

# **1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNGEN**

## **1.1 Alzheimer-Demenz**

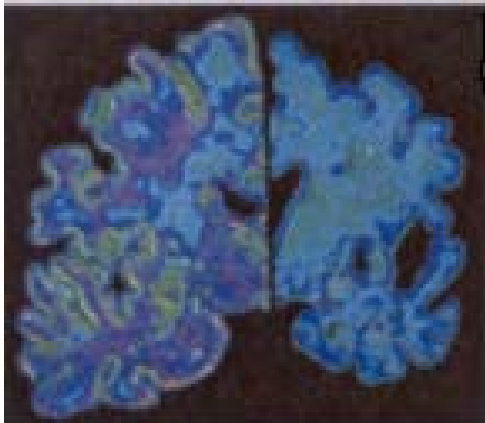
Je älter ein Mensch wird, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass ihn der schleichende Verlust geistiger Fähigkeiten trifft. Die häufigste Form der Demenz ist die Alzheimer-Demenz (AD). Sie ist nach Dr. Alois Alzheimer benannt, der deutsche Neurologe beschrieb als Erster (1906) die Symptome einer Demenz, die er an einer Patientin beobachtete. Er begleitete diese Patientin, bis sie an ihrer Krankheit verstarb. Nach ihrem Tod untersuchte er ihr Gehirn und stellte eine ausgedehnte Zerstörung von Hirnzellen fest (Bick et al. 1987). Diese Krankheit ist heute eines der Hauptthemen neurowissenschaftlicher Forschung. Das große Interesse an dieser Krankheit beruht auf ihrer Häufigkeit und auf ihrem jahrelangen, unausweichlich fortschreitenden Verlauf.

### **1.1.1 Definition, Häufigkeit, Symptome und Warnzeichen**

#### **Definition**

Die AD ist eine degenerative, chronische, langsam fortschreitende Erkrankung des Gehirns. Sie zerstört nach und nach die Gehirnzellen (Abb. 1). Sie beeinflusst das Gedächtnis, das Denken, das Sprechen, das Erkennen sowie die Orientierung. Neben Störungen der kognitiven Funktionen zeigen sich bei den betroffenen Patienten im Verlauf der AD auch vielfältige neuro-psychologische Störungen, die das tägliche Leben beeinträchtigen. In den Spätstadien der Krankheit können neben dem geistigen Verfall weitere neurologische Ausfälle hinzutreten z. B. Störung der Motorik, Inkontinenz u. a. (Scott et al. 2000).

Histologisch sind intrazellulär lokalisierte neurofibrilläre Tangles und extrazelluläre  $\beta$ -Amyloidablagerungen charakteristisch für die AD (Yen et al. 1995; Selkoe 1996, 2001b). Es gibt zwei Formen der Erkrankung: eine erblich und eine nicht erblich bedingte (Reisberg 1983).



Die klinischen Symptome können bei der autosomal vererbten „familiären“ Form der Erkrankung in der fünften Lebensdekade einsetzen. Dagegen manifestiert sich die nichterbliche „sporadische“ Form erst zwischen dem 70. und 80. Lebensjahr (Breitner et al. 1984).

**Abbildung 1: Humane Hirnpräparate (links normale, rechts Atrophische Gehirnhälfte einer AD) (<http://www.sigma-aldrich.com>).**

### **Häufigkeit**

Das Risiko des Einzelnen, einmal an einer Demenz zu erkranken, hängt stark vom Lebensalter ab. An der AD leiden etwa 5 % der 65-Jährigen und bis zu 30 % der über 85-Jährigen. Die AD ist mit einem Anteil von etwa 70 % die häufigste Form der Demenzerkrankungen in den Industriestaaten. Weltweit sind etwa 25 Millionen Menschen betroffen (Parnetti et al. 1997). Zweifellos ist die Zahl der Demenzkranken in den letzten Jahrzehnten angestiegen, doch lässt sich dieser Anstieg mit der zunehmenden Zahl älterer Menschen erklären. Einige Studien belegen, dass Frauen häufiger von der AD betroffen sind als Männer. Auch dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass Frauen durchschnittlich älter werden. Nach einer Studie leiden 4.5 Millionen Amerikaner an der AD. Bis 2050 wird in den USA ein Anstieg auf 13.2 Millionen Alzheimerkranke erwartet (Hebert et al. 2003). Nach Berechnungen von Bickel et al. leiden rund 950000 Menschen in Deutschland an einer Demenz. Zwei Drittel davon haben bereits das 80. Lebensjahr vollendet. 60 % der Betroffenen leiden an der Alzheimer-Demenz, davon sind 70 % Frauen und 30 % Männer. Etwa 60 % der Neuerkrankten sind 80 Jahre und älter. Bis zum Jahr 2010 rechnet die Bundesregierung mit einem Anstieg der Betroffenen auf 1.6 bis 1.7 Millionen (Bickel 2000).

### **Symptome und Warnzeichen**

Die Symptome der AD sind vielfältig. Sie hängen vom Ausmaß und von der Ausbreitung der Veränderungen im Gehirn ab und werden auch durch die Persönlichkeit, die Lebensumstände und die körperliche Verfassung beeinflusst. Die ersten Zeichen einer beginnenden Erkrankung sind Erinnerungslücken. Meist ist das Kurzzeitgedächtnis betroffen. Im weiteren Krankheitsverlauf nimmt die

Gedächtnisleistung weiter ab. Es kommt zu einer Störung der Wortfindung und schließlich zu einer Reduktion der Sprache auf wenige Wörter. Dazu kommt eine räumliche und zeitliche Desorientiertheit. Zu diesen Problemen kommen emotionale Störungen, z. B. Antriebsstörungen und Ängste hinzu, so dass komplizierte Aufgaben nicht mehr ausgeführt werden können und schließlich bei fortgeschrittener Erkrankung auch die üblichen Alltagsverrichtungen nicht mehr erledigt werden können. Diese Patienten sind dann auf fremde Hilfe und Pflege angewiesen (Scott et al. 2000).

### **1.1.2 Pathogenese**

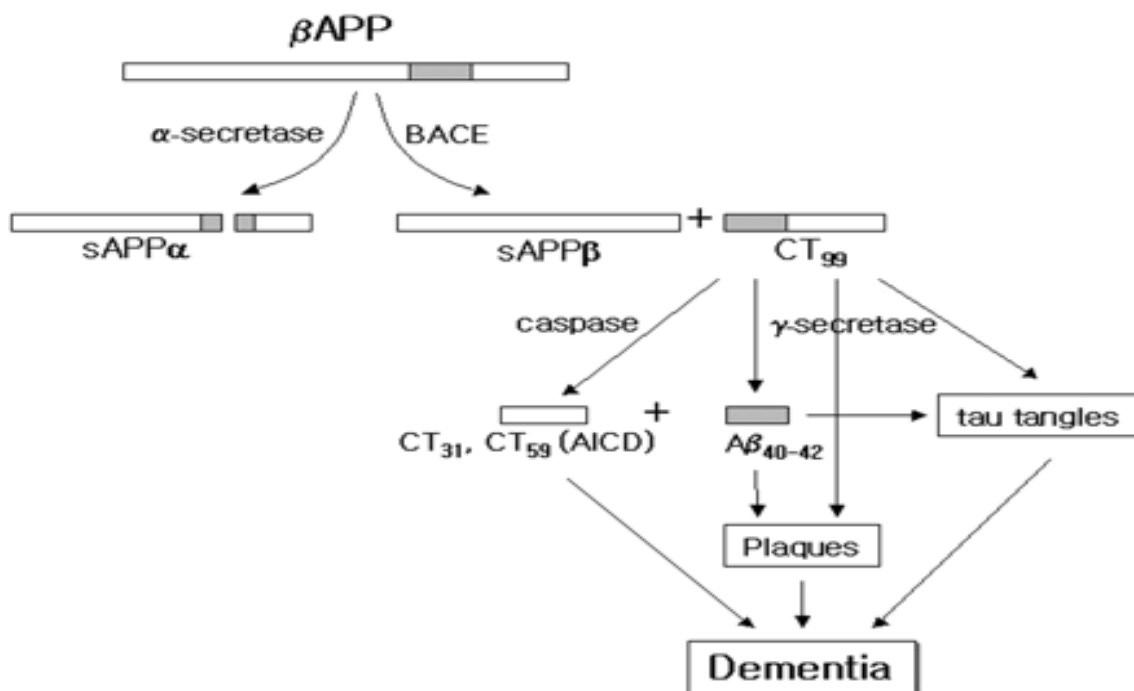
Die Ursache jeder Demenz ist das Absterben von Nervenzellen im Gehirn. Warum dies geschieht, konnte die Wissenschaft noch nicht endgültig klären. Bei der Demenz, vor allem beim Alzheimer-Typ, verklumpen einzelne Proteine im Gehirn und lagern sich in bestimmten Bereichen ab. Die Nervenzellen sterben in der Nähe solcher Ablagerung, den sogenannten Amyloid-Plaques, ab.

Die Amyloid-Plaques sind ein spezifisches morphologisches Merkmal der Krankheit. Der Hauptbestandteil der Plaques ist das  $\beta$ -Amyloid-Peptid ( $A\beta$ ), ein aus 40 bis 42 Aminosäureresten bestehendes Spaltprodukt (Caughey et al. 2003).

Ausgangspunkt für das  $\beta$ -Amyloid-Peptid ( $A\beta$ ) ist das Amyloid-Vorläuferprotein (APP- Amyloid Precursor Protein, Abb. 2). APP sitzt in den Plasmamembranen der meisten Zellen im Gehirn und unterstützt dort verschiedene Funktionen der Nervenzellen.

Drei Enzyme, die  $\alpha$ ,  $\beta$ , und  $\gamma$ -Sekretasen, können APP spalten. Die  $\alpha$ -Sekretase spaltet das APP in Bruchstücke, welche den Nervenzellen nicht schaden. Die beiden anderen Enzyme trennen das für AD entscheidende APP-Stück heraus. Dieses APP-Stück (Amyloid-beta-Peptid,  $A\beta$  genannt) hat eine für den Körper (Glenner and Wong 1984; Haass and Selkoe 1993) schädliche ( $\beta$ ) Faltblattstruktur.

APP und das herausgeschnittene  $A\beta$  sind Dimere; diese Doppelkonstellation ist ein Risikofaktor.  $A\beta$ -Dimere können bereits vor der Plaquebildung Nervenzellen schädigen. Das freigesetzte  $A\beta$  wird aus den Zellen ausgeschleust und lagert sich im Extrazellularraum mit Fibrillen zu  $\beta$ -Faltblattstrukturen zusammen, die durch ständige Apposition schließlich zu den Kernen der Plaques heranwachsen. Das  $A\beta$  lagert sich auch an den Wänden zahlreicher Arteriolen ab und führt zur Amyloid-Angiopathie (Glenner and Wong 1984; Haass and Selkoe 1993).



**Abbildung 2: Entstehung des Amyloid- $\beta$ -Vorläuferprotein durch proteolytische Aktivitäten der Beta- und Gamma-Sekretasen (Suh and Checler 2002).**

Jedes der dimeren APP-Moleküle besitzt eine Kupferbindungsstelle. Die Verbindung mit dem Metall-Ion (Kupfer) verwandelt APP in ein Monomer und präsentiert in dieser Form die Schnittstelle für die  $\alpha$ -Sekretase. Die  $\alpha$ -Sekretase zerlegt APP ohne Entstehung von schädlichem  $A\beta$ -Peptid (Scheuermann et al. 2001; Strausak et al. 2001; Simons et al. 2002).

### **Acetylcholinmangel-Hypothese**

Die Nervenzellen stehen über Botenstoffe (Neurotransmitter) miteinander in Verbindung. Erreicht der Transmitter den richtigen Rezeptor, löst er bei der Empfängerzelle eine Erregung aus. Bei einer AD sind die Entstehung und der Abbau der Botenstoffe Glutamat und Acetylcholin aus dem Gleichgewicht geraten.

Die Acetylcholinmangel-Hypothese bietet eine mögliche Erklärung für die Entstehung der AD: Gruppen cholinergischer Zellkörper befinden sich vor allem im Corpus striatum und im Nucleus basalis des Vorderhirns (Starke 2001). Bei den striatalen Neuronen handelt es sich um cholinerge Interneuronen, die bei einer anderen neurodegenerativen Erkrankung, dem Morbus Parkinson, aufgrund des Wegfalls der dopaminergen Hemmung, überaktiv sind. Die beiden wichtigen Kerngruppen des Nucleus basalis sind der Nucleus basalis meynert und die Formatio septalis medialis. Es handelt sich um

Neurone, die Impulse entweder zur Großhirnrinde (die Neurone des Nucleus basalis meynert) oder zum Hippocampus (die Neurone der Formatio septalis basalis) geben. Es ist seit langem bekannt, dass die Neurone des Nucleus basalis bei Lern- und Gedächtnisvorgängen von Bedeutung sind (Rang et al. 2003).

Mitte der 70er Jahre konnte nachgewiesen werden, dass das Auftreten der AD mit einem massiven Verlust cholinergischer Neurone im basalen Vorderhirn einhergeht (Davies and Maloney 1976). So war in Gehirnen von Alzheimer-Patienten die Aktivität der Acetylcholintransferase (AChT) deutlich reduziert. Die AChT katalysiert die Synthese von Acetylcholin aus Acetyl-Coenzym A und Cholin und ist ein spezifischer Marker cholinergischer Neurone. Auf der Grundlage dieser und weiterer Befunde bestand lange Zeit der pharmakotherapeutische Ansatz zur AD-Therapie vor allem in einer Beseitigung des Acetylcholinmangels. Lösliches A $\beta$ -Peptid hemmt die Acetylcholinfreisetzung und bewirkt durch die Blockade von schnell aktivierenden K<sup>+</sup>-Kanälen eine verlängerte Depolarisation der Neurone mit möglicherweise fatalen Folgen für den zellulären Energiestoffwechsel (Sigle et al. 2003).

### **Glutamatüberschuss-Hypothese**

Bei der AD ist die Glutamatkonzentration in bestimmten Hirnzellen zu hoch. Die hohe Glutamatkonzentration schädigt die Nervenzellen durch Dauererregung, wodurch die Zellen zugrunde gehen. Auf diese Weise setzt sich die Zerstörung der Signalleitung im Gehirn immer weiter fort. Glutamat steuert viele Reaktionen, welche die Menge an Ionen (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>), die durch die Zellmembran gelangen, beeinflussen. Ca<sup>2+</sup> führt dazu, dass die intrazellulären Enzyme stimuliert werden, die Proteine, Lipide und Nukleinsäuren (DNA) abbauen. Das hat zur Folge, dass die Neurone absterben (Mark et al. 2001).

### **Die neurofibrillären Tangles**

Im Zellinnern befinden sich Bündel aus neurofibrillären Tangles. Sie bestehen aus dem Mikrotubuli-assoziierten Protein Tau. Dieses Tau-Protein ist ein normaler Bestandteil des axonalen Zellskeletts (Abb. 3). Bei der AD ist es abnorm stark phosphoryliert. Die physiologische Bedeutung der Phosphorylierung des Tau-Proteins liegt in der Regulation der Bindungseigenschaften an die Mikrotubuli. Während der Hirnentwicklung zeigt das Tau-Protein eine relativ starke Phosphorylierung, wodurch die Mikrotubulibindung abgeschwächt wird. Dies stellt eine wichtige Voraussetzung für die Flexibilität auswachsender Axone dar. Nach der Ausdifferenzierung des Gehirns

nimmt die Tau-Phosphorylierung stark ab, stabilisiert die Mikrotubulstruktur, und schafft damit eine wichtige Voraussetzung für einen effektiven axonalen Transport. Aus bisher unbekanntem Gründen ist die Tau-Phosphorylierung bei der AD wieder erhöht. Dadurch kommt es zur Labilisierung der Mikrotubulstruktur und dadurch zur Störung des axonalen Transports.

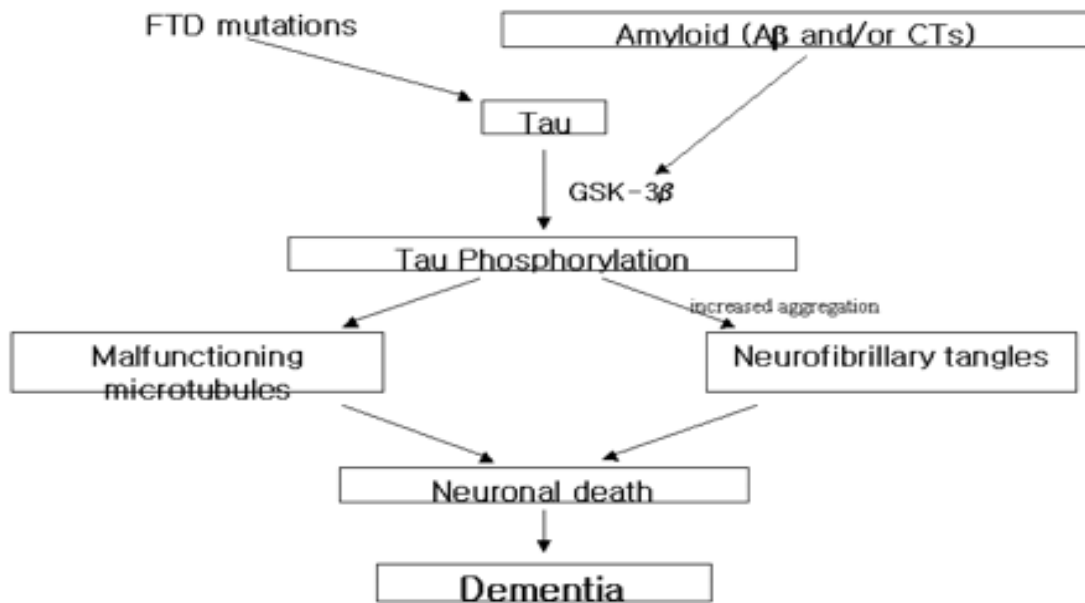


Abbildung 3: Das Tau-Protein und die Neurofibrillären Tangles Hypothese (Suh and Checler 2002).

Das nicht mehr gebundene Tau-Protein wird aus dem Axon in das somatodendritische Kompartiment rückverlagert, wo es zu Verknotung der Fibrillen kommt, den neurofibrillären Tangles (Abb. 4) (Yen et al. 1995).

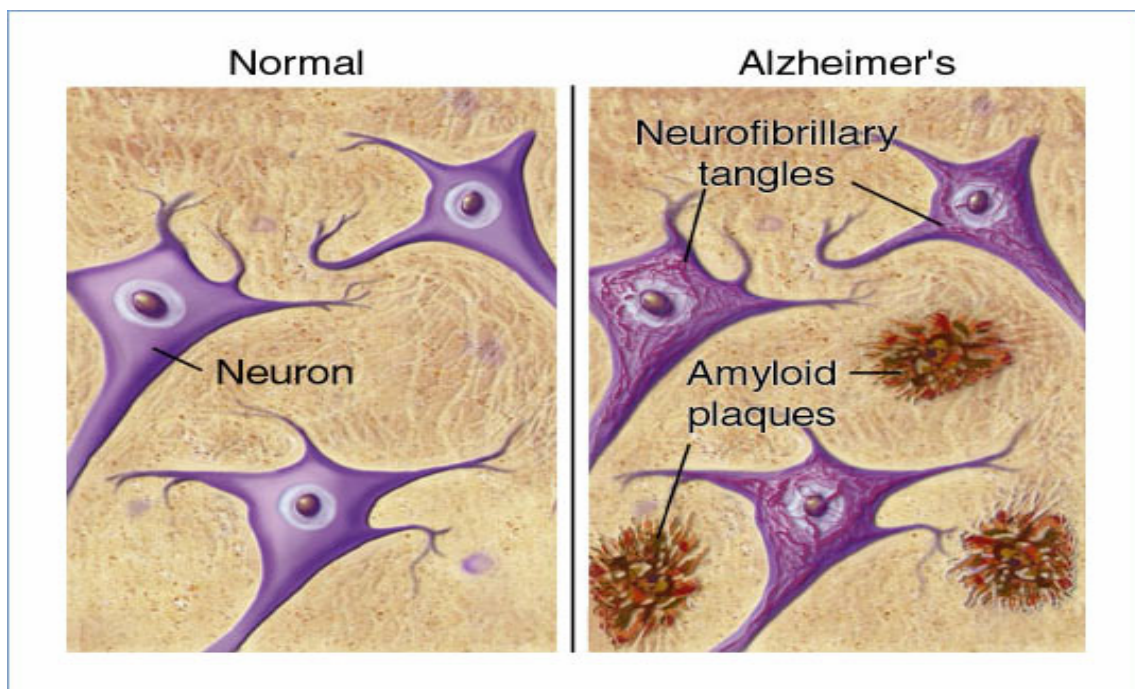


Abbildung 4: Amyloid-Plaques und Neurofibrilläre Tangles (<http://www.ahaf.org>).

### **1.1.3 Ursachen und Risikofaktoren**

Bisher sind die Ursachen der AD nur in Ansätzen bekannt. Es gibt Hinweise, dass mehrere Faktoren an der Entstehung der Krankheit beteiligt sind und dass deren Kombination nicht bei allen Betroffenen gleich ist. Es ist nicht genau bekannt, wie diese Faktoren zusammenwirken aber es ist bekannt, welche Schäden diese Faktoren im Gehirn anrichten. Die Faktoren bewirken die Ablagerung pathologischer Substanzen in der Umgebung und im Inneren der Nervenzellen. Durch diese Ablagerung werden wichtige Lebensvorgänge der Nervenzellen schrittweise lahm gelegt. Eine Folge davon ist, dass die betroffenen Nervenzellen weniger Botenstoffe erzeugen können, mit denen sie sich untereinander verständigen. Am stärksten ist Acetylcholin davon betroffen (Starke 2001). Es gibt eine Reihe von Hypothesen zur Ätiologie der AD, auf die im nächsten Abschnitt eingegangen wird.

#### **Lebensalter**

Je älter der Mensch wird, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit dem schleichenden Gedächtnisverlust zum Opfer zu fallen. Da die Zahl älterer Menschen aufgrund steigender Lebenserwartung ständig zunimmt, steigt die Zahl der von der AD betroffenen Menschen an. Im Alter gibt es viele Veränderungen im Körper; u. a. die Veränderung der DNA und des Zellteilungszyklus, Störungen der Proteinsynthese und/oder deren Struktur, Veränderungen von Geweben, Organen und Organsystemen. Auch das Zentralnervensystem ist betroffen, besonders im Gehirn (Hans 1980). Eine Studie zeigt, dass das Alter mit Störungen des Gefäßsystems verbunden ist. Im Alter steigt die Empfindlichkeit des zerebralen und peripheren Gewebes gegenüber den schädlichen Effekten von A $\beta$  an (Price et al. 2004).

#### **Genetische Ursachen**

Es gibt Erbfaktoren, die zum Ausbruch des Leidens in meist relativ jungem Alter führen. Schätzungsweise ein bis fünf Prozent der Krankheitsfälle gehen darauf zurück. Ein erhöhtes Erkrankungsrisiko ist wahrscheinlich, wenn das Leiden bereits in mehreren Generationen auftrat und die Symptome relativ früh, also vor dem sechzigsten Lebensjahr, einsetzten. Bisher wurden spezifische Gen-Mutationen auf den Chromosomen 1, 14 und 21 identifiziert, die mit hoher Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der AD verantwortlich sind.

Als krankheitsbegünstigender „genetischer Risikofaktor“, wird das Vorhandensein des Apolipoprotein E4-Gens (Apo-E4) diskutiert, das sich auf dem Chromosom 19 befindet. Träger des Apolipoprotein-E4-Gens haben neben dem erhöhten Risiko, an der AD zu erkranken, auch ein erhöhtes Risiko, einen Herzinfarkt oder eine durchblutungsbedingte Demenzerkrankung zu bekommen. Jeder Mensch verfügt über Apo-E4, das am Transport und der Verarbeitung von Cholesterol beteiligt ist. Das Apo-E-Gen kommt in drei Formen vor: E2, E3, E4. Eine dieser Formen (E2-Gen) schützt vor der Erkrankung, Apo-E4-Epsilon-Allel erhöht dagegen das Risiko zu erkranken. Das Apo-E4- $\delta$ -Allel Gen führt zu einer vermehrten Ablagerung von A $\beta$  im Gehirn (Corder et al. 1993). Ein weiteres für die Entstehung von der AD wichtiges Eiweißmolekül ist das APP (Amyloid Precursor Protein, APP), welches 1987 entdeckt wurde. Eine Mutation im APP-Gen (Chromosom 21) sowie Mutationen im Gen Presenilin 1 (PSEN1) und im Gen Presenilin 2 (PSEN2) (Chromosom 14) führen dazu, dass sich mehr A $\beta$  abgelagert (Sinha and Lieberburg 1999).

Bei Down-Syndrom-Patienten, die ein überzähliges Chromosom 21 haben, findet sich eine sehr frühe Ausbildung der Amyloid-Plaques. Deshalb haben sie ein erhöhtes Risiko an der AD zu erkranken, und zwar schon in den mittleren Lebensjahren (Parajua-Pozo and Casis-Arguea 2000).

### **Entzündliche Vorgänge**

Auch entzündliche Vorgänge können am Untergang von Nervenzellen der AD beteiligt sein (Akiyama et al. 2000). Bestimmte Zellen des Gehirns (die Zellen des temporalen und frontalen Cortex sowie des Hippocampus), die Abwehraufgaben erfüllen, sind überaktiv und sondern Substanzen ab, die auch in anderen Organen des Körpers bei Entzündungen angetroffen werden. Alle Arten von Krankheitserregern können in das Gehirn vordringen und dort eine Entzündung hervorrufen. Die meisten Gehirnentzündungen gehen auf Viren zurück, auch Pilze oder Parasiten können eine Enzephalitis hervorrufen. An erster Stelle steht das Herpes-Virus (Herpes Simplex Typ 1). Eine Studie aus Großbritannien zeigte, dass eine Infektion mit dem Herpes-Simplex-Virus Typ 1 (HSV-1) ein Faktor für die Entwicklung der AD sein könnte. Für eine Beteiligung von HSV 1 bei der Entstehung von der AD spricht, dass das Virus bei der sehr seltenen, akuten HSV-1-Enzephalitis dieselben Gehirnregionen befällt, die auch bei der AD am stärksten betroffen sind. Diese sind vor allem der temporale und frontale Cortex sowie der Hippocampus. Mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) gelang es, die DNA von HSV-1 im Gehirn älterer Menschen mit und ohne AD zu



identifizieren. Es wurde untersucht, ob es einen direkten Zusammenhang zwischen dem Apo-E4-Allel und der HSV-1-Infektion bei der Entstehung der Krankheit gibt. Die Ergebnisse der Studie deuten darauf hin, dass das Risiko für eine AD deutlich erhöht ist, wenn das Apo-E4-Allel in Verbindung mit einer HSV-1-Infektion auftritt. Auch andere Entzündungen können zur Reaktivierung von HSV-1 führen. Eine Bestätigung der Ergebnisse könnte dazu führen, dass antivirale und entzündungshemmende Medikamente verstärkt in der Therapie gegen AD zur Anwendung kommen (Itzhaki et al. 1997; Latchman 1997).

Schädel-Hirn-Traumen, auch wenn sie Jahre zurückliegen, erhöhen das Risiko an einer Demenz zu erkranken. Nach Schädel-Hirn-Traumen nimmt die Konzentration an freiem APP zu. Das führt dazu, dass sich mehr Amyloid im Gehirn ablagert (Roberts et al. 1991; 1994).

### **Energiemangel**

Es gibt erste Hinweise darauf, dass die Entstehung von A $\beta$  mit einem Energiemangel in Verbindung zu sehen ist. Je älter ein Mensch wird, desto weniger Energie steht seinem Gehirn zur Verfügung. Der Grund dafür ist eine schlechtere Durchblutung oder andere Störungen in den Gehirnzellen.

Es konnte nachgewiesen werden, dass eine schlechte Durchblutung (Ischämie) im Gehirn die APP-Konzentration erhöht. Das führt wiederum zu einer vermehrten Ablagerung von A $\beta$  im Gehirn. Glukose ist die Hauptenergiequelle für die zellulären und körperlichen Funktionen. Das Gehirn braucht für seine Schutzsysteme mehr Glukose als alle anderen Gewebe. Es wurde beschrieben, dass es bei der AD zu Störungen des Glukose-Stoffwechsels kommen kann. Diabetes mellitus kann die Funktion des Gehirns behindern und den Prozess zur Ausbildung einer Demenz beschleunigen. Außer der Zerstörung wichtiger Blutgefäßnetze und der Gefahr von kleinen Hirnschlägen, kann eine Disglykämie in die Entwicklung der neurofibrillären Tangles innerhalb des Gehirns direkt einwirken, welche für die AD charakteristisch ist (Wallace et al. 1997).

### **Die Ernährung**

Bei der Entwicklung der Demenz spielen die Umwelt und der Lebensstil eine wesentlich größere Rolle als die genetischen Voraussetzungen. Die Entwicklung der Demenz hängt vor allem mit dem erhöhten Konsum von hochkalorischer Nahrung,

besonders bei Trägern des Apo-E4- $\delta$ -Allel-Genotyp, und mit der verminderten Einnahme von Omega-3-Fettsäuren zusammen. Diese Faktoren wirken direkt und indirekt.

Die Auswirkungen sind:

- Bestimmte Lipide (Low-Density-Lipoproteine, LDL), welche die Gefäßwände und das Gewebe schädigen, sind im Blut erhöht. Das Low-Density-Lipoprotein Receptor-related Protein (LRP) ist der bedeutendste Rezeptor für Apolipoprotein E, alpha-2-Macroglobulin und Laktoferrin. Eine verringerte LRP-Expression scheint in der Entstehung von der AD eine entscheidende Rolle zu spielen (Reitz et al. 2004).
- Fett ist möglicherweise Oxidationsprozessen unterworfen, die zur Formierung schädlicher freier Sauerstoffradikale führen. Eine Studie hat nachgewiesen, dass der vermehrte Verzehr von Fett das Demenzrisiko um den Faktor 2.4 erhöht (Kalmijn et al. 1997).
- In Folge einer verringerten Aufnahme von Omega-3-Fettsäuren wird vermehrt Homocystein gebildet, welches den oxidativen Stress erhöht und die Gefäße schädigt (Seshadri et al. 2002; Quadri et al. 2004).

### **Bildungsniveau**

Untersuchungen in mehreren Ländern haben eindeutige Hinweise darauf ergeben, dass Menschen mit einer unzureichenden Schulbildung ein bis zu fünf-mal höheres Risiko haben an der AD zu erkranken. Je besser das Bildungsniveau, desto geringer ist das Risiko. Als mögliche Erklärung dieses Phänomens ist in den 90er Jahren das Konzept der Reservekapazität des Gehirns entwickelt worden.

Es geht davon aus, dass durch Bildung und damit durch Training der Hirnfunktionen die Bildung von Synapsen, dendritischen Verzweigungen und von Myelin gefördert und damit das neuronale Netzwerk im Gehirn dichter wird (Letenneur et al. 2000).

### **Geschlecht**

Frauen erreichen ein um einige Jahre höheres durchschnittliches Lebensalter als Männer. Es gibt mehr ältere Frauen als Männer, was auch erklärt, dass absolut gesehen mehr Frauen als Männer unter dieser Krankheit leiden.

Frauen haben im Mittel einen etwas längeren Krankheitsverlauf, weshalb es vermutlich den Anschein hat, dass ein Unterschied in Form eines erhöhten Erkrankungsrisikos zwischen den Geschlechtern besteht. Bei familiärem Auftreten von der AD zwischen

dem 50. und 70. Lebensjahr besteht kein Geschlechtsunterschied. Für den Zusammenhang zwischen dem weiblichen Geschlecht und der höheren Erkrankungsrate werden ganz verschiedene Ursachen vermutet, z. B. Umwelteinflüsse. Erwähnenswert ist die Beobachtung, dass ein bei älteren Frauen nach der Menopause häufig auftretender Östrogenmangel ein Risikofaktor für die AD zu sein scheint. Östrogene sind wichtig für die Reparaturvorgänge in Zellen und Zellmembranen (Molsa et al. 1982; Jorm et al. 1987). In einer Studie wurde gezeigt, dass 17- $\alpha$ -Estradiol (0.2-2 nM) die Zelltoxizität, die von A $\beta$  induziert wird, bis zu 51 % reduzieren kann (Green et al. 1996). Östrogene vermindern den zirkulierenden Spiegel von Apolipoprotein E (Kushwaha et al. 1991) und steuern den Abbau von Amyloid-Precursor-Proteinen (APP) zu löslichen Fragmenten, die sich weniger leicht zum schädlichen A $\beta$  aggregieren lassen (Jaffe et al. 1994). Es gibt die These, dass Östrogene AD verzögern können. In einer Studie wurde gezeigt, dass die Östrogensatztherapie (ERT) gegen AD schützen kann (Tang et al. 1996). In weiteren Studien wurde nachgewiesen, dass die physiologische Konzentration von 17- $\beta$ -Estradiol die Bildung von A $\beta$  in Neuroblastomazellen verringert (Xu et al. 1998).

Testosteron spielt auch eine wichtige Rolle bei dem Altersleiden. In einer Studie von US-amerikanischen Wissenschaftlern wurden 574 Männer bereits seit 1958 regelmäßig untersucht. Ärzte haben u. a. ihre Hormonwerte gemessen und diese Daten im Hinblick auf das Risiko für die AD untersucht. Einige der Studienteilnehmer haben Ärzte über einen Zeitraum von mehr als 40 Jahren regelmäßig untersucht. Von 574 Männern erkrankten 54 an AD. Männer, die höhere Testosteronwerte aufwiesen, hatten ein deutlich geringeres Risiko an der AD zu erkranken. In der Studie wird aufgezeigt, dass es eine Beziehung zwischen AD und Testosteron gibt. Testosteron liegt im menschlichen Organismus in zwei Formen vor, einmal frei und einmal gebunden an einem Protein. Nur das freie Testosteron kann seine Wirkung als männliches Sexualhormon entfalten. Männer mit einer niedrigen Konzentration an freiem Testosteron haben ein höheres Alzheimerisiko (Hogervorst et al. 2004). Eine aktuelle Studie zeigte, dass Testosteron das A $\beta$ -Niveau in vivo regulieren und somit gegen die AD schützen kann (Gouras et al. 2000).

## **Stress**

Mitunter wird behauptet, dass die AD zumindest teilweise auf den vermehrten Stress in Industriegesellschaften zurückgeht. Chronischer Stress geht bei Tieren und Menschen mit einer Schädigung des Hippocampus sowie mit Lern- und Gedächtnisproblemen

einher. Eine Studie erhärtete den Verdacht, dass chronischer Stress auch die Entstehung einer AD begünstigen kann. Die Wahrscheinlichkeit an einer AD zu erkranken war für Personen, die zu Beginn der Untersuchung eine hohe Stressanfälligkeit aufwiesen im Vergleich zu Personen mit niedriger Stressanfälligkeit doppelt so groß. Stressanfälligkeit beeinträchtigte speziell das Gedächtnis, das sich im Extremfall um den Faktor 10 verschlechterte (Wilson et al. 2003).

### **Elektromagnetische Felder**

Zwei epidemiologische Studien aus den USA und Schweden unterstützen frühere Vermutungen über einen Zusammenhang zwischen elektromagnetischen Feldern (EMF) am Arbeitsplatz und der Entstehung von der AD. Nach der amerikanischen Studie haben Berufsgruppen mit einer hohen Belastung durch EMF (Elektriker und Lokomotivführer) ein viermal höheres Risiko an der AD zu erkranken als eine Kontrollgruppe.

In der schwedischen Studie fand sich ein um den Faktor fünf erhöhtes Risiko. Als mögliche Erklärung wird eine vermehrte Produktion des A $\beta$ -Proteins durch EMF diskutiert. Kann EMF die Entstehung der AD begünstigen? Ein Erklärungsmodell (Schulte et al. 1997):

EMF-Exposition führt zu einer Störung des Kalzium-Stoffwechsels, was zu einer Zunahme der Konzentration freier Ca<sup>2+</sup>-Ionen in den Zellen führt. Zumindest einer der Wege, die zur Entstehung von löslichem A $\beta$  führen, ist eine erhöhte intrazelluläre Konzentration von freiem Kalzium. A $\beta$  wird von den Zellen schnell in den Blutstrom abgegeben. EMF soll zu einer vermehrten Sekretion von A $\beta$  in den Blutstrom und damit zu einer Erhöhung der A $\beta$ -Konzentration im Blut beitragen. Bestimmte Proteine (Apolipoproteine E und J) können an A $\beta$  anbinden und dazu beitragen, dass A $\beta$  die Blut-Hirn-Schranke überwindet. Ein hohes Überangebot an A $\beta$  könnte mit der Zeit im Gehirn zur Bildung von nervenschädigenden, unlöslichen Amyloid-Plaques bzw. den Neurofibrillen Tangles und schließlich zur AD führen (Schulte et al. 1997).

### **Rauchen**

Beim Rauchen ist es noch nicht klar, ob es einen schädlichen oder protektiven Effekt auf die AD hat. In einer Studie wurde nachgewiesen, dass das durchschnittliche Risiko an der AD zu erkranken für Raucher und Raucherinnen 2.7-mal größer ist, im Vergleich zu Personen, die nie geraucht haben. Diese Ergebnisse waren unabhängig vom Alter, Geschlecht, Schulbildung, Blutdruck und Alkoholkonsum (Juan et al. 2004). Eine neue

Studie zeigte wiederum, dass das Niveau von A $\beta$ 40 und A $\beta$ 42 im Gehirn von Alzheimer-Patienten, die rauchen, niedriger ist, als bei nichtrauchenden Alzheimer-Patienten (Hellstrom-Lindahl et al. 2004).

### **Aluminium und Kupfer**

Nachdem im Zentrum der senilen Plaques hohe Konzentrationen von Aluminiumsilikat nachgewiesen wurden, kommt Aluminium als Auslöser für die toxisch bedingte AD in Frage (Mera 1991). Als Folge der Aluminiumintoxikation kommt es zu Veränderungen der Neurofibrillen. In manchen Untersuchungen wird die These vertreten, dass es einen Zusammenhang zwischen Aluminium und APP gibt (Edwardson et al. 1992). Die Konzentration an APP steigt bei Gabe von Aluminium in vitro an (Chong and Suh 1995). Eine weitere Studie zeigte, dass hohe Konzentration von Aluminium und geringe Magnesium- und Phosphor-konzentration im Gehirn der Alzheimerpatienten gefunden wurde (Andrasi et al. 2005).

Eine eventuelle Studie zeigte, dass Aluminium wie seine Interaktion mit Transferin keine Verbindung mit dem Risiko der AD hatte (Rondeau et al. 2006). In einer anderen neuen Tierstudie wurde gezeigt, dass Aluminium im Gegensatz zu Kupfer im Trinkwasser keine bedeutsame Wirkung auf A $\beta$  Ansammlung hatte (Sparks et al. 2006).

Die Ergebnisse einer Studie aus den USA und Kanada zeigen, dass ein Kupfermangel mit einer Erkrankung an der AD verbunden sein könnte. Es wird vermutet, dass ein Kupferdefizit dazu führt, dass durch die vermehrten gebildeten A $\beta$ -Peptide die schädlichen Amyloid-Plaques gebildet werden, welche wiederum die Hirnzellen zerstören (Phinney et al. 2003).

### **Blutdruck und Cholesterol**

Ein erhöhter Blutdruck und ein erhöhter Cholesterolwert im mittleren Lebensabschnitt erhöhen das Risiko im Alter an der AD zu erkranken. Wenn es in den Zellen einen erhöhten Cholesterolwert gibt, starten die Zellen ein Efflux-System, damit der Cholesterolwert normal bleibt. Im Gehirn entstehen mit Hilfe von Cytochrom-P450-Enzyme aus Cholesterol 24-S-Hydroxycholesterol. Durch das Cholestroefflux-System wird Apo-E im Gehirn induziert. Das führt dazu, dass mehr Amyloid im Gehirn abgelagert wird (Rebeck 2004).

## **Homocystein**

Einige Studien haben gezeigt, dass Homocystein mit einem erhöhten Demenzrisiko verbunden ist. Bei Mangel an den Vitaminen B6, B12 und an Folsäure steigt die Homocysteinkonzentration an. Bei hohen Homocysteinwerten sind die kognitiven Leistungen älterer Menschen beeinträchtigt. Es ist noch nicht genau geklärt, auf welche Weise Homocystein die Demenz beeinflusst (Seshadri et al. 2002; Quadri et al. 2004).

### **1.1.4 Therapie**

Die verschiedenen Ursachen bei der Entstehung und beim Fortschreiten der AD führen dazu, dass jeder Mensch andere Symptome zeigt, deshalb ist die Behandlung vielfältig. Die Krankheit ist nicht heilbar. Das heißt nicht, dass man die Krankheit nicht aufhalten oder die Symptome zumindest für einige Zeit lindern kann. Die Therapieziele bei der fortgeschrittenen AD lauten:

- Verbesserung der Selbständigkeit des Kranken bei den alltäglichen Verrichtungen
- Verbesserung bzw. Erhalt der geistigen Fähigkeiten
- Erleichterung der Pflege des Kranken.

Eine moderne Behandlung beruht im Wesentlichen auf zwei Säulen:

- ❖ der medikamentöse Therapie und
- ❖ der optimale Betreuung, um geistige Anregung und Geborgenheit zu bieten.

Die medikamentöse Behandlung kann in zwei Kategorien unterteilt werden:

- Medikamente, die das Voranschreiten der Krankheit verlangsamen und
- Medikamente, welche die begleitenden Schwierigkeiten behandeln.

### **Medikamente, die das Voranschreiten der Krankheit verlangsamen**

Die Arzneimittel, die heute für Demenzkranke zur Verfügung stehen, lassen sich in drei Gruppen einteilen:

- Wirksubstanzen, welche die Zerstörung von Nervenzellen durch Glutamate verhindern können [NMDA(N-Methyl-D-Aspartat)-Rezeptor-Antagonisten]
- Acetylcholinesterase-Hemmer
- Nootropika: Mittel zur Förderung der Hirndurchblutung.

### **NMDA-Rezeptor-Antagonisten**

Heute steht Memantine für die Behandlung der mittelschweren und schweren AD zur Verfügung. Die Substanz hemmt die schädlichen Auswirkungen von Glutamat an den Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) und kann dadurch die Nervenzellen und Neuronen vor der gefährlichen Überstimulation mit Glutamat schützen (Neuroprotektion).

Für die zumeist älteren Alzheimer-Patienten, die oft unter Krankheiten am Herzen, Bluthochdruck oder Rheuma leiden und deshalb viele andere Medikamente nehmen müssen, ist das ein wichtiger Aspekt. Memantine kann bei schwerer AD eine Besserung der Hirnfunktionen erreichen, und Alltagsfähigkeiten bleiben länger erhalten (Reisberg et al. 2003).

### **Acetylcholinesterase-Hemmer**

Wirkstoffe wie Donepezil, Rivastigmin, Targin und Galantamin verhindern, dass bereits gebildetes Acetylcholin im Gehirn schnell abgebaut wird. Sie blockieren das Enzym Acetylcholinesterase, dies bewirkt eine höhere Konzentration des Botenstoffs Acetylcholin und verbessert damit die Kommunikation der Nervenzellen. Daraus folgt eine Verlangsamung des geistigen Verfalls und unter Umständen eine Verringerung der Wahnvorstellungen. Die Acetylcholinesterase-Hemmer sind für die Behandlung von Patienten mit leichter bis mittelschwerer AD zugelassen. Da Acetylcholinesterase-Hemmer und Memantine unterschiedliche Wirkansätze haben, hofft man, mit einer Kombination beider Medikamente den Therapieerfolg verbessern zu können (Clegg et al. 2001).

### **Nootropika**

Diese dritte Gruppe von Arzneimitteln soll die Durchblutung des Gehirns verbessern und dafür sorgen, dass die Blutgefäße, die das Gehirn versorgen, durchgängig bleiben und auf diese Weise die Nervenzellen optimal ernährt werden. Aus dem Wirkmechanismus ergibt sich, dass diese Mittel vor allem beim Verdacht auf eine durch mangelnde Durchblutung bedingte Demenz sinnvoll sind.

Eine dieser Substanzgruppen ist seit längerer Zeit bekannt: die Mutterkornalkaloide mit Dihydroergotoxinmesylat (DEM) bzw. Hydergin als Vertreter.

Der Wirkmechanismus von DEM bei der AD ist unbekannt. Es wird angenommen, dass der Stoffwechsel von Gehirnzellen durch verstärkte Bildung von zyklischem Adenosin 3',5'-monophosphat (cAMP) verbessert wird. Außerdem wird die Durchblutung

verstärkt und die Sauerstoffversorgung verbessert (Burian E. 1974; Yesavage et al. 1979). Weiterhin wird vermutet, dass DEM den Stoffwechsel von Serotonin und Dopamin regulierend beeinflussen kann (Thienhaus et al. 1987).

Es wurde gezeigt, dass sich nach drei Monaten DEM-Therapie (3 mg- und 6 mg-Dosis) das Befinden der Patienten mit fortgeschrittener Verwirrung, Gedächtnisminderung, Desorientiertheit und aggressivem Verhalten bemerkenswert verbessert hat (weniger Verwirrung, vermehrte Motivation, kurzfristige Gedächtnisverbesserung) (Burian 1974; Yesavage et al. 1979). In einem anderen Fall wurden weitere Verbesserungen der Bewältigung des Alltagslebens bei einer Dosis von 3 mg DEM pro Tag registriert (Burian 1974). Andere Arzneimittel, die zur Gruppe der Nootropika gehören, sind Piracetam (Flicker and Grimley-Evans 2000), Nicergolen (Fioravant and Flicker 2001), Vinpocetin (Szatmari and Whitehouse 2003), Acetyl-L-Carnitin (Hudson and Tabet 2003) und Gingko-biloba-Extrakt (Andrieu et al. 2003).

## **Neue Ansätze in der Therapie**

### **Antioxidantien/ Radikalfänger**

Das Schutzsystem von Antioxidantien in den Zellen unterteilt sich in das enzymatische Schutzsystem (Superoxid-Dismutase) und das nicht enzymatische Schutzsystem (Glutathion (GSH), Vitamine A, C und E). Die antioxidative Aktivität von GSH hat großen Einfluss auf den Zellmetabolismus, speziell auf die DNA-Synthese und -Reparatur sowie auf den Metabolismus von Toxinen und Karzinogenen (Cerutti 1991). Freie Radikale sind durch oxidative Prozesse vermutlich an der Entwicklung verschiedener Krankheiten beteiligt. Dazu gehören beispielsweise Arteriosklerose, Krebs, Diabetes mellitus und Asthma. Antioxidanzien können oxidativen Prozessen vorbeugen und sie wirksam verringern (Willcox et al. 2004). Oxidative Schäden an den Lipidmembranen können wichtige Funktionen neuronaler Zellen stören. In der Folge entstehen mehr ( $\beta$ -Amyloid-) Ablagerungen, schließlich kommt es zum Zelltod. An der Entstehung von der AD sind unter andere aggressive freie Radikale beteiligt, deshalb können Antioxidantien gegen die AD helfen. Die Ergebnisse zweier großer Bevölkerungsstudien aus Rotterdam und Chicago unterstützen die Theorie, dass Antioxidantien die oxidativen Belastungen neuronaler Zellen senken können, indem sie die Anzahl aggressiver freier Radikale verringern (Engelhart et al. 2002; Morris et al. 2002).



## **Vitamin E**

Die regelmäßige Aufnahme von Vitamin E soll vor der Entstehung der AD schützen. Vitamin E kann die freien Radikale zerstören, die zu Zellschäden führen. Sano et al. zeigten, dass die Aufnahme von 2 000 IE Vitamin E (Tocopherol) täglich das Fortschreiten der AD um 6.5 Monate bremst (Sano et al. 1997). Dagegen konnten Mishra et al. keine Beweise finden, dass Vitamin E bei der Behandlung erfolgreich ist (Mishra et al. 2003).

## **Neue Ansätze zur Phytotherapie**

In den letzten Jahren wurden viele Studien durchgeführt, die sich mit den positiven Effekten von einigen pflanzlichen Stoffen zur AD-Therapie beschäftigt haben.

Zu diesen Naturstoffen gehören Grüntee-Extrakt, Flavonoide und Ginkgo-Biloba-Extrakt.

### **Grüntee-Extrakt**

Tee ist das am häufigsten konsumierte Getränk weltweit. Grüner Tee wird aus den jungen, frischen Blättern der Teepflanze (*Camellia sinensis* L.) gewonnen, die zunächst mit Wasserdampf erhitzt, dann gerollt und bei hohen Temperaturen getrocknet werden. Grüner Tee gilt seit mehr als 4000 Jahren als Gesundheitstrank mit erstaunlicher Einsatzvielfalt. Viele Studien wurden durchgeführt um seine heilkräftigen Wirkungen zu beschreiben (Weisburger 1999). Grüner Tee enthält Polyphenole, Carotinoide, Flavonoide, Saponine, ätherische Öle, Coffein, die Aminosäure L-Theanin, Antioxidantien (z. B. die Vitamine A, B2, B12, C und E) und viele Mineralien wie Aluminium, Calcium, Eisen, Fluor, Kalium, Magnesium, Natrium, Spurenelemente und Phosphor (Yamamoto 1997). Grüner Tee enthält zwei Arten von Polyphenolen: Catechine und Gallate (Abb. 5). Die Epigallocatechingallate wirken auf das Tumorstadium hemmend (Fujiki 1999). Grüner Tee kann als Diuretikum wirken. Catechin, welches im grünen Tee vorkommt, kann den Anstieg von Cholesterol im Blut vermindern (Osada et al. 2001).

Catechin kann auch die Aktivität des Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) inhibieren, hierdurch kontrolliert es den erhöhten Blutdruck (Hara et al. 1987). Eine experimentelle Tierversuchsstudie zeigte, dass grüner Tee den Blutzucker senken kann (Shimizu et al. 1988). Grüner Tee wirkt als Entzündungshemmer (Haqqi et al. 1999) und als Antioxidans durch den Anstieg der GSH-Konzentration (Benzie et al. 1999). Es wurde belegt, dass Grüntee als Antioxidans 20-mal stärker als Vitamin E wirkt.

Dadurch soll er den Alterungsprozess inhibieren (Okuda et al. 1983). Es wurde vermutet, dass das regelmäßige Trinken von Grüntee vor der AD schützen kann. Es wird aufgezeigt, dass Grüntee die Acetylcholinesterase inhibieren kann (Okello et al. 2004). Acetylcholinesterase-Hemmer sind für die Behandlung der AD zugelassen, deshalb besitzt Grüntee für die Behandlung eventuell eine Bedeutung.

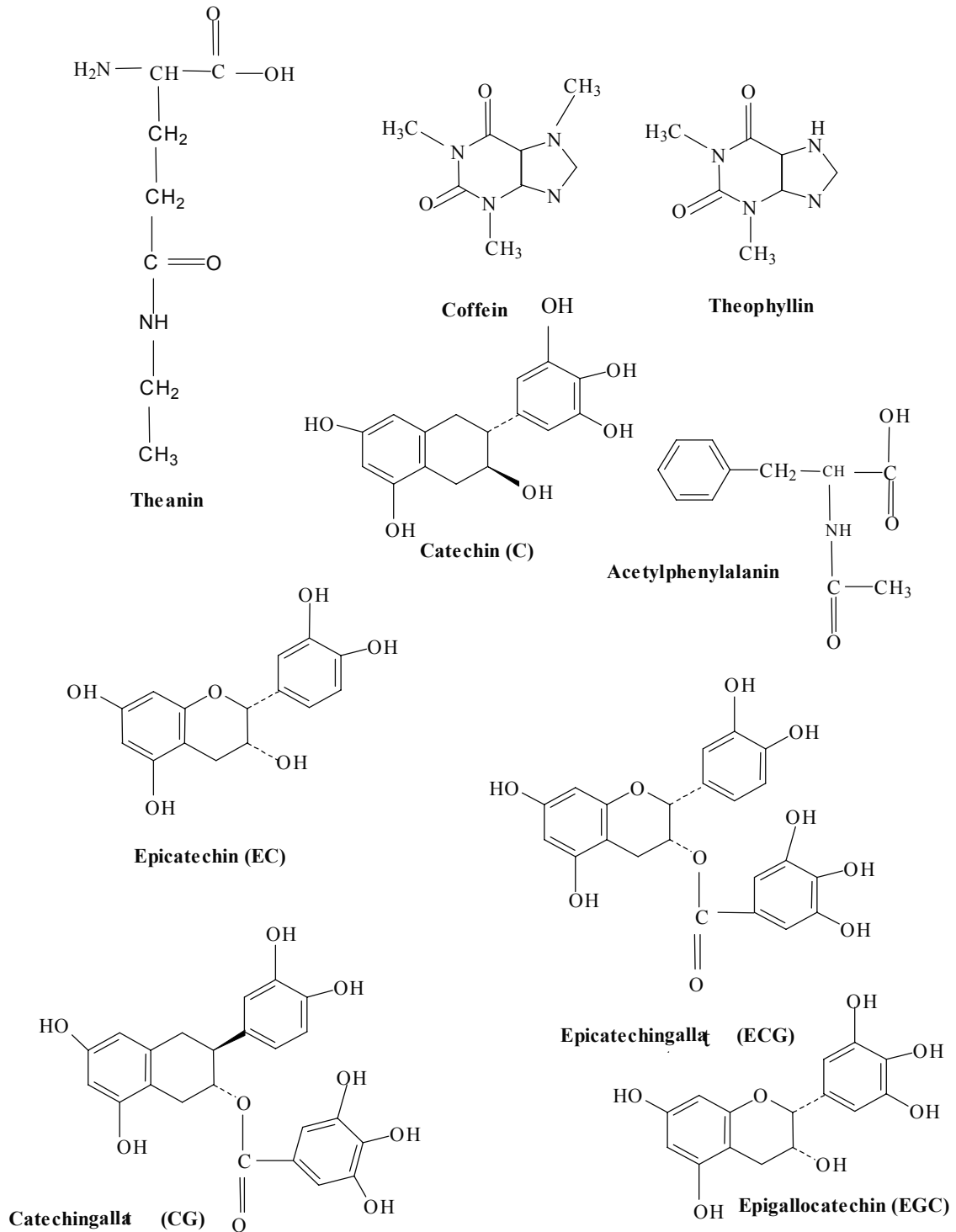


Abbildung 5: Chemische Struktur der Inhaltsstoffe aus *Camellia sinensis* L.

## **Flavonoide**

Flavonoide und Biflavonoide bilden eine häufig vorkommende Gruppe von Polyphenolen, die sich in den Blättern, in den Samen, in der Fruchthaut oder -schale, in der Rinde und in den Blüten konzentrieren. Viele Flavonoide haben antibakterielle, entzündungshemmende, antiallergische, antimutagene, antivirale, antineoplastische, antithrombotische und vasodilatatorische Eigenschaften (Knekt et al. 2002).

In einer Reihe von Studien wird gezeigt, dass Flavonoide starke Antioxidantien sind. Sie können die Hydroxyradikale, Superoxidanionen und die Lipidperoxyradikale inaktivieren (Schmitt-Schillig et al. 2005).

Die Flavonoide können freie Radikale unschädlich machen, die im Körper die Entstehung und die Entwicklung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebs, Entzündungen, Arthritis und AD begünstigen können (Hertog et al. 1995).

## **Ginkgo-biloba-Extrakt**

Ginkgo-biloba-Extrakt (EGb 761<sup>®</sup>) wird aus den Blättern von *Ginkgo biloba* L. gewonnen. Es enthält Substanzen, die positive Wirkungen auf Zellen des Gehirns haben. EGb 761<sup>®</sup> enthält zwei Anteile: Der Flavon-Anteil enthält Quercetin, Kampferol und Isorhamnetin. Der Anteil ohne Flavon enthält Bilobalid und Ginkgolide A, B, C und J (Abb. 6) (DeFeudis 1998). EGb 761<sup>®</sup> enthält auch Biflavonoiden wie, Amentoflavon, Bilobetin und Ginkgetin.

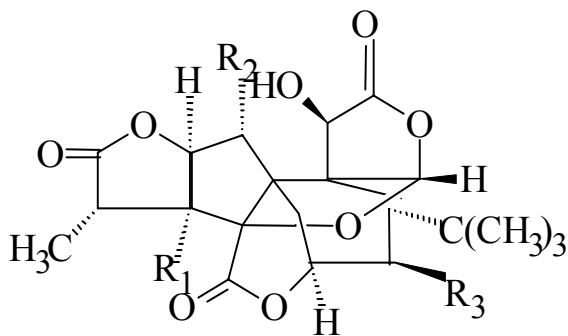
Zahlreiche Studien zeigten, dass Ginkgo-biloba-Extrakt EGb 761<sup>®</sup> die Neurone schützen kann. Es wird belegt, dass die Aufnahme von EGb 761<sup>®</sup> oder Bilobalid vor Ischämie schützt, die zum Neuronentod führt (Chandrasekaran et al. 2001). Ginkgo biloba hat auch einen Effekt als Antioxidans (McKenna et al. 2001).

Während der letzten 25 Jahre bestätigten zahlreiche Studien die positive Wirkung des Ginkgospezialextrakts EGb 761<sup>®</sup> auf die mentale Kompetenz und die emotionale Befindlichkeit von Patienten mit kognitiven Störungen vaskulärer Ursache und Demenz vom Alzheimer-Typ.

Eine Studie zeigte einen deutlich positiven Effekt des Ginkgo-biloba-Extrakts EGb 761<sup>®</sup> auf die subjektive emotionale Befindlichkeit gesunder älterer Menschen (Gieza et al. 2003). Der Ginkgoextrakt (EGb 761<sup>®</sup>) und Ginkgolid B können Neurone vor der Toxizität von Glutamat durch Reduktion des Anstiegs von intrazellulären Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) schützen (Zhu et al. 1997).

Eine weitere Studie belegt, dass Ginkgo-biloba-Extrakt (EGb 761<sup>®</sup>) bei Alzheimer-Patienten wirkt. Der Anteil von EGb 761<sup>®</sup> ohne Flavone besitzt Neuronenschutz und Antiapoptose-Effekte, speziell das Bilobalid (Ahlemeyer and Krieglstein 2003).

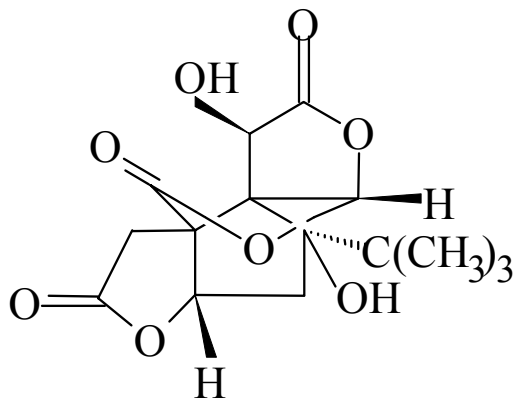
EGb 761<sup>®</sup> schützt die Neurone vor oxidativem Stress, der durch Hydroperoxide (Oyama et al. 1996), Apolipoprotein E (Schindowski et al. 2001) und A $\beta$ -Peptide (Zhou et al. 2000) induziert wird.



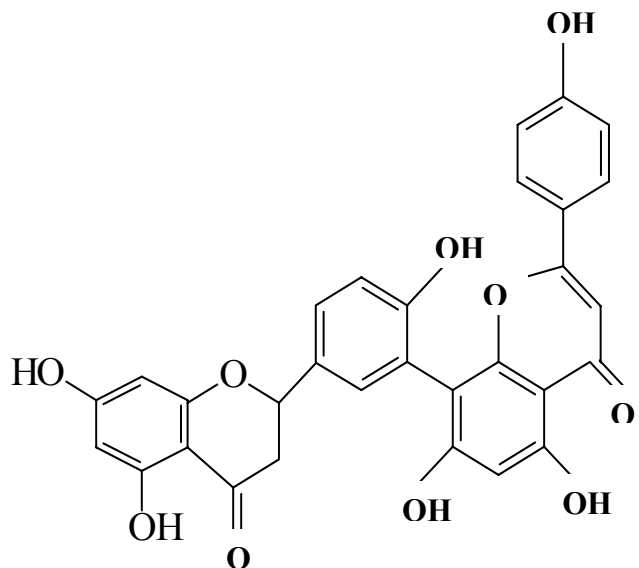
**Ginkgolid A (GA):**  $R_1 = \text{OH}, R_2 = R_3 = \text{H}$

**Ginkgolid B (GB):**  $R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$

**Ginkgolid C (GC):**  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$



**Bilobalid**



**Amentoflavon**

Abbildung 6: Chemische Struktur der Inhaltsstoffe aus *Ginkgo biloba* L.

## **Weitere Ansätze**

### **Nichtsteroidale Antirheumatika (NSARs)**

Mehrere Studien wiesen nach, dass Personen, die längere Zeit entzündungshemmende Medikamente einnahmen, ein niedrigeres Alzheimerisiko haben. Zurzeit laufen mehrere Interventionsstudien mit entzündungshemmenden Substanzen. Bis zum Vorliegen der Ergebnisse dieser kontrollierten Studien kann allein aufgrund von Resultaten epidemiologischer Studien die Einnahme von Entzündungshemmern jedoch nicht empfohlen werden. Einige Studien lassen verrufen, dass NSARs gegen die AD helfen könnten. NSARs können den Entzündungsprozess bremsen, deshalb könnten sie vor der Toxizität der Amyloid-Plaques schützen. Vorläufige Studien ergeben, dass eine dauerhafte Aufnahme von NSARs im Lauf des Lebens offenbar dazu beitragen kann, die Risiken an der AD zu erkranken, zu senken (In t’Veld et al. 2001; Szekely et al. 2004).

### **Chemotherapeutika**

Ein Chemotherapeutikum scheint im Kampf gegen die AD zu helfen. Clioquinol bremst den Krankheitsverlauf und reduziert das Ausgangsmaterial für die Eiweißablagerungen. In Studien mit APP-Mäusen, die mit Clioquinol behandelt wurden, war eine Abnahme der Plaquedichte um 25 % zu messen, eine Verminderung von unlöslichem A $\beta$  um 49 % und ein Anstieg an löslichem A $\beta$  um etwa 50 %. In den APP-Mäusen wurde das APP durch eine Überexpressions-Mutation (Lys670  $\rightarrow$  Asn, Met671  $\rightarrow$  Leu) umgestaltet. Diese Veränderung führte dazu, dass das normale Lernen, das Gedächtnis und die Erinnerung ab 9 bis 10 Monaten von Alter behindert wurde.

Ein Anstieg an Cu und Zn ist im Hirngewebe der behandelten Mäuse zu messen. Clioquinol kann so den Cu-Gehalt im Gehirn erhöhen und damit ähnliche Effekte erreichen wie ein Kupferzusatz im Trinkwasser (Cherny et al. 2001).

### **B-Vitamine und Folsäure**

Bei einem Mangel an B-Vitaminen ist Homocystein deutlich erhöht (Seshadri et al. 2002; Quadri et al. 2004). Hohe Homocysteinwerte lassen sich wirksam und kostengünstig durch die Gabe der Vitamine B6, B12 und Folsäure senken. In einer placebo-kontrollierten Studie konnte die tägliche Einnahme von Vitaminpräparaten den Gehalt von Homocystein im Blut im Lauf von wenigen Wochen um fast die Hälfte senken. B-Vitamine können Demenz-Erkrankungen vorbeugen. Eine Tierstudie zeigte,

dass Folsäure eine wichtige Rolle spielt. Folsäure schützt das Gehirn vor der AD und ist vermutlich an der Reparatur von DNA-Schäden beteiligt (Kruman et al. 2002).

### **Kupfergaben**

Durch Studien verstärkten sich die Hinweise, dass Kupfergaben bei der Therapie helfen könnten. Tierstudien ergaben, dass die Bildung schädlicher Ablagerungen im Gehirn durch Kupfergaben verringert werden kann (Phinney et al. 2003).

### **Omega-3-Fettsäuren**

Fisch und Meeresfrüchte enthalten mehrfach ungesättigte Fettsäuren, speziell Omega-3-Fettsäuren. Omega-3-Fettsäuren können entzündliche Prozesse im Gehirn verringern und spielen eine Rolle bei der Entwicklung und Regeneration von Nervenzellen. Omega-3-Fettsäuren, die in Fischen vorhanden sind, hemmen den oxidativen Stress. Es gibt Hinweise darauf, dass Omega-3-Fettsäuren das Risiko einer AD-Erkrankung senken. Senioren, die durchschnittlich einmal pro Woche Fisch essen, hatten ein deutlich geringeres Risiko zu erkranken, als solche, die kaum oder keinen Fisch zu sich nahmen (Barberger-Garteau et al. 2002).

### **Inhibitoren von „Advanced Glycation Endproducts“**

An Proteine gebundener Zucker, die so genannten „Advanced Glycation Endproducts“ (AGEs), lagern sich verstärkt im Gehirn von Alzheimer-Patienten ab und vernetzen sich untereinander. Die Vernetzung der AGEs im Gehirn kann durch eine neue Substanzklasse, die „AGE-Inhibitoren“, verhindert werden. AGEs aktivieren Signalkaskaden in den Zellen des Gehirns, insbesondere die Immunzellen des Gehirns (Gliazellen). Die bilden daraufhin Botenstoffe und schütten freie Radikale aus, diese den schädlichen Effekt der Amyloid-Plaques verstärken (Munch et al. 1997; 2003).

### **Impfstoffe**

Eine Tierversuchsstudie hatte mit Impfstoffe gegen Amyloidpeptide gute Ergebnisse gezeigt. Sie gründet sich auf aktive oder passive Immunisierung und die Entfernung von A $\beta$  mit Antikörpern. Es gibt neue Hinweise darauf, dass eine abgeänderte Version eines Alzheimerimpfstoffes sich möglicherweise neu für einen klinischen Einsatz qualifizieren könnte. Die Impfung zielt darauf ab, dass sich das Immunsystem des Betroffenen gegen das A $\beta$  im Gehirn richtet. Im Rahmen der Studie wurde den Patienten A $\beta$  injiziert, um die Bildung von Antikörpern anzuregen, welche sich an den

Plaques anlagern und diese für den Angriff von körpereigenen Immunzellen zu markieren. Der Impfstoff hat im Rahmen der klinischen Tests an 372 Patienten im Januar 2002 bei einigen Personen eine lebensbedrohliche Gehirnentzündung ausgelöst, woraufhin die Studie unverzüglich abgebrochen wurde. Es ließ sich herausfinden, dass die Impfung bei zwei Dritteln der Untersuchten möglicherweise Erfolge gezeigt hat. Allzu große Hoffnungen sind verfrüht, da eine weitere Entwicklung des Impfstoffes erst dann vielversprechend wäre, wenn die Ursachen der bei einigen Patienten aufgetretenen gefährlichen Entzündung restlos geklärt werden. Ein möglicher Weg zu einem klinisch einsetzbaren Wirkstoff zu kommen, ist die Entfernung jener Abschnitte des Impfstoffes, welche für die Antikörperbildung zuständig sind. Alternativ dazu ist eine Passivimpfung möglich, bei der den Patienten fertige Antikörper injiziert werden (Schenk et al. 1999; DeMattos et al. 2001).

## 1.2 Neutrale Endopeptidase und Abbau von Amyloid-Plaques

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Naturstoffen hauptsächlich auf die Aktivität der Metallo-Protease Neutrale Endopeptidase (NEP, EC 3.4.24.11) untersucht. Weiterhin wurde der Effekt von ausgewählten Naturstoffen, welche die Aktivität der NEP beeinflussten, auch auf die Aktivität der Peptidyl-Dipeptidase Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE, EC 3.4.15.1) untersucht, um herauszufinden, ob diese Substanzen die Aktivität der NEP spezifisch beeinflussten.

Trotz verschiedener EC-Klassifizierung besitzen die beiden Enzyme große Ähnlichkeit im Aufbau des aktiven Zentrums. Nach Art der zinkbindenden Liganden (hier His, His, Glu), deren Anordnung in der Aminosäuresequenz sowie der Beteiligung weiterer Aminosäuren (hier Glu) an der Katalyse, werden die beiden Enzyme der Familie „Gluzincins“ zugeordnet (Hooper 1994).

Bei der Entwicklung von Enzyminhibitoren wurden Substanzen synthetisiert, die als „mixed inhibitors“ mehrere Metallopeptidasen in ihrer Aktivität hemmen. Als Beispiele seien für NEP-ACE-Inhibitoren Mixanpril und Omapatrilat aufgeführt (Beaumont et al. 1996; Trippodo et al. 1998).

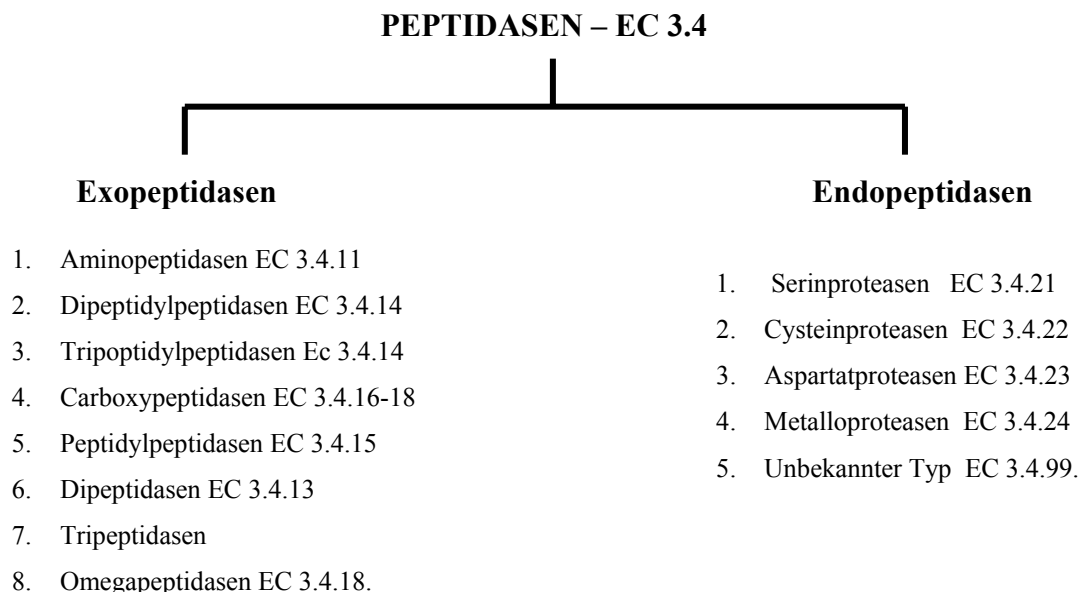
Eine weitere Gemeinsamkeit der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Enzyme ist ihre Lokalisation in bzw. an der Zelle. Als Ektoenzyme sind sie an der Außenseite der Zellmembran lokalisiert. Neben einem kurzen intrazellulären Bereich und einer Trans-Membran-Region ragt der Hauptteil, einschließlich des aktiven Zentrums, in den Extrazellulärraum hinein (Vlahovic und Stefanovic 1998; Konkoy und Davis 1996).

Enzyme stellen eine große Proteingruppe im menschlichen Organismus dar. Sie sind an der Synthese aller körpereigenen Moleküle beteiligt und auch für deren Modifikation und Abbau vorwiegend zuständig. Von den enzymatischen Abbauvorgängen sind die proteolytischen Prozesse von zentraler Bedeutung für essentielle Lebensfunktionen. Sie bewirken nicht nur den Proteinabbau in Zellen und Körperflüssigkeiten (katabole Funktion), sondern sind auch für die Regulation verschiedenster biologischer Prozesse unentbehrlich (anabole Funktion). So werden viele Peptide/Proteine zunächst als inaktive Vorstufen synthetisiert und erst unter geeigneten Bedingungen durch eine gezielte limitierte Proteolyse aktiviert.

Enzyme, die Peptidbindungen spalten können, Peptidasen bzw. Proteasen, bilden innerhalb der Hydrolasen die Untergruppe 3.4 Nach ihrem Angriffspunkt im



Substratmolekül werden die proteolytischen Enzyme weiter in Endo- und Exopeptidasen unterteilt (Abb. 7).



**Abbildung 7: Klassifikation der Hydrolasen der Untergruppe 3.4 (Peptidasen; modifiziert nach McDonald, 1986).**

Neben dieser EC-Klassifikation existieren noch weitere Klassifikationen, die auf der cDNA-Sequenz der Peptidasen, ihren Strukturdaten oder auf den im aktiven Zentrum befindlichen Aminosäuren basieren (Rawlings and Barrett 1993). Entsprechend dieser Ordnung werden Peptidasen erst nach ihrem katalytischen Typ und dann in Familien von evolutionär eng verwandaten Enzymen unterteilt:

1. Serintyp - 22 Familien (S1-S22)
2. Cysteintyp - 14 Familien (C1-C14)
3. Aspartattyp - 2 Familien (A1-A2)
4. Metallotyp - 25 Familien (M1-M25)
5. Unbekannter Reaktionstyp - 21 Familien (U1-U21).

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Beziehung der NEP zur AD. Die NEP ist ein im Säugetierorganismus weit verbreitetes Enzym. Sie beeinflusst eine Vielzahl von physiologischen/ pathophysiologischen Prozessen, indem sie endogene Mediatoren mit Peptidstruktur hydrolysiert. Sie ist in vivo für die Spaltung einer Vielzahl von Peptidhormonen bzw. –neurotransmittern verantwortlich, die oft aus nicht mehr als 10 bis 15 Aminosäuren bestehen, z. B. Met-Enkephalin, Leu-Enkephalin, Substanz P oder Bradykinin. Allerdings sind auch größere Substrate der NEP bekannt, z. B. das Atriale Natriuretische Peptid (ANP, 28 Aminosäuren) oder das Neuropeptid Y (NPY, 36

Aminosäuren), darüber hinaus auch Peptide, die weder Neurotransmitter sind, noch Hormoncharakter haben, wie das AD-Peptid  $\beta$ -Amyloid (42 Aminosäuren).

### **1.2.1 Definition, Funktion und physiologische Bedeutung der NEP**

Die neutrale Endopeptidase (NEP, EC 3.4.24.11, weitere Synonyme Neprilysin, CD10, CALLA, Enkephalinase, Nullendopeptidase) ist eine Metallopeptidase, die für ihre Katalysefunktion Metal-Ionen (in der Regel Zink) als Cofaktor benötigt. Das Kation wird durch Chelatstrukturen an das Protein gebunden, das Substrat und ein Wassermolekül bilden weitere Liganden. Durch die Eigenschaft des Zentralatoms des Chelatkomplexes als Lewisäure wird das Substrat polarisiert, d. h., der Carbonylsauerstoff wird elektrophil. Das Wassermolekül wird ebenfalls durch die Wechselwirkung mit dem Metall-Ion aktiviert und es reagiert nukleophil. Das Ergebnis der Reaktion zwischen elektrophilem und nukleophilem Partner ist die hydrolytische Spaltung einer Peptidbindung des Substrates (Schellenberger 1989; Hooper 1996).

Die NEP wurde zuerst als eine unbekannte Aktivität in der Bürstensaummembran von Rattennieren beschrieben. Präparationen daraus hydrolysierten *in vitro* bei neutralem pH-Wert die B-Kette des Insulins (Wong-Leung and Kenny 1968), deshalb wurde das Enzym „kidney brush border“ neutrale Proteinase genannt. 1974 wurde die NEP aus Rattennieren homogen isoliert und als Metallopeptidase erkannt. Sie katalysiert vorzugsweise die Spaltung an der Aminogruppe der hydrophoben Überreste der B-Kette des Insulins (Kerr and Kenny 1974). NEP macht ungefähr 4 % der Proteinmasse der Bürstensaummembran der Niere aus. Das Enzym wurde 1987 kloniert und sequenziert (Devault et al. 1987). Hierbei wurde die Identität mit dem Leukozyten-Oberflächenantigen „common acute lymphoblastic leukemia antigen“ (CALLA oder CD 10) erkannt (Letarte et al. 1988). Der Name Neprilysin wurde von der IUBMB wegen der vielfältigen Bezeichnungen für diese Peptidase vorgeschlagen.

Die NEP wird bei der EC-Klassifizierung der Enzymnummer 3.4.24.11 zugeordnet (Teuscher 1997). Die Molmasse der NEP variiert in den verschiedenen Geweben von ca. 85 bis 100 kDa, abhängig vom Ausmaß der Glykosylierung an fünf bis sechs Glykosylierungsstellen. Mindestens vier Disulfidbrücken innerhalb des Proteins sind wichtig für die Aufrechterhaltung von Struktur und Aktivität (Tam et al. 1985). Insgesamt sind zwölf Cysteine im Molekül enthalten, von denen zehn innerhalb der gesamten M13-Familie der Metallopeptidasen konserviert sind. Die NEP als integrales Membranprotein vom Typ II ist in der Plasmamembran verankert mit Orientierung des

Aminoterminus zum Zellinneren und des Carboxyterminus zum Extrazellularraum. Der größte Teil des Moleküls inklusive des katalytischen Zentrums befindet sich im Extrazellularraum, weshalb auch von einem Ektoenzym gesprochen wird. In den meisten Spezies existiert die NEP als nichtkovalent assoziiertes Homodimer (Fulcher and Kenny 1983). Im Zentralnervensystem (ZNS) ist die NEP meist auf axonalen Membranen und in der perisynaptischen Region der Neurone prä- und postsynaptisch lokalisiert, oft in räumlicher Nähe mit dem Produktionsort ihrer Substrate oder mit deren Rezeptoren. Deshalb wird die NEP im ZNS auch als „Cholinesterase der peptidergen Synapsen“ bezeichnet (Turner et al. 2003). Die NEP wurde in hoher Konzentration im Striatum, im olfaktorischen Tuberkel, in der Substantia Nigra, im Choroidplexus, im endopeduncularem Kern, sowie im Kleinhirn gefunden. NEP existiert in löslicher Form im menschlichen Plasma und in der Zerebrospinalflüssigkeit. Im Zentralnervensystem (ZNS) trägt NEP als synaptische Peptidase zum Abbau der opioiden Peptide bei, weshalb die NEP auch die Bezeichnung Enkephalinase erhielt (Roques et al. 1980). Die NEP ist eine typische Zink-Metallopeptidase, die das kationische HeXXH-Zink-bindende Motiv sowie eine konservierte Übereinstimmung der Reihenfolge EXXA/GD besitzt, in der Glutamat als dritter Zinkligand dient. Das Enzym ist als „gluzincin“ der M13 Peptidase Familie kategorisiert (Barrett et al. 1998). Die NEP besteht aus einer 23-Aminosäuren enthaltenen N-terminalen zytoplasmatischen Domäne, einer 28-Aminosäurenmembran überspannenden Domäne und einer ungefähr 700-Aminosäuren umfassenden extrazellulären Domäne. Letztere enthält das aktive Zentrum. Die NEP spaltet Oligopeptide auf der N-terminalen Seite von hydrophoben Aminosäuren (Phe, Met, Leu). Als Substrate für NEP dienen das atrial-natriuretische-Peptid (ANP), Enkephaline, Endorphine, Substanz P und Bradykinin (Kenny 1988; Turner et al. 2001).

Das Enzym wird hauptsächlich durch EDTA, Phosphoramidon und Thiorphan gehemmt und wird durch Zink reaktiviert (Abb. 8). NEP-Inhibitoren erzeugen durch eine Halbwertszeitverlängerung der endogenen Opioiden oder vasoaktiven Peptide eine physiologische Analgesie und/oder Blutdrucksenkung (Chipkin et al. 1985; Roques and Beaumont 1990; Chen et al. 1998; Robl et al. 1997).



Abbildung 8: Die Struktur von Neprilysin mit Phosphoramidon (<http://www.biochem.ucl.ac.uk>).

Das Gen für die NEP existiert in einer einzelnen Kopie. Es umspannt mehr als 80 kb, besteht aus 24 Exons und ist innerhalb der Säugetiere hochkonserviert (D'Adamio et al. 1989). Das Gen wurde 1989 auf die chromosomale Region 3q21-q27 lokalisiert (Barker et al. 1989). Neuere Untersuchungen haben die Region auf 3q25.1-25.2 eingegrenzt (GeneCards 2004). Die Klonierung der cDNA ergab bei den untersuchten Säugerspezies relativ einheitliche Moleküllängen: 750 Aminosäuren beim Kaninchen (Devault et al. 1987), 742 Aminosäuren bei der Ratte (Malfroy et al. 1987) und 752 Aminosäuren für die menschliche NEP (Malfroy et al. 1988).

NEP ist ein weit verbreitetes, wenn auch nicht ubiquitär vorkommendes Enzym auf der Oberfläche von Säugetierzellen. Die bei weitem höchste Aktivität weist die NEP in der Bürstensaummembran der proximalen Tubuli und Glomeruli der Niere auf. Im Lunge, Darm, Plazenta, Prostata und dem Plexus chorioides des Auges konnten ebenfalls höhere NEP-Aktivität nachgewiesen werden. In vielen weiteren Geweben und Zellarten, wie z. B. im Gehirn, den Ovarien, im Fettgewebe oder im Pankreas, tritt sie mit geringeren Aktivitäten in Erscheinung, kann dort aber ebenso wichtige Aufgaben erfüllen. Im Blut und im Seminalplasma kommt die NEP in einer löslichen Form vor. Vermutlich wird sie hier durch unspezifische Abschilferungsprozesse oder in Analogie

zum Angiotensin-Konversionsenzym (ACE) durch Sekretasen von den Zellmembranen der Blutgefäße bzw. der Leydig-Zellen in den Testes enzymatisch abgelöst (Soleilhac et al. 1996). Die besonders hohe Aktivität der NEP in der Niere und der Lunge versetzt das Enzym in die Lage, wichtige blutdruckregulierende Peptide wie ANP und den stärksten bekannten Vasokonstriktor, Endothelin-1, aus dem Blutkreislauf abzufangen und zu inaktivieren (Kenny et al. 1988; Yamaguchi et al. 1992). Hierbei zeigt sich das oftmals ambivalente Verhalten der NEP, da das ANP erheblich zur Natriuresis und damit zur Senkung des Blutdrucks beiträgt, wohingegen Endothelin-1 durch Verengung der Gefäße blutdrucksteigernd wirkt. Außerdem bewirkt das Enzym die Umsetzung von Angiotensin II zum vasodilatatorischen und kardioprotektiven Angiotensin (1-7) und entzieht damit dem Blutkreislauf das vasokonstriktorische Angiotensin II. Aus solchen in vitro oder in einfachen physiologischen Abbaubersuchen gewonnenen Erkenntnissen lässt sich nur bedingt die physiologische Hauptwirkung bei der Hemmung des Enzyms vorhersagen. Der therapeutische Nutzen von NEP-Inhibitoren in der Bluthochdruck-Therapie wurde allerdings deutlich durch kombinierte Inhibitoren, so genannte Vasopeptidase-Hemmer, übertroffen (d'Uscio et al. 2001).

Eine weitere wichtige Funktion übt die NEP beim Metabolismus chemotaktischer und proinflammatorischer Peptide aus, was z. B. bei Entzündungsprozessen der Lunge eine Rolle spielt, bei denen die Aktivität der NEP deutlich reduziert ist (Shipp et al. 1991a).

Kürzlich ist NEP als ein wichtiges extrazelluläres Enzym im Gehirn identifiziert worden, dass A $\beta$  abbauen kann (Shirohane et al. 2001). Wegen dieser Rolle bei der AD steht die NEP in den letzten Jahren im Mittelpunkt des Interesses vieler Peptidase-Forscher.

NEP spielt auch eine wichtige Rolle bei verschiedenen Krebserkrankungen. Es wird vermutet, dass die Hemmung von NEP in der Lunge durch Zigarettenrauch mit der Entwicklung des kleinzelligen Lungenkarzinoms in Verbindung gebracht werden kann (Shipp et al. 1991). Die Aktivität der NEP wird auch bei bestimmten Formen von Prostatakrebs gehemmt. Diese Hemmung bewirkt, dass die Androgen-unempfindliche Tumorprogression von mitogenen Peptiden gefördert wird (Papandreou et al. 1998).

Eine verstärkte NEP-Expression kann zur Apoptose in Prostatakarzinomzellen und in Jurkat-T-Zellen gebunden an der Proteinkinase C (PKC) führen (Mari et al. 1997; Sumitomo et al. 2000). Auch in der Plazenta befindet sich NEP.

NEP könnte weiter eine physiologische Rolle in der Erhaltung der Schwangerschaft durch Verminderung von spezifischen bioaktiven Peptiden, wie dem Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH), spielen (Mizutani et al. 1995; Ino et al. 2000).

### **1.2.2 Abbau von Amyloid-Plaques**

Der Grad der A $\beta$ -Akkumulation ist von seiner Produktion und von seinem Abbau abhängig. Bei jungen und gesunden Menschen erfolgt die Degradation von A $\beta$  schnell. Sie geschieht, bevor A $\beta$  im Gehirn abgelagert werden kann. Ein Ungleichgewicht zwischen Produktion und Abbau von A $\beta$  ist für die Degeneration der Neurone und so für die Entwicklung der AD verantwortlich (Glabbe 2000). Obwohl beträchtliche Aufmerksamkeit auf das Verständnis der Enzyme und ihrer Prozesse gerichtet worden ist, die an der Bildung von A $\beta$  beteiligt sind, fehlen immer noch Kenntnisse hinsichtlich der Prozesse, durch die A $\beta$  normalerweise entfernt und abgebaut wird. Eine Stimulation des Abbaus von A $\beta$  soll dazu führen, dass die Ablagerung von A $\beta$  vermindert wird. Der Abbau von A $\beta$  kann in der Form des Transports des A $\beta$ -Peptids in der Zerebrospinalflüssigkeit (periphere Clearance), durch Bindung an die Proteine, die das A $\beta$  in einer nichtaktiven Form sequestrieren oder durch direkten enzymatischen Abbau geschehen. Die Stimulation von Proteasen, die A $\beta$  degradieren, gilt als neuer therapeutischer Ansatz um Ablagerungen von A $\beta$  zu verhindern und damit zur Behandlung der AD (Leissring et al. 2003). Neue Berichte zeigten eine wichtige Rolle für das Insulin-abbauende-Enzym (IDE) im Abbau von A $\beta$ . IDE kann A $\beta$  und APP abbauen. IDE-Mangel führte zu einer mehr als 50%-igen Abnahme im Abbau des A $\beta$ -Peptids in Membran-Fractionen des Gehirns und in primären neuronalen Zellkulturen (Farris et al. 2003). Auch Plasmin kann das A $\beta$ -Peptid abbauen (Iwata et al. 2000; Tucker et al. 2002; Iwata et al. 2001, Exley and Korchazhkina 2001; Ledesma et al. 2000). Das Angiotensin Converting Enzyme (ACE; EC 3.4.15.1) kann die Aggregation, die Ablagerung und die Zytotoxizität von A $\beta$  durch Abbau von A $\beta$  (1-40) an Asp7-Ser8 in vitro hemmen (Hu et al. 2001).

Auch Matrix Metalloproteinase-9 (EC 3.4.24.15) und der  $\alpha$ -2-Macroglobulin-Komplex können das A $\beta$ -Peptid abbauen (Yamin et al. 1999; Qiu et al. 1996).

In verschiedenen Zell- und in vitro-Modellen wurde gezeigt, dass ECE-1 (Endothelin Converting Enzyme-1) and ECE-2 (Endothelin Converting Enzyme-2) intrazellulär die

A $\beta$ -Peptide abbauen können. ECE-1 and ECE-2 begrenzen damit die Akkumulation von A $\beta$  im Gehirn (Eckman et al. 2003).

### **1.2.3 Bedeutung der NEP für den Abbau der Amyloid-Plaques**

In der Literatur wurde über den Einfluss von NEP auf die  $\beta$ -Amyloid-Konzentration im Gehirn von Knock-out-Mäusen berichtet, da NEP A $\beta$  in vivo abbauen kann (Iwata et al. 2001; Selkoe 2001b; Marr et al. 2003; 2004). Die wichtige Rolle von NEP für den Abbau des A $\beta$ -Peptids wurde durch Infusion des Metalloprotease-Inhibitors Thiorphan in den Hippocampus von Ratten gezeigt. Diese Infusion zeigte einen eingeschränkten A $\beta$ -Abbau durch Hemmung von Neprilysin (Iwata et al. 2000). Es ist auch wichtig festzustellen, dass die Wirkung von NEP in vivo im Gehirn für A $\beta$  selektiv ist. Denn ein Mangel an NEP im ZNS erhöht nicht die Konzentration solcher Neprilysinsubstrate, wie Enkephalin, Cholecystokinin, Neuropeptide Y und Substanz P. Folglich sind andere Mechanismen für den Abbau dieser Peptide verantwortlich (Saria et al. 1997). Die NEP-Konzentration ist vor allem in den Bereichen gering, in denen sich die Amyloid-Plaques befinden (Akiyama et al. 2001; Reilly 2001; Yasojima et al. 2001a; b). Es wurde weiterhin gezeigt, dass nur die Hemmung von NEP, aber von keiner anderen Peptidase dazu führte, dass die Konzentration von A $\beta$  im Gehirn erhöht wurde (Iwata et al. 2000; 2001; Marr et al. 2004). Die verstärkte Gen-Expression von NEP verringert dagegen die A $\beta$ -Konzentrationen in vitro. Es wurde untersucht, ob sich NEP als mögliches therapeutisches Target nutzen lässt, um die Ablagerung von A $\beta$  im Gehirn zu verhindern. Die Gabe von NEP-exprimierenden Lentiviren in den Hippocampus von transgenen Mäusen führt zu einer ca. 50%-igen Verringerung der Menge an A $\beta$ -Plaques (Marr et al. 2003; 2004). Auch eine Infektion primärer Neurone mit einem Sindbis-Vektor, der NEP-Expression induziert, verringert die A $\beta$ -Produktion in vitro (Hama et al. 2001). Das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) kann die NEP-Expression induzieren (Kikkawa et al. 2004). Außerdem gibt es einen indirekten Zusammenhang zwischen der Expression von NEP und der Empfindlichkeit zur Bildung von A $\beta$ -Plaques in Mäusen (Fukami et al. 2002). Es ist unklar, ob der genetische Hintergrund von NEP an der Ätiologie der AD beteiligt ist, da die genetische Analyse keine Wechselbeziehung zwischen dem Ort der NEP-Expression und dem Risiko für die Entstehung der AD zeigte (Sodeyama et al. 2001; Oda et al. 2002). Eine neue Studie zeigte, dass NEP-Genpolymorphismen die Ablagerung von A $\beta$  verstärken und auch das

Risiko an der AD zu erkranken erhöhen (Clarimon et al. 2003; Helisalmi et al. 2004). In einer weiteren Studie wurde nachgewiesen, dass das Lebensalter die Aktivität von NEP beeinflusst (Kletsas et al. 1998). Die effektivste Wirkung von NEP entfaltet sich nur am Anfang des Verlaufs einer AD (Mohajeri et al. 2004). Die NEP-Expression und -Aktivität speziell im Hippocampus und Neocortex sind vom Alter abhängig. Sie nehmen mit dem Alter ab. Dies scheint ein natürlicher Prozess bei Mäusen und anderen Nagetieren in den frühen Stadien der sporadischen AD zu sein (Fukami et al. 2002; Iwata et al. 2002; Yasojima et al. 2001a; b). Es wurde bewiesen, dass die „lipid-rafts“ der Zellmembranen, in welchen NEP nachweisbar ist (Angelisova et al. 1999; Kanemitsu et al. 2003), an der Bildung von A $\beta$  beteiligt sein könnten (Wolozin 2001; Cordy et al. 2003).

Zusammenfassend lässt sich darauf feststellen, dass NEP ein vielversprechendes therapeutisches Target für die Behandlung von der AD sein könnte.



### 1.3 Ziele der Arbeit

Die Alzheimer-Demenz (AD) stellte eine Erkrankung mit schlechter Prognose und unbefriedigenden Behandlungsmöglichkeiten dar. Daher sind neue Therapieansätze dringend erforderlich.

In den letzten Jahren hat die Neutrale Endopeptidase (NEP, EC 3.4.24.11) als interessante neue Zielstruktur in der Alzheimertherapie immer mehr Beachtung gefunden.

Die NEP kann die Amyloid- $\beta$ -Peptide (A $\beta$ ), welche für die AD charakteristisch sind, abbauen und ist daher mit der Pathogenese von der AD verbunden. Die Induktion des NEP-Enzyms kann den Abbau von A $\beta$  katalysieren und damit die Ablagerung von A $\beta$  in den Gehirnzellen verhindern. Zur Steigerung der NEP-Aktivität stehen jedoch bislang noch keine Arzneimittel zur Verfügung.

Ziel dieser Arbeit ist es, nach Naturstoffen zu suchen, die die Aktivität der NEP erhöhen können. Anschließend sollten Ansätze zu möglichen Wirkungsmechanismen der vermuteten neuroprotektiven Wirkung der ausgewählten Drogen und Naturstoffe bei neurodegenerativen Erkrankungen aufgezeigt werden. Der Einfluss von ausgewählten Arzneipflanzenextrakten (Ginkgo, Grüner Tee), phenolischen und anderen Naturstoffen (Flavonoide, Proanthocyanidine, Alkaloide), die als Neuroprotektiva bekannt sind, sollte auf die NEP-Aktivität der humanen Neuroblastomazelllinie (SK-N-SH) untersucht werden.

Ferner sollte der Effekt der gesteigerten NEP-Aktivität auf die Menge der endogen produzierten und ins Medium sezernierten A $\beta$ 1-42, welche eine größere Tendenz als andere A $\beta$  zu aggregieren hat, und der Zusammenhang zwischen der Erhöhung des zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP) und der NEP-Aktivität untersucht werden.

Zusätzlich sollte der Einfluss von ausgewählten Naturstoffen, welche die Aktivität der NEP erhöhen, auf das Angiotensin-Konversionsenzym (Angiotensin-Converting Enzyme, ACE) untersucht werden, um die Spezifität dieser Naturstoffe auf die NEP-Aktivität zu prüfen.

Im Rahmen der Untersuchungen sollte somit der Frage nachgegangen werden, ob und in welchem Ausmaß ausgewählte Drogen in der Lage sind, ein für die Verhinderung neurodegenerativer Erkrankungen wichtiges Enzym, die NEP, zu induzieren und damit einen naturwissenschaftlich begründbaren Mechanismus zum therapeutischen Einsatz zu bieten.