiäre AD mit 100%iger Penetranz sind als Risikofaktoren zunächst 1. eine positive Familienanamnese, da bei insgesamt 10-15% aller AD-Patienten sich Erstgradangehörige mit ebenfalls einer AD mit frühem oder spätem Erkrankungsbeginn finden und 2. verschiedene Genmutationen auf. Weniger als 5% der familiären AD-Patienten weist eine Mutation des APP-Gens auf Chromosom 21 auf. Die Mehrheit, etwa 70%, zeigen Mutationen des P1-Gens auf Chromosom 14 auf, die größtenteils autosomal-

dominant vererbt werden. Aus den bisherigen Ergebnissen lässt sich folgern, dass die verschiedenen Mutationen mit einem unterschiedlichen klinischen Manifestationsalter der AD einhergehen (PS-1:30-40 Jahre, APP:40-50 Jahre und PS2:50-65 Jahre) (Übersicht bei (Hampel et al., 2003)

Eine weitere Risikogruppe sind Personen mit Trisomie 21 (Down-Syndrom) (Wisniewski et al., 1985), bei denen sich die AD durch zusätzliche Kopie des Chromosoms 21 klinisch sehr frühzeitig manifestiert, was ein Hinweis für einen Gendosiseffekt ist.

Als protektiver Faktor wird ein höheres Bildungsniveau angesehen (Ritchie, 2002).

#### **1.4.4 Die Pathogenese des Morbus Alzheimer**

Die Ergebnisse der Grundlagenforschung auf dem Gebiet der Molekulargenetik und Biochemie weisen auf ein heterogenes Krankheitskonzept bei der Alzheimer-Demenz hin. Zur Pathogenese existieren neben der Amyloid-Kaskaden-Theorie und dem Modell der Tauopathie zahlreiche weitere Hypothesen, die ein Zusammenspiel komplexer Schädigungsprozesse wie Neuroinflammation (Hochregulation proinflammatorischer Zytokine, Komplementaktivierung, Akute-Phase-Proteine, reaktive Astrozytose, Mikrogliosis), Glucosehypometabolismus (quantifizierbar mit der Fluor-Deoxyglucose-Positronenemissionstomographie, FDG-PET), oxidativem Stress (Vitamin E, Isoprostane), Lipiddysregulation (Apolipoprotein E, 24-Hydroxycholesterol) und vaskuläre Komponenten (Homocystein, Lipoprotein A) darstellen (Übersicht bei Stuchbury and Münch, 2005). Im Folgenden soll auf die „Amyloid-Kaskaden-Hypothese“ als das bisher am besten untersuchte pathogenetische Konzept näher eingegangen werden.

#### **1.4.5 Die Amyloid-Kaskaden-Hypothese**

Nach der Amyloid-Kaskaden-Hypothese führt die zytotoxische Akkumulation des Beta-Amyloid-Peptids (A $\beta$ ) zu neuronalen Dysfunktion, zur synaptischen und neuronalen Degeneration und bewirkt dadurch den Alzheimer-assoziierten Zelltod (Hardy and Higgins, 1992, Hoozemans et al., 2002, Kowalska, 2004). Die neurofibrillären Bündel aus intrazellulärem hyperphosphoryliertem Tau-Protein (Garcia and Cleveland, 2001, Ludolph et al., 2001). resultieren aus der A $\beta$ -Produktion. Als Mikrotubuli assoziiertes Protein („MAP“) dient das Tau-Protein unter physiologischen Bedingungen der



Stabilisierung der Mikrotubuli und ist somit am Erhalt der zytoskelettalen Stabilität der Neuronen wesentlich beteiligt.. Sechs verschiedene Isoformen des Tau-Proteins werden im menschlichen Gehirn exprimiert. (Übersicht bei Lee et al., 2001).

In den letzten Jahren wurden mehrere Kinasen identifiziert, die bei der Phosphorylierung des Tau-Proteins bei der AD eine Rolle spielen. Zahlreiche in vitro- und in vivo-Untersuchungen haben diese Kinasen als „mitogen activated protein kinases“ (MAPK) GSK3 (Drewes et al., 1992, Mandelkow et al., 1992), cdk2 und cdk5 identifiziert (Baumann et al., 1993).

Über den genauen Mechanismus, der die Verbindung zwischen Amyloid-Pathologie und Alzheimer-Erkrankung herstellt, herrschen unterschiedliche Auffassungen. Die Favorisierung eines direkten neurotoxischen Effektes des A $\beta$  basiert auf in vitro-Experimenten, in denen der Zusatz von fibrillärem  $\beta$ -Amyloid einen neurotoxischen Effekt zeigte (Lorenzo et al., 2000). Weitere Theorien waren zum einen die Beeinträchtigung der Mitochondrienfunktion (Kaneko et al., 1995) oder der Kalzium-Homöostase (Clarke et al., 1998).

Hauptkomponente der Amyloid-haltigen Plaques ist das fibrilläre extrazelluläre Amyloid- $\beta$ -Peptid (A $\beta$ ) aus 40-42 Aminosäuren (Martin, 1999, Selkoe, 2001), wobei die längere Form aus 42 Aminosäuren, das A $\beta$ <sub>1-42</sub>, als schlechter löslich und aufgrund ihrer Tendenz zur Aggregation als neurotoxisch gilt. Die A $\beta$ -Freisetzung aus seinem Vorläuferprotein, dem Amyloid-Präkursor-Protein (APP), durch  $\alpha$ - und  $\beta$ -Sekretasen steht am Anfang der neurodegenerativen Kaskade. Die Aggregation der Plaques wird von einem progredienten Untergang von Nervenzellen begleitet und es treten lokale Entzündungsmechanismen mit aktivierter Mikroglia und reaktiven Astrozyten hinzu. Eine aktuelle Übersicht findet sich bei (Tuppo and Arias, 2005)

Jedoch ist aus Untersuchungen am Gehirn des Menschen bekannt, dass der isolierte Nachweis von A $\beta$ -Ablagerungen per se einen harmlosen Befund darstellt und auch bei vielen nichtdementen alten Personen nachweisbar ist (Crystal et al., 1988) (Nagy et al., 1995, Nagy et al., 1996). Neueren Untersuchungen zufolge werden die Störung synaptischer Plastizität und Neuronenuntergang nicht durch das fibrilläre  $\beta$ -Amyloid verursacht, sondern ist vielmehr mit den löslichen Peptidoligomeren (der präfibrillären Form

des  $\beta$ -Amyloids) (Walsh et al., 2002a, Walsh et al., 2002b und mit der Tau-Pathologie, Neuropilfäden (paired helical filaments in Dendriten) und gewundenen Neuriten (in Plaques) assoziiert (Crystal et al., 1988).

#### **1.4.6 NSE im Liquor bei Morbus Alzheimer**

In der Literatur finden sich zur Liquorkonzentration der NSE bei der AD nur wenige Untersuchungen, die zudem widersprüchliche Ergebnisse zeigen. Neben erhöhten Liquorkonzentrationen der NSE bei Alzheimer-Patienten (Blennow et al., 1994, Royds et al., 1983) wurde von (Cutler et al., 1986) in einer Untersuchung an 30 leicht bis mittelschwer betroffenen Alzheimer-Patienten über erniedrigte Liquorkonzentrationen der NSE bei einmaliger Bestimmung berichtet, die zudem nicht mit der Serum-NSE-Konzentration korrelierten und keine Geschlechts- oder Altersabhängigkeit zeigten. (Cutler et al., 1986) postulierte daraufhin die Hypothese, dass im Laufe der Alzheimer-Erkrankung die Abnahme des Liquor-NSE die fortschreitende Beeinträchtigung der neuronalen funktionalen Aktivität widerspiegelt. (Vermuyten et al., 1990) fanden in einem Kollektiv von 10 Alzheimer-Patienten nur in zwei Fällen erhöhte NSE-Liquorwerte. Andere Autoren wiederum fanden unveränderte Liquorkonzentrationen der NSE bei Alzheimer-Patienten (van den Doel et al., 1988) (Nooijen et al., 1997, Parnetti et al., 1995a).

Diese Untersuchungen zeigten auch, dass Liquor- und Serum-Konzentrationen der NSE nicht korrelieren. Daher können aus der Untersuchung von (Lamour et al., 1988) an 32 Alzheimer-Patienten, die normale Serum-NSE zeigten, keine validen Rückschlüsse auf die Liquorkonzentration der NSE gezogen werden, zumal zusätzlich die gemessenen Serum NSE-Werte nicht mit der Neuropsychologie (MMSE) korrelierten. Aus der Untersuchung von (Parnetti et al., 1995a) an 30 Alzheimer-Patienten, deren NSE-Konzentrationen in Serum- und Liquor ebenfalls nicht korrelierten, ist bekannt, dass die Liquor-NSE eine inverse Korrelation zu den MMSE-Scores zeigte.

Intensiver als die NSE im Liquor wurden Alzheimer-Patientenkollektive auf die beiden Liquorproteine A $\beta$  und tau-Protein hin untersucht (Andreasen et al., 2001, Galasko et al., 1998, Hulstaert et al., 1999, Shoji et al., 1998). Aus diesen Untersuchungen ist bekannt, dass im Liquor der Alzheimer-Patienten hyperphosphoryliertes Tau-Protein (im

speziellen an Threonin 231 phosphoryliert) als Hauptbestandteil der intrazellulären Neurofibrillenbündel erhöht und A $\beta$ <sub>1-42</sub> als Hauptbestandteil der extrazellulären Amyloidplaques erniedrigt ist. Dieses biochemische Liquorprofil wurde auch beim MCI nachgewiesen (Buerger et al., 2002, Buerger et al., 2005a, Hampel et al., 2004, Hampel et al., 2005).

Die Abgrenzung der AD von anderen neurodegenerativen Erkrankungen mit den beiden Liquormarkern Tau-Protein und A $\beta$ <sub>1-42</sub> von Hampel wurde allerdings als ungenügend eingeschätzt. (Hampel et al., 2003, S. 440).

### **1.5 Das Syndrom „minimal cognitive impairment“ (MCI)**

Das Syndrom des Minimal cognitive Impairment (MCI) beschreibt kognitive Beeinträchtigungen, die zwischen dem altersentsprechend Normalen und der Demenz liegen. Andere Bezeichnungen hierfür lauten „cognitively impaired not demented“, „possible dementia prodrome“, „age-associated memory impairment“ oder „age-associated cognitive impairment“ (Knopman et al., 2003). In diese heterogene Erkrankungsgruppe gehören Patienten, deren kognitive Leistungen in mindestens einem Bereich (meistens Kurzzeitgedächtnisstörung) unterdurchschnittlich bezogen auf ihre Altersgruppe sind, ohne die Kriterien für eine Demenz zu erfüllen (Fratiglioni et al., 1992), und ohne in den Alltagsaktivitäten beeinträchtigt zu sein. Die häufigste Form des MCI ist jene mit isolierten Gedächtnisstörungen oder auch das sogenannte „amnestische MCI“, worunter nach den Kriterien des Alzheimer’s Disease Research Center der Mayo Clinic in Rochester (Minnesota) (2003) eine subjektive und objektivierbare Gedächtnisstörung ohne eine Beeinträchtigung anderer kognitiver Funktionen oder der Alltagsaktivitäten zu verstehen ist (Petersen et al., 1999, Petersen, 2003).

Diese Patienten erfüllen nicht die Kriterien für eine Demenz, entwickeln sie aber pro Folgejahr zu 10-15%, wenn sie Gedächtnisstörungen („amnestisches MCI“) aufweisen. Nach sechs Jahren zeigen etwa 80% eine Konversion zur Alzheimer-Demenz (Übersicht bei(Petersen et al., 1999, Petersen et al., 2001) Die MCI-Patienten stellen also eine Risikogruppe dar, die ein um das 5-10fach höheres Risiko trägt, eine Demenz zu entwickeln (Petersen, 2003). Aus autopsischen Untersuchungen ist bekannt, dass Patienten

mit MCI häufig pathologische Merkmale der frühen Alzheimer-Demenz aufweisen (Kordower et al., 2001, Morris et al., 2001).

Über die Liquorkonzentration der NSE beim MCI ist uns nur eine Untersuchung aus dem Jahre 2001 bekannt, in der bei 9 Patienten mit MCI (Age-Associated Memory Impairment, AAMI) mittels Immunradiometrie signifikant erhöhte NSE-Liquorwerte gemessen wurden (Palumbo et al., 2001) verglichen mit der Gruppe der 37 Alzheimer- und 9 vaskulären Demenz-Patienten, deren NSE-Liquorwerte ebenfalls erhöht waren.

Anhand serieller NSE-Bestimmungen im Liquor konnten andere Arbeitsgruppen bei Patienten mit Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung aufzeigen, dass während des Krankheitsverlaufes sehr unterschiedliche NSE-Konzentrationen auftreten (Jimi et al., 1989, Wakayama et al., 1987). So waren in den ersten Monaten der Erkrankung, also im Frühstadium, die NSE-Liquorkonzentrationen massiv erhöht, fielen dann ab und lagen in den letzten Monaten wieder im Normbereich. Dieser Verlauf scheint den stattfindenden Neuronenverlust widerzuspiegeln. Konventionelle Diagnostik wie das kraniale Computertomogramm zeigte erst zu späteren Zeitpunkten die zunehmende Hirngewebsrarefizierung respektive Hirnatrophie.

Auch in der Kasuistik eines Reye-Syndroms wurde durch wiederholte NSE-Bestimmungen im Liquor aufgezeigt, dass der Verlauf der NSE-Erhöhungen gut mit dem klinischen Krankheitsverlauf korrelierte und der stattfindende Neuronenuntergang durch anderweitige Diagnostik wie Hirndruckmessung und Messung der zerebralen Durchblutung nicht zu erfassen war (Nara et al., 1988)

Neben der seriellen NSE-Liquoruntersuchung zur Erfassung von Hirnschädigungen führten einige Autoren auch Blutuntersuchungen durch ((Dauberschmidt et al., 1983, Steinberg et al., 1984a, Steinberg et al., 1984b, Tiainen et al., 2003). Hierbei ergaben sich erste Anhaltspunkte dafür, dass bei zerebralen Hypoxien (Dauberschmidt et al., 1991) und Schädelhirntraumen (Dauberschmidt et al., 1983, Dauberschmidt et al., 1986) messbare NSE-Erhöhungen im Blut auftreten, welche bei einer koexistenten Permeabilitätsstörung der Blutliquorschranke Informationen über das Ausmass der zerebralen Schädigung bieten können.

Auch andere Körperflüssigkeiten zeigen NSE-Erhöhungen als Hinweis auf zerebrale Schädigungen. So wurden über NSE-Erhöhungen in der Amnionflüssigkeit bei kindlichen Geburtsrisiken wie grünem Fruchtwasser, straffer Nabelschnurumschlingung, schwerer Dezeleration im Kardiotokogramm, Spina bifida, Anezephalie oder Totgeburt berichtet (Sorensen et al., 1987, Zinsmeyer et al., 1987, Anneren et al., 1988)

Obwohl ein spezifischer diagnostischer Test für die verschiedenen primären Demenzerkrankungen bisher fehlt, wurden in den letzten Jahren Untersuchungen biologischer und genetischer Marker entwickelt, die vor allem bei kombinierter Anwendung für die klinische Diagnosestellung hilfreich sind und die Treffsicherheit erhöhen. Ein gutes Beispiel für eine hohe Treffsicherheit eines Biomarkers liefert der positive Nachweis des Proteins 14-3-3 im Liquor mit einer 92%-igen Spezifität für die CJD (Übersicht bei (Van Everbroeck et al., 2005).

## **1.6 Ziel der vorliegenden Untersuchung**

Unter Berücksichtigung der dargestellten widersprüchlichen Befunde zur Liquorkonzentration der NSE bei der Alzheimer-Demenz, in ihrer Korrelationen zur Klinik (Neuropsychologie) und weiteren Parametern und des Vorliegens nur einer einzigen Untersuchung zum Minimal Cognitive Impairment, ist es von diagnostischem und prognostischem Interesse, welche Ergebnisse in einem grösseren Patientenkollektiv beobachtet werden können.

Die zu prüfenden Hypothesen waren a), ob und welche Konzentrationsänderungen der NSE im Liquor bei der Alzheimer-Demenz und dem Minimal Cognitive Impairment bestehen, b), ob die Liquorkonzentration der Neuronenspezifischen Enolase bei Alzheimer-Patienten einen Zusammenhang mit den unterschiedlichen Demenzschweregraden aufweist und möglicherweise als Biomarker die Krankheitsprogression abbilden kann, c), ob die Liquorkonzentration der Neuronenspezifischen Enolase mit den neuropsychologisch messbaren kognitiven Defiziten zusammenhängt und d), ob die Liquorkonzentration der Neuronenspezifischen Enolase beeinflusst wird durch den Apoprotein-E-Genotyp, das übrige biochemischen Liquorprofil sowie durch demographische, biometrische, klinische Daten und dem prämorbidem Bildungsniveau und e), ob die Liquor- und Serumkonzentrationen der NSE miteinander korrelieren.

## 2 Patienten und Methoden

### 2.1 Patienten

#### 2.1.1 Klinische Einteilung

Aus dem Patientenkollektiv der Gedächtnissprechstunde der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf mit seit dem 12.09.1995 dokumentierten, etwa 1800 EDV-erfassten und diagnostizierten ambulanten Patienten wurde retrospektiv zunächst eine Microsoft Access<sup>®</sup>-Datenbank mit 370 Patientendatensätzen generiert und aus letzterer eine Excel 2003-Datenbank (Microsoft<sup>®</sup> Windows) mit ausführlichen Daten zu 269 lumbalpunktierten Patienten angelegt.

Aus deren Patientenakten wurden für jeden Patienten neben den bekannten Basisdaten (Alter, Geschlecht, Körpergröße, Anzahl der Ausbildungsjahre, Untersuchungszeitpunkt(e), Diagnose, CDR (Clinical Dementia Rating), sämtliche Ergebnisse aus der psychopathologischen, neuropsychologischen, neurologischen und internistischen Untersuchung, den vorliegenden Liquor- und Blutuntersuchungen, der Apoprotein E-Genotyp mit Anzahl der ApoE-ε4-Allele, die für diese Arbeit ausgewählten neuropsychologischen Testdaten (MMSE, Uhrentest, TMT-A, TMT-B, GDS), bekannte Angaben zu Vorerkrankungen, aktueller Medikation, jetzigem und früheren Nikotin- und Alkoholkonsum, soweit hierzu Angaben in den Patientenakten vorhanden waren, in diesem Subdatensatz tabellarisch ergänzt.

Die ursprüngliche Vorstellung der ambulanten Patienten in der Gedächtnissprechstunde war zur diagnostischen Einschätzung auf Überweisung der behandelnden niedergelassenen Praktischen Ärzte, Internisten oder Neurologen hin erfolgt. Nach ausführlicher ärztlicher Aufklärung, Bedenkzeit und der Gelegenheit zu Fragen hatten sich die Patienten bzw. deren gesetzliche Vertreter mit der diagnostischen Liquorpunktion, der Apoprotein-E-Genotypisierung und der anonymisierten Auswertung ihrer Daten für wissenschaftliche Zwecke mündlich und schriftlich einverstanden erklärt.

Im nächsten Schritt wurden für den aktuellen Subdatensatz, der der vorliegenden Arbeit zu Grunde liegt, aus den 269 Patienten wiederum 188 Patienten (110 weibliche, 78

männliche) ausgewählt, deren Lumbalpunktion ab Herbst 2001 durchgeführt worden war. Dieser Schritt wurde notwendig, da im Herbst 2001 im hiesigen Zentrallabor der NSE-Testkit (siehe unter Methoden) geändert und damit die Referenzwerte für die NSE im Liquor und Serum neu berechnet worden waren. Die im aktuellen Subdatensatz für die weitere statistische Auswertung berücksichtigten 188 Patienten wurden folglich alle nach dieser laborinternen Modifizierung der Referenzbereiche für die Liquor- und Serum-NSE in dem Zeitraum vom 02.10.2001 und dem 11.11.2005 lumbalpunktiert. Die von ihnen bestimmten Liquor- und Serumkonzentrationen für die NSE, die der vorliegenden Untersuchung zu Grunde liegen, sind somit ohne Einschränkung miteinander vergleichbar. Die neuen Normbereiche betragen für NSE im Liquor  $<3$  ng/ml, für NSE im Serum  $<15,2$  ng/ml (alte Normbereiche  $<12$  ng/ml für Liquor- und Serum-NSE). Patienten mit B<sub>12</sub>- und Folsäure-Hypovitaminosen als mögliche Ursache ihrer kognitiven Defizite wurden in die endgültigen statistischen Berechnungen nicht mit einbezogen.

Alle nach obigen Kriterien in den aktuellen Subdatensatz eingeschlossenen Patienten (110 Frauen, 78 Männer) waren vor Beginn der vorliegenden Arbeit psychopathologisch, neurologisch und internistisch (inclusive EKG, manuelle Blutdruckmessung am Oberarm nach Riva-Rocchi) untersucht und diagnostisch lumbalpunktiert (vormittags und spätestens bis 16 Uhr nachmittags) worden. Bei jedem Patienten war aufgrund einer aktuellen zerebralen Bildgebung (durch computertomographische Fremdaufnahmen oder eine in der hiesigen Neuroradiologischen Abteilung durchgeführte Magnetresonanztomographie des Neurokraniums, in einigen Fällen durch eine Hirn-Positronenemissionstomographie-Untersuchung ergänzt) eine akute zerebrale Pathologie im Vorfeld der Liquorpunktion ausgeschlossen worden.

Die diagnostische Einordnung der Patienten war durch die behandelnden Ärzte in der Gedächtnissprechstunde in Zusammenschau mit der Klinik, Anamnese (inclusive Fremdanamnese), Neuropsychologie, Liquorbefund, Labor und Bildgebung auf der Grundlage folgender Kriterien erfolgt:

- Im Falle einer Alzheimer-Demenz auf der Grundlage der ICD-10 („International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems“ in der 10. Revision) und der jeweils gültigen Version (bis 31.12.2003: ICD-10-SGB-V Version 2.0 und Diagnosesynthesaurus 4.0; ICD-10-GM Version 2004

und 2005) in Kombination mit den NINCDS-ADRDA-Kriterien (McKhann et al., 1984, 2005)

- Im Falle einer vaskulären Demenz gemäß der operationalisierten Kriterien der ICD-10 in der jeweils gültigen Version in Kombination mit den NINCDS-AIREN-Kriterien (Forette et al., 1995).
- Im Falle einer frontotemporalen Demenz gemäß der ICD-10 in der jeweils gültigen Version in Kombination mit den Lund-Manchester-Kriterien für die frontotemporalen Demenzen (Benke and Donnemiller, 2002)
- Im Falle der beiden Parkinson-Demenzen und der primär progressiven Aphasie gemäß der ICD-10 in der jeweils gültigen deutschen Fassung

Über die vergebenen Diagnosen hinaus wurden die ärztlicherseits vergebenen Werte für das CDR (Clinical Dementia Rating) der Patienten in die Excel-Tabelle übernommen. Mit den CDR-Werten war durch die behandelnden Ärzte in der Gedächtnissprechstunde eine zusätzliche klinische Einschätzung des vorliegenden kognitiven Syndroms vorgenommen worden. Hierbei entsprachen definitionsgemäß einem Minimal Cognitive Impairment ein CDR-Wert von 0.5, einem leichtgradigen dementiellen Syndrom ein CDR-Wert von 1, einem mittelschweren dementiellen Syndrom ein CDR-Wert von 2 und einem schweren, fortgeschrittenen dementiellen Syndrom ein CDR-Wert von 3 (Gesunde mit CDR-Wert=0).

### **2.1.2 Routine-Laborparameter**

Folgende Routinelaboruntersuchungen lagen zu den Patienten in den Patientenakten vor: grosses Blutbild, Gerinnung im Citratblut mit (Quick (INR), Quick, Partielle Thromboplastinzeit (PTT), Thrombinzeit (TZ), Fibrinogen; überdies im Plasma bestimmte Serumelektrolyte (Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid), Glucose, Kreatinin, Bilirubin gesamt, Gesamteiweiss, AST (Aspartataminotransferase=Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, GOT), ALT (Alaninaminotransferase=Glutamat-Pyruvat-Transaminase, GPT), GLDH (Glutamat-Dehydrogenase), GGT (Gamma-Glutaryltransferase), pankreasspezifische Amylase, Creatininkinase gesamt, C-reaktives Protein (CRP) sowie im Serum bestimmte Schilddrüsenhormone (TSH basal, freies T4, freies T3, Gesamt T3, Gesamt T4), im Serum bestimmte Vitamine B<sub>12</sub> und Folsäure; in



indizierten Fällen ergänzend TPHA im Serum (*Treponema pallidum*-Hämagglutination).

An weiteren Untersuchungen lagen vor: die Blutsenkungsgeschwindigkeit und ein Urinstix.

### **2.1.3 Apoprotein E-Genotypisierung**

Bei 88 Patienten war eine Apoprotein E-Genotypisierung aus peripherem Vollblut (EDTA-Blut) im Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie (Abteilung für Molekulare Zellbiologie, Direktorin Prof. Dr. Dr. U. Beisiegel) durchgeführt worden.

## **2.2 Methoden**

### **2.2.1 Liquorentnahme und –analyse**

Der Liquor cerebrospinalis wurde zwischen 9.00 und 16.00 Uhr durch eine Lumbalpunktion am sitzenden oder liegenden Patienten aus dem Intervertebralraum LWK 3/4 oder LWK 4/5 entnommen und in Polystyrol-Liquorröhrchen (Firma Greiner) asserviert. Sofort im Anschluss an die Liquorpunktion erfolgte eine venöse Blutentnahme zur Parallelbestimmung im Serum.

Die im Liquor cerebrospinalis der Patienten bestimmten Parameter umfassten [Normbereiche des Labors]:

Neuronenspezifische Enolase [ $<3$  ng/ml], Liquorzellzahl (Angabe in  $\times/3$  Zellen in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer) [ $<12/3$  Zellen], Gesamteiweiß [140-500 mg/l], Albumin [93-314 mg/l], Immunglobulin G [9-40 mg/l], Immunglobulin A [bis 11 mg/l], Immunglobulin M [bis 7 mg/l], oligoklonales Immunglobulin G (positiv oder negativ). In einigen Fällen mit erhöhter Liquorzellzahl und erhöhtem Liquorgesamteiweiß respektive einer Schrankenstörung wurden gegebenenfalls die Liquorzellen zytologisch differenziert und ergänzend Glucose und/oder Laktat in Liquor und/ oder im Serum bestimmt.

Im Serum wurden parallel hierzu bestimmt: Neuronenspezifische Enolase [ $<15,2$  ng/ml], Albumin [32300-49000 mg/l], Immunglobulin G [6300-14600 mg/l], Immunglobulin A [584-3530 mg/l], Immunglobulin M [630-2770 mg/l]. Gegebenenfalls wurden Glucose und Laktat im Serum bei Verdacht auf ein entzündliches Liquorsyndrom ergänzend bestimmt.

Als Liquor/Serum-Quotienten  $Q$  (Liquor/Serum)  $\times 10^{-3}$  wurden bestimmt:

$Q_{\text{Alb}}$ ,  $Q_{\text{IgG}}$ ,  $Q_{\text{IgA}}$ ,  $Q_{\text{IgM}}$ . Eine Liquorschrankenstörung wurde anhand eines alterskorrekt erhöhten  $Q_{\text{Alb}}$  und Berechnung mit dem Reiberschema diagnostiziert.  $Q_{\text{Alb}}^* = (4 + \text{Alter} / 15) \times 10^{-3}$  entspricht dem altersabhängigen Maximum des Referenzbereiches des  $Q_{\text{Alb}}$  (Beispiel:  $Q_{\text{Alb}}^* = 8$  (vertikale Linie im Reiber-Diagramm) entspricht dem oberen Referenzbereich der Blut-Liquor-Schrankenfunktion eines 60jährigen Patienten).

### 2.2.2 Liquor-und Serumanalyse der NSE

Die Liquor- und Serumproben wurden bis zur einmal wöchentlichen Analyse im Labor nach Zentrifugation bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren gelagert. Hämolytische Seren wurden aufgrund des intraerythrozytären NSE-Gehaltes verworfen, um falsch hohe NSE-Konzentrationen auszuschliessen.

Die NSE-Konzentrationen im Liquor und Humanserum wurden nach dem „Sandwich“-Testprinzip mit dem ElektroChemilumineszenz ImmunoAssay „ECLIA“ (12133113 122) der Firma Roche, Basel, am MODULAR ANALYTICS E170 (Elecsys Modul) der Firma Roche Diagnostics im Hormonlabor des Instituts für Klinische Chemie am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf nach Herstellerangaben bestimmt.

Als Normwert wurde für die NSE im Liquor  $<3$  ng/ml und für die NSE im Serum  $<15,2$  ng/ml gemäß den laborinternen Normwerten festgelegt. Diesen Grenzwerten lag definitionsgemäß die 95. Perzentile des Referenzkollektivs zu Grunde. Im Herbst 2001 waren die laboreigenen Referenzwerte für die NSE im Liquor und Serum im Zusammenarbeit mit der Neurologischen Klinik (mit Herrn PD Dr. med. H.-J. Stürenburg) neu mit  $<3$  ng/ml für NSE im Liquor und  $<15,2$  ng/ml für NSE im Serum festgesetzt worden. Die 188 Patienten des aktuellen Subdatensatzes wurden ausnahmslos nach der Umstellung

auf diese aktuellen Referenzwerte liquorpunktiert, so dass die von ihnen bestimmten NSE-Konzentrationen im Liquor und Serum untereinander ohne Einschränkungen vergleichbar sind.

### **2.2.3 Sandwich-Testprinzip zur NSE-Bestimmung**

Im ersten Inkubationsschritt bilden 20 µl Probe (1ml Mindestprobenmenge für Liquor und Serum bei einem Totvolumen von 100 µl), ein biotinylierter monoklonaler NSE-spezifischer Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex (Tris (2,2'-bipyridyl) ruthenium(II)-Komplex (Ru(bpy) 32+) markierter monoklonaler NSE-spezifischer Antikörper einen Sandwich-Komplex. Im zweiten Inkubationsschritt erfolgt nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln die Bindung des Komplexes über die Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Festphase. Nach Überführen des Reaktionsgemisches in die Messzelle, dortiger Fixierung der Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode und Entfernen der ungebundenen Substanzen mit ProCell wird durch Anlegen einer Spannung die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen. Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt, die durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert wird.

Der Messbereich beträgt nach Herstellerangaben 0,050-370 ng/ml und ist durch die Nachweisgrenze und das Maximum der Masterkurve definiert. Die im Test verwendeten monoklonalen Antikörper 18E5 und 84B10 sind spezifisch gegen die  $\gamma$ -Untereinheit der Enolase gerichtet (analytische Sensitivität). Die funktionale Sensitivität beträgt 0,25 ng/ml und ist als die niedrigste Analytkonzentration definiert, die mit einem Variationskoeffizienten (Lauf/Lauf) von <20% reproduzierbar gemessen wird. Die Sensitivität bzw. analytische Nachweisgrenze wird vom Hersteller mit < 0,05 ng/ml angegeben und entspricht der niedrigsten messbaren Analytkonzentration, die von Null unterschieden werden kann. Die Sensitivität wird berechnet als die Konzentration, die zwei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt (Masterkalibrator, Standard 1+2 SD, Präzision in der Serie, n= 21).

## 2.3 Psychometrische Testverfahren

Die psychometrischen Daten waren zeitnah zu den Liquorparametern (in den meisten Fällen +/- 7 Tage) erhoben worden, maximal lagen 12 Wochen zwischen Liquorpunktion und Psychometrie. Bei den 188 Patienten wurden aus deren ausführlicher Neuropsychologischer Testung (MMSE, Uhrentest, Schlüsseltest, Wechsler Memory Scale in der revidierten Fassung (WMS-R), CERAD-Testbatterie (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease), Trailmaking-Test (TMT) Teil A (TMT-A) und Teil B (TMT-B), Kramer-Test, Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest (MWT-B), Hamburger Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE), Zahlentranskodierung, Activities of Daily Living (ADL), DemTect<sup>R</sup>) folgende psychometrische Parameter ausgewählt und in die o. b. Excel-Tabelle eingetragen:

- Mini-Mental State Examination (MMSE) in der deutschsprachigen Fassung mit maximal 30 Punkten (Kessler et al., 1990)
- Uhrentest modifiziert nach (Shulman et al., 1993)
- Trailmaking-Test A (TMT-A)
- Trailmaking-Test B (TMT-B)
- Geriatric Depression Score (GDS) 0 bis max. 15 Punkte (Kurzversion)

Die individuellen neuropsychologischen Testergebnisse waren anhand altersentsprechender Normtabellen in alterskorrigierte Standardwerte umgewandelt worden.

TMT-A und TMT-B gaben einen Eindruck von den Exekutivfunktionen bzw. dem psychomotorischen Tempo der Patienten. Mit dem GDS-Score wurden Hinweise auf ein möglicherweise zugrunde liegendes oder konkurrierendes depressives Syndrom gewonnen, wobei GDS-Werte von 6-10 Punkte für eine leichte bis mäßiggradige Depression sprachen. GDS-Werte >10 Punkte (von 15 Items) wurden als Hinweis auf eine schwere Depression interpretiert.

War ein Patient aufgrund des vorliegenden Demenzschweregrades laut Akteneintrag nicht imstande gewesen, die Aufgabenstellung richtig zu verstehen oder die Aufgabe trotz überschrittenem Zeitlimit korrekt zu lösen oder war er zu erschöpft, so wurde dies nachträglich für die statistische Auswertung im TMT-A mit einem Standardwert von 220 sec, im TMT-B mit einem Standardwert von 430 sec gewertet. Dadurch konnte

statistisch von den Patienten unterschieden werden, die die Aufgaben im TMT-A und TMT-B erheblich zeitverzögert aber noch korrekt hatten ausführen können.

### **2.3.1 Der Mini-Mental-Status-Test**

Als orientierender kognitiver Leistungstest zur Einschätzung des Schweregrades der kognitiven Beeinträchtigung wurde der MMSE (Mini-Mental State Examination) in der deutschsprachigen Fassung von Kessler, Markowitsch & Denzler (1990) verwendet (Kessler et al., 1990). Die Originalversion wurde im Jahre 1975 von Folstein et al. veröffentlicht und verwendet die Bezeichnung MMS für Mini-Mental State (Folstein et al., 1975). In diesem etwa zehnmütigen Interview dienen Handlungsaufgaben und praxisnahe Fragen, die von kognitiv nicht beeinträchtigten Patienten im Regelfall problemlos beantwortet werden können, der Erfassung kognitiver Störungen bei älteren Personen. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 30.

Der MMST umfasst in dieser deutschsprachigen Version 11 bzw- 12 Aufgaben, die fünf Bereichen zugeordnet sind: 1. Orientierung (zeitlich und räumlich), 2. Merkfähigkeit (drei Wörter lernen), 3. Aufmerksamkeit und Rechnen, (serielles Subtrahieren oder Rückwärtsbuchstabieren von R- A- D- I- O), 4. Erinnern (die zuvor gelernten Wörter reproduzieren) und 5. Sprache (Nennen, Nachsprechen, 3-Stufen-Kommando, Lesen, Schreiben, Abzeichnen). Für jede richtige (Teil-) Antwort bzw. korrekte Operation wird ein Punkt vergeben.

In der vorliegenden Arbeit weisen weniger als 24 Punkte (Cut-off-Wert kognitiver Beeinträchtigung) auf eine dementielle Erkrankung hin. Dabei kann zwischen einem leichten Demenzsyndrom (MMST-Score: 20 bis 23), einem mittelschweren Demenzsyndrom (MMST-Score: 13 bis 19) und einem schweren Demenzsyndrom (MMST-Score <13) unterschieden werden. MMST-Werte von 24 bis 28 wurden als leichte kognitive Störung klassifiziert. Die Interpretation auf der Basis der vielfach bestätigten Cut-off-Werte ist objektiv. Die überwiegende Anzahl der Publikationen berichtet für diese Schwelle Sensitivitätswerte über 80% für demente Patienten und deutlich niedriger für psychiatrisch oder neurologisch Erkrankte. Es liegen zahlreiche Angaben zur Reliabilität und Validität bei kognitiv Beeinträchtigten vor (Übersicht bei (Raiha et al., 2001, Tombaugh and McIntyre, 1992).

Der Mini Mental Status Test wird international häufig verwendet und ist ein klinisch gut einsetzbares, pragmatisches Testinstrument, mit dem der aktuelle Stand der kognitiven Leistungsfähigkeit des Patienten erfasst werden kann. Der MMST ermöglicht die Abgrenzung einer kognitiven Beeinträchtigung vom normalen Funktionsniveau ohne eine nosologische Zuordnung. Zur Diagnose einer wahrscheinlichen Alzheimer-Krankheit nach NINCDS-ADRDA-Kriterien wird der MMST empfohlen (McKhann et al., 1984).

### **2.3.2 GDS (Geriatric Depression Score)**

Die GDS als ein speziell auf ältere Menschen abgestimmtes Selbstbeurteilungsverfahren wurde in der deutschen Version von Gauggel, Schmidt und Didie (1994) bzw. Gauggel und Birkner (1999) als Kurzversion mit 15 Fragen eingesetzt (Gauggel and Birkner, 1999). Die Originalversion geht auf Yesavage et al. 1983 (Yesavage et al., 1983) sowie Sheikh & Yesavage 1985 (Sheikh and Yesavage., 1985) zurück.

Zum Routineeinsatz in der geriatrischen Diagnostik wird der GDS von geriatrischen Fachgesellschaften empfohlen (Bach et al., 1995). Die verwendete Kurzversion mit 15 Items hat sich in den Validierungsstudien durch die höchsten Kriterienkorrelationen ausgezeichnet (Montorio and Izal, 1996) (Brown and Schinka, 2005)

In dieser Kurzversion besteht die GDS aus 15 Fragen nach typischen kognitiven und affektiven Symptomen eines depressiven Zustandes bei älteren Menschen. Die Fragen sind mit Ja oder Nein zu beantworten. 10 Fragen weisen bei positiver Beantwortung auf Depression hin, die übrigen 5 Fragen bei negativer Beantwortung. Der Skalenwert für das Ausmass der depressiven Verstimmung ergibt sich aus der Summe der symptomatisch beantworteten Items (Maximalwert bei der vorliegenden Kurzform 15 Punkte). Die Ergebnisse liegen somit zwischen 0 und 15 Punkten.

Der Fragebogen enthält keine Fragen zu somatischen und vegetativen Symptomen, zur Sexualität, zum Schlaf und zur Suizidneigung. Der für die 15-Item-Version am häufigsten angegebene Wert, der auch für die deutsche Fassung bestätigt werden konnte, liegt bei 6 und mehr Punkten (Sensivität: 84%, Spezifität:89%) (Gauggel and Birkner, 1999)

Mit dem GDS-Score wurden Hinweise auf ein möglicherweise zugrunde liegendes oder konkurrierendes depressives Syndrom gewonnen, wobei GDS-Werte von 6-10 Punkte für eine leichte bis mäßiggradige Depression sprachen. GDS-Werte >10 Punkte (von 15 Items) wurden als Hinweis auf eine schwere Depression interpretiert.

Die 15-Items-Kurzversion umfasst die folgenden 15 Fragen (Collegium Internationale Psychiatriae Sclorum, S. 251):

„Bitte wählen Sie bei den folgenden Fragen jeweils die Antwort aus, die Ihrem Befinden während der letzten Wochen am besten entsprochen hat.

1. Sind Sie grundsätzlich mit Ihrem Leben zufrieden?
2. Haben Sie viele Ihrer Aktivitäten und Interessen aufgegeben?
3. Haben Sie das Gefühl, Ihr Leben sei ausgefüllt?
4. Ist Ihnen oft langweilig?
5. Sind Sie meiste Zeit guter Laune?
6. Haben Sie Angst, dass Ihnen etwas Schlimmes zustossen wird?
7. Fühlen Sie sich die meiste Zeit glücklich?
8. Fühlen Sie sich oft hilflos?
9. Bleiben Sie lieber zu Hause, anstatt auszugehen und etwas Neues zu unternehmen?
10. Glauben Sie mehr Probleme mit dem Gedächtnis zu haben als die meisten anderen?
11. Finden Sie, es sei schön jetzt zu leben?
12. Kommen Sie sich in Ihrem jetzigen Zustand ziemlich wertlos vor?
13. Fühlen Sie sich voller Energie?
14. Finden Sie, dass Ihre Situation hoffnungslos ist?
15. Glauben Sie, dass es den meisten Leuten besser geht als Ihnen?

### **2.3.3 Die CERAD-Testbatterie**

Die CERAD Arbeitsgruppe (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease) stellte eine kurze, reliable Batterie klinischer und neuropsychologischer Tests zusammen, um Patienten mit der klinischen Diagnose einer Alzheimerschen Erkrankung

zu erkennen und zu beschreiben (Morris et al., 1989). Diese Arbeitsgruppe empfiehlt zu diesem Zwecke den Einsatz folgender psychometrischer Verfahren:

- -Short Bless Test mit sechs Items
- eine verbale Flüssigkeitsaufgabe (innerhalb einer Minute möglichst viele Tiernamen aufzählen)
- eine Kurzform des Boston Naming Tests (15 Items)
- Mini-Mental State Examination
- Eine verbale Gedächtnisaufgabe mit drei Versuchsdurchgängen und jeweils 10 Items
- konstruktive Praxie (vier einfache geometrische Figuren von Rosen (1981) müssen nachgezeichnet werden)
- Wortliste lernen
- ein verzögerter Abruf der Wortliste
- Wortlisten wieder erkennen
- Abruf der konstruktiven Praxie-Items

#### **2.3.4 Der Uhrentest (modifiziert nach Shulman 1993)**

Als weiteres schnell durchführbares (2-5 Minuten) kognitives Screening-Verfahren werden mit dem weit verbreiteten Uhrentest die Bereiche visuell-räumliche Organisation und abstraktes Denken erfaßt und auch subtile Veränderungen der globalen Leitungsfähigkeit erkannt (Brodsky and Moore, 1997, Shulman et al., 1986).

Vorteilhaft neben der raschen Durchführung und der Eignung für Verlaufsuntersuchungen ist die Beobachtung, dass dieser Test relativ unbeeinflusst durch Alter, Sprache, Kultur oder Bildung zu sein scheint.

In der vorliegenden Arbeit kam die nach Shulman (1993) modifizierte Version zur Anwendung (Shulman et al., 1993). Der Punktwert 1 entspricht einem fehlerfreien Ergebnis. Der maximale Punktwert von 6 kennzeichnet nach differentialdiagnostischem Ausschluss eines Delirs und einer Depression eine schwerstgradige visuell-räumliche Desorganisation, die eine Darstellung einer Uhr verhindert. In Tabelle 4 werden die Bedeutungen der von 1 bis 6 möglichen Punktwerte beim verwendeten Uhrentest beschrieben (Shulman et al., 1993).



**Tabelle 4:** Auswertung des Uhren-Test (modifiziert nach Shulman 1993)

Score	Beschreibung
1	„perfekt“ <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zähler 1-12 richtig eingezeichnet</li> <li>• Zwei Zeiger, die die richtige Uhrzeit (11:10 Uhr) anzeigen</li> </ul>
2	leichte visuell-räumliche Fehler <ul style="list-style-type: none"> <li>• Abstände zwischen Ziffern nicht gleichmäßig</li> <li>• Ziffern außerhalb des Kreises</li> <li>• Blatt wird gedreht, so dass Ziffern auf dem Kopf stehen</li> <li>• Pat. verwendet Linien („Speichen „) zur Orientierung</li> </ul>
3	Fehlerhafte Uhrzeit bei erhaltener visuell-räumlicher Darstellung der Uhr <ul style="list-style-type: none"> <li>• nur ein Zeiger</li> <li>• „10 nach 11“ (o.ä.) als Text hingeschrieben</li> <li>• keine Uhrzeit eingezeichnet</li> </ul>
4	Mittelgradige visuell-räumliche Desorganisation, so dass ein korrektes Einzeichnen der Uhr unmöglich wird <ul style="list-style-type: none"> <li>• unregelmäßige Zwischenräume</li> <li>• Ziffern vergessen</li> <li>• Perseveration: wiederholt den Kreis, Ziffern jenseits der 12</li> <li>• Rechts-Links-Umkehr (Ziffern gegen den Uhrzeigersinn)</li> <li>• Dysgraphie- keine lesbare Darstellung der Ziffern</li> </ul>
5	Schwergradige visuell-räumliche Desorganisation <ul style="list-style-type: none"> <li>• wie unter (4) beschrieben, aber stärker ausgeprägt</li> </ul>
6	Keinerlei Darstellung einer Uhr (cave: Ausschluss Depression/Delir) <ul style="list-style-type: none"> <li>• kein wie auch immer gearteter Versuch, eine Uhr zu zeichnen</li> <li>• keine entfernte Ähnlichkeit mit einer Uhr</li> <li>• Patient/in schreibt Wort oder Name</li> </ul>

### 2.3.5 Der Trailmaking-Test, TMT-A und TMT-B

Beim Trailmaking-Test nach Reitan (Reitan, 1992) handelt es sich um einen zweiteiligen Papier- und Bleistift-Test zur Messung der Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, mit dem die Merkmalsbereiche Symbolerfassung, Überblickgewinnung (Scanning) und Umstellungsfähigkeit beurteilt werden können. Im ersten Teil (TMT-A) besteht die Aufgabe darin, auf DIN A 4-Blatt gedruckte Kreise, die im Zentrum von 1 bis 25 nummeriert und in zufälliger Anordnung über das Papier verteilt sind, mit einer Bleistiftlinie so schnell wie möglich miteinander zu verbinden. Im zweiten Teil (TMT-B)

finden sich auf einem DIN A4 Blatt erneut zufällig angeordnete Kreise, die in diesem Fall jedoch mit den Zahlen 1 bis 13 und den Buchstaben A bis L gekennzeichnet sind. Die Kreise mit Zahlen und Buchstaben müssen in wechselnder Reihenfolge so schnell wie möglich miteinander verbunden werden, d. h. es muß zwischen Zahlen- und Buchstabensequenz alterniert werden (1-A-2-B-3-C-4 usw.). In die Auswertung gehen die Durchführungszeiten für Teil A und Teil B in Sekunden ein. Konnte ein Patient aufgrund der Schwere des vorliegenden Demenzsyndroms die Aufgabenstellung nicht verstehen, einen Teil nicht korrekt ausführen oder brach ein Patient den Test erschöpft vorzeitig ab, wurde dies für den TMT-A mit einem Standardwert von 220 sec, für den TMT-B mit einem Standardwert von 430 sec markiert. Auf diese Weise wurde für die spätere statistische Auswertung gewährleistet, dass letztere Patienten von jenen Patienten, die zwar mit erheblicher Latenz die Fragestellung schlussendlich korrekt bewältigten, unterschieden werden konnten.

### **2.3.6 CDR (Clinical Dementia Rating)**

Die CDR ist eine fremdbeurteilende Globalskala zur Einschätzung der Demenzausprägung in Form eines halbstrukturierten klinischen Interviews mit dem Patienten und einem Informanten (z.B. einem Familienmitglied) (Hughes et al., 1982, Morris, 1993). Sie reicht über die Punktwerte 0 (=kognitiv unbeeinträchtigt), 0.5 (=Minimal Cognitive Impairment oder leichte kognitive Störung), über 1 (=leichtes dementielles Syndrom) und 2 (=mittelgradiges dementielles Syndrom) bis maximal 3 (=schweres, fortgeschrittenes dementielles Syndrom). Diese Zuordnung basiert auf der Beurteilung folgender sechs Funktionsbereiche und markiert das klinische Stadium des kognitiven Abbaus: Gedächtnis, Orientierungsvermögen, Urteilsvermögen und Problemlösung, Leben in der Gemeinschaft, Haushalt und Hobbys sowie Körperpflege. Der Grad der Beeinträchtigung in jedem dieser Bereiche (ausgenommen Körperpflege) wird ärztlicherseits auf einer sechsstufigen Skala eingeschätzt.

Die Interrater-Reliabilität und die Validität sind zufriedenstellend. Die Deutsche Bearbeitung erfolgte durch das Alzheimer's Disease Research Center, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO, USA (2001). Die Originalversion der CDR stammt von (Hughes et al., 1982) und (Morris, 1993).

Die Skala dient auch zur Abgrenzung einer kognitiven Störung vom altersgemäß normalen kognitiven Funktionsniveau. Das CDR gehört zu den für klinische Studien zum Nachweis der Wirksamkeit von Antidementiva empfohlenen Globalmassen (Reisberg et al., 1997)

## 2.4 Diagnosegruppen des Patientendatensatzes

Die Patienten wurden anhand der internationalen Konsensuskriterien für MCI und Demenzerkrankungen diagnostiziert, die im Folgenden tabellarisch aufgelistet sind (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Diagnosekriterien

<b>Diagnosen</b>	<b>Basierend auf den Konsensuskriterien</b>
Minimal Cognitive Impairment (MCI)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. ICD-10 in der jeweils gültigen Version (2005)</li> <li>2. Alzheimer's Disease Research Center der Mayo Clinic, Rochester, Minnesota (Knopman et al., 2003)</li> </ol>
Alzheimer-Demenz (AD)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984)</li> <li>2. ICD-10 in der jeweils gültigen Version</li> <li>3. DSM-IV (Saß et al., 1996)</li> </ol>
Vaskuläre Demenz (VaD)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. NINCDS-AIREN (Forette et al., 1995)</li> <li>2. ICD-10 in der jeweils gültigen Version</li> </ol>
Frontotemporale Demenz (FTD)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Lund. Manchester-Kriterien (Benke and Donnemiller, 2002)</li> <li>2. ICD-10 in der jeweils gültigen Version</li> </ol>
Primär progressive Aphasie (PPA)	ICD-10 in der jeweils gültigen Version

### 2.4.1 Definition eines MCI und der einzelnen Grade der AD

In der vorliegenden Arbeit basierte die der Patientenakte entnommene Diagnose eines Minimal Cognitive Impairment (ICD-10: F06.7) auf dem klinischen Syndrom mit subjektiv beklagten, fremdanamestisch bestätigten und psychometrisch objektivierbaren

leichten kognitiven Defiziten (MMST meist  $\geq 27$ ), meist als amnestisches MCI mit dominierenden Gedächtnisstörungen, und auf der klinischen Einschätzung auf der Grundlage der operationalisierten Kriterien der „International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems“ in der 10. Revision der World Health Organization (WHO) und in der deutschen Fassung (Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information) sowie in Übereinstimmung mit den diagnostischen Kriterien für ein amnestisches MCI der Mayo Clinic in Rochester, Minnesota (Übersicht bei (Knopman et al., 2003).

Die festgestellten Defizite hatten definitionsgemäß nicht die Kriterien einer Demenz erfüllt, die Aktivitäten des alltäglichen Lebens nicht beeinträchtigt und waren mit einem CDR-Wert von 0.5 ärztlicherseits dokumentiert worden.

Die Patienten mit der ICD-10-Diagnose „vaskuläre Demenz“ (F01.0 bis F01.9) wurden zusammen mit den Patienten mit einer Nicht-Alzheimer-Demenz (NAD) gruppiert. Die Patienten mit der ICD-10-Diagnose „Demenz bei Alzheimer-Krankheit, atypische oder gemischte Form“ (F00.2\*, G30.8†) wurden den Patienten mit einer „Demenz bei Alzheimer-Krankheit“ (F00.-\*) zugeordnet.

Um die 117 Alzheimer-Patienten zum Gruppenvergleich in klinisch unterschiedliche Demenzschwergrade einzuteilen, führten wir nachträglich die Unterteilung der Patienten anhand ihrer MMST-Werte durch und wendeten hierbei zwei alternative Gruppierungsmodelle A und B an. Beide Gruppierungsmodelle wurden statistisch ausgewertet und im Ergebnisseteil graphisch dargestellt.

### 2.4.2 Gruppierungsmodell A

Die Alzheimer-Patienten wurden retrospektiv in Tertilen eingeteilt (Tabelle 6):

**Tabelle 6:** Tertilenbildung innerhalb der Alzheimer-Patientengruppe anhand der MMSE-Punkte

MMST $\leq 19$ Punkte N= 41	1. Tertile in der Alzheimer-Gruppe (=ADT1)
MMST 20-23 Punkte N= 33	2. Tertile in der Alzheimer-Gruppe (=ADT2)
MMST $\geq 24$ Punkte N= 43	3. Tertile in der Alzheimer-Gruppe (=ADT3)

In die 1. Tertile (ADT1) fielen die Alzheimer-Patienten (n=41) mit einem fortgeschrittenen dementiellen Syndrom. Die 2. Tertile (ADT2) umfasste jene Alzheimer-Patienten (n= 33) mit einem mittelschwerem dementiellen Syndrom. Alzheimer-Patienten mit einem leichten dementiellen Syndrom (n= 43) waren in der 3. Tertile (ADT3) repräsentiert.

### 2.4.3 Gruppierungsmodell B

Die Alzheimer-Patienten wurden retrospektiv in Quartilen eingeteilt(Tabelle 7):

**Tabelle 7:** Quartilenbildung innerhalb der Alzheimer-Patientengruppe anhand der MMST-Punkte

MMST 10-17 Punkte N= 29	Alzheimer-Pat. mit schwerem bis mittelschwerem dementiellen Syndrom (ADQ1)
MMST 18-21 Punkte N= 25	Alzheimer-Pat. mit mittelschwerem dementiellen Syndrom (ADQ2)
MMST 22-24 Punkte N= 33	Alzheimer-Pat. mit mittelschwerem bis leichtem dementiellen Syndrom (ADQ3)
MMST 25-30 Punkte N= 30	Alzheimer-Pat. mit leichtem dementiellen Syndrom (ADQ4)

In die 1. Quartile (ADQ1) wurden die Patienten mit schwerem bis mittelschwerem Demenzsyndrom eingeordnet (MMST-Score 10-17 Punkte). Zu der 2. Quartile gehörten die Patienten mit mittelschwerem dementiellen Syndrom (MMST-Score 18-21 Punkte). In der 3. Quartile waren die Patienten mit mittelschweren bis leichtem Demenzsyndrom zusammengefasst (MMST-Score 22-24 Punkte). Die 4. Quartile beinhaltete leicht betroffene Alzheimer-Patienten mit MMST-Scores =25-30 Punkte

## 2.5. Statistische Methoden

Die Ergebnisse der psychometrischen Tests (MMST, Uhrentest, TMT-A, TMT-B), GDS- und CDR-Scores wurden mit den Messergebnissen der Serum- und Liquorwerte der NSE, allen aufgeführten Laboruntersuchungen, zusammen mit den Stammdaten (Alter, Geschlecht, Ausbildungsjahre, Apo-E-Genotypisierung, Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele, Diagnosen, bekannte Vorerkrankungen (Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, koronare Herzkrankheit, Fettstoffwechselstörung) und bekannter Medikation, zunächst in eine Access<sup>®</sup>-Datenbank unter Windows XP<sup>®</sup> (Microsoft<sup>®</sup>) eingetragen und anschließend unter Anwendung des Statistikprogramms SPSS Version 11.5.1 für Microsoft<sup>®</sup> Windows<sup>®</sup> XP Professional als eine Excel<sup>®</sup> 2003-Tabelle unter Windows XP<sup>®</sup> (Microsoft<sup>®</sup>) dargestellt. Die weitere statistische Auswertung der Excel<sup>®</sup>-Version erfolgte mit dem Programm STATISTICA 6.1 für Microsoft Windows.

Zur Darstellung der Häufigkeitsverteilung des Liquor- und Serummarkers NSE im Zusammenhang zum MCI und Demenzschweregrad (Tertilen- bzw. Quartilengruppierung) wurden Box-Whisker-Plots verwendet. In der graphischen Box-Whisker-Plot-Darstellung wurden mit dem Rechteck die erste und dritte Quartile dargestellt und durch die Mittellinie der Median. Die verlängerten Linien symbolisieren die Verteilung der Werte innerhalb der zehnten und neunzigsten Perzentile. Werte unterhalb der zehnten und oberhalb der 90. Perzentile (Ausreisser) wurden nicht dargestellt.

Die Serum- und Liquorkonzentrationen der NSE folgten keiner Normalverteilung. Deshalb erfolgte eine Darstellung mittels Medianwerten und Streubreiten.

Gruppenunterschiede in Alter, Geschlecht, Ausbildungsjahren, ApoE- $\epsilon$ 4-Allelen, einzelnen Liquor- und Serumparametern wurden mit dem (Student's) t-Test im Falle nor-

malverteilter Daten untersucht. Bei fehlender Normalverteilung der Daten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test (einseitiger Test) mit einer Korrektur nach Bonferroni gearbeitet. Das Vorliegen einer Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft.

Der Vergleich zwischen den Liquor- und Serumwerten der NSE bei den Patienten mit MCI und den Alzheimer-Patienten mit den unterschiedlichen Schweregraden erfolgte mit dem Mann-Whitney U-Test (einseitiger Test) und einer Korrektur nach Bonferroni., da keine Normalverteilung, sondern eine gering nach links verschobene Normalverteilung vorlag.

Die Altersabhängigkeit der NSE wurde mit der Rangkorrelation nach Spearman überprüft.

Zur Überprüfung linearer Zusammenhänge zwischen zwei Variablen wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson (für normalverteilte Daten) bzw. Spearman (für nicht normalverteilte Daten) berechnet und ein zweiseitiger Test auf Signifikanz durchgeführt.

Zum Vergleich der Rohdaten der verschiedenen Gruppen wurde eine einseitige Varianztestung (ANOVA) durchgeführt.

Wenn nicht anders angegeben, sind in den Tabellen und im Text arithmetische Mittelwerte (+/- Standardabweichung, SD) mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (CI 95, range/Varianz/Streubreite) angegeben. Für Testentscheidungen wurde ein Signifikanzniveau von 0.05 festgelegt. Ergebnisse mit einem  $p > 0.05$  wurden als statistisch nicht signifikant bewertet.

## 3 Ergebnisse

### 3.1. Das Patienten-Gesamtkollektiv

#### 3.1.1 Klinische Befunde im Gesamtkollektiv

##### *Geschlechterverteilung im Gesamtkollektiv*

Zur Auswertung kamen 188 Patienten (110 Frauen, 78 Männer) mit einem Überwiegen der weiblichen Patienten. Der Anteil der 110 Frauen an der Gesamtpopulation betrug 58,51%, der Anteil der 78 Männer an der Gesamtpopulation betrug 41,49 %.

##### *Altersverteilung im Gesamtkollektiv*

Das Durchschnittsalter der Gesamtpopulation betrug 67,12 Jahre (SD 7,54), streute von 41 bis 84 Jahren und folgte einer Normalverteilung. Das durchschnittliche Alter betrug bei den 110 Frauen 67,85 (+/-7,86, range 41,00-84,00). Die 78 Männer wiesen ein geringfügig niedrigeres Durchschnittsalter als die Frauen mit einem Mittelwert von 66,10 Jahren (+/-6,98, range: 52,00 bis 79,00) auf. Die Altershäufigkeitsverteilung im Gesamtdatensatz geben Tabelle 8, die Altersverteilung unter den Frauen Tabelle 9 und die Altersverteilung unter den Männern Tabelle 10 wieder.

**Tabelle 8** : Altersverteilung aller Patienten (n=188) des Gesamtkollektivs

Alter in Jahren	Patienten	%
40-50	5	2,7
51-60	28	14,9
61-70	88	46,8
71-80	64	34,0
81-90	3	1,6
Summe	188	100,0



**Tabelle 9:** Altersverteilung der Frauen (n=110) des Gesamtkollektivs

Alter in Jahren	Frauen	%
40-50	5	4,5
51-60	7	6,4
61-70	52	47,3
71-80	43	39,1
81-90	3	2,7
Summe	110	100,0

**Tabelle 10:** Altersverteilung der Männer (n=78) des Gesamtkollektivs

Alter in Jahren	Männer	%
40-50	0	0
51-60	21	26,9
61-70	36	46,2
71-80	21	26,9
81-90	0	0
Summe	110	100,0

*Körpergewicht im Gesamtkollektiv*

Bei 97 der 110 Frauen war das Körpergewicht bekannt und variierte von 43 bis 103,1 kg. Das Körpergewicht lag bei 54 der 78 Männer vor und betrug von 54 bis 108 kg.

*Körpergrösse im Gesamtkollektiv*

Zu 98 der 110 Frauen lagen Angaben zur Körpergrösse vor, das von 147 cm bis 180 cm variierte. Bei 68 der 78 Männer war die Körpergrösse bekannt und streute von 158 cm bis 199 cm.

*Ausbildungsjahre im Gesamtkollektiv*

Zu 177 Patienten des Gesamtdatensatzes lagen Angaben zu den Ausbildungsjahren vor. Durchschnittlich wies das Gesamtkollektiv 11,78 Ausbildungsjahre auf (+/-2,88; range 4-19). Bei den Frauen (n=102) waren es durchschnittlich 11,22 (+/-2,85) Ausbildungsjahre mit einer Streubreite von 4-19 Jahren. Verglichen mit dem Ausbildungsniveau der Frauen wiesen die Männer (n=75) einen höheren Mittelwert der Ausbildungsjahre auf, der 12,54 (+/-2,75; range 6-19) Ausbildungsjahre betrug.

*Bekannte Vorerkrankungen im Gesamtkollektiv*

Ein arterieller Hypertonus war bei 63 Patienten (42 Frauen, 21 Männer) bekannt. Ein Diabetes mellitus war bei 13 Patienten (7 Frauen (im Alter von 62, 66, 67, 2x72, 76, 77 Jahren) und bei 6 Männern (im Alter von 58, 60, 70, 72, 78, 79 Jahren) bekannt. Eine koronare Herzkrankheit lag bei 4 Frauen (im Alter von 65, 66, 70 und 72 Jahren) und 3 Männern (im Alter von 64, 74 und 75 Jahren) vor. Eine Fettstoffwechselstörung ließ sich bei 48 Frauen und 29 Männern eruieren.

**3.1.2 Laborbefunde im Gesamtkollektiv***Liquorkonzentration der NSE im Gesamtkollektiv*

Die Mehrheit des Gesamtkollektivs (=108 Patienten) wies eine erhöhte Liquorkonzentration der Neuronenspezifischen Enolase mit einem Mittelwert von 9,85 (+/-6,57) ng/ml auf, die von 3 bis 29,90 ng/ml (Referenzwert des Labors <3 ng/ml) variierte. 80 Patienten wiesen eine NSE-Liquorkonzentration im Normbereich auf mit einem Mittelwert von 2,08 ng/ml (+/-0,53; range 0,8-2,9).

*Liquorzellzahl im Gesamtkollektiv*

Bei 9 Patienten wies der Liquor eine erhöhte Liquorzellzahl ( $\geq 12/3$ ) auf. Bei den übrigen 179 Patienten lag die Liquorzellzahl im Normbereich von  $< 12/3$  Zellen.

*Anzahl der Apoprotein Eε4-Allele im Gesamtkollektiv*

Bei 110 Patienten lagen die ApoE-Genotypen vor. Kein ApoEε4-Allel wiesen 49 Patienten (26 weibliche, 23 männliche) auf. Ein ε4-Allel fand sich bei 50 Patienten (35 weiblichen, 15 männlichen). 2 ApoEε4-Allele lagen bei 11, somit homozygoten Patienten.

ten (8 weiblichen, 3 männlichen) vor. Die Tabelle 11 listet die Verteilung der ApoE  $\epsilon$ 4-Allele im Gesamtkollektiv und für die beiden Geschlechter getrennt auf.

**Tabelle 11:** Verteilung der Apoprotein E  $\epsilon$ 4-Allele im Gesamtkollektiv und deren geschlechtsabhängige Häufigkeitsverteilung

Anzahl der Apoprotein E- $\epsilon$ 4-Allele	gesamt	Frauen	Männer
0	49	26	23
1	50	35	15
2	11	8	3
Summe	110	69	41

### 3.1.3 Neuropsychologische Befunde im Gesamtkollektiv

#### *MMSE-Werte im Gesamtkollektiv*

In dem Gesamtkollektiv lagen die MMST-Werte von 187 Patienten (missing data, n=1) vor, deren Mittelwert bei 23,2 (+/-5,07) mit einer Streubreite von 9 bis 30 Punkten lag. Bei den Frauen (n=110) lag der Mittelwert der MMST bei 22,74 (+/-5,05; range: 9-30) und somit geringfügig niedriger als der Mittelwert in der Gesamtgruppe. Bei den Männern (n=77) betrug der MMST durchschnittlich 23,86 (+/-5,08; range 10 bis 30 Punkte) und lag somit geringfügig höher als der Mittelwert der Gesamtgruppe. Die Verteilung der MMST Werte im Gesamtkollektiv zeigt Tabelle 12.

**Tabelle 12:** Verteilung der MMST-Werte im Gesamtkollektiv

MMST	N
5-10 Punkte	3
11-15 Punkte	17
16-20 Punkte	26
21-25 Punkte	67
26-30 Punkte	74
Summe	187
Missing data	1

*Uhrentest im Gesamtkollektiv*

Für 181 Patienten aus dem Gesamtpatientenkollektiv lag ein Ergebnis zum Uhrentest vor und wies einen Mittelwert von 2,69 (+/-1,40; range 1 -6) auf. Der Uhrentest bei den 107 Frauen zeigte einen Mittelwert von 2,80 (+/-1,43; range 1-6), bei den 74 Männern einen Mittelwert von 2,53 (+/-1,35; range 1-6).

*TMT-A-Werte im Gesamtkollektiv*

Bei 179 Patienten lagen die TMT-A-Scores vor und betrug durchschnittlich 82,02 sec (+/-56.08) mit einer Streubreite von 20 bis 220 sec. Mit einem nachträglich zugewiesenen TMT-A-Wert von 220 sec wurden jene Patienten gekennzeichnet, die aufgrund der Schwere des klinischen Demenzsyndroms die Aufgabenstellung nicht verstanden, vorzeitig abgebrochen hatten oder zur korrekten Durchführung nicht imstande gewesen waren (siehe unter Methoden/Psychometrische Testverfahren). Bei den 107 Frauen lag der Mittelwert mit 78,86 sec (+/-49,54; range:20-220) niedriger, bei den Männern mit 86,71 (+/-64,67; range: 21-220) höher als der Mittelwert in der Gesamtgruppe.

*TMT-B-Werte im Gesamtkollektiv*

Bei 178 Patienten lag der TMT-B-Wert vor und betrug durchschnittlich 269, 60 sec (+/-148,20) mit einer Streubreite von 57-430 sec. Bei den 106 Frauen lag der Mittelwert höher bei 286, 46 (+/-151, 69) sec mit einer Streubreite von 57 bis 430 sec. Der TMT-

B-Wert der 72 Männer lag durchschnittlich bei 275,0 sec (+/-140,29) und variierte zwischen 59 und 430 sec. Mit einem nachträglich zugewiesenen TMT-B-Wert von 430 sec wurden jene Patienten gekennzeichnet, die aufgrund der Schwere des klinischen Demenzsyndroms die Aufgabenstellung nicht verstanden, vorzeitig abgebrochen hatten oder zur korrekten Durchführung nicht imstande gewesen waren (siehe unter Methoden/Psychometrische Testverfahren).

### 3.2 Klinische und Laborbefunde der Einzelgruppen

Unter Anwendung internationaler Konsensus-Kriterien auf der Grundlage der ICD-10 in der jeweils gültigen Version für alle Diagnosegruppen, ergänzt für die Alzheimer-Demenz zusätzlich durch die NINCDS-ADRDA- und DSM-IV-Kriterien, für die vaskuläre Demenz zusätzlich ergänzt durch die NINCDS-AIREN-Kriterien und DSM-IV, für die Frontotemporale Demenz zusätzlich durch die Lund-Manchester-Kriterien, für die MCI zusätzlich durch die Diagnostikkriterien des Alzheimer's Disease Research Center der Mayo Clinic in Rochester, Minnesota, 2003 (siehe unter Patienten und Methoden/Diagnosegruppen des Patientendatensatzes), ergab sich für das Gesamtpatientenkollektiv folgende Verteilung der einzelnen Diagnosen:

1. *Alzheimer-Demenzen* (n=117; 68 Frauen, 49Männer) (F00.0, F00.1, F00.2\*) inclusive der Demenzen bei Alzheimer-Krankheit mit atypischer/gemischter Form
2. *Nicht-Alzheimer-Demenzen* (n=21; 12 Frauen, 9 Männer) mit folgender Verteilung:
  - 10 Patienten mit einer *frontotemporalen Demenz* (F02.0) (6 Frauen von 59 bis 66 Jahren (im Alter von 59, 61 (n=2), 65 (n=2) und 66 Jahren) und 4 Männer von 61 bis 70 Jahren (im Alter von 61, 64, 67 und 70 Jahren))
  - 8 Patienten mit *vaskulärer Demenz* (F01.0-F01.9) (5 Männer von 52 bis 79 Jahren (im Alter von 52, 67, 72, 73 und 79 Jahren) und 3 Frauen (im Alter von 73, 76 und 78 Jahren).
  - 2 Patienten im Alter von 73 und 76 Jahren mit einer *primären Parkinson-Demenz* (F02.3\*)
  - eine 64-jährige Patientin mit *primärer progressiver Aphasie* (F02.8\*)

3. n= 40 mit *Minimal Cognitive Impairment* (MCI), von diesen:
  - 30 mit isolierter MCI (ICD-10: F06.7) und klinischen Hinweisen für eine beginnende Alzheimer-Demenz
  - 8 mit MCI und zusätzlicher leichter depressiver Episode nach ICD-10 ( F06.7 und F32.0)
  - ein 53-jähriger Patient mit MCI und zusätzlicher mittelgradiger depressiver Episode nach ICD-10 (F06.7 und F32.1)
  - ein 66-jähriger Patient mit MCI zusätzlicher rezidivierender depressiver Störung, gegenwärtig schwerer Episode ohne psychotische Symptome nach ICD.10 (F06.7 und F33.2)
4. Die *Kontrollgruppe* (n=10; 1 gesunde Kontrolle und 9 Disease-Kontrollen) umfasste
  - eine gesunde 61-jährige Frau ohne bekannte Vorerkrankungen
  - einen 60-jährigen Patienten mit fokaler Epilepsie (ICD.10 G40.2)
  - eine 64-jährige Patientin mit einer Anpassungsstörung (ICD-10: F43.21)
  - 3 Patienten (eine 47-jährige Frau und 2 Männer im Alter von 59 und 67 Jahren) mit einer mittelgradigen depressiven Episode (ICD-10: F32.1)
  - eine 62-jährige Patientin mit einer rezidivierenden depressiven Störung, gegenwärtig leichten Episode (ICD-10 F33.0)
  - eine 59-jährige Patientin mit einer rezidivierenden depressiven Störung, gegenwärtig schweren Episode ohne psychotische Symptome (ICD-10 F33.2)
  - einen 71-jährigen Patienten mit einem Alkoholabhängigkeitssyndrom (ICD-10 F10.24) und einem amnestischen Syndrom durch Alkohol (ICD-10 F10.6)
  - eine 61-jährige Patientin mit einem Alkoholabhängigkeitssyndrom (ICD 10 F10.2) sowie einem Restzustand und verzögert auftretender psychotischer Wirkung durch Alkohol (ICD-10 F10.73)

Die Häufigkeitsverteilung der Diagnosegruppen im Gesamtdatensatz ist in der folgenden Tabelle 13 zusammengefasst:

**Tabelle 13:** Häufigkeitsverteilung der einzelnen Diagnosen

Diagnose	N	%
Alzheimer-Demenz	117	62,2%
Nicht-Alzheimer-Demenz	21	11,2%
MCI	40	21,3%
Kontrollgruppe	10	5,3%
Summe	188	100%

Die kognitiven Defizite bzw. vorliegenden dementiellen Syndrome waren durch die eruierten Medikationen der Patienten nicht hinreichend erklärbar.

Einige demographische Daten (Alters-und Geschlechterverteilung, Ausbildungsjahre) für die einzelnen Diagnosegruppen und den Gesamtdatensatz sind in Tabelle 14 zusammenfassend dargestellt. Das Überwiegen der weiblichen Bevölkerung findet sein Korrelat in den überwiegend weiblichen Fallzahlen in allen Diagnosegruppen.

**Tabelle 14:** Demographische Daten der Patienten (Alters-/Geschlechterverteilung und Ausbildungsjahre in den einzelnen Diagnosegruppen und im Gesamtkollektiv)

Diagnosegruppen	N	Geschlecht (M/F)	Alter in Jahren		Ausbildungsjahre		
			mean(SD)	range	n	mean(SD)	range
<i>Alzheimer-Demenzen</i>	117	49/68	68,54(7,22)	50-84	108	11,48(2,88)	4-19
Frauen	68		70,18(6,92)	50-84	62	10,87(2,91)	4-18
Männer	49		66,27(7,09)	53-78	46	12,29(2,65)	8-19
<i>Minimal Cognitive Impairment</i>	40	16/24	64,18(7,66)	41-76	38	12,13(2,92)	8-19
Frauen	24		64(8,55)	41-76	22	11,73(2,99)	8-19
Männer	16		64,44(6,35)	53-74	16	12,69(2,82)	8-19
<i>Nicht-Alzheimer-Demenzen</i>	21	9/12	67,71(7,01)	52-79	21	12,48(2,86)	8-18
Frauen	12		66,75(6,41)	59-78	12	12,08(2,57)	8-17
Männer	9		69,0(7,94)	52-79	9	13(3,28)	8-18
<i>Kontrollgruppe</i>	10	4/6	61,10(6,24)	47-71	10	12,20(2,66)	8-17
Frauen	6		59,0(6,10)	47-64	6	11,17(2,04)	8-14
Männer	4		64,25(5,74)	50-71	4	13,75(2,99)	10-17
<i>Gesamtkollektiv</i>	188	78/110	67,12(7,54)	41-84	188	11,78(2,88)	4-19
Frauen	110		67,85(7,86)	41-84	110	11,22(2,85)	4-19
Männer	78		66,10(6,98)	52-79	78	12,54(2,75)	6-19

n= Fallzahlen; range= Varianz (Streubreite, CI 95)

### 3.2.1 Klinik und Labor in der Alzheimergruppe

117 Patienten (Frauen) der 138 dementen Patienten erfüllten die klinischen Kriterien einer wahrscheinlichen Alzheimer-Demenz (AD) gemäß den NINCDS-ADRDA-Kriterien, es lag keine konkurrierende Erkrankung als mögliche Demenzursache vor. Dies entspricht 84,78 % der untersuchten Demenzerkrankungen.



### *Altersverteilung in der Alzheimer-Patientengruppe*

Das Durchschnittsalter der 117 Alzheimer-Patienten betrug 68,54(+/-7,22) Jahre mit einer Varianz von 50 bis 84 Jahren. Die weiblichen Alzheimer-Patienten (n=68) waren durchschnittlich 70,18 (+/-6,92) Jahre alt (range 50-84). Bei den im Durchschnitt etwa vier Jahre jüngeren männlichen Alzheimer-Patienten (n=49) lag das Durchschnittsalter bei 66,27 (+/-7,09; range 53-78).

### *Ausbildungsjahre in der Alzheimer-Patientengruppe*

Von 108 Alzheimer-Patienten war das Ausbildungsniveau bekannt. Der durchschnittliche Alzheimer-Patient wies 11,48 (+/-2,88) Ausbildungsjahre mit einer Streubreite von 4-19 Jahren auf., und lag damit nicht wesentlich unter den durchschnittlichen Ausbildungsjahren des Gesamtkollektivs (11,78, +/-2.88, range 4-19). Die Frauen (n=62) hatten durchschnittlich 10,87(+/-2,91; range: 4-18) Ausbildungsjahre und lagen damit nur geringfügig niedriger als die Frauen im Gesamtpatientenkollektiv (11.22,+/-2.85, range 4-19). Auch die männlichen Alzheimer-Patienten (n=46), deren durchschnittliche Ausbildungsjahre 12,29 (+/-2,65) Ausbildungsjahre (Streubreite 8-19) betragen, lagen damit nur geringfügiger niedriger als die Männer des Gesamtpatientenkollektivs, deren Ausbildungsjahre im Durchschnitt 12,54 Jahre betragen (+/-2.75, range 6-19).

### *Liquorkonzentration der NSE in der Alzheimer-Patientengruppe*

Eine erhöhte LNSE fand sich bei 68 der 117 AD-Patienten, entsprechend 58,12% der AD-Patienten (Mittelwert 8,73 ng/ml +/-5,98; Streubreite 3,00-22,60). Der Mittelwert der NSE-Liquorkonzentration aller 117 Alzheimer-Patienten betrug 5,98 ng/ml (+/-5,60; Streubreite von 1,20 bis 22,60 ng/ml) und war somit erhöht.

Bei 41,88 % der AD-Patienten lag die NSE im Liquor im Normbereich mit einem Mittelwert von 2,16 ng/ml (+/-0,46, Streubreite 1,20-2,90). Diese Patienten wiesen klinisch ein höhergradiges Demenzsyndrom mit einem CDR von überwiegend 2-3 auf

Die 68 Frauen mit einer Alzheimer-Demenz (AD) wiesen einen geringfügig höheren Mittelwert der Liquor-NSE von 6,36 ng/ml auf (+/-6,05; Streubreite 1,20 bis 22,20 ng/ml) verglichen mit allen und mit den männlichen Alzheimer-Patienten auf. Bei den 49 Männern mit AD variierte die NSE-Liquorkonzentration zwischen 1,4 und 22,60 mg/ml (Mittelwert 5,44 ng/ml, SD 4,93 ng/ml). Das im Vergleich zu dem Männern ge-

ringförmig höhere durchschnittliche Liquor-NSE bei den Alzheimer-Patientinnen war statistisch nicht signifikant ( $p > 0.05$ ).

#### *Liquorzellzahl in der Alzheimer-Patientengruppe*

Eine normale Liquorzellzahl ( $< 12/3$ ) lag bei 104 der 117, also bei 88,89% der AD-Patienten vor. 6 Patienten wiesen eine erhöhte Zellzahl ( $> 12/3$ ) auf, in 7 Fällen fehlte eine Angabe zur Liquorzellzahl.

#### *Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele in der Alzheimer-Patientengruppe*

Bei den 117 AD-Patienten wiesen 33 AD-Patienten kein  $\epsilon$  4-Allel auf, 33 AD-Patienten wiesen 1  $\epsilon$  4-Allel auf und 11 AD-Patienten wiesen 2  $\epsilon$ 4-Allele auf. Somit waren 66 AD-Patienten diesbezüglich heterozygot und 11 AD-Patienten homozygot (ApoE  $\epsilon$ 4/ $\epsilon$ 4). Bei 40 der AD-Patienten war kein ApoE-Genotyp dokumentiert (Tabelle 15)

**Tabelle 15:** Verteilung der ApoE- $\epsilon$ -4-Allelanzahl bei den Alzheimer-Patienten

Anzahl der Apoprotein E- $\epsilon$ 4-Allele	N
0	33
1 (Heterozygote)	33
2 (Homozygote)	11
Missing data	40
<b>Summe</b>	<b>117</b>

### **3.2.2 Klinik und Labor in der MCI-Gruppe**

60 % der Patienten mit MCI (24/40) waren Frauen, 40% der MCI-Patienten waren Männer (16/40).

#### *Altersverteilung in der MCI-Gruppe*

Die MCI-Patienten waren durchschnittlich 64,18 ( $\pm 7,66$ ; range 41-76) Jahre alt. Die Frauen (n=26) waren durchschnittlich 64 ( $\pm 8,55$ ; range 41-76) Jahre alt. Das Durchschnittsalter der 16 Männer betrug 64,44 ( $\pm 6,35$ ) Jahre (range: 53-74). Die Altersverteilung bei MCI war somit zwischen den Geschlechtern ausgewogener als in der Alzheimer-Gruppe, in der die Frauen durchschnittlich knapp vier Jahre älter als die

männlichen Alzheimer-Patienten waren. Die Patienten mit MCI waren durchschnittlich um etwa 4 Jahre jünger als der durchschnittliche Alzheimer-Patient, dessen Mittelwert bei 68,54 Jahre ( $\pm 7.22$ , range 50-84) lag. Der durchschnittliche MCI-Patient war knapp 2 Jahre jünger verglichen mit dem durchschnittlichen Alzheimer-Patienten (66.27,  $\pm 7.09$ , range 50-84), im Durchschnitt waren die Frauen mit MCI etwa 6 Jahre jünger als die Frauen mit Alzheimer-Demenz (70.18  $\pm 6.92$ , range 53-78).

#### *Ausbildungsjahre in der MCI-Gruppe*

Bei 38 der 40 MCI-Patienten waren die Ausbildungsjahre bekannt. Durchschnittlich wiesen die MCI-Patienten 12,13 ( $\pm 2,92$ ) Ausbildungsjahre mit einer Streubreite von 8-19 Jahren auf. Bei den Frauen (n=22) lagen durchschnittlich 11,73 ( $\pm 2,99$ ; range 8-19) vor. Bei den 16 Männern streuten die Ausbildungsjahre von 8-19 Jahren mit einem Mittelwert von 12,69 ( $\pm 2,82$ ).

#### *Liquorkonzentration der NSE in der MCI-Gruppe*

62,50 % der MCI-Patienten (25 von 40) wiesen eine erhöhte NSE im Liquor auf (Mittelwert 12,29 ng/ml, SD 7,22; Streubreite 3,40-29,90). Im Normbereich lag die NSE bei 37,5% der MCI-Patienten (15 von 40) mit einem Mittelwert von 2,10 ng/ml (SD 0,69, Streubreite 0,90-2,90).

In der MCI-Gruppe (n=40) variierte die NSE im Liquor zwischen 0,90 und 29,90 ng/ml (Mittelwert 8,47 ng/ml; SD 7,57 ng/ml). Bei den 24 Frauen mit MCI betrug der Mittelwert 9,09 ng/ml bei einer SD vom 7,97 und einer Streubreite von 0,90 bis 29,90 ng/ml. Die 16 Männer mit MCI wiesen einen Mittelwert der NSE im Liquor von 7,54 auf (SD 7,07; Streubreite 1,40-22,30). Der Mittelwert der NSE im Liquor der Frauen in der MCI lag somit höher als der Mittelwert der NSE im Liquor der Männer, zeigte aber keine statistisch signifikante Korrelation ( $p > 0.05$ ).

#### *Liquorzellzahl in der MCI-Gruppe*

90 % (36 der 40) MCI-Patienten wiesen eine regelrechte Liquorellzahl ( $< 12/3$  auf). In einem Fall eines 72-jährigen Mannes war die Liquorzellzahl mit  $13/3$  Zellen diskret erhöht ohne Nachweis eines entzündlichen Liquorsyndroms, einer intrathekalen Immunglobulin-G-Synthese oder Liquorschrankenstörung (Liquor-NSE mit 2,7 und Se-

rum-NSE mit 9,7 ng/ml lagen beide im Normbereich). In drei Fällen fehlte eine Angabe zur Liquorzellzahl.

### **3.2.3 Klinik und Labor in der NAD-Gruppe**

Auch bei den 21 Nicht-Alzheimer-Patienten überwogen die 12 Frauen mit 57,14% die 9 Männer (42,86%).

#### *Altersverteilung in der NAD-Gruppe*

Das Durchschnittsalter aller Patienten dieser Gruppe betrug 67,71 Jahre (+/-7,01) und streute von 52,0 bis 79,0 Jahren. Die Frauen waren durchschnittlich 66,75 Jahre alt (+/-6,41; range 59,0-78,0). Das durchschnittliche Alter der Männer betrug 69,0 Jahre (+/-7,94; range 52,0-79,0).

#### *Ausbildungsjahre in der NAD-Gruppe*

Die 21 NAD-Patienten wiesen durchschnittlich 12,48 (+/-2,86) Ausbildungsjahre mit einer Streubreite von 8-18 Jahren auf. Bei den 12 Frauen lagen durchschnittlich 12,08 (+/-2,57) Ausbildungsjahre vor, die von 8-17 Ausbildungsjahren variierten. Die 9 Männer in der NAD-Gruppe wiesen durchschnittlich 13 Ausbildungsjahre auf (SD 3,28, Streubreite 8 bis 18 Jahre)

#### *Liquorkonzentration der NSE in der NAD-Patientengruppe*

Für die 21 Nicht-Alzheimer-Demenzpatienten (NAD) betrug der Mittelwert für die NSE im Liquor bei 6,92 ng/ml (SD 7,26, Streubreite 1,00-25,00) und war somit erhöht. Die Frauen in der NAD-Gruppe wiesen einen Mittelwert der NSE-Liquorkonzentration von 8,58 ng/ml auf (SD 8,24, Streubreite 1,20-25,00). Bei den Männern in dieser Gruppe variierte die NSE-Liquorkonzentration zwischen 1,00 und 18,40 ng/ml bei einem Mittelwert von 4,71 ng/ml (SD 5,36), so dass der Mittelwert der Liquor-NSE in dieser Gruppe bei den Frauen nahezu das um Doppelte des erhöhten Mittelwertes bei den NAD-Männern betrug. Für diesen Unterschied ließ sich keine Korrelation statistischer Signifikanz nachweisen ( $p > 0.05$ ).

Normwertige NSE-Liquorwerte fanden sich bei 47,62% (10 von 21) Patienten mit einem Mittelwert von 1,91 ng/ml (SD 0,63; Streubreite 1,00 bis 2,70). Eine erhöhte NSE

im Liquor wiesen 52,38% (11 von 21) auf (Mittelwert 11,48 ng/ml, SD 7,55, Streubreite 4,00-25,00).

#### *Liquorzellzahl in der NAD-Patientengruppe*

20 der 21 NAD-Patienten wiesen eine regelrechte Liquorzellzahl ( $<12/3$ ) auf (95,24%). Nur in einem Falle einer 72-jährigen Patientin war die Liquorzellzahl mit 51/3 Zellen auf dem Boden eines entzündlichen Liquorsyndroms mit Liquorschrankenstörung erhöht (Q<sub>Alb</sub> mit 10,3 erhöht, Liquorgesamteiweiß mit 639 mg/l erhöht) bei normwertigen Werten für die NSE im Liquor (1,9 ng/ml) sowie ebenso unauffälliger Serum-NSE-Konzentration (10,1 ng/ml)

### **3.2.4 Klinik und Labor in der Kontrollgruppe**

#### *Altersverteilung in der Kontrollgruppe*

Die 10 Kontrollpersonen waren durchschnittlich 61,10 Jahre alt (SD 6,24; range 47,00-71,00). Die 6 weiblichen Kontrollpersonen waren mit durchschnittlich 59,00 Jahren (SD 6,10, range 47,00-64,00) jünger als die 4 männlichen Kontrollpersonen, deren Alter im Mittelwert 64,25 Jahre betrug (SD 5,74) und von 50,00 bis 71,00 Jahren variierte.

#### *Ausbildungsjahre in der Kontrollgruppe*

Für alle 10 Kontrollpersonen betrug der Mittelwert der Ausbildungsjahre 12,20 Jahre (SD 2,66) und variierte von 8 bis 17 Jahren. Die sechs weiblichen Kontrollpersonen wiesen einen Mittelwert von 11,17 Jahren (SD 2,04) mit einer Streubreite von 8 bis 14 Jahren auf. Die 4 männlichen Kontrollpersonen wiesen einen höheren Mittelwert der Ausbildungsjahre 13,75 Jahre (SD 2,99) und eine Streubreite von 10 bis 17 Jahren auf.

#### *Liquorkonzentration der NSE in der Kontrollgruppe*

Der Mittelwert der NSE im Liquor aller 10 Kontrollpersonen betrug 4,74 ng/ml (SD 5,39; range 1,50-16,20). Bei den 6 weiblichen Kontrollpersonen errechnete sich ein Mittelwert von 4,35 ng/ml (SD 4,50, range: 1,70-13,40). Bei den 4 männlichen Kontrollpersonen lag der Mittelwert mit 5,33 ng/ml höher (SD 7,25; range: 1,50-16,20). Einzig in der Kontrollgruppe lag somit der Mittelwert der Liquor-NSE für die Männer höher als der Liquor-NSE-Mittelwert der Frauen ohne statistisch signifikante Korrelation

( $p > 0.05$ ).. In allen anderen Gruppen verhielt sich dies umgekehrt, die Frauen wiesen höhere NSE-Liquorwerte als die Männer auf.

#### *Liquorzellzahl in der Kontrollgruppe*

Bei einer Frau war die Liquorzellzahl mit gering 13/3 Zellen erhöht. Bei den übrigen 9 Kontrollpersonen (5 Frauen) lag die Liquorzellzahl im Normbereich ( $< 12/3$ ).

### 3.3 Neuropsychologische Befunde der Einzelgruppen

Die neuropsychologischen Ergebnisse für MMSE und Uhrentest (Tabelle 16) sowie TMT und TMT-B (Tabelle 17) für alle Diagnosegruppen werden tabellarisch zusammengefasst:

**Tabelle 16:** MMSE und Uhrentest in den einzelnen Diagnosegruppen, im Gesamtkollektiv und in der Kontrollgruppe

Diagnosen	N	MMSE mean(SD)	Varianz	N	Uhrentest mean(SD)	Varianz
Alzheimer-Demenz	117	21,35(4,95)	10-30	111	3,15(1,25)	1-6
Frauen	68	20,60(4,51)	10-30	65	3,25(1,24)	1-6
Männer	49	22,39(5,38)	10-30	46	3,02(1,27)	1-6
MCI	30	27,79(1,85)	21-30	39	1,49(0,85)	1-4
Frauen	24	27,83(1,93)	21-30	24	1,46(0,88)	1-4
Männer	15	27,73(1,79)	23-30	15	1,53(0,83)	1-3
Nicht-Alzheimer-Demenzen	21	23,39(4,61)	9-29	21	2,95(1,50)	1-6
Frauen	12	22,83(4,99)	9-28	12	3,42(1,51)	1-6
Männer	9	23,89(4,26)	17-29	9	2,33(1,32)	1-4
Kontrollgruppe	10	26,70(2,36)	23-30	10	1,70(1,34)	1-5
Frauen	6	26,33(3,01)	23-30	6	1,67(1,60)	1-5
Männer	4	27,25(0,96)	26-28	4	1(0,0)	1-5
Gesamtkollektiv	187	23,2(5,07)	9-30	181	2,69(1,4)	1-6
Frauen	110	22,74(5,05)	9-30	107	2,80(1,43)	1-6
Männer	77	23,86(5,08)	10.30	74	2,53(1,35)	1-6

**Tabelle 17:** TMT-A und TMT-B in den einzelnen Diagnosegruppen, im Gesamtkollektiv und in der Kontrollgruppe

Diagnosen	N	TMT-A (sec) Mean(SD)	Varianz	n	TMT-B (sec) mean/SD)	Varianz
AD	109	84,50(56,92)	21-220	108	324,95(133,5)	66-430
Frauen	65	87,98(47,42)	26-220	64	345,83(127,95)	87-430
Männer	44	104,14(68,06)	21-220	44	294,59(137,01)	66-430
MCI	40	46,23(19,88)	20-116	40	121,98(65,36)	57-422
Frauen	24	48,71(22,55)	20-116	24	124,67(74,37)	57-422
Männer	16	42,50(14,93)	22-78	16	117,94(50,97)	59-263
NAD	20	102,20(73,92)	31-220	20	325,10(126,21)	128-430
Frauen	12	107,75(74,01)	34-220	12	360,0(109,64)	146-430
Männer	8	96,88(78,53)	31-220	8	272,75(138,24)	128-430
Kontrollgruppe	10	48,60(18,55)	26-82	10	152,90(110,83)	73-430
Frauen	6	46,83(21,06)	25-82	6	153,33(141,60)	74-430
Männer	4	51,50(16,62)	31-66	4	152,25(58,57)	75-210
Gesamtkollektiv	179	82,02(56,08)	20-220	178	269,6(148,2)	57-430
Frauen	107	78,86(49,54)	20-220	106	286,46(151,69)	57-430
Männer	72	86,71(64,67)	21-220	72	275,0(140,29)	59-430

AD= Alzheimer-Demenz

MCI= Minimal Cognitive Impairment

NAD= Nicht-Alzheimer-Demenz

TMT-A: Standardwert von 220 sec für schwer betroffene Patienten, die den Testaufbau nicht verstanden oder erschöpft vorzeitig abbrechen

TMT-B: Standardwert von 430 sec für schwer betroffene Patienten, die den Testaufbau nicht nicht verstanden oder erschöpft vorzeitig abbrechen

n= Fallzahlen

### 3.3.1 Mini-Mental-State Examination

*MMSE in der Alzheimer-Gruppe*

Von jedem Alzheimer-Demenz-Patienten lag ein MMSE-Wert vor. Der Mittelwert aller 117 AD-Patienten betrug 21,35 (SD 4,95) und variierte von 10 bis 30 Punkten. Die 68

Alzheimer Patientinnen wiesen einen MMSE-Mittelwert von 20,60 Punkten auf (SD 4,51), der zwischen 10 und 30 Punkten variierte. Bei den 68 Männern mit AD betrug der MMSE-Mittelwert 22,39 (SD 5,38) und variierte ebenfalls zwischen 10 und 30 Punkten (Tabelle 18).

**Tabelle 18:** Verteilung der MMSE-Werte in der Alzheimer-Patientengruppe

<i>MMSE-Score</i>	<i>Häufigkeit (n)</i>	<i>%</i>
10	2	1,709
11	1	0,855
12	1	0,855
13	4	3,419
14	5	4,274
15	6	5,128
16	3	2,564
17	7	5,983
18	5	4,274
19	7	5,983
20	1	0,855
21	12	10,256
22	12	10,256
23	8	6,838
24	13	11,111
25	5	4,274
26	4	3,419
27	7	5,983
28	7	5,983
29	3	2,564
30	4	3,419
<i>Summe</i>	<i>117</i>	<i>100</i>

Wie im Methoden-Teil detailliert ausgeführt, wurden die Alzheimer-Patienten anhand der MMST-Werte in die zwei Gruppierungsmodelle (A mit drei Gruppen (Tertilenbil-



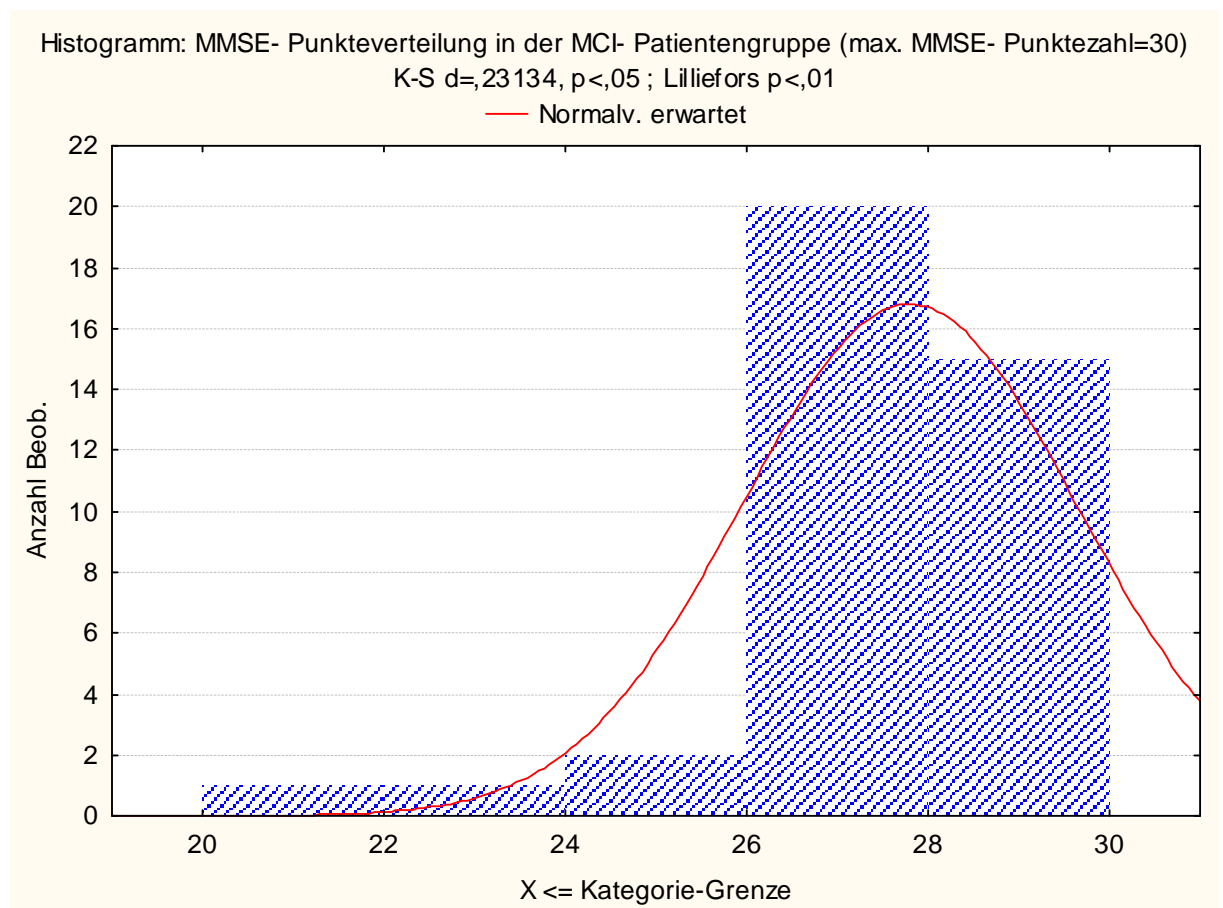
dung) und B mit vier Gruppen (Quartilenbildung)) eingeteilt, um Gruppenvergleiche statistisch analysieren zu können.

### *MMSE in der MCI-Gruppe*

Bedingt durch die Definition des MCI war die Verteilungskurve der MMST-Scores der MCI-Patienten nach rechts verschoben, wie folgendes Histogramm zeigt.

**Abbildung 1:** Verteilung der MMST-Punkte in der MCI-Patientengruppe

1



Von 39 Patienten mit MCI lag ein MMSE-Wert vor (Mittelwert 27,79; SD 1,85, Streubreite 21-30 Punkte). Bei den 24 Frauen mit MCI betrug der MMSE-Mittelwert 27,83 Punkte (SD1,93) und streute von 21 bis 30 Punkte. Die 15 Männer mit MCI wiesen einen MMSE-Mittelwert von 27,73 Punkten auf (SD1,79), der von 23 bis 30 Punkte variierte.

*MMSE in der Gruppe der Nicht-Alzheimer-Demenzen (NAD)*

Von allen Patienten mit einer Nicht-Alzheimer-Demenz lag ein MMSE-Wert vor. Der MMSE-Mittelwert aller 21 Patienten betrug 23,29 Punkte (SD 4,61) und streute zwischen 9 und 29 Punkten. Bei den 12 Frauen mit NAD betrug der MMSE-Mittelwert 22,83 (SD4,99) und streute von 9 bis 28 Punkten. Die 9 Männer mit NAD wiesen einen Mittelwert des MMSE von 23,89 Punkten mit einer Streubreite von 17 bis 29 Punkten auf (SD4,26).

*MMSE in der Kontrollgruppe*

Der Mittelwert des MMSE aller 10 Kontrollpersonen lag bei 26,70 Punkten (SD2,36) und variierte von 23 bis 30 Punkten. Die 6 weiblichen Kontrollpersonen wiesen einen Mittelwert von 26,33 Punkten auf (SD 3,01) mit einer Streubreite von 23 bis 30 Punkten auf. Der MMSE der 4 männlichen Kontrollpersonen lag bei durchschnittlich 27,25 Punkten (SD 0,96) mit einer Streubreite von 26 bis 28 Punkten.

**3.3.2 Trailmaking Test A***TMT-A in der Alzheimer-Patientengruppe*

Von 109 der 117 Alzheimer-Patienten lag ein TMT-A-Ergebnis vor. Die 109 Patienten wiesen einen Mittelwert des TMT-A von 94,50 sec (SD 56,92, Streubreite 21-220 sec) auf. Bei den 65 Frauen mit AD betrug der Mittelwert 87,98 sec (SD47,42, Streubreite 26-220). Der Mittelwert des TMT-A bei den 44 Männern mit AD lag bei 104,14 sec (68,06, Streubreite 21-220).

*TMT-A in der MCI-Gruppe*

Von allen 40 MCI Patienten lag ein TMT-A-Wert vor. Der Mittelwert des TMT-A bei allen MCI-Patienten betrug 46,23 sec (SD 19,88) und variierte von 20 bis 116 sec. Die 24 Frauen mit MCI wiesen einen Mittelwert von 48,71 sec (SD 22,55) auf mit einer Streubreite von 20 bis 116 sec. Der Mittelwert der 16 Männer lag bei 42,50 sec (SD14,93) mit einer Streubreite von 22 bis 78 sec.

*TMT-A in der Patientengruppe der NAD*

Bei 20 der 21 Patienten mit NAD lag ein TMT-A-Score mit einem Mittelwert von 102,20 sec (SD 73,92 sec) vor, der zwischen 31 und 220 sec variierte. Bei den 12 Frauen mit NAD lag der Mittelwert des TMT-A bei 107,75 sec (SD 74,01) und streute von 34 bis 220 sec. Der Mittelwert des TMT-A betrug bei den 8 Männern mit NAD 96,88 sec (SD 78,53) und variierte von 31 bis 220 sec.

*TMT-A in der Kontrollgruppe*

Der Mittelwert aller 10 Kontrollpersonen betrug 48,60 sec (SD 18,55, range: 26,00-82,00). Die 6 weiblichen Kontrollpersonen wiesen einen Mittelwert von 46,83 sec (SD 21,06; range: 25,00-82,00) auf. Bei den 4 männlichen Kontrollpersonen lag der Mittelwert bei 51,50 sec (SD 16,62; range: 31,00-66,00).

**3.3.3 Trailmaking Test B***TMT-B in der Alzheimer-Patientengruppe*

Von 108 Patienten mit AD lagen TMT-B-Werte vor: Der Mittelwert dieser 108 Patienten mit AD betrug 324,95 sec (SD 155,50) mit einer Streubreite von 66 bis 430 sec. Bei den 64 Frauen mit AD errechnete sich ein Mittelwert von 345,83 sec (SD 127,95, Streubreite 87-430 sec). Die 44 Männer in dieser Gruppe lagen mit ihrem Mittelwert bei 294,59 sec (SD 137,01; Streubreite 66-430 sec).

*TMT-B in der MCI-Gruppe*

Von allen 40 MCI-Patienten lag ein TMT-B-Score vor (Mittelwert 121,98 sec; SD 65,36; Streubreite 57-422 sec). Bei den 24 Frauen mit MCI betrug der Mittelwert 124,67 sec (SD 74,37; Streubreite 57-422). Die 16 Männer mit MCI wiesen einen niedrigeren Mittelwert mit 117,94 sec auf (SD 50,97; Streubreite 59-263).

*TMT-B in der NAD-Gruppe*

Ein TMT-B-Wert eines männlichen Patienten fehlte. Der Mittelwert für die 20 NAD-Patienten betrug 325,10 sec (SD 126,21; Streubreite 128-430 sec). Die 12 Frauen mit NAD wiesen einen Mittelwert von 360,00 sec auf mit einer Standardabweichung von 109,64 sec und einer Streubreite von 146-430 sec auf. Der Mittelwert der 8 Männer lag

bei 272,75 sec mit einer Standardabweichung von 138,24 sec und einer Varianz von 128-430 sec.

#### *TMT-B in der Kontrollgruppe*

Die 10 Kontrollpersonen wiesen einen Mittelwert von 152,90 sec auf (SD 110,83; range: 73,00-430,00 sec). Bei den 6 weiblichen Kontrollpersonen lag der Mittelwert bei 153,33 sec (SD 141,60; range 73,00-430,00), Bei den 4 männlichen Kontrollpersonen betrug der Mittelwert 152,25 sec (SD 58,57; range 75,00-210,00).

### **3.3.4 Uhrentest**

#### *Uhrentest in der Alzheimer-Gruppe*

Von 111 der 117 Alzheimer-Patienten lag das Ergebnis im Uhrentest mit einem Mittelwert von 3,15 (+/- 1,25; range 1-6) vor.

Die 65 Frauen lagen mit dem Mittelwert im Uhrentest bei 3,25 (+/- 1,24; range 1-6). Bei den 46 Männern mit AD betrug der Mittelwert 3,02 (SD 1,27) und variierte von 1 bis 6 Punkten

#### *Uhrentest in der MCI-Gruppe*

Bei einem männlichen Patienten fehlten Angaben über das Ergebnis im Uhrentest. Bei den 39 Patienten mit MCI lag der Mittelwert bei 1,49 (SD0,85) und variierte von 1 bis 4 Punkten. Die 24 Frauen mit MCI wiesen einen Mittelwert von 1,46 (SD0,88) auf und einer Streubreite von 1 bis 4 Punkten. Bei den 15 Männern mit MCI betrug der Mittelwert 1,53 (SD0,83, Streubreite 1-3)

#### *Uhrentest in der NAD Gruppe*

Von allen 21 Patienten mit NAD lag ein Ergebnis im Uhrentest vor. Der Mittelwert aller 21 Patienten betrug 2,95 (SD 1,50) und variierte von 1 bis 6 Punkte. Bei den 12 Frauen mit NAD lag der Mittelwert bei 3,42 (SD1,51) und streute von 1 bis 6 Punkte. Die 9 Männer mit NAD wiesen einen Mittelwert von 2,33 (SD1,32) mit einer Streubreite von 1 bis 4 Punkte auf.

### *Uhrentest in der Kontrollgruppe*

Der Mittelwert aller 10 Kontrollpersonen betrug 1,70 (SD 1,34) und streute von 1 bis 5 Punkten. Die 6 weiblichen Kontrollpersonen wiesen eine Mittelwert von 1,67 (SD1,60) auf mit einer Varianz von 1 bis 5 Punkten. Alle vier männlichen Kontrollpersonen wiesen ein regelrechtes Uhrentestergebnis von 1 Punkt auf (SD 0,00).

### **3.4 Liquor-NSE, abhängig vom Grad der Alzheimer-Erkrankung**

Grundlage der in den folgenden Graphiken verwendeten Tertilen- und Quartilengruppen der Alzheimer-Patienten bildete die Einteilung nach MMST-Werten, wie im Methodenteil ausführlich dargestellt wird.

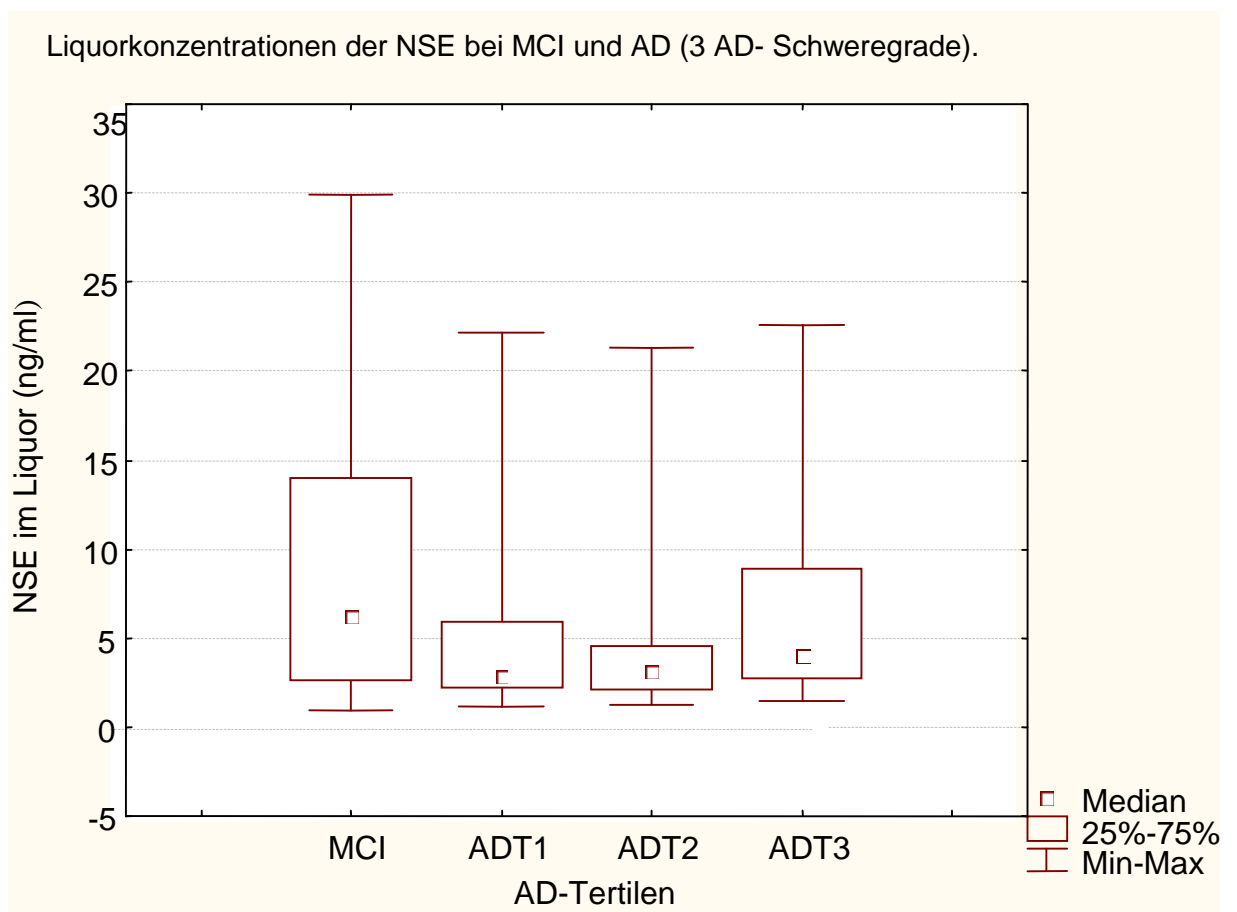
Die beiden folgenden Graphiken zeigen die Liquorkonzentrationen der NSE im Gruppenvergleich. In beiden Graphiken ist die MCI-Gruppe aufgeführt; in der ersten Graphik im Vergleich mit den Alzheimer-Tertilengruppen, in der zweiten Graphik im Vergleich mit den Alzheimer-Quartilengruppen.

Die erste Graphik veranschaulicht, dass die Alzheimer-Patienten (nur jene mit regelrechter Liquorzellzahl) mit leichtem dementiellen Syndrom (entsprechend der Tertile ADT3 mit MMST  $\geq$  24 Punkten, n= 43) im Mittel absolut erhöhte Liquorkonzentrationen der NSE aufwiesen, und dass mit zunehmender Krankheitsprogression, d. h. Zunahme des Demenzschweregrades von leicht (ADT1) über mittelschwer (ADT2 mit MMST=20-23 Punkten, n= 33) bis schwer (ADT3 mit MMST  $\leq$ 19 Punkten, n=41), die durchschnittlichen NSE-Konzentrationen im Liquor abnahmen, und im fortgeschrittenen Demenzstadium sich normalisierten bzw. dem Normbereich wieder deutlich annäherten. Diese Beobachtung stellte einen statischen Trend bzw. eine Tendenz dar ohne Nachweis einer statistisch signifikanten Korrelation ( $p>0.05$ ).

Überdies wird aus dieser Graphik ersichtlich, dass die höchsten NSE-Liquorkonzentrationen in der Patientengruppe mit MCI gemessen wurden. In der Gruppe der MCI-Patienten fand sich zudem die grösste Streubreite der NSE-Liquorkonzentrationen verglichen mit den unterschiedlichen Alzheimer-Demenzstadien als möglicher Hinweis auf die Heterogenität des Konstrukts MCI. Auffällig war im Vergleich der einzelnen Alzheimer-Demenz-Schweregrade untereinander die Beobach-

tung, dass die Streubreite der gemessenen NSE-Liquorkonzentrationen bei den Patienten im Initialstadium (ADT3) wesentlich grösser war als die Streubreite in den späteren, fortgeschrittenen Demenzstadien (ADT1>ADT2). Eine statistisch signifikante Korrelation liess sich für diese Beobachtung ebenfalls nicht berechnen ( $p>0.05$ ). Daher trug auch diese deskriptive Beobachtung den Charakter einer statistischen Tendenz respektive eines Trends.

**Abbildung 2:** Graphische Darstellung der Liquor-NSE bei MCI- und Alzheimer-Patienten unterschiedlicher Demenzschweregrade (Tertilenbildung)



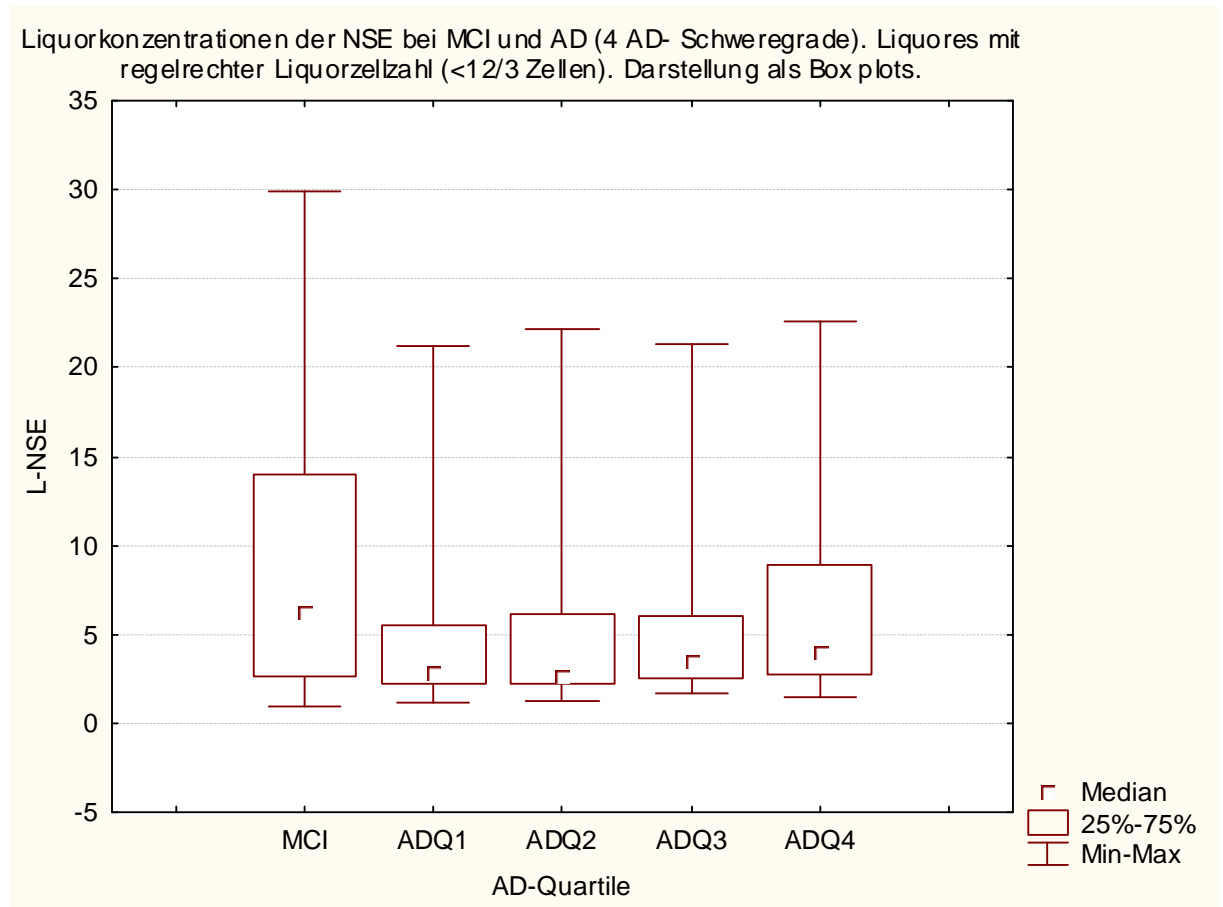
MCI = Minimal Cognitive Impairment  
 AD Tert = Tertilen innerhalb der Alzheimer-Patientengruppe, nach MMST-Score  
 ADT1 = Alzheimer-Patienten mit MMSE  $\leq 19$  Punkte (n=41)  
 ADT2 = Alzheimer-Patienten mit MMSE = 20-23 Punkte (n=33)  
 ADT3 = Alzheimer-Patienten mit MMSE  $\geq 24$  Punkte (n=43)

Auch bei dem zweiten Klassifikationsmodell (Gruppierungsmodell B im Methodenteil) der Alzheimer-Patienten unter Bildung von Quartilen-Gruppen liess sich obige Beobachtung, dass die erhöhten Liquorkonzentrationen der NSE mit der Krankheitsprogression abnehmen, reproduzieren.

Die Häufigkeitsverteilung der NSE-Liquorkonzentrationen bei den in Quartilen eingeteilten Alzheimer-Patienten und den Patienten mit MCI veranschaulicht die folgende Graphik.

Auch hier waren die höchsten NSE-Liquorkonzentrationen in der MCI-Patientengruppe messbar. Die durchschnittlichen NSE-Liquorkonzentrationen der Gruppe ADQ4 mit leichtem dementiellen Syndrom lag höher als in der Alzheimer-Gruppe mit mittelschwerem (ADQ3) und mittelschwerem bis schwerem dementiellen Syndrom (ADQ2). Der Median der NSE-Liquorkonzentration nahm von der leicht betroffenen Alzheimer-Patientengruppe ADQ4 über die mittelschwer betroffene Alzheimer-Patientengruppe ADQ3 bis zur mittelschwer bis schwer betroffenen Alzheimer-Patientengruppe ADQ2 ab, ohne dass diese beobachtete Tendenz die Kriterien einer statistisch signifikanten Korrelation erfüllten ( $p > 0.05$ ). Bei den fortgeschrittenen Alzheimer-Patienten mit den niedrigsten MMST-Werten (Quartile ADQ1, MMST-Score = 10-17 Punkte) lag der Median nur unwesentlich höher (statistisch ohne Signifikanz,  $p > 0.05$ ) als der Median der nächsthöheren Quartilengruppe (ADQ2, MMST-Scores = 18-21 Punkte).

**Abbildung 3:** Graphische Darstellung der Liquor-NSE bei MCI- und Alzheimer-Patienten mit unterschiedlichen Demenzschweregraden (Quartilenbildung)



L-NSE	Liquor-NSE (ng/ml)
MCI	Minimal Cognitive Impairment
AD Quart	Alzheimer-Patienten, Quartilenbildung nach MMST-Score
ADQ1	Alzheimer-Patienten mit MMST=10-17 Punkte (n=29)
ADQ2	Alzheimer-Patienten mit MMST=18-21 Punkte (n=25)
ADQ3	Alzheimer-Patienten mit MMST=22-24 Punkte (n=33)
ADQ4	Alzheimer-Patienten mit MMST = 25-30 Punkte (n= 30)



### 3.5 Zusammenfassungen der Ergebnisse zur NSE

In dem untersuchten Subdatensatz lag zu allen 188 Patienten (110 weibliche) die Liquorkonzentration der NSE vor. Bei 187 Patienten waren die Serumkonzentrationen der NSE bekannt. In einem Falle einer 66-jährigen Patienten mit erhöhter NSE-Liquorkonzentration (19.5 ng/ml) und ansonsten unauffälligem Liquorbefund konnte wegen nicht ausreichender Materialmenge die Serumkonzentration der NSE nicht bestimmt werden.

Bei allen Demenzerkrankungen und dem MCI waren die durchschnittlichen NSE-Liquorkonzentrationen erhöht. Ausgenommen hiervon waren einige Alzheimer-Patienten im fortgeschritteneren Stadium (12 Patienten/ADQ4 plus 8 Patienten/ADQ3), deren NSE-Liquorwerte im Normbereich lagen. In den Fällen mit entzündlichem Liquorsyndrom mit erhöhter Liquorzellzahl lagen die Liquor-NSE –Werte, nicht aber die Serumwerte, höher als bei den Patienten mit regelrechter Liquorzellzahl ( $p > 0,05$ ).

Die höchsten Konzentrationen der Neuronenspezifischen Enolase wurden in der Patientengruppe mit MCI gemessen. Die NSE-Liquorwerte der MCI-Patienten wiesen eine größere Streubreite als jene der Alzheimer-Patienten auf.

In der Alzheimer-Patientengruppe nahmen die erhöhten Liquorkonzentrationen der NSE mit der Krankheitsprogression ab und folgten einem statistischen Trend (keine statistisch signifikante Korrelation,  $p > 0,05$ ). Verglichen mit der MCI-Gruppe streuten die NSE-Liquorkonzentrationen in der Alzheimer-Gruppe geringer als in der MCI-Gruppe.

Für die MCI-Gruppe verglichen mit dem Gesamtdatensatz zeigte die multiple Regressionsanalyse relativ höhere, aber statistisch nicht signifikante Korrelationen zwischen Liquor-NSE und den neuropsychologischen Variablen MMST, Uhrentest, TMT-A, TMT-B, GDS (steigendes  $r$  bei MCI). In der Alzheimer-Patientengruppe zeigten sich noch niedrigere Korrelationen zwischen NSE im Liquor und den neuropsychologischen Testparametern verglichen mit den  $r$ -Werten in der MCI-Patientengruppe.

Eine statistisch schwach signifikante, negative Korrelation ( $r = -0,155$ ,  $p = 0,033021$ ,  $n = 188$ ) errechnete sich in der multiplen Regressionsanalyse zwischen der NSE-Liquorkonzentration und den oligoklonalen Banden (OKB) im Serum für das Gesamt-

kollektiv. Der t-Test (abhängige Variable: Serum-NSE, Gruppierungsvariable: OKB im Serum) bestätigte, dass niedrigere NSE-Liquorkonzentrationen bei Patienten mit positiven Serum OKB vorlagen. Im t-test zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der NSE-Konzentration im Liquor und positiven oligoklonalen Banden im Liquor.

In der Alzheimer-Patientengruppe und im Gesamtdatensatz ergab die multiple Regressionsanalyse keine statistisch signifikanten Zusammenhänge der NSE im Liquor mit Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Körpergröße, der Serumkonzentration der NSE, der Anzahl der Ausbildungsjahre, der Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele, dem Liquor-Gesamteiweiß, der Albuminkonzentration im Liquor und Serum, den Immunglobulinen G, A und M in Liquor und Serum. Auch zwischen NSE-Liquorkonzentration und den ausgewählten neuropsychologischen Testparametern MMSE, Uhrentest, TMT-A, TMT-B und GDS errechnete sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang (n=154, p>0.05). Für die NSE-Serumkonzentration (n=151) ergab die multiple Regressionsanalyse ebenfalls keine Korrelation zwischen den Immunglobulinen IgG, A und M im Liquor und Serum und auch nicht zwischen NSE-Serumkonzentration und NSE-Liquorkonzentration.

Eine statistisch signifikante Geschlechtsabhängigkeit der NSE-Liquorkonzentration ließ sich nicht nachweisen. Jedoch waren bei den dementen Frauen höhere durchschnittliche NSE-Liquorkonzentrationen als bei den Männern in der jeweiligen Diagnosengruppe zu beobachten. Am wenigsten deutlich war dieser Geschlechterunterschied in der Alzheimer-Patientengruppe, am deutlichsten in der Gruppe der Nicht-Alzheimer-Demenzen ausgeprägt. Auch in der MCI-Gruppe wiesen die Frauen durchschnittlich höhere NSE-Liquorkonzentrationen als die Männer auf und nahmen im Hinblick auf die tendentielle Geschlechterbevorzugung eine Mittelstellung zwischen der Alzheimer- und der Nicht-Alzheimer-Patientengruppe ein.

## 4 Diskussion

### 4.1 NSE im Liquor bei Alzheimer-Demenz (AD)

Nach unseren Untersuchungen zeigte sich, dass die Konzentration von NSE im Liquor bei den leicht und mittelschwer betroffenen Alzheimer-Patienten allgemein erhöht war, während sie bei Patienten mit schwereren, fortgeschritteneren Demenzgraden eindeutig niedriger ausfiel als bei Betroffenen im Frühstadium der Erkrankung. In diesen späteren Stadien der Demenzerkrankung sanken die Liquorkonzentrationen der NSE teilweise bis in den Normbereich. Diese Beobachtung stützt die von Cutler et al. 1986 postulierte Hypothese, dass im Laufe der Alzheimer-Erkrankung die Abnahme der NSE-Liquorkonzentration die progrediente Beeinträchtigung der neuronalen Funktionstüchtigkeit und damit den fortschreitenden Neuronenuntergang widerspiegelt.

Es ist bekannt, dass der NSE-Gehalt einer Nervenzelle an ihre Stoffwechselaktivität bzw. an ihre metabolischen Bedürfnisse gekoppelt ist (Marangos and Schmechel, 1987). Hieraus erklären sich der physiologische Befund der höchsten intrazellulären NSE-Konzentrationen in kortikalen Neuronen. Bei der Alzheimer-Erkrankung degenerieren bevorzugt diese Neuronen im zerebralen Kortex und Hippokampus (Selkoe, 2002). Im Anfangsstadium der AD ist anzunehmen, dass der neuronale Metabolismus auf die pathogenen Mechanismen reaktiv mit Stressvorgängen zu antworten versucht.

Es gibt viele Hinweise dafür, dass oxidativer Stress eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Alzheimer-Demenz spielt (Butterfield et al., 1999, Christen, 2000). In Gehirnen von 16 Patienten mit sporadischer Alzheimer-Demenz konnten im Vergleich zu gleichaltrigen Kontrollpatienten postmortem oxidative Stressmarker gefunden werden (Smith et al., 1991). Bei diesen Patienten waren die parallel untersuchten Enzymkonzentrationen der Glutaminsynthetase und Creatinkinase reduziert. In einer weiteren autoptischen Untersuchung an Alzheimer-Patienten korrelierten (Nunomura et al., 2001) die oxidativen Marker 8-Hydroxyguanosin und Nitrotyrosin mit histopathologischen Veränderungen, klinischen Parametern und dem ApoE-Genotyp. Interessanterweise konnten die Autoren eindeutig belegen, dass die maximale oxidative Schädigung im Frühstadium der Alzheimer-Demenz auftrat und im Krankheitsverlauf mit der zunehmenden Amyloidablagerung wieder abnahm. Der Erklärungsansatz, dass die im Alz-

heimer-Frühstadium maximale oxidative Schädigung der Neuronen einen gesteigerten Energiestoffwechsel bewirken könnte, dem die Neuronen mit gesteigerter Glykolyserate und folglich mit einem NSE-Anstieg und/oder veränderter NSE-Clearance aus Parenchym und Liquor begegnen, erscheint denkbar.

Für diese reaktiven Stressvorgänge wird verstärkt Energie aus der Glykolyse verbraucht und somit ergeben sich als Voraussetzung für diesen „Überlebenskampf“ der Nervenzelle im Frühstadium der AD erhöhte NSE-Konzentrationen, die nach der Freisetzung des Glykolyse-Enzyms NSE aus dem Zytosol dann auch im Liquor messbar werden. Dafür sprechen auch tierexperimentelle (Hatfield and McKernan, 1992) und klinische Ergebnisse (Hay et al., 1984, Li et al., 1995), dass bei Schlaganfallpatienten Erhöhungen der NSE im Liquor gefunden wurden, die mit der Infarktgrösse korrelierten. Die bei den Alzheimer-Patienten in den früheren Demenzstadien erhöhten NSE-Liquorwerte bilden demnach mit hoher Wahrscheinlichkeit die noch stattfindende Neuronenschädigung ab (Roine et al., 1988, Roine et al., 1989).

In Übereinstimmung mit den oben zitierten Befunden von Cutler et al. 1986 an 30 leicht bis mittelschwer betroffenen Alzheimer-Patienten zeigt die vorgelegte Arbeit keine Korrelationen zwischen der NSE-Konzentration im Liquor der Alzheimer-Patienten mit den NSE-Werten im Serum, dem Alter oder Geschlecht der Patienten, sowie auch nicht mit den jeweiligen MMST-Scores (Cutler et al., 1986). Die von uns erhobenen und hier präsentierten Daten erweitern diese Erkenntnisse über den fehlenden Zusammenhang zwischen Liquor-NSE und neuropsychologischer Leistungsfähigkeit und psychometrischer Daten dadurch, dass auch für die Werte der Untersuchungen Uhrentest, TMT-A und TMT-B, sowie dem GDS keine signifikante Korrelationen mit der Liquor-NSE unserer Alzheimer-Patienten gefunden wurde.

Das von uns beschriebene Resultat eines fehlenden Zusammenhangs zwischen Liquorkonzentration der NSE und dem MMST-Score bei Alzheimer-Patienten steht im Widerspruch mit den Untersuchungsergebnissen von Parnetti et al. 1995b, die an 30 Alzheimer-Patienten eine inverse Korrelation zwischen MMST-Werten und NSE-Liquorkonzentration nachweisen konnten. Dies wurde als mögliches Korrelat einer aktiven Neurodegeneration gewertet. Das von Parnetti et al. 1995a untersuchte Kollektiv von 30 Patienten, das sich aus 24 Alzheimer-Patienten mit frühem Krankheitsbeginn

und 6 Patienten mit spätem Krankheitsbeginn zusammensetzte, zeigte jedoch auch in den gemessenen NSE-Liquorkonzentrationen bei den Alzheimer-Patienten keine Unterschiede zu den Kontrollen oder vaskulären Demenzen.

Die Literatur ist zur Frage der NSE-Werte im Liquor bei Alzheimererkrankungen widersprüchlich. Einige Autoren, zum Beispiel Blennow et al. (1994), wiesen an 45 Alzheimer-Patienten ebenfalls erhöhte Liquorkonzentrationen der NSE bei Alzheimer-Patienten nach. Andererseits berichten die Autoren mehrerer Untersuchungen bei Ihren Patienten von durchweg normalen Liquorkonzentrationen der NSE. Nooijen et al. 1997 wiesen dies an 28 Patienten nach, ohne dass genau zwischen den verschiedenen Schweregraden differenziert wurde. Es wird lediglich erwähnt, dass die Patienten „leicht-bis mittelgradig“ betroffen waren und der Demenzschweregrad anhand der (nicht angegebenen) MMST-Scores bestimmt wurde. Auch die übrigen Untersuchungen von Alzheimer-Patienten, die unauffällige NSE-Liquorwerte berichteten, waren an kleinen Patientenkollektiven durchgeführt worden und gaben teilweise keine oder oft nur un detaillierte Auskunft über den Demenzschweregrad der untersuchten Patienten. So umfassten die Patientenkollektive bei den Untersuchungen von Nooijen et al. 1997 28, von Parnetti et al. 1995a 30 und von Sulkava et al. 1988 22 Alzheimer-Patienten.

Es ist bei diesem Widerspruch nach unserem Erachten anzunehmen, dass in den kleinen Patientenkollektiven die unterschiedlichen Demenzschweregrade durch zu geringe Patientenzahlen abgebildet wurden und sich dadurch nicht eindeutig genug gruppieren ließen.

Das von uns dargestellte Ergebnis einer fehlenden Korrelation zwischen NSE-Konzentration im Liquor und im Serum, sowie zwischen der NSE-Liquorkonzentration und dem Liquor-/Serum-Albuminquotienten ( $Q_{Alb}$ ) wurde auch in klinischen Untersuchungen von Blennow et al. 1994 bei 49 Alzheimer-Patienten, von Cutler et al. 1986 an 30 und von Parnetti et al. 1995 ebenfalls an 30 Patienten mit Alzheimer-Demenz gefunden. Diese stützen die Annahme, dass die NSE größtenteils intrathekal gebildet wird und für Untersuchungen bei der Alzheimer-Demenz nur die Bestimmung der NSE im Liquor ausreichend ist. Diese Ergebnisse widersprechen anderen Berichten, dass bei der Alzheimer-Erkrankung die Bluthirnschranke prinzipiell alteriert sei (1994, Ballabh et al., 2004, Hampel et al., 1997, Mattila et al., 1994).

Die mit der Krankheitsprogression der AD sinkenden NSE-Liquorkonzentration bilden demnach den progredienten Neuronenuntergang ab (Cutler et al., 1986). Im fortgeschrittenen Stadium der AD mit nur noch leicht erhöhten oder bereits wieder normalen NSE-Liquorwerten scheint daher auch ein „biochemisches Ruhestadium“ einer „ausgebrannten“ neurodegenerativen Kaskade erreicht. Diese Beobachtung zeigt Parallelen zu den Ergebnissen aus seriellen NSE-Liquoranalysen bei Patienten mit Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (CJD), die über die Konzentrationskurven der Liquor-NSE ebenfalls den stattfindenden Neuronenverlust biochemisch abbildeten. Verschiedene Arbeitsgruppen (Jimi et al., 1989, Wakayama et al., 1987) stellten fest, dass während des Krankheitsverlaufes der CJD im Frühstadium (in den ersten Monaten) die NSE-Liquorkonzentrationen massiv erhöht waren, dann abfielen und in den letzten Monaten des Krankheitsverlaufes wieder im Normbereich lagen.

Da es sich sowohl bei der CJD als auch bei der AD um primär neurodegenerative Erkrankungen handelt, liegt die Annahme nahe, dass in beiden Fällen die Konzentrationsabnahme der Liquor-NSE dem stattfindenden Neuronenverlust und der erheblichen Hirnatrophie im Spätstadium entspricht.

Die von uns präsentierten Ergebnisse über die fehlende Alters- und Geschlechtsabhängigkeit der NSE-Liquorwerte bei Patienten mit Alzheimer-Demenz bestätigten Berichte mehrerer Autoren (Cutler et al., 1986, Nooijen et al., 1997, Parnetti et al., 1995a)

## **4.2 NSE im Liquor cerebrospinalis bei Minimal Cognitive Impairment (MCI)**

Nach dem Ergebnis unserer Recherchen liegen zur Frage der Konzentration der Neuro-spezifischen Enolase im Liquor von Patienten mit Minimal Cognitive Impairment bisher kaum Befunde vor. Lediglich in einer kleinen klinischen Studie aus dem Jahre 2001 von (Palumbo et al., 2001) wurden bei 9 Patienten mit einem AAMI (Age-associated Memory Impairment) signifikant erhöhte NSE-Liquorwerte gefunden, die auch höher lagen als die ebenfalls erhöhten NSE-Liquorkonzentration der parallel untersuchten 37 Alzheimer-Patienten sowie 9 Patienten mit vaskulärer Demenz und 11 Patienten mit frontotemporaler Demenz. Nach den Ergebnissen unserer jetzt vorgelegten Untersuchungen stellt die MCI-Patientengruppe unter allen untersuchten das Kollektiv

mit den absolut und relativ zu den untersuchten Demenzerkrankungen höchsten NSE-Liquorkonzentrationen dar.

Auch beim Vergleich der Werte für die Liquor-NSE in Bezug auf die neuropsychologischen Testparameter zeigt die MCI-Patientengruppe eine höhere Korrelation der Werte als die Untersuchten des Alzheimer-Kollektivs. Das interpretieren wir so, dass bei den AD-Patienten die NSE-Liquorkonzentration keine Aussage zur klinischen Situation erlaubt und möglicherweise als biochemisches Korrelat einer ausgebrannten Neurodegeneration zu werten ist. Wohingegen die statistische Tendenz einer Abhängigkeit der klinischen Situation mit dem Wert der Liquor-NSE bei der MCI- und der Gesamtgruppe Hinweise auf einen floriden degenerativen Prozess in einer früheren Phase sein könnte.

Aus weiteren pathologisch-anatomischen Arbeiten ist bekannt, dass der klinischen Manifestation einer Alzheimer-Erkrankung bereits bis zu Jahrzehnten neuropathologische Kennzeichen einer Alzheimer-Erkrankung vorausgehen. Übersicht bei (Braak and Braak, 1997, Braak and Braak, 1998). Es zeigte sich, dass mit fortschreitendem Neuronenuntergang im Laufe der Alzheimer-Erkrankung mit dem atrophierenden Hirnvolumen die Anzahl NSE-haltiger Neuronen im Gehirn sinkt (Sulkava et al., 1988). Die im Laufe der Alzheimer-Demenz sinkenden NSE-Liquorkonzentrationen stützen letztere Hypothese.

Anders formuliert, untermauern diese pathologischen und biochemischen Befunde unsere zumindest tendenziellen Ergebnisse, dass die Liquorkonzentration der NSE umso höher ist, je früher ein späterer, evtl. auch präklinischer Alzheimer-Patient untersucht wird. In der graphischen Darstellung unserer NSE-Werte fällt auf, dass die MCI-Gruppe, verglichen mit der Alzheimergruppe eine größere Streuung der NSE-Werte zeigt. Dieses interpretieren wir als Hinweis darauf, dass der Alzheimergruppe ein homogener Pathomechanismus zugrunde liegt, während es sich bei der MCI eher um ein heterogeneres Krankheitsbild handeln könnte.

Geht man davon aus, dass ein späterer Alzheimerpatient vor Manifestation seiner Erkrankung klinisch das Stadium des MCI durchläuft, ist das der Zeitpunkt zu dem man annehmen kann, dass er den höchsten NSE-Wert im Liquor präsentiert. Wenn man andererseits postuliert, dass die Gruppe der MCI-Patienten heterogen ist mit niedrigen

NSE-Werten auf der einen Seite und Patienten mit hohen NSE-Werten, d.h. denen die zum Alzheimer konvertieren, auf der anderen Seite, könnte sich eine Möglichkeit abzeichnen, frühzeitig die Gruppe der MCI-Konvertierer als eine besonders gefährdete Patientengruppe für eine spätere Alzheimer-Demenz zu identifizieren. Dieses wäre besonders vor dem Hintergrund der Notwendigkeit eines frühen Behandlungsbeginns von hoher therapeutischer Bedeutung.

In der Zusammenschau unserer Befunde mit Untersuchungsergebnissen, die bei den MCI-Konvertierern (zu einer AD) deutlich erhöhte Liquorkonzentrationen des pathologischen hyperphosphorylierten Tau und erniedrigte  $A\beta_{42}$ -Liquorspiegel belegen konnten (Buerger et al., 2002, Buerger et al., 2005a, Hampel et al., 2004, Buerger et al., 2005b) und damit ebenfalls eine gemeinsame pathogenetische Strecke von AD und MCI vermuten lassen, könnte sich ein Möglichkeit zur verbesserten Alzheimer-Früdiagnostik abzeichnen. Ergänzt werden müssen hierfür allerdings noch gezieltere Untersuchungen an den einzelnen Subkollektiven unter Einbeziehung von gründlichen Längsschnittuntersuchungen.



## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Neuronenspezifische Enolase im Liquor und Serum sowie zahlreiche klinische, biometrische, demographische, testpsychologische und andere biochemische Parameter von 117 Patienten mit Morbus Alzheimer, 40 mit MCI, 21 mit anderen Demenzformen einer Gedächtnissprechstunde und 10 Kontrollen auf eventuelle Korrelationen untersucht.

In der Alzheimer-Gruppe ließen sich mit zunehmender Krankheitsprogression eine Abnahme initial erhöhter Liquorkonzentrationen der NSE nachweisen. Diese Beobachtung gab einen deutlichen statistischen Trend wieder, wies jedoch keine eindeutige statistische Signifikanz auf. Es kann für die Prognosestellung und Stadieneinteilung der Erkrankung von Interesse werden, ob zukünftige klinische Studien an noch größeren Kollektiven diesen Trend reproduzieren und eine statistisch unstrittige Korrelation zwischen der NSE-Liquorkonzentration und dem jeweiligen Stadium der Alzheimer-Erkrankung herstellen.

Die höchsten Liquorkonzentrationen des NSE wurden überraschenderweise bei den Patienten mit Minimal Cognitive Impairment (MCI) gefunden. Auch dieses Ergebnis war statistisch nicht eindeutig signifikant, zeigt aber eine deutliche statistische Tendenz.

Dieses Ergebnis konnte an einer solchen Patientenzahl noch nicht gezeigt werden. Die unseres Wissens einzige publizierte Untersuchung über die Liquorkonzentration der NSE bei MCI (in der zitierten Originalarbeit mit Age-Associated Memory Impairment, AAMI bezeichnet) zeigte ebenfalls erhöhte Liquorwerte, allerdings an nur 9 Patienten (Palumbo et al., 2001). Bekannte Liquorveränderungen bei MCI-Patienten sind ein Anstieg des hyperphosphorylierten Tau-Protein (p-tau), vorzugsweise an Threonin 231, und eine Reduktion des A $\beta$ <sub>1-42</sub>.

Aus retrospektiven Betrachtungen ist bekannt, dass 10-15 % eines Patientenkollektivs mit MCI innerhalb eines Jahres eine manifeste Alzheimer-Demenz entwickeln. Wenn es gelänge über bestimmte Parameter diese Gruppe der Konvertierer zu identifizieren und von der Gruppe unspezifisch MCI-Erkrankter zu unterscheiden, wäre die Möglichkeiten für eine frühzeitigere gezieltere Behandlung und bestenfalls für eine Verbesserung der Prognose gegeben. Die Interpretation unserer Befunde erlaubt die Hoffnung, dass ein

erhöhtes NSE im Liquor allein, oder in Kombination mit anderen Biomarkern wie erhöhtem p-tau und erniedrigtem  $A\beta_{1-42}$  dieses Erkennen präklinischer Alzheimerstadien sicherer macht.

---

## 6 Literaturverzeichnis

- Andreasen, N., Minthon, L., Davidsson, P., Vanmechelen, E., Vanderstichele, H., Winblad, B. and Blennow, K., 2001. Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practice. *Arch Neurol.* 58, 373-379.
- Anneren, G., Esscher, T., Larsson, L., Olsen, L. and Pahlman, S., 1988. S-100 protein and neuron-specific enolase in amniotic fluid as markers of abdominal wall and neural tube defects in the fetus. *Prenat Diagn.* 8, 323-328.
- Bach, M., Nikolaus, T., Oster, P. and Schlierf, G., 1995. [Diagnosis of depression in the elderly. The "Geriatric Depression Scale"]. *Z Gerontol Geriatr.* 28, 42-46.
- Ballabh, P., Braun, A. and Nedergaard, M., 2004. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis.* 16, 1-13. Review.
- Baumann, K., Mandelkow, E., Biernat, J., Piwnica-Worms, H. and E, M., 1993. Abnormal Alzheimer-like phosphorylation of tau-protein by cyclin-dependent kinases cdk2 and cdk5. *FEBS Lett.* 336, 417-424.
- Benke, T. and Donnemiller, E., 2002. [The diagnosis of frontotemporal dementia]. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 70, 243-251.
- Bickel, H., 2000. Demenzsyndrom und Alzheimer- Krankheit: Eine Schätzung des Krankheitsstandes und der jährlichen Neuerkrankungen in Deutschland. *Gesundheitswesen.* 62, 211-218.
- Blennow, K., Wallin, A. and Ekman, R., 1994. Neuron specific enolase in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for neuronal degeneration in dementia disorders? *J Neural Transm Park Dis Dement Sect.* 8, 183-191.
- Braak, H. and Braak, E., 1997. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging.* 18, 351-357.
- Braak, H. and Braak, E., 1998. Evolution of neuronal changes in the course of Alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl.* 53, 127-140.
- Brady, S. and Lasek, R., 1981. Nerve-specific enolase and creatine phosphokinase in axonal transport: soluble proteins and the axoplasmatic matrix. *Cell.* 23, 515-523.

- Brodaty, H. and Moore, C., 1997. The Clock Drawing Test for dementia of the Alzheimer's type: a comparison of three scoring methods in a memory disorders clinic. *Int J Geriatr Psychiatry*. 12, 619-627.
- Brown, K., Kynoch, P. and Thompson, R., 1980. Immunoreactive nervous system specific enolase (14-3-2 protein) in human serum and cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta*. 101, 257-264.
- Brown, L. and Schinka, J., 2005. Development and initial validation of a 15-item informant version of the Geriatric Depression Scale. *Int J Geriatr Psychiatry*. 20, 911-918.
- Buerger, K., Ewers, M., Andreasen, N., Zinkowski, R., Ishiguro, K., Vanmechelen, E., Teipel, S., Graz, C., Blennow, K. and Hampel, H., 2005a. Phosphorylated tau predicts rate of cognitive decline in MCI subjects: A comparative CSF study. *Neurology*. 65, 1502-1503.
- Buerger, K., Teipel, S., Zinkowski, R., Blennow, K., Arai, H., Engel, R., Hofmann-Kiefer, K., McCulloch, C., Ptok, U., Heun, R., Andreasen, N., DeBernardis, J., Kerkman, D., Moeller, H., Davies, P. and Hampel, H., 2002. CSF tau protein phosphorylated at threonine 231 correlates with cognitive decline in MCI subjects. *Neurology*. 59, 627-629.
- Buerger, K., Teipel, S., Zinkowski, R., Sunderland, T., Andreasen, N., Blennow, K., Ewers, M., DeBernardis, J., Shen, J., Kerkman, D., Du, Y. and Hampel, H., 2005b. Increased levels of CSF phosphorylated tau in apolipoprotein E  $\epsilon$  carriers with mild cognitive impairment. *Neurosci Lett*. 391, 48-50.
- Butterfield, D., Howard, B., Yatin, S., Koppal, T., Drake, J., Hensley, K., Aksenov, M., Aksenova, M., Subramaniam, R., Varadarajan, S., Harris-White, M., Pedigo, N. J. and Carney, J., 1999. Elevated oxidative stress in models of normal brain aging and Alzheimer's disease. *Life Sci*. 65, 1883-1892.
- Christen, Y., 2000. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr*. 71, 621S-629S.
- Clarfield, A., 1988. The reversible dementias: Do they reverse? *Ann Int Med*. 109, 476-486.
- Clarke, R., Smith, A., Jobst, K., Refsum, H., Sutton, L. and Ueland, P., 1998. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 55, 1449-1455.

- Internationale Skalen für Psychiatrie Collegium Internationale Psychiatricae Sclorum (Hrsg.). 5. Auflage 2005, S. 128
- Corder, E., Lannfelt, L., Bogdanovic, N., Fratiglioni, L. and Mori, H., 1998. The role of apoe polymorphisms in late-onset dementias (Review). *Cell Molec Life Sci.* 54, 928-934.
- Cordes, J., Cano, J. and Haupt, M., 2000. Reversible Demenz bei Hypothyreose. *Nervenarzt.* 71, 588-590.
- Correale, J., Rabinowicz, A., Heck, C., Smith, T., Loskota, W. and DeGiorgio, C., 1998. Status epilepticus increases CSF levels of neuron-specific enolase and alters the blood- brain barrier. *Neurology.* 50, 1388-1391.
- Crystal, H., Dickson, D., Fuld, P., Masur, D., Scott, R., Mehler, M., Masdeu, J., Kawas, C., Aronson, M. and Wolfson, L., 1988. Clinico-pathologic studies in dementia: nondemented subjects with pathologically confirmed Alzheimer's disease. *Neurology.* 38, 1682-1687.
- Cunningham, R., Morrow, J., Johnston, C. and Buchanan, K., 1994. Serum neuron-specific enolase concentrations in patients with neurological disorders. *Clin Chim Acta.* 230, 117-124.
- Cutler, N., Kay, A., Marangos, P. and Burg, C., 1986. Cerebrospinal fluid neuron-specific enolase is reduced in Alzheimer's disease. *Arch Neurol.* 43, 153-154.
- Danek, A., Simons, M. und Hamann, G.F., 2003. Demenz. In: Brandt, T., Dichgans, J., Diener, H. J. (Hrsg.) Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen. Verlag w. Kohlhammer, Stuttgart Berlin Köln, 4. Auflage, Kapitel C, S. 293-309.
- Dauberschmidt, R., Marangos, P., Zinsmeyer, J., Bender, V., Klages, G. and Gross, J., 1983. Severe head trauma and the changes of concentration of neuron-specific enolase in plasma and in cerebrospinal fluid. 131. 3.
- Dauberschmidt, R., Zinsmeyer, J., Marangos, P., Bender, V., Klages, G., Gross, J. and Meyer, M., 1986. [Neuron-specific enolase and craniocerebral injuries]. *Z Med Lab Diagn.* 27, 186-190.
- Dauberschmidt, R., Zinsmeyer, J., Mrochen, H. and Meyer, M., 1991. Changes of neuron-specific enolase concentration in plasma after cardiac arrest and resuscitation. *Mol Chem Neuropathol.* 14, 237-245.
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. DSM.IV-TR (Text revision) by American Psychiatric Association. 1994

- Drewes, G., Lichtenberg-Kraag, B., Doring, F., Mandelkow, E., Biernat, J., Goris, J., Doree, M. and Mandelkow, E., 1992. Mitogen activated protein (MAP) kinase transforms tau protein into an Alzheimer-like state. *EMBO J.* 11, 2131-2138.
- Fletcher, L., Rider, C. and Taylor, C., 1976. Enolase isoenzymes. III. Chromatographic and immunological characteristics of rat brain enolase. *Biochim Biophys Acta.* 452, 245-252.
- Folstein, M., Folstein, S. and McHugh, P., 1975. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 12, 189-198.
- Forette, F., Rigaud, A., Morin, M., Gisselbrecht, M. and Bert, P., 1995. Assessing vascular dementia. *Neth J Med.* 47, 185-194. Review.
- Fratiglioni, L., Grut, M., Forsell, Y., Viitanen, M. and Winblad, B., 1992. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease and other dementias in a population survey. Agreement and causes of disagreement in applying Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Revised Third Edition, Criteria. *Arch Neurol.* 49, 927-932.
- Frommelt, P., Schnabel, R., Kuhne, W., Nee, L. and Polinsky, R., 1991. Familial Alzheimer disease: a large multigeneration German kindred. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 5, 36-43.
- Galasko, D., Chang, L., Motter, R. and al., e., 1998. High cerebrospinal fluid tau and low amyloid  $\beta$ 42 levels in the clinical diagnosis of Alzheimer disease and relation to apolipoprotein E genotype. *Arch Neurol.* 55.
- Garcia, M. and Cleveland, D., 2001. Going new places using an old MAP: tau, microtubules and human neurodegenerative disease. *Curr Opin Cell Biol.* 13, 41-48.
- Gauggel, S. and Birkner, B., 1999. Validität und Reliabilität einer deutschen Version der Geriatrischen Depressionsskala (GDS). *Zeitschrift für Klinische Psychologie.* 28, 18-27.
- Goate, A., Chartier-Harlin, M., Mullan M, B., J, Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L. and al., e., 1991. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature.* 349, 704-706.
- Gross, J., Zinsmeyer, J., Lessing, A., Wenzel, J., Prenzlau, P., Halle, H. and Grauel, E., 1990. Development of enolase isoenzymes in various regions of the human brain. *Biomed Biochim Acta.* 49, 533-538.

- Growdon, J., 1999. Biomarkers of Alzheimer's disease. *Arch Neurol.* 56, 281-283.
- Häfner, H., 1990. Epidemiology of Alzheimer's disease. In: Maurer, K., Riederer, P., Beckmann, H. (Ed.). *Alzheimer's disease. Epidemiology, neuropathology, neurochemistry, and clinics.* Wien New York, pp. 23-39.
- Hempel, H., Buerger, K., Pruessner, J., Zinkowski, R., DeBernardis, J., Kerkman, D., Leinsinger, G., Evans, A., Davies, P., Moller, H. and Teipel, S., 2005. Correlation of cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231 with rates of hippocampal atrophy in Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 62, 770-773.
- Hempel, H., Kotter, H. and Moller, H., 1997. Blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction for high molecular weight proteins in Alzheimer disease and major depression: indication for disease subsets. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 11, 78-87.
- Hempel, H., Teipel, S., Faltraco, F., Pruessner, J. and Bürger, K., 2003. Entwicklung von Positivkriterien zur Diagnose der Alzheimer-Demenz mithilfe bildgebender Verfahren und biologischer Marker- Perspektiven der klinischen Alzheimer-Forschung. In: Hempel, H. et al. (Eds.), *Alzheimer-Demenz. Klinische Verläufe, diagnostische Möglichkeiten, moderne Therapiestrategien.* Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, pp. 426-455.
- Hempel, H., Teipel, S., Fuchsberger, T., Andreasen, N., Wiltfang, J., Otto, M., Shen, Y., Dodel, R., Du, Y., Farlow, M., Moller, H., Blennow, K. and Buerger, K., 2004. Value of CSF beta-amyloid1-42 and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Mol Psychiatry.* 9, 705-710.
- Hardy, J. and Higgins, G., 1992. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science.* 256, 184-185. Review.
- Hardy, J., Mullan, M., Chartier-Harlan, M., Brown, J., Goate, A. and Rossor, M., 1991. Molecular classification of Alzheimer's disease. *The Lancet.* 337, 1342-1343.
- Hartmann, M., Schaner, B., Scheglmann, K., Bucking, A. and Pfister, R., 2000. Steroid-sensible Enzephalopathie bei Hashimoto- Thyreoiditis. *Nervenarzt.* 71, 489-494.
- Hatfield, R. and McKernan, R., 1992. CSF neuron- specific enolase as a quantitative marker of neuronal damage in a rat stroke model. *Brain Res.* 577, 249-252.
- Hay, E., Royds, J., Davies-Jones, G., Lewtas, N., Timperley, W. and Taylor, C., 1984. Cerebrospinal fluid enolase in stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 47, 724-729.

- Holmes, C., Cairns, N., Lantos, P. and Mann, A., 1999. Validity of current clinical criteria for Alzheimer's disease, vascular dementia and dementia with Lewy bodies. *Br J Psychiatry*. 174, 45-50.
- Hoozemans, J., Veerhuis, R., Rozemuller, A. and Eikelenboom, P., 2002. The pathological cascade of Alzheimer's disease: the role of inflammation and its therapeutic implications. *Drugs Today (Barc)*. 38, 429-443. Review.
- Hughes, C., Berg, L., Danziger, W., Coben, L. and Martin, R., 1982. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry*. 140, 566-572.
- Hulstaert, F., Blennow, K., Ivanoiu, E. and al., e., 1999. Improved discrimination of Alzheimer's disease patients using  $\beta$ -amyloid(1-42) and tau levels in CSF. *Neurology*. 52, 1555-1562.
- Internationale Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme (ICD-10), 10. Revision. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, herausgegeben von der World Health Organization (WHO) Ins Deutsche übertragen und herausgegeben durch Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI), Köln: <http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/#diagnose>
- Jacobi, C. and Reiber, H., 1988. Clinical relevance of increased neuron-specific enolase concentration in cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta*. 177, 49-54.
- Jagust, W., 2000. Neuroimaging in dementia. *Neurol Clin*. 18, 885-892.
- Jellinger, K., W, D., Fischer, P. and Gabriel, E., 1990. Clinicopathological analysis of dementia disorders in the elderly. *J Neurol Sci*. 95, 239-258.
- Jimi, T., Wakayama, Y., Shibuya, S., Hara, H., Sagawa, F. and Hashizume, Y., 1989. [Two cases of Creutzfeldt-Jakob disease with high neuron-specific enolase level in cerebrospinal fluid]. *Rinsho Shinkeigaku*. 29, 118-121.
- Jimi, T., Wakayama, Y., Shibuya, S., Nakata, H., Tomaru, T., Takahashi, Y., Kosaka, K., Asano, T. and Kato, K., 1992. High levels of nervous system-specific proteins in cerebrospinal fluid in patients with early stage Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin Chim Acta*. 211, 37-46.
- Jorgensen, O. and Centervall, G., 1982. Alpha gamma-enolase in the rat: ontogeny and tissue distribution. *J Neurochem*. 39, 537-542.
- Kaiser, E., Kuzmits, R., Pregant, P., Burghuber, O. and Worofka, W., 1989. Clinical biochemistry of neuron specific enolase. *Clin Chim Acta*. 183, 13-31.



- Kaneko, I., Yamada, N., Sakuraba, Y., Kamenosono, M. and Tutumi, S., 1995. Suppression of mitochondrial succinate dehydrogenase, a primary target of beta-amyloid, and its derivative racemized at Ser residue. *J Neurochem.* 65, 2585-2593.
- Kato, K., Ishiguro, Y., Suzuki, F., Ito, A. and Semba, R., 1982. Distribution of nervous system-specific forms of enolase in peripheral tissues. *Brain Res.* 237, 441-448.
- Kessler, J., Markowitsch, H. and Denzler, P., 1990. Mini- Mental- Status- Test. Beltz Test, Weinheim.
- Kirazov, E., Kirazov, L., Bigl, V. and Schliebs, R., 2001. Ontogenetic changes in protein level of amyloid precursor protein (APP) in growth cones and synaptosomes from rat brain and prenatal expression pattern of APP mRNA isoforms in developing rat embryo. *Int J Dev Neurosci.* 19, 287-296.
- Knopman, D., Boeve, B. and Petersen, R., 2003. Essentials of the proper diagnoses of mild cognitive impairment, dementia, and major subtypes of dementia. *Mayo Clin Proc.* 78, 1290-1308. Review.
- Knopman, D., DeKosky, S., Cummings, J., Chui, H., Corey- Bloom, J., Relkin, N., Small, G. W., Miller, B., and Stevens, J. C., 2001. Practice parameter: Diagnosis of dementia (an evidence based review). *Neurology.* 56, 1143-1153.
- Knopman, D., Ritchie, K., Polge, C., Alafuzoff, I. and Soininen, H., 2002. Alzheimer's Disease. In: Science, B. (Ed.), *Evidence-based Dementia Practice*. Qizilbas N; Schneider LS; Tanor P; Brodaty H; Kaye J et al., Oxford, pp. 228-259.
- Kohira, I., Ishizu, H., Shohmori, T., Ujike, H., Kuroda, S., Otsuki, S. and Ihara, Y., 1992. [Diffuse reduced uptake in 99m-Tc-HM-PAO SPECT and high level of neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid in the early stage of Creutzfeldt-Jakob disease]. *No To Shinkei.* 44, 579-582.
- Kohira, I., Tsuji, T., Ishizu, H., Takao, Y., Wake, A., Abe, K. and Kuroda, S., 2000. Elevation of neuron-specific enolase in serum and cerebrospinal fluid of early stage Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neurol Scand.* 102, 385-387.
- Kordower, J., Chu, Y., Stebbins, G., DeKosky, S., Cochran, E., Bennett, D. and Mufson, E., 2001. Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment. *Ann Neurol.* 49, 202-213.
- Kowalska, A., 2004. [The beta-amyloid cascade hypothesis: a sequence of events leading to neurodegeneration in Alzheimer's disease]. *Neurol Neurochir Pol.* 38.

- Lamers, K., Vos, P., Verbeek, M., Rosmalen, F., van Geel, W. and van Engelen, B., 2003. Protein S-100B, neuron-specific enolase (NSE), myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of neurological patients. *Brain Res Bull.* 15, 3.
- Lamerz, R., 1998. NSE (Neuronen- spezifische Enolase),  $\psi$ - Enolase. In: Thomas, L. e. (Ed.), *Clinical Laboratory Diagnosis*, Frankfurt, pp. 1st English Edition 1998, p.1979-1981; 1995. deutsche Auflage 1998, p.1000-1003.
- Lamour, Y., Scarna, H., Roudier, M., Safer, S. and Davous, P., 1988. Serum neuron-specific enolase in senile dementia of the Alzheimer type. *Neurosci Lett.* 86, 241-244.
- Lautenschlager, N., Kurz, A. and Müller, U., 1999. Erbliche Ursachen und Risikofaktoren der Alzheimer- Krankheit. *Nervenarzt.* 70.
- Law, M. and Kao, F.T., 1982. Regional mapping of the gene coding for enolase-2 on human chromosome 12. *J Cell Sci.* 53, 245-254.
- Lee, V. M.-Y., Goedert, M. and Trojanowski, J., 2001. Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci.* 24, 1121-1159.
- Li, Y., Wang, X. and Yang, Z., 1995. Neuron-specific enolase in patients with acute ischemic stroke and related dementia. *Chin Med J (Engl).* 108, 221-223.
- Lim, A., Tsuang, D., Kukull, W., Nochlin, D., Leverenz, J., McCormick, W., Bowen, J., Teri, L., Thompson, J., Peskind, E., Raskind, M. and Larson, E., 1999. Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. *J Am Geriatr Soc.* 47, 564-569.
- Lorenzo, A., Yuan, M., Zhang, Z., Paganetti, P., Sturchler-Pierrat, C., Staufenbiel, M., Mautino, J., Vigo, F., Sommer, B. and Yankner, B., 2000. Amyloid beta interacts with the amyloid precursor protein: a potential toxic mechanism in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci.* 3, 460-464.
- Ludolph, A., Sperfeld, A., Collatz, B. and Storch, A., 2001. Tauopathien- eine neue Kategorie degenerativer Hirnerkrankungen. *Nervenarzt.* 72, 78-85.
- Mahley, R., 1988. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science.* 240, 622-630. Review.
- Mandelkow, E., Drewes, G., Biernat, J., Gustke, N., Van Lint, J., Vandenheede, J. and E, M., 1992. Glycogen synthase kinase-3 and the Alzheimer-like state of microtubule-associated protein tau. *FEBS Lett.* 314, 315-321.

- Marangos, P., Parma, A. and Goodwin, F., 1978a. Functional properties of neuronal and glial isoenzymes of brain enolase. *J Neurochem.* 31, 727-732.
- Marangos, P. and Paul, S., 1981. Brain levels of neuron-specific and nonneuronal enolase in Huntington's disease. *J Neurochem.* 37, 1338-1340.
- Marangos, P., Schmechel, D., Parma, A. and Goodwin, F., 1980 b. Developmental profile of neuron-specific (NSE) and non-neuronal (NNE) enolase. *Brain Res.* 190, 185-193.
- Marangos, P., Zis, A., Clark, R. and Goodwin, F., 1978 b. Neuronal, non-neuronal and hybrid forms of enolase in brain: structural, immunological and functional comparisons. *Brain Res.* 150, 117-133.
- Marangos, P. J. and Schmechel, D. E., 1987. Neuron specific enolase, a clinically useful marker for neurons and neuroendocrine cells. *Ann Rev Neuroscience.* 10, 269-295.
- Martin, J., 1999. Molecular basis of the neurodegenerative disorders. *N Engl J Med.* 340, 1979-1980.
- Martin, R., Gerteis, G. and Gabrielli, W. j., 1988. A family- genetic study of dementia of Alzheimer- type. *Arch Gen Psychiatry.* 45, 894-900.
- Mattila, K., Pirttilä, T., Blennow, K., Wallin, A., Viitanen, M. and Frey, H., 1994. Altered blood- brain barrier function in Alzheimer's disease? *Acta Neurol Scand.* 89, 192-198.
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D. and Stadlan, E., 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer's disease. *Neurology.* 34, 939-944.
- Minoshima, S., BGiordani, B., Berent, S., Frey, K., Foster, N. and Kuhl, D., 1997. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 41, 85-94.
- Montorio, I. and Izal, M., 1996. The Geriatric Depression Scale: a review of its development and utility. *Int Psychogeriatr.* 8, 103-112.
- Morris, J., 1993. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology.* 43, 2412-2414.
- Morris, J., Heyman, A., Mohs, R., Hughes, J., van Belle, G., Fillenbaum, G., Mellits, E. and Clark, C., 1989. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's

- Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*. 39, 1159-1165.
- Morris, J., Storandt, M., Miller, J., McKeel, D., Price, J., Rubin, E. and Berg, L., 2001. Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 58, 397-405.
- Nagy, Z., Esiri, M., Jobst, K., Morris, J., King, E., McDonald, B., Litchfield, S., Smith, A., Barnetson, L. and AD, S., 1995. Relative roles of plaques and tangles in the dementia of Alzheimer's disease: correlations using three sets of neuropathological criteria. *Dementia*. 6, 21-31.
- Nagy, Z., Jobst, K., Esiri, M., Morris, J., King, E., MacDonald, B., Litchfield, S., Barnetson, L. and Smith, A., 1996. Hippocampal pathology reflects memory deficit and brain imaging measurements in Alzheimer's disease: clinicopathologic correlations using three sets of pathologic diagnostic criteria. *Dementia*. 7, 76-81.
- Nara, T., Tsukiyama, T. and Nishimoto, H., 1988. The neuron-specific enolase as a marker of brain destruction in a case of Reye's syndrome: related to the treatment of brain edema. *Acta Paediatr Scand*. 77, 912-9123.
- Nooijen, P. T., Schoonderwaldt, H. C., Wevers, R. A., Hommes, O. R. and Lamers, K. J., 1997. Neuron-specific enolase, S-100 protein, myelin basic protein and lactate in CSF in dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 8, 169-173.
- Nunomura, A., Perry, G., Aliev, G., Hirai, K., Takeda, A., Balraj, E., Jones, P., Ghanbari, H., Wataya, T., Shimohama, S., Chiba, S., Atwood, C., Petersen, R. and Smith, M., 2001. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 60, 759-767.
- Palumbo, B., Bianchi, A., Siepi, D., Gallai, V., Lanari, A., Arnici, S., Messina, S., Sabalich, I. and Parnetti, L., 2001. Neuron specific enolase, beta- amyloid and tau proteins as markers of dementia. *European Journal of Nuclear Medicine*. 28, 1161.
- Panegyres, P., 2001. The functions of the amyloid precursor protein gene. *Rev Neurosci*. 12, 1-39.
- Parnetti, L., Palumbo, B., Cardinali, L., Loreti, F., Chionne, F., Cecchetti, R. and Senin, U., 1995a. Cerebrospinal fluid neuron-specific enolase in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurosci Lett*. 183, 43-45.

- Parnetti, L., Palumbo, B., Cardinali, L., Loreti, F., Chionne, F., Cecchetti, R. and Senin, U., 1995b. Cerebrospinal fluid neuron-specific enolase in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurosci Lett.* 183, 43-45.
- Petersen, R., 2003. Conceptual overview. In: Petersen, R. (Ed.), *Mild Cognitive Impairment: Aging to Alzheimer's Disease*. Oxford University Press, Oxford, England, pp. 1-14.
- Petersen, R., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R., Morris, J., Rabins, P. and al., e., 2001. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol.* 58, 1985-1992.
- Petersen, R., Smith, G., Waring, S., Inik, R., Tangalos, E. and Kokmen, E., 1999. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol.* 56, 303-308.
- Poirier, J., Davignon, J., Bouthillier, D., Kogan, S., Bertrand, P. and Gauthier, S., 1993. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet.* 34, 697-699.
- Poirier, J., Hess, M., May, P. and Finch, C., 1991. Astrocytic apolipoprotein E mRNA and GFAP mRNA in hippocampus after entorhinal cortex lesioning. *Brain Res Mol Brain Res.* 11, 97-106.
- Polak, J. and Marangos, P., 1984. Neuron specific enolase, a specific marker for neuroendocrine cells. In: Falkner, S. et al. (Eds.), *Evolution and Tumour Pathology of the Neuroendocrine System*. Elsevier, Amsterdam.
- Preston, G., 1986. Dementia in elderly adults. Prevalence and institutionalization. *J Geront.* 41, 261-267.
- Prince, M., Lovestone, S., Cervilla, J., Joels, S., Powell, J., Russ, C. and Mann, A., 2000. The association between APOE and dementia does not seem to be mediated by vascular factors. *Neurology.* 54, 397-402.
- Prusiner, S., 2001. Shatuck lecture: Neurodegenerative diseases and prions. *N Engl J Med.* 344, 1516-1526.
- Raiha, I., Isoaho, R., Ojanlatva, A., Viramo, P., Sulkava, R. and Kivela, S., 2001. Poor performance in the mini-mental state examination due to causes other than dementia. *Scand J Prim Health Care.* 19, 34-38.
- Redzic, Z., Preston, J., Duncan, J., Chodobski, A. and Szmydynger-Chodobska, J., 2005. The choroid plexus-cerebrospinal fluid system: from development to aging. *Curr Top Dev Biol.* 71, 1-52.
- Reisberg, B., Ferris, S., de Leon, M. and Crook, T., 1988. Global Deterioration Scale (GDS). *Psychopharmacol Bull.* 24, 661-663.

- Reisberg, B., Schneider, L., Doody, R., Anand, R., Feldman, H., Haraguchi, H. and al., e., 1997. Clinical global measures of dementia. Position paper from the International Working Group on Harmonization of Dementia Drug Guidelines. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 11, 8-18.
- Reitan, R., 1992. Trail Making Test. Manual for administration and scoring. Reitan Neuropsychology Laboratory, Tucson, Arizona.
- Ritchie, K., 2002. Risk Factors and Mortality. In: Qizilbash, N. et al. (Eds.), *Evidence-based Dementia Practice.* Blackwell, Oxford, pp. 240-241.
- Roine, R., Somer, H., Kaste, M. and Viinikka, L., 1988. CSF analysis of neuron specific enolase and creatine kinase BB isoenzyme predicts the neurological outcome of cardiac arrest. *Acta Neurol Scand.* 77, 130.
- Roine, R., Somer, H., Kaste, M., Viinikka, L. and Karonen, S., 1989. Neurological outcome after out-of-hospital cardiac arrest. Prediction by cerebrospinal fluid enzyme analysis. *Arch Neurol.* 46, 753-756.
- Rosenstein, J., 1993. Developmental Expression of Neuron-Specific Enolase Immunoreactivity and Cytochrome Oxidase Activity in Neocortical Transplants. *Experimental Neurology.* 124, 208-218.
- Royds, J., Davies-Jones, G., Lewtas, N., Timperley, W. and Taylor, C., 1983. Enolase isoenzymes in the cerebrospinal fluid of patients with diseases of the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 46, 1031-1036.
- Sakimura, K., Kushiya, E., Takahashi, Y. and Suzuki, Y., 1987. The structure and expression of neuron-specific enolase gene. *Gene.* 60, 103-113.
- Saß, H., Wittchen, H. and Zaudig, M., 1996. *Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen- DSM IV.* Hogrefe, Göttingen.
- Schaf, D., Tort, A., Fricke, D., Schestatsky, P., Portela, L., Souza, D. and Rieder, C., 2005. S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 11, 39-43.
- Scheltens, P., Fox, N., Barkhof, F. and De Carli, C., 2002. Structural magnetic resonance imaging in the practical assessment of dementia: beyond exclusion. *Lancet Neurology.* 1, 13-21.
- Schmechel, D. and Marangos, P., 1983. Neuron specific enolase as a marker for differentiation in neurons and neuroendocrine cells. In: Barker, J. and McKelvey, J. (Eds.), *Current Methods in Cellular Neurobiology*, vol.I. Wiley, New York, pp. 1-62.

- Schmechel, D., Marangos, P. and Brightman, M., 1979. Neurone-specific enolase is a molecular marker for peripheral and central neuroendocrine cells. *Nature*. 276, 834-836.
- Selkoe, D., 2001. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*. 81, 741-766.
- Selkoe, D., 2002. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*. 298, 789-791.
- Sheikh, J. and Yesavage, J., 1985. A knowledge assessment test for geriatric psychiatr. *Hosp Community Psychiatry*. 36, 1160-1166.
- Shoji, M., Matsubara, E., Kanai, M., Watanabe, M., Nakamura, T., Tomidokoro, Y., Shizuka, M., Wakabayashi, K., Igeta, Y., Ikeda, Y., Mizushima, K., Amari, M., Ishiguro, K., Kawarabayashi, T., Harigaya, Y., Okamoto, K. and Hirai, S., 1998. Combination assay of CSF tau, A beta 1-40 and A beta 1-42(43) as a biochemical marker of Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*. 158, 134-140.
- Shulman, K., Gold, D. and al., e., 1993. Clock- Drawing and dementia in the community: a longitudinal study. *Int J Geriatr Psychiatry*. 8, 487-496.
- Shulman, K., Shedletsky, R. and Silver, I., 1986. The challenge of time: Clock- drawing and cognitive function in the elderly. *Int J Geriatr Psychiatry*. 1, 135-140.
- Smith, C., Carney, J., Starke-Reed, P., Oliver, C., Stadtman, E., Floyd, R. and Markesbery, W., 1991. Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 88, 10540-11043.
- Sorensen, K., Brodbeck, U. and Norgaard-Pedersen, B., 1987. Determination of neuron specific enolase in amniotic fluid and maternal serum for the prenatal diagnosis of fetal neural tube defects. *Clin Chim Acta*. 162, 101-104.
- Srikanth, S. and Nagaraja, A., 2005. A prospective study of reversible dementias: frequency, causes, clinical profile and results of treatment. *Neurol India*. 53, 291-294; discussion 294-296.
- Statistisches Bundesamt Deutschland, <http://www.destatis.de/>. Bevölkerung und Gesundheitswesen.
- Steinberg, R., Gueniau, C., Scarna, H., Keller, A., Worcel, M. and Pujol, J., 1984a. Experimental brain ischemia: neuron-specific enolase level in cerebrospinal fluid as an index of neuronal damage. *J Neurochem*. 43, 19-24.

- Steinberg, R., Scarna, H. and Pujol, J., 1984b. Neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid: a possible indicator of neuronal damage in kainic acid lesions. *Neurosci Lett.* 45, 147-150.
- Strittmatter, W., Saunders, A., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G. and Roses, A., 1993. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90, 1977-1981.
- Stuchbury, G. and Münch, G., 2005. Alzheimer's associated inflammation, potential drug targets and future therapies. *J Neural Transm.* 112, 429-453.
- Sulkava, R., Viinikka, L., Erkinjuntti, T. and Roine, R., 1988. Cerebrospinal fluid neuron-specific enolase is decreased in multi-infarct dementia, but unchanged in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 51, 549-551.
- Tapia, F., Polak, J., Barbosa, A., Bloom, S., Marangos, P., Dermody, C. and Pearse, A., 1981. Neuron-specific enolase is produced by neuroendocrine tumours. *Lancet.* 1, 808-811.
- Terry, R. D., 1985. Alzheimer's disease. In: Davis, R. L. and Robertson, D. M. (Eds.), *Textbook of neuropathology.* Williams and Wilkins, Baltimore.
- Tiainen, M., Roine, R., Pettila, V. and Takkunen, O., 2003. Serum neuron-specific enolase and S-100B protein in cardiac arrest patients treated with hypothermia. *Stroke.* 34, 2881-2886.
- Tierney, M., Fisher, R., Lewis, A., Zoritto, M.L., Snow, W.G., Reid, D.W., Nieuwstraten, P., 1988. The NINCDS-ADRDA Work Group criteria for the clinical diagnosis of probable Alzheimer's disease: a clinicopathologic study of 57 cases. *Neurology.* 38, 359-364.
- Tombaugh, T. and McIntyre, N., 1992. The mini-mental state examination: a comprehensive review. *J Am Geriatr Soc.* 40, 922-935. Review.
- Tomlinson, B., 1992. Ageing and the dementias. In: Adams, J. and Duchon, L. (Eds.), *Greenfield's neuropathology,* 5th edition. Oxford University Press, New York.
- Tort, A., Portela, L., Rockenbach, I., Monte, T., Pereira, M., Souza, D., Rieder, C. and Jardim, L., 2005. S100B and NSE serum concentrations in Machado Joseph disease. *Clin Chim Acta.* 361, 143-148.
- Tsuang, D., Larson, E., Bowen, J., McCormick, W., Teri, L., Nochlin, D., Leverenz, J. B., Peskind, E.R., Lim, A., Raskind, M.A., Thompson, M.L., Mirra, S.S., Gearing, M., Schellenberg, G. D. and Kukull, W. 1999. The utility of apolipoprotein



- genotyping in the diagnosis of Alzheimer disease in an community-based case series. *Arch Neurol.* 56, 1489-1495.
- Tuppo, E. and Arias, H., 2005. The role of inflammation in Alzheimer's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 37, 289-305.
- van den Doel, E., Rijksen, G. and Staal, G., 1988. [Value and limitations of the study of gamma-enolase in cerebrospinal fluid as evidence of neuronal degeneration]. *Rev Neurol (Paris).* 144, 452-455- French.
- Van Everbroeck, B., Boons, J. and Cras, P., 2005. Cerebrospinal fluid biomarkers in Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin Neurol Neurosurg.* 107, 355-360.
- Vermuyten, K., Lowenthal, A. and Karcher, D., 1990. Detection of neuron-specific enolase concentrations in cerebrospinal fluid from patients with neurological disorders by means of a sensitive enzyme immunoassay. *Clin Chim Acta.* 187, 69-78.
- von Dorsche, H., Falt, K., Hahn, H. and Reiher, H., 1989. Neuron-specific enolase (NSE) as a neuroendocrine cell marker in the human fetal pancreas. *Acta Histochem.* 85, 227-228.
- Wakayama, Y., Shibuya, S., Kawase, J., Sagawa, F. and Hashizume, Y., 1987. High neuron-specific enolase level of cerebrospinal fluid in the early stage of Creutzfeldt-Jakob disease. *Klin Wochenschr.* 65, 798-801.
- Wallesch, C. W., Förstl, H., Herholz, K., Lang, C. und Schmidtke, K., 2003. Alzheimer-Demenz (AD) und Demenz mit Lewy-Körperchen (LBD). In: Diener, H.C., Kommission "Leitlinien" der Deutschen Gesellschaft für Neurologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, 2. überarbeitete Auflage, S. 96-99.
- Walsh, D., Klyubin, I., Fadeeva, J., Cullen, W., Anwyl, R., Wolfe, M., Rowan, M. and Selkoe, D., 2002a. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature.* 416, 535-539.
- Walsh, D., Klyubin, I., Fadeeva, J., Rowan, M. and Selkoe, D., 2002b. Amyloid-beta oligomers: their production, toxicity and therapeutic inhibition. *Biochem Soc Trans.* 30, 552-557.
- Wick, M., Scheithauer, B. and Kovacs, K., 1983. Neuron-specific enolase in neuroendocrine tumors of the thymus, bronchus, and skin. *Am J Clin Pathol.* 79, 703-707.

- Wisniewski, K., Wisniewski, H. and Wen, G., 1985. Occurrence of neuropathological changes and dementia of Alzheimer's disease in Down's syndrome. *Ann Neurol.* 17, 278-282.
- World Health Organization (WHO), 1996. <http://www.who.int/en/>
- Yesavage, J., Brink, T., Rose, T. and al, e., 1983. Development and validation of a Geriatric Depression Scale: A preliminary report. *Journal of Psychiatric Research.* 17, 37-49.
- Yoshida, Y., Sakimura, K., Masuda, T., Kushiya, E. and Takahashi, Y., 1983. Changes in levels of translatable mRNA for neuron-specific enolase and non-neuronal enolase during development of rat brain and liver. *J Biochem (Tokyo).* 94, 1443-1450.
- Zinsmeyer, J., Marangos, P., Issel, E. and Gross, J., 1987. Neuron specific enolase in amniotic fluid--a possible indicator for fetal distress and brain implication. *J Perinat Med.* 15, 199-202.

## Danksagungen

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Klaus Wiedemann und Herrn Prof. Dr. med. Dieter Naber für die Überlassung des Dissertationsthemas und die wissenschaftlichen Anregungen für dessen Bewältigung.

Herrn Dr. med. Holger Jahn danke ich für seine wissenschaftliche Betreuung und Unterstützung durch seine Statistikenkenntnisse.

Für seine kollegiale Unterstützung bei der statistischen Datenauswertung danke ich Herrn Dr. med. Sönke Arlt.

Herrn Dr. med. Günther Thayssen danke ich für die Kontinuität bei der konstruktiven Durchsicht von Inhalt und Layout der vorliegenden Arbeit.

Frau Petra Schmidt aus der Gedächtnissprechstunde der Psychiatrischen Poliklinik danke ich für Ihre geduldige und zuverlässige Unterstützung bei der Suche nach Patientenakten. Frau Weihnacht aus den Zentrallaboratorien des Instituts für Klinische Chemie danke ich für Ihre freundliche Hilfe bei der Recherche nach alten Labordaten.

## **Lebenslauf**

Am 20.08.1970 wurde ich als Tochter der Ärztin, Dr. Ayla Köföncü, geborene Aydinçeren, und des Chirurgen, Dr. Ömer- Ayhan Köföncü, in Izmir geboren. Die Grundschule absolvierte ich von 1977 bis Sommer 1979 in der Grundschule Schulstrasse in Hagen, Nordrhein-Westfalen sowie von Sommer/ Herbst 1979 bis 1981 in der Grundschule Othmarscher Kirchenweg in Hamburg. Meine Gymnasialzeit am Gymnasium Hochrad in Hamburg von 1981 bis 1990 schloss ich im Juni 1990 mit dem Erwerb der allgemeinen Hochschulreife ab.

Das im Oktober 1990 aufgenommene Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg beendete ich am 11.05.1998 mit der Ärztlichen Prüfung und der vorläufigen ärztlichen Approbation. Meine klinische Weiterbildung begann ich mit der 18-monatigen Tätigkeit als Ärztin im Praktikum an der Neurologischen Universitäts- und Poliklinik Hamburg-Eppendorf vom 15.05.1998 bis 14.11.1999 und setzte die fachärztliche Weiterbildung als Assistenzärztin vom 15.11.1999 bis zum 30.09.2004 an der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf fort. Im Rahmen eines Kooperationsvertrages mit der Klinik für Epileptologie und Neurologie des Evangelischen Krankenhauses Alsterdorf in Hamburg beinhaltete meine klinische Weiterbildung eine 30-wöchige Tätigkeit als Assistenzärztin in der Klinik für Epileptologie des Evangelischen Krankenhauses Alsterdorf in Hamburg vom 15.05. bis 31.12.2000. Vom 01.10.2004 bis zum 31.10.2005 war ich als Assistenzärztin in der Neurologischen Abteilung des Albertinen- Krankenhauses in Hamburg beschäftigt.

Seit dem 28.06.2005 bin ich Fachärztin für Neurologie. Im Januar 2005 begann ich eine fachärztliche Tätigkeit in der pharmazeutischen Industrie als Fachreferentin auf dem Gebiet Cardiovascular Thrombosis bei Sanofi- Aventis in Berlin.

**Eidesstattliche Versicherung**

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.

Unterschrift: .....