

Aus dem
Charité Centrum für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité Campus Benjamin Franklin
Direktorin: Prof. Dr. med. Isabella Heuser-Collier

Habilitationsschrift

Biomarkerdiagnostik und Behandlung der Alzheimer Erkrankung im Frühstadium

Zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Psychiatrie und Psychotherapie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Oliver Hubertus Peters
geboren am 22.06.1968 in Rheydt

Eingereicht: September 2013
Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Hans Förstl
2. Gutachter: Prof. Dr. Dieter Willbold

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungen	5
	Vorwort	6
1	Einleitung	7
	1.1 Protein-Biomarkerdiagnostik in der Gehirnflüssigkeit	8
	1.2 Amyloidbildung mittels Positronenemissionstomographie	9
	1.3 Behandlungsmöglichkeiten der frühen Alzheimer Erkrankung	10
	1.4 Zielstellungen	11
2	Eigene Arbeiten	12
	2.1 Vergleich verschiedener Immunabsorptionsassays für die Quantifizierung von Biomarkern in humaner Gehirnflüssigkeit	13
	Schipke CG, Prokop S, Heppner FL, Heuser I, <u>Peters O</u> . Comparison of immunosorbent assays for the quantification of biomarkers for Alzheimer's disease in human cerebrospinal fluid. Dement Geriatr Cogn Disord. 2011; 31(2):139-45. doi: 10.1159/000322588.	
	2.2 Langzeit-Stabilität von für die Alzheimer Erkrankung typischen Biomarkern in der Gehirnflüssigkeit	22
	Schipke CG, Jessen F, Teipel S, Luckhaus C, Wiltfang J, Esselmann H, Frölich L, Maier W, Rütger E, Heppner FL, Prokop S, Heuser I, <u>Peters O</u> . Long-term stability of Alzheimer's disease biomarker proteins in cerebrospinal fluid. J Alzheimers Dis. 2011; 26(2):255-62. doi: 10.3233/JAD-2011-110329.	
	2.3 Zerebrale Amyloid- β PET mit Florbetaben (18F) bei Patienten mit Alzheimer Erkrankung und gesunden Kontrollen: Eine multizentrische Phase 2 Studie	32
	Barthel H, Gertz HJ, Dresel S, <u>Peters O</u> , Bartenstein P, Buerger K, Hiemeyer F, Wittemer-Rump SM, Seibyl J, Reiningger C, Sabri O; Florbetaben Study Group. Cerebral amyloid- β PET with florbetaben (18F) in patients with Alzheimer's disease and healthy controls: a multicentre phase 2 diagnostic study. Lancet Neurol. 2011 May;10(5):424-35. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70077-1.	
	2.4 Bedeutung von Amyloid- β spezifischer Florbetaben Bildgebung für das Vertrauen in die Frühdiagnose der Alzheimer Erkrankung	46
	<u>Peters O</u> , Schipke CG, Heuser I, Grimmer T, Sabbagh MN, Sabri O, Hock C, Kunz M, Kuhlmann J, Reiningger C, Blankenburg M. Impact of beta-amyloid-specific florbetaben PET imaging on confidence in early diagnosis of Alzheimer's disease. Dement Geriatr Cogn Disord. 2012; 33(6):416-22. doi: 10.1159/000339367.	

2.5	Validierung eines Gedächtnisdefizits an Hand von Biomarkern bei prodromaler Alzheimererkrankung	55
	<p>Wagner M, Wolf S, Reischies FM, Daerr M, Wolfsgruber S, Jessen F, Popp J, Maier W, Hüll M, Frölich L, Hampel H, Perneczky R, <u>Peters O</u>, Jahn H, Luckhaus C, Gertz HJ, Schröder J, Pantel J, Lewczuk P, Kornhuber J, Wiltfang J. Biomarker validation of a cued recall memory deficit in prodromal Alzheimer disease. Neurology. 2012 Feb 7;78(6):379-86. doi: 10.1212/WNL.0b013e318245f447.</p>	
2.6	Eine Kombination bestehend aus Galantamine und Memantine modifiziert kognitive Funktionen bei leichter kognitiver Störung	65
	<p><u>Peters O</u>, Lorenz D, Fesche A, Schmidtke K, Hüll M, Perneczky R, Rüter E, Möller HJ, Jessen F, Maier W, Kornhuber J, Jahn H, Luckhaus C, Gertz HJ, Schröder J, Pantel J, Teipel S, Wellek S, Frölich L, Heuser I. A combination of galantamine and memantine modifies cognitive function in subjects with amnesic MCI. J Nutr Health Aging. 2012;16(6):544-8.</p>	
3	Diskussion	72
4	Zusammenfassung	78
5	Literaturangaben	79
	Danksagung	84
	Erklärung	85

Abkürzungen

AChEI	Acetylcholinesterase-Inhibitor
AD	Alzheimer Demenz
ADAS-cog	Alzheimer Disease Assessment Scale - cognitive subscale
ADNI	Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative
ADRDA	Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
CSF	Cerebrospinal Fluid
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
DAT	Dopamine Active Transporter
DCN	Dementia Competence Network
DZNE	Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EM(E)A	European Medicines Agency
FCSRT	Free and Cued Selective Reminding Test
FDA	Food and Drug Administration
FTD	Fronto-temporale Demenz
KND	Kompetenznetz Demenzen
LBD	Lewy-Body Demenz
LKS	Leichte kognitive Störung
MCI	Mild Cognitive Impairment
(f)MRT	(funktionelle) Magnetresonanztomographie
NINCDS	National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke
MSD	Meso Scale Discovery
PET	Positronenemissionstomographie
SAE	Serious Adverse Event
SOP	Standard Operating Procedure
SUVr	Standard Uptake Value Ratio
TMF	Telematikplattform medizinischer Forschungsnetze

Vorwort

Die klinische Diagnostik chronisch-neurodegenerativer Erkrankungen, und im Besonderen die Frühdiagnostik der Alzheimer Erkrankung, hat sich binnen der letzten Jahre durch die Etablierung neurobiologischer Messmethoden, der sogenannten Biomarkerdiagnostik, deutlich weiterentwickelt. Neuropsychologische Testverfahren, die eine syndromale Charakterisierung kognitiver Defizite erlauben, wurden modifiziert und konnten hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität verbessert werden, aber sie behalten den Nachteil, interindividuelle Unterschiede auf dem Hintergrund der kognitiven Reserve nur bedingt ausgleichen zu können und die wesentliche Limitation, den biologischen Hintergrund eines fortschreitenden Abbauprozesses im Gehirn nicht abzubilden.

Auf dem Weg nicht nur symptomatische, sondern auch kausale Therapien für die Behandlung von chronisch neurodegenerativen Erkrankungen zu entwickeln, haben Methoden wie die Biomarkerdiagnostik von Proteinen in Körperflüssigkeiten und neue nuklearmedizinische Tracer für das Verfahren der Positronen-Emissions-Tomographie (PET), eine stetig zunehmende Bedeutung. Die Entwicklung ist jedoch erst am Anfang und die Forschungsergebnisse kommender Jahre werden zeigen müssen, wie viele der neuen Marker es bedarf, und in welcher Kombination sie angewandt werden sollten, um den höchsten differentialdiagnostischen Mehrwert zu generieren.

Entscheidender Schrittmacher bei der Etablierung neuer Biomarker in der Diagnostik chronisch neurodegenerativer Erkrankungen sind große nationale und internationale Kohortenstudien. In Deutschland hat das Kompetenznetz Demenzen (KND, www.kompetenznetz-demenzen.de) hierzu einen wesentlichen Beitrag geleistet. Zwischen 2002 und 2009 hat das KND als BMBF-gefördertes multizentrisches Projekt von universitären Gedächtnisambulanzen über 2000 Patienten und gesunde Kontrollen im Verlauf untersucht. Der besondere Wert dieses großen Forschungsprojektes liegt dabei nicht nur in der Anzahl der untersuchten Patienten, sondern auch in der Vielzahl von Biomarkern, die parallel zum Krankheitsverlauf erhoben wurden. Die Patientenkohorte wurde nicht nur klinisch und neuropsychologisch untersucht, sondern es wurden auch Untersuchungen der Gehirnflüssigkeit und des Blutes, sowie MRT- und genetische Untersuchungen durchgeführt.

Der Verfasser dieser Habilitationsschrift hat im Rahmen des Kompetenznetzes Demenzen und weiteren klinischen Studien eine Vielzahl von Patienten mit kognitiven Störungen und dementiellen Syndromen im Verlauf untersucht und eine Reihe von Fragestellungen bearbeitet.

Einleitung

Die Biomarker-Diagnostik chronisch neurodegenerativer Erkrankungen ist ein junger Forschungsbereich im Rahmen der klinischen Demenzforschung, der sich seit Mitte der neunziger Jahre begonnen hat zu entwickeln. Unter Biomarkern versteht man in diesem Zusammenhang charakteristische biologische Merkmale, die quantitativ bestimmt werden können. Zu den Biomarkern zählen Proteine im Blut und in der Gehirnflüssigkeit, aber auch die strukturelle Bildgebung mittels Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT), die Magnetresonanztomographie (MRS), funktionelle Bildgebung (fMRT), nuklearmedizinische Bildgebung (Glukose- und Amyloid-PET) und genetische Marker. Die Diagnostik der chronischen Neurodegeneration vom Alzheimer Typ an Hand von Biomarkern trägt nicht nur dazu bei die ätiologische Zuordnung einer kognitiven Störung oder eines leichten dementiellen Syndroms sicherer zu machen, sie eröffnet perspektivisch auch die Möglichkeit die Erkrankung zu diagnostizieren, bevor klinische Symptome in Form einer kognitiven Störung nachweisbar sind.

Während in den gängigen Krankheitsklassifikationssystemen auch weiterhin das klinische Syndrom und der Verlauf für die Diagnose der Alzheimer Erkrankung (AD) entscheidend sind (siehe ICD-10 und DSM 5), hat sich in der Forschung eine neue Systematik entwickelt, deren Basis zusammenfassend in einer viel beachteten Arbeitshypothese von Dubois und Kollegen beschrieben ist (Dubois et al. 2007, Dubois et al. 2010). Dieses Arbeitspapier für neue Diagnosekriterien der Alzheimer-Erkrankung sieht neben der obligaten Verifizierung einer anhaltenden Gedächtnisstörung (Kriterium A) das Vorhandensein mindestens eines positiven Biomarkers als hinreichend für die Diagnose der Alzheimer Erkrankung an.

Unter Biomarkern werden hierbei nicht nur die volumetrische Bildgebung und dort eine nachweisliche Atrophie des enthorrhinalen Kortex und des Hippocampus (Magnetresonanztomographie/MRT; Kriterium B), sondern auch die Proteine in der Gehirnflüssigkeit (abgesenktes A-beta 1-42 bzw. Quotient aus A-beta 1-42 und Tau-Protein; Kriterium C), die Darstellung von Amyloidablagerungen durch radioaktiv markierte Antikörper mittels Positronen-Emissionstomographie (Amyloid-PET; z.B. Florbetaben, Flutemetamol, etc.; Kriterium D) oder eine für die Alzheimer Erkrankung prädispositionierende Genetik (familiäre AD, Presenilin oder APP-Mutation; Kriterium E) verstanden.

1.1 Protein-Biomarkerdiagnostik in der Gehirnflüssigkeit

Es besteht inzwischen ein breiter wissenschaftlicher Konsens, dass die typische Alzheimer Erkrankung vom frühestens Stadium an mit einer Amyloidstoffwechselstörung im Gehirn assoziiert ist. Im Rahmen der Amyloidstoffwechselstörung kommt es aus ungeklärten Gründen zur Bildung von Amyloid-Ablagerungen - den Amyloid-Plaques - und zu einem Absinken des A β 1-42 Spiegels in der Gehirnflüssigkeit. Möglicherweise ist die Amyloidstoffwechselstörung sogar das früheste Anzeichen der Erkrankung überhaupt (Jack et al. 2010). Dass die Ablagerung von Amyloid in Form von Plaques im Gewebe die Ursache für die Alzheimer Erkrankung sei, behauptet die Amyloid-Hypothese. Die Amyloid-Hypothese ist bis zum heutigen Tag nicht belegt. Zweifel an der Amyloid-Hypothese bestehen, weil bislang nicht gezeigt werden konnte, dass das Entfernen der Ablagerungen durch Immunmodulation (aktive bzw. passive Immunisierung gegen A β -Proteine im Rahmen klinischer Studien) die Erkrankung in ihrem Verlauf zu beeinflussen vermag. In den jüngsten Konsenspapieren wird davon ausgegangen, dass die Alzheimer Erkrankung auf dem Boden einer individuellen Prädisposition, sowohl mit einer Tau- als auch mit einer Amyloid-assoziierten Pathologie beginnen kann (Jack et al. 2013).

Zu den bereits gut etablierten Biomarkern im Liquor zählen A β 1-42, die gesamte Tau-Protein Menge (total-Tau, t-Tau) sowie die phosphorylierte Fraktion des Tau-Proteins (phospho-Tau, p-Tau). Typisch für die Alzheimer Erkrankung sind abgesenkte A β 1-42 Spiegel, sowie erhöhte t-Tau und p-Tau Werte in der Gehirnflüssigkeit (Blennow und Hampel 2003). Die prognostische Bedeutung eines nachweislich gestörten Amyloidstoffwechsels bei gleichzeitig vorhandenem Gedächtnisdefizit im Sinne einer Mild Cognitive Impairment (MCI) konnte von Buchhave und Kollegen gezeigt werden (Buchhave et al. 2012). Während Patienten mit MCI mit einem hohen A β 1-42 Spiegel über dem errechneten cut-off von ca. 500 pg/ml sich in der überwiegenden Mehrzahl nicht binnen 5-10 Jahren zu einer Demenz hin verschlechterten, entwickelten diejenigen mit MCI, die bei der initialen Untersuchung unter 500 pg/ml lagen mehrheitlich eine Demenz (Sensitivität: 90%, Spezifität: 76%). Die Spezifität ließ sich in dieser Studie auf 90% durch Hinzunahme des p-Tau Wertes und der Bildung eines Quotienten mit dem A β 1-42 Wert steigern. Die Bedeutung des Tau-Proteins hinsichtlich der Dynamik der Progression wird durch weitere Arbeiten belegt: So ließ sich eine schnelle Verschlechterung bei Patienten mit MCI nur dann feststellen, wenn eine nachgewiesene Amyloidstoffwechselstörung mit erhöhten p-Tau und t-Tau Werten vergesellschaftet war (van Rossum et al. 2012).

Die für die Alzheimer Erkrankung typische Amyloidstoffwechselstörung spiegelt sich also in einem erniedrigten A β 1-42 Wert im Liquor cerebrospinalis wieder, während der A β 1-40 Wert sich nach vorliegenden Daten im Laufe der Erkrankung nicht wesentlich ändert. In einer frühen Arbeit aus dem

Kompetenznetz Demenzen konnte gezeigt werden, dass um falsch negative und falsch positive Befunde in der Biomarker-Diagnostik des Amyloidstoffwechsels zu reduzieren, eine Bestimmung des Quotienten aus den Peptiden A β 1-42 und A β 1-40 sinnvoll ist, denn nur der Quotient korreliert auch dann gut mit anderen Biomarkern (phospho-TAU), wenn sehr niedrige oder sehr hohe A β 1-40 Spiegel vorhanden sind (Wiltfang et al. 2007). Hintergrund dieses Befundes ist vermutlich, dass das prämorbid Niveaue der Peptid-Spiegel (alle A β Sequenzen) im Liquor beim Menschen der Gauß'schen Normalverteilung folgt. Das bedeutet, dass einige Menschen prämorbid hohe und Andere prämorbid niedrige A β -Spiegel besitzen. Es ist davon auszugehen, dass sich A β 1-42 und A β 1-40 dabei synchron verhalten, d.h. wer niedrige/hohe A β 1-42 Spiegel hat, hat auch niedrige/hohe A β 1-40 Werte. Bei Demjenigen, der prämorbid über einen sehr niedrigen A β -Spiegel verfügt, führt die alleinige Bestimmung von A β 1-42 potentiell zu einem falsch positiven Ergebnis, weil der Cut-off unterschritten wird, obwohl es im zeitlichen Verlauf nicht zu einer Absenkung gekommen ist. Umgekehrt kann es zu einem falsch negativen Ergebnis kommen, wenn bei alleiniger Bestimmung von A β 1-42 prämorbid sehr hohe Spiegel vorhanden waren. Obwohl im zeitlichen Verlauf der Erkrankung der A β 1-42 Spiegel fällt, wird der Cut-off auf Grund des hohen Ausgangsniveaus nicht unterschritten. Die falsch positiven und falsch negativen Befunde in der Beurteilung des Amyloidstoffwechsels, welche zusammengenommen 5 - 10% der Bestimmungen ausmachen könnten, können, so zeigt die vorliegende Arbeit, reduziert werden, indem jeweils neben dem A β 1-42 Menge auch der Wert für A β 1-40 bestimmt und ein Quotient aus Beiden gebildet wird (Wiltfang et al. 2007). Dieses ist von hoher klinischer Relevanz und ist Grundlage der Bestimmung des Quotienten an Stelle der alleinigen Bestimmung von A β 1-42 in vielen klinischen Laboren und Memory-Kliniken. Es ist wünschenswert, den Befund durch zusätzliche Korrelation mit Amyloid-PET Bildgebung bzw. dem klinischen Verlauf sowie neuropathologischen Befunden weiter zu festigen.

1.2 Amyloidbildung mittels Positronenemissionstomographie

Mehrere nuklearmedizinische Verfahren haben wissenschaftlich gesicherte Bedeutung in der Diagnostik chronisch neurodegenerativer Erkrankungen erlangt. Hierzu zählt die Glukose-PET Bildgebung, welche insbesondere differentialdiagnostischen Wert besitzt in der Abgrenzung zwischen frühen Krankheitsstadien der Alzheimer Demenz (AD) und der fronto-temporalen Demenz (FTD) (Thiele et al. 2013). Bei Verdacht auf eine Lewy-Körper-Erkrankung (LBD) kommt im Rahmen der Differentialdiagnostik zur Abgrenzung gegenüber AD und FTD eine Untersuchung mittels DAT-Scan in Betracht (Walker et al. 2002, Morgan et al. 2012).

Eine besonders intensive Entwicklung hat das Amyloid-Imaging, das jüngste in der Diagnostik

chronisch neurodegenerativer Erkrankungen entwickelte nuklearmedizinische Verfahren, binnen der letzten Jahre gemacht. Diese Entwicklung wurde wesentlich getrieben von der zeitgleich intensiven klinischen Forschung mit aktiver und passiver Immunisierung gegen A β bei an Alzheimer Demenz erkrankten Patienten. Mittels eines an radioaktiven Kohlenstoff (C^{11}) gebundenen Antikörpers, dem Pittsburgh-Compound (PIB), gelang es erstmals in vivo, Amyloid-Ablagerungen im menschlichen Gehirn sichtbar zu machen (Klunk et al. 2004). Mit dem Amyloid-Imaging steht erstmals ein bildgebendes Verfahren zur Verfügung, welches wesentliche Anteile, des die Diagnose Alzheimer Erkrankung sichernden neuropathologischen Befundes, im lebenden Organismus unmittelbar sichtbar werden lässt. Der Nachteil der Kurzlebigkeit von Kohlenstoff-basierten Tracern, für deren Nutzung man über ein Zyclotron in unmittelbarer räumlicher Nähe zum klinischen Zentrum verfügen muss, wurde überwunden durch die Kopplung des Amyloid-Antikörpers an Fluor(F^{18})-basierte Nukleotide. Insgesamt drei Tracer haben bis dato Phase III Studien durchlaufen. Florbetapir (Amyvid[®]) erhielt als erstes die Zulassung von der FDA (2012) und der EMEA (2013), während Flutemetamol und Florbetaben die laufenden Zulassungsverfahren noch nicht abgeschlossen haben. Alle Amyloid-Tracer haben im Rahmen des Zulassungsverfahrens nachzuweisen, dass sie nicht nur verträglich in der Anwendung sind, sondern dass insbesondere der nuklearmedizinische Befund eng mit dem neuropathologischen Befund korreliert. Zukünftige Arbeiten und die klinische Routine werden zeigen, ob die Amyloid-Tracer gleichwertig sind und wie der Befund im Amyloid-Imaging mit anderen Biomarkern korreliert. Gerade erst begonnen hat die Entwicklung von nuklearmedizinischen Tracern, die ein weiteres wesentliches Merkmal neurodegenerativer Erkrankungen, nämlich die Tau-Pathologie, in vivo sichtbar machen (Zhang et al. 2012).

1.3 Behandlungsmöglichkeiten der frühen Alzheimererkrankung

Die Etablierung neurobiologischer Marker für die Frühdiagnose der Alzheimererkrankung ermöglicht auch die Behandlung, also den Versuch einer möglichst effizienten Beeinflussung des Krankheitsverlaufes, früher beginnen zu können. Dieses gilt als erstrebenswert, weil einmal verloren gegangene kognitive und auch alltagspraktische Fähigkeiten wiederzugewinnen, in einem geringen Maß als realistisches Ziel einer Behandlung zu betrachten ist, während die Aufrechterhaltung von kognitiven Fähigkeiten und Stärkung von Ressourcen demgegenüber zumindest zeitweise zu gelingen vermag. Das Ziel einer antidementiven Behandlung ist demnach das Fortschreiten der Erkrankung zu verlangsamen und im Idealfall zum Stillstand zu bringen. Grundsätzlich können zwei Arten der Behandlung unterschieden werden: (1) die symptomatische Therapie, welche darauf abzielt möglichst unmittelbar eine Verbesserung der Krankheitssymptome zu bewirken und (2) die kausale Therapie, welche die neurobiologischen Ursachen der Erkrankung bekämpft und versucht die

Ausweitung des Abbauprozesses zu verlangsamen. Letzteres ist bislang ausschließlich Gegenstand klinischer Studien.

Für die symptomatische Therapie stehen zwei zugelassene Substanzgruppen zur Verfügung: Die Acetylcholinesterase-Inhibitoren (AChE-I) Donepezil, Rivastigmin und Galantamin, sowie der nicht-kompetitive NMDA-Rezeptor Antagonist Memantin. Die AChE-I haben in zahlreichen Studien ihre Wirksamkeit bei leichter bis mittelschwerer Alzheimer Demenz nachgewiesen (Birks 2006, Hansen et al. 2008), während Memantin eine Verbesserung kognitiver und nicht-kognitiver Fähigkeiten, bei mittelschwerer bis schwerer Alzheimer Demenz nachweisen konnte (McShane et al. 2006, Yhang et al. 2013). Bei Patienten mit Alzheimer Demenz konnte die Kombination der Wirkmechanismen durch gleichzeitige Gabe eines AChE-Inhibitors mit dem NMDA-Rezeptor Antagonisten Memantin, nur in wenigen Studien einen kurzzeitigen (≤ 6 Monate) additiven Effekt zeigen (Farrimond et al. 2009). Während die Gabe von AChE-I bei Patienten mit leichter kognitiver Störung keinen klinischen Nutzen nachweisen konnte (Salloway et al. 2004, Feldman et al. 2007, Winblad et al. 2008), wurde die Wirkung der alleinigen Gabe von Memantin und die Kombination der antidementiven Wirkmechanismen bei leichter kognitiver Störung bislang nicht im Rahmen klinischer Studien untersucht.

1.4 Zielstellungen

In den im Rahmen dieser Habilitationsschrift dargestellten Forschungsarbeiten werden folgende Fragestellungen hinsichtlich Frühdiagnose und Behandlung der Alzheimer Erkrankung bearbeitet:

- a) Sind die Ergebnisse der mit verschiedenen Methoden bestimmten Protein-Biomarker in der Gehirnflüssigkeit quantitativ vergleichbar?
- b) Wie wirkt sich die langzeitige Lagerung von Biomaterial auf die Vergleichbarkeit der Messergebnisse von Proteinbestimmungen aus?
- c) Welchen Nutzen für den Kliniker hat die Darstellung von Amyloidablagerungen mittels Positronenemissionstomographie?
- d) Welcher neuropsychologische Test korreliert am besten mit den Biomarkern in der Gehirnflüssigkeit?
- e) Profitieren Patienten mit leichter kognitiver Störung im Frühstadium der Alzheimererkrankung von der Kombinationsbehandlung mit Antidementiva?

2 Eigene Arbeiten

So vielversprechend die quantitative Bestimmung von Proteinen in der Gehirnflüssigkeit im Rahmen der Diagnostik von chronisch neurodegenerativen Erkrankungen des Gehirnes ist, so fehleranfällig sind bislang die Methoden und so schwierig ist eine verlässliche Vergleichbarkeit und Interpretation der Ergebnisse. Unter Einbeziehung der am weitesten verbreiteten Techniken wurden verschiedene Biomarker, welche für die Diagnose der Alzheimer Erkrankung eine zentrale Rolle haben, vergleichend bestimmt (Beitrag 2.1). Das Wissen um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse, welches in dieser Arbeit erreicht werden konnte, war Voraussetzung für die weitergehende Analyse von über lange Zeiträume im Rahmen von Biobanken gelagertem Biomaterial. Im Rahmen von Biobanken werden große Mengen von Biomaterial über viele Jahre hinweg, üblicherweise bei -80° Grad, aufbewahrt. Diese Biomaterialbanken haben einen außerordentlich hohen wissenschaftlichen Wert. Es ist unbekannt, welchen Einfluss die langfristige Lagerung auf die Qualität des Biomaterials hat. In einer weiteren Arbeit (Beitrag 2.2) wurden deshalb die Veränderungen an den gegenwärtig häufig bestimmten Biomarkern in der Gehirnflüssigkeit untersucht.

Ein weiterer wichtiger Biomarker im Rahmen der Diagnostik der Alzheimer Erkrankung ist das nuklearmedizinische Verfahren des Amyloid-Imaging. Einen wesentlichen Fortschritt stellen die Fluor(F^{18})-basierten Tracer auf Grund ihrer Langlebigkeit dar. Im Rahmen einer weiteren Arbeit wurde die Anwendbarkeit, Sicherheit und differentialdiagnostische Wertigkeit eines neuen Amyloid-Tracers – Florbetaben – untersucht (Beitrag 2.3). Im Folgenden wurde der klinische Nutzen der Untersuchung, also die Wertigkeit der Ergebnisse im Hinblick auf die diagnostische Sicherheit für den klinisch tätigen Arzt und therapeutische Konsequenzen für den Patienten, evaluiert (Beitrag 2.4).

Neuropsychologische Testverfahren bleiben trotz aller Fortschritte unverzichtbarer Bestandteil der Diagnostik, nicht zuletzt, um das Ausmaß des funktionellen Defizits zu quantifizieren. Welche neuropsychologischen Testverfahren in der Diagnostik am besten mit den Ergebnissen der Biomarker-Diagnostik korrelieren, wurde in einer weiteren Arbeit untersucht (Beitrag 2.5).

Neue diagnostische Methoden sind schließlich auch Voraussetzung, um chronisch neurodegenerative Erkrankungen früher behandeln zu können. In einer multizentrischen, placebo-kontrollierten, doppel-blinden randomisierten Studie wurde untersucht, in welchem Ausmaß die kognitiven Fähigkeiten von Patienten mit einer leichten kognitiven Störung durch die Einnahme von Galantamin bzw. die Kombination von Galantamin und Memantin beeinflusst werden (Beitrag 2.6).

2.1 Vergleich verschiedener Immunabsorptions Assays für die Quantifizierung von Biomarkern in humaner Gehirnflüssigkeit

Schipke CG, Prokop S, Heppner FL, Heuser I, Peters O. Comparison of immunosorbent assays for the quantification of biomarkers for Alzheimer's disease in human cerebrospinal fluid. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2011; 31(2):139-45. doi: 10.1159/000322588.

Für die Bestimmung von Protein-Biomarkern in humaner Gehirnflüssigkeit wurden verschiedene Nachweisverfahren entwickelt. Im Wesentlichen haben drei Methoden Verbreitung gefunden: (1) Der Enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA), welcher von verschiedenen Herstellern angeboten wird, (2) das x-MAP Luminex System der Firma Innogenetics® und (3) das MSD-System des Herstellers Meso Scale Discovery®. Am weitesten verbreitet im Bereich der klinisch-neurochemischen Laboratorien ist weiterhin die Bestimmung mittels ELISA (Mattson et al. 2013). Die Vor- und Nachteile der verschiedenen Methoden sind vielschichtig. Die ELISA Technik hat die geringsten Investiv- dafür aber die höchsten Verbrauchskosten. Sie bietet sich besonders dann an, wenn nur wenige Proben gemessen werden. Die ELISA Technik hat den Nachteil viele Arbeitsschritte zu benötigen und dadurch sehr zeitintensiv zu sein, darüber hinaus ist für jedes Protein ein getrennter ELISA notwendig. Mit der Luminex-Technologie und dem MSD-System wurde der Versuch unternommen, die Messung von Protein-Biomarkern mit hohem Durchsatz zu ermöglichen, insbesondere mehrere Biomarker in einem Arbeitsschritt zu messen. Während bei der Luminex-Technologie mit Antikörpern versehene, farbcodierte Nanopartikel im Rahmen eines der Durchflusszytometrie verwandten Verfahren zum Einsatz kommen (www.innogenetics.com), macht sich das MSD-Verfahren die Methodik der Elektrochemolumineszenz technisch zu Nutze (www.meso-scale.com). Sowohl Luminex- als auch MSD-Technologie erfordern im Vergleich zum ELISA hohe Investitionskosten, haben jedoch günstige Verbrauchskosten.

In der vorliegenden Arbeit wurden Gehirnwasserproben von Gesunden und an Demenz erkrankten Patienten aliquotiert, unter Einsatz verschiedener Methoden die Proteinmenge bestimmt und die Ergebnisse miteinander verglichen. Um die zu erwartende Variabilität der Ergebnisse alleine in Bezug auf die verschiedenen Meßmethoden interpretieren zu können, fanden alle Untersuchungen unizentrisch, unter strikter Anwendung der Konsensurichtlinien (Teunissen et al. 2009) und SOP's des Kompetenznetz Demenzen (www.kompetenznetz-demenzen.de) statt. Im Besonderen wurde (1) die Untersuchung immer vormittags durchgeführt, auf Grund der zirkadianen Rhythmik des Amyloidstoffwechsels, (2) Polypropylen-Röhrchen zum Auffangen des Punktates verwandt, um die Menge des Amyloids nicht durch Adhärenz am Behältnis zu beeinflussen, (3) stets auf gleicher Höhe der Lendenwirbelsäule (LWK 3/4 bzw. LWK 4/5) und mit identischer Nadelstärke (21 G) punktiert, sowie (4) immer die gleiche Menge Liquor entnommen (10 ml), weil bekannt ist, dass ein

Konzentrationsgradient über den Rückenmarkskanal hinweg besteht, der andernfalls zu Konzentrations- bzw. Dilutionsartefakten führen kann, (5) die Proben wurden binnen einer halben Stunde aufbereitet und eingefroren, weil die Aufbewahrung bei Raumtemperatur die verschiedenen Amyloid-Spezies und das Tau-Protein in unterschiedlichem Maß beeinflusst. Für die quantitative Bestimmung kamen die ELISA-Kits von Innogenetics und IBL (www.ibl-international.com), sowie das MSD-System zum Einsatz. Mit den Kits von Innogenetics wurde A β 1-42 und t-Tau bestimmt, mit dem ELISA von IBL A β 1-40 und A β 1-42 und mit dem MSD-System alle Parameter. Das Ziel der Messungen bestand darin (1) über den Vergleich der absoluten Werte die Sensitivität der Methoden in verschiedenen Messbereichen zu beurteilen und (2) Korrekturfaktoren zu ermitteln, die einen direkten Vergleich der Werte erlauben.

Es wurden zunächst 25 Gehirnwasserproben auf ihren A β 1-42 Gehalt hin unter Einsatz aller drei Methoden untersucht. Im direkten Vergleich der Messwerte untereinander zeigten sich bei teils deutlichen Abweichungen der absoluten Werte hohe Korrelationskoeffizienten: MSD zu Inno-ELISA 0,87; IBL-ELISA zu Inno-ELISA 0,83 und MSD zu IBL-ELISA 0,8. Die geringste Sensitivität bei der Bestimmung von A β 1-42 wies der ELISA von Innogenetics auf. Da für die Bestimmung von A β 1-40 nur ein ELISA des Herstellers IBL zur Verfügung steht, wurde nur dieser mit dem MSD-System verglichen. Der Korrelationskoeffizient betrug hier 0,82, in der Höhe gut vergleichbar mit der Korrelation, die sich für A β 1-42 ermitteln ließ. Schließlich spiegelte die Korrelationsanalyse des ELISA für das t-Tau von Innogenetics und dem MSD-System eine fast 100%ige Übereinstimmung wider ($r=0,99$). Es ließ sich also zusammenfassend nachweisen, dass (1) die mit verschiedenen Systemen ermittelten Werte gut vergleichbar sind, es (2) für den Vergleich der A β Spezies eines Korrekturfaktors bedarf, welcher beim Tau Protein nicht benötigt wird und (3) das MSD-System die höchste Sensitivität aufwies. Wie auch in anderen Arbeiten unserer und anderer Arbeitsgruppen wird deutlich, dass die Herausforderung bei der Bestimmung der gegenwärtig hinsichtlich ihrer klinischen Wertigkeit bevorzugten Neurodegenerationsparameter die Messung der A β Proteine darstellt, während die Bestimmung des Tau Proteins sehr robust und einfach zu handhaben ist.

2.2 Langzeit-Stabilität von für die Alzheimer Erkrankung typischen Biomarkern

in der Gehirnflüssigkeit

Schipke CG, Jessen F, Teipel S, Luckhaus C, Wiltfang J, Esselmann H, Frölich L, Maier W, Rütger E, Heppner FL, Prokop S, Heuser I, Peters Q. Long-term stability of Alzheimer's disease biomarker proteins in cerebrospinal fluid. *J Alzheimers Dis.* 2011;26(2):255-62. doi: 10.3233/JAD-2011-110329.

Biomaterial in Form von Körperflüssigkeiten und Gewebe nimmt einen immer größer werdenden Stellenwert in der klinischen Forschung ein. Mit Hilfe von Biomaterial können klinische Syndrome und Krankheitsverläufe mit (neuro-)biologischen Prozessen korreliert werden. Im Hinblick auf die Alzheimer Erkrankung haben unter anderem mehrere große Kohortenstudien (u.a. KND, ADNI) begonnen Biomaterialbanken aufzubauen. Die Gewinnung und Lagerung von Biomaterial ist sinnvoll und notwendig, um prospektiv sich neu ergebende wissenschaftliche Fragestellungen bearbeiten zu können. Bezogen auf chronisch neurodegenerative Erkrankungen empfiehlt es sich neben Blut (Serum, Citrat-Plasma, EDTA-Plasma, Vollblut), Gehirnflüssigkeit und auch Urin zu aservieren. Darüber hinaus ist auch eine multizentrische Bank zur Aufbewahrung von ganzen Gehirnen sehr wünschenswert, wie sie gegenwärtig vom Deutschen Zentrum für neurodegenerative Erkrankungen (DZNE) am Standort Tübingen geplant ist. Die Gewinnung und Aufbewahrung von Biomaterial stellt ethisch, rechtlich und technisch eine Herausforderung dar, die in mehreren Schriftreihen der Telematikplattform medizinischer Forschungsnetze (TMF) ausführlich beschrieben sind (Simon et al. 2006, Kientopf und Böer 2008).

Biomaterial behält über die Zeit der Lagerung nur dann seinen Wert und kann als Quelle für wissenschaftliche Untersuchungen dienen, wenn sichergestellt werden kann, dass seine

Beschaffenheit gegenüber dem nativen Zustand unverändert ist, bzw. wenn bekannt ist, in welchem Maße Veränderungen zu einem definierten Zeitpunkt stattgefunden haben. Die Qualität sichernden Maßnahmen beginnen, wie bereits in der vorhergehenden Arbeit erwähnt, bei der Aufbereitung. Von entscheidender Bedeutung scheinen nach der Aufbereitung entsprechend der Leitlinien zwei Parameter zu sein: (1) die Zeit, die eine Probe bei weniger als den empfohlenen -80° Grad aufbewahrt wird (Kaiser et al. 2007) und (2) die Anzahl der Einfrier- und Auftauvorgänge (Simonsen et al. 2013). Die Qualität einer Probe verringert sich mit der Dauer der Aufbewahrung bei weniger als -80° Grad und nimmt ebenso mit jedem Zyklus des Auftauens und erneuten Einfrieren ab.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Proben wurden im Rahmen des KND multizentrisch gesammelt, nach SOP aufbereitet, eingefroren und im gefrorenen Zustand in die zentrale Biomaterialbank eingepflegt. Alle untersuchten Proben wurden binnen von 30 Minuten nach Punktion weiterverarbeitet und auf -20° Grad heruntergekühlt. Es folgte das Einfrieren auf -80° Grad.

Von jedem Patienten wurden, soweit genug Gehirnflüssigkeit durch die Punktion gewonnen werden konnte, sechzehn Aliquots zu jeweils 250 µl aserviert.

In der vorliegenden Arbeit wurden uni- und multizentrisch gewonnene Gehirnwasser-Proben von Alzheimer Patienten über einen Zeitraum von bis zu sechs Jahren repetitiv gemessen. Aβ1-40, Aβ1-42 und t-Tau wurden untersucht unter Verwendung des ELISA von Innogenetics (Aβ1-42 und t-Tau), des ELISA von IBL (Aβ1-40), sowie des MSD-Systems (Aβ1-40, Aβ1-42 und t-Tau). Bei repetitiv mit dem gleichen ELISA von Innogenetics gemessenen, unizentrischen Proben ergab sich für das Tau Protein (t-Tau) ein Korrelationskoeffizient von 0,95 und für Aβ1-42 ein Wert von 0,79. Wurde die zweite Messung mit dem MSD System durchgeführt, waren die Korrelationskoeffizienten erwartungsgemäß etwas schlechter: $c = 0,82$ für t-Tau und $c = 0,74$ für Aβ1-42.

In einer zweiten Serie wurden multizentrisch gewonnene Proben, deren erste Messung unter der Verwendung von Innogenetics (Aβ1-42, t-Tau) und IBL (Aβ1-40) von einem zweiten neurochemischen Labor durchgeführt worden war, nach Ablauf von vier Jahren Lagerung bei -80° Grad mit dem MSD-System erneut bestimmt. In diesem Vergleich waren für das Tau-Protein ($c = 0,82$) und Aβ1-42 ($c = 0,73$), verglichen mit den unizentrischen und über eine größere Zeitspanne (0-6 Jahre) hinweg erneut analysierten Liquores, fast identische Korrelationskoeffizienten festzustellen. Größere Abweichungen waren hingegen beim Aβ1-40 mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,53 zu detektieren.

In einer zusätzlichen Serie von Experimenten wurde der Einfluss des Auftauens und erneuten Einfrierens von Gehirnwasserproben untersucht, weil im Rahmen der Nutzung von Biomaterial aus Biobanken trotz der Aliquotierung häufig Material übrigbleibt, welches nicht verworfen werden soll, aber unklar ist, inwieweit Auftauen und erneutes Einfrieren einen Einfluss auf die Proteine haben. In diesen Experimenten, die ausschliesslich unter Verwendung des MSD-Systems durchgeführt wurden, konnte gezeigt werden, dass die Ergebnisse nicht signifikant über das zu erwartende Maß bei einer zweiten Messung zum gleichen Zeitpunkt hinaus differierten (t-Tau: $c = 0,803$; Aβ1-42: $c=0,827$; Aβ1-40: $c = 0,923$).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Lagerung von Gehirnwasserproben über lange Zeiträume hinweg bei -80° Grad bezogen auf das Tau-Protein und Aβ1-42 keine signifikanten Messwertabweichungen ergab, während Aβ1-40 demgegenüber deutlich vulnerabler war. Auftauen und erneutes Einfrieren war im Hinblick auf die untersuchten Proteine unbedenklich.

2.3 Zerebrale Amyloid-β PET mit Florbetaben (18F) bei Patienten mit Alzheimer Erkrankung und gesunden Kontrollen: Eine multizentrische Phase 2 Studie

Barthel H, Gertz HJ, Dresel S, Peters O, Bartenstein P, Buerger K, Hiemeyer F, Wittemer-Rump SM, Seibyl J, Reiningger C, Sabri O; Florbetaben Study Group. Cerebral amyloid-β PET with florbetaben (18F) in patients with Alzheimer's disease and healthy controls: a multicentre phase 2 diagnostic study. *Lancet Neurol.* 2011 May;10(5):424-35. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70077-1.

Neben der Möglichkeit die pathognomonischen Veränderungen der Alzheimer Erkrankung in der Gehirnflüssigkeit nachzuweisen, wurde ab Mitte der neunziger Jahre begonnen eine weitere Methode - das sogenannte Amyloid-Imaging – zu entwickeln (Klunk et al. 1994). Erstmals gelang es mittels Bildgebung unter Anwendung nuklearmedizinischer Verfahren *in situ* Amyloid-Ablagerungen, die zuvor nur in neuropathologischen Schnittpräparaten *post mortem* sichtbar gemacht werden konnten, nachzuweisen (Klunk et al. 2004). Bildgebende Verfahren haben gegenüber der invasiven Diagnostik der Biomarker in der Gehirnflüssigkeit praktische und auch inhaltliche Vor- aber auch Nachteile:

	Amyloid-PET Imaging	Biomarker-Diagnostik im Liquor
Vorteil	→ stellt Ausmaß der Ablagerung dar → ermöglicht Therapie-Monitoring	→ nicht auf Amyloid beschränkt → niedrige Kosten
Nachteil	→ hohe Kosten → ist auf Amyloidablagerung beschränkt	→ invasiv, Nebenwirkungen → erschwerte Standardisierung

Der Pittsburg Compound-B (PIB) genannte, Kohlenstoff (¹¹C)-basierte Tracer ist jedoch durch seine sehr kurze Halbwertszeit (20 min) in der Anwendung beschränkt (Herholz, Ebmeier 2011). In den letzten Jahren wurden deswegen mehrere Fluor (¹⁸F)-basierte Tracer entwickelt, deren wesentlicher Vorteil darin besteht eine deutlich längere Halbwertszeit (110 min) zu haben. Durch die relative Langlebigkeit ist ein Transport der radioaktiven Substanz über längere Distanzen hinweg möglich. Zentral gelegene Einrichtungen können eine wirtschaftliche und qualitativ gleichbleibend hochwertige Herstellung des Tracers garantieren, wie es für die Anwendung von Diagnostika beim Menschen notwendig ist. Mit drei Fluor-basierten Tracern wurden bis dato späte klinische Studien mit dem Ziel der Zulassung durch die genehmigenden Behörden (FDA, EMEA) durchgeführt: Florbetapir, Flutemetamol und Florbetaben. Florbetaben ist, ebenso wie Flutemetamol (Vandenberghe et al. 2010) und Florbetapir (Clark et al. 2012, Johnson et al. 2013), ein mit radioaktivem Fluor (¹⁸F) gelabelter Tracer, der bereits in einer frühen klinischen Studie mit wenigen Patienten angewendet wurde (Rowe et al. 2008).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Sicherheit und diagnostische Wertigkeit von Florbetaben im Rahmen einer Phase II Studie überprüft. Insgesamt 18 Zentren in Australien, Deutschland, der Schweiz und den USA beteiligten sich an der Rekrutierung von 150 Probanden. Es wurden 81 Patienten eingeschlossen, bei denen ein dementielles Syndrom festgestellt werden konnte (MMSE 18-26), welches auf Basis der NINCDS-ADRDA und der DSM-IV Kriterien am ehesten einer Alzheimer Erkrankung zuzuordnen war. Desweiteren wurden 69 gesunde Probanden untersucht, welche keine nachweislichen kognitiven Defizite haben durften. Ergänzend zu der klinischen und neuropsychologischen Untersuchung wurde bei allen Probanden ein MRT durchgeführt, dessen Ergebnis mit der klinischen Diagnose in Einklang stehen musste. Die Auswertung der Amyloid-PET Bildgebung erfolgte durch drei gegenüber der klinischen Diagnose verblindete Untersucher nach einem standardisierten Verfahren. Beurteilt wurde die Signalintensität 90-110 Minuten nach intravenöser Injektion von Florbetaben durch Ermittlung von SUVRs (Standard Uptake Value Ratio) für eine Vielzahl von Hirnregionen, wobei das Kleinhirn als Referenzregion dient, welche per definitionem keine Amyloid-Ablagerungen zeigt. Die Scores aller Regionen werden zu einem Gesamtscore zusammengefasst.

Die Studie zeigt im Ergebnis, dass Florbetaben in der Anwendung bei Gesunden und bei Demenzkranken sicher ist. Es kam nicht zu SAE's im Rahmen der Injektion oder nachfolgend in einer Weise, die einen Zusammenhang mit der Prüfsubstanz nahegelegt hätte. Die Beurteilungen der PET-Bilder durch die drei verblindeten Untersucher waren mit wenigen Ausnahmen in guter Übereinstimmung. Bezogen auf eine Vielzahl von Hirnregionen und insbesondere bezogen auf den Gesamtscore war der Gruppenunterschied zwischen den Probanden ohne objektivierbare kognitive Defizite und den Demenzkranken mit der klinischen Diagnose einer Alzheimer Erkrankung hochsignifikant ($p < 0.0001$). 80% der Demenzkranken und nahezu 10% der kognitiv nicht-beeinträchtigten wurden als Amyloid-positiv bewertet. 20% der Demenzkranken zeigten keine Ablagerung, was bedeuten kann, dass hier der Tracer die Ablagerungen nicht zeigen konnte. Die wahrscheinlichere Erklärung ist jedoch, dass die klinische Diagnose, insbesondere bei frühen Demenzstadien (hoher MMSE > 24 Punkte) zum Studieneinschluss, sich im Verlauf der Erkrankung als falsch herausstellt. Welche der Erklärungen im Einzelfall zutrifft, konnte im Rahmen dieser Studie nicht überprüft werden. Hinsichtlich der kognitiv unauffälligen Probanden mit positivem Amyloid-PET Befund muss als wahrscheinlichste Erklärung gemutmaßt werden, dass Ablagerungen tatsächlich vorhanden sind. Es ist auch von der Bestimmung von Biomarkern in der Gehirnflüssigkeit bekannt, dass bei Gesunden und auch bei subjektiven Gedächtnisbeschwerden eine Amyloid-Stoffwechselstörung nachgewiesen werden kann, ohne dass im Querschnitt erkennbar wäre, ob dieses einen Krankheitswert besitzt und der Betroffene sich in einem sehr frühen Stadium einer Demenzerkrankung befindet bzw. zu einem späteren Zeitpunkt an einer Demenz erkranken wird.

2.4 Bedeutung von Amyloid- β spezifischer Florbetaben Bildgebung für das Vertrauen in die Frühdiagnose der Alzheimer Erkrankung

Peters O, Schipke CG, Heuser I, Grimmer T, Sabbagh MN, Sabri O, Hock C, Kunz M, Kuhlmann J, Reininger C, Blankenburg M. Impact of beta-amyloid-specific florbetaben PET imaging on confidence in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2012;33(6):416-22. doi: 10.1159/000339367.

Die Amyloid-PET Bildgebung ist bis dato noch kein etabliertes flächendeckend den klinisch in der Diagnostik dementieller Erkrankungen tätigen Ärzten zur Verfügung stehendes Verfahren. Die Erfahrungen im Rahmen der Phase II Studie bei der Bestimmung der SUVRs haben gezeigt (Barthel et al. 2011), dass es noch erheblicher Anstrengungen im Hinblick auf eine verlässliche, einfach zu handhabende, automatisierte Auswertung der Amyloid-PET Bildgebung bedarf. Die Rohdaten der Gammakamera, welche das radioaktive Signal im Gehirn des Probanden detektiert, sind nur unter erheblichem Aufwand in eine interpretierbare Bildgebung umzuwandeln. In den Zulassungsstudien wurde die finale Auswertung durch speziell geschultes Personal übernommen, die pro Datensatz mehr als eine Stunde manueller Vermessung aufwenden mussten. Es ist in diesem Zusammenhang noch nicht hinreichend geklärt, bis zu welchem Grad eine Signalintensität als unauffällig und ab welcher Signalintensität ein pathologisches Ausmaß von Amyloid-Ablagerungen angenommen werden muss. Erschwert wird die Beantwortung der Frage durch die Beobachtung, dass verschiedene Tracer offensichtlich unterschiedliche Anteile der Amyloid-Pathologie sichtbar machen (Ni et al. 2013). Hier stellt sich eine äquivalente Herausforderung, wie bei der Findung von Cut-off Werten für die Bestimmung von Biomarkern in der Gehirnflüssigkeit. Alle Hersteller von Amyloid-Tracern arbeiten in diesem Zusammenhang an einer einfach zu bedienenden Software, die die in den klinischen Studien noch notwendige Einzelauswertung und manuelle Vermessung ersetzt. Vorausgesetzt es gelingt diese technische Hürde zu überwinden und dem Kliniker eine einfach zugängliche, verlässliche Information zur Verfügung zu stellen, ist im Hinblick auf die Bewertung von hohem Interesse, welchen Zusatznutzen die Amyloid-PET Bildgebung als diagnostisches Verfahren in der klinischen Praxis hat. Der zusätzliche Nutzen ist von entscheidender Bedeutung, wenn es jenseits der Zulassung des Verfahrens um die Kostenerstattung geht. In Deutschland entscheidet hierüber der gemeinsame Bundesausschuss (GBA, www.g-ba.de). Da bislang noch keine Immunisierungstherapien etabliert sind, im Rahmen derer das Amyloid-Imaging zur Verlaufskontrolle und Therapie-Monitoring Einsatz finden könnte, ist der Wert für den Kliniker vorläufig auf den zusätzlichen Nutzen im Rahmen der Diagnosestellung begrenzt. Den Zusatznutzen des Amyloid-Imagings im Rahmen der Differentialdiagnose leichter dementieller Syndrome zu ermitteln, ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Im Rahmen der Florbetaben Phase II – Studien nahmen 14 von 20 Zentren an einer zusätzlichen Fragebogenerhebung teil, welche ausschließlich an die klinisch tätigen Ärzte und nicht an die in der Studie tätigen Nuklearmediziner gerichtet war. Voraussetzung für die Teilnahme war die Übermittlung des vorläufigen, im Prüfzentrum ermittelten Untersuchungsergebnisses der Amyloid-PET Bildgebung durch den Nuklearmediziner an den behandelnden Prüfarzt. Weitere Voraussetzung für die Teilnahme war, dass die Diagnose „kognitiv nicht beeinträchtigte Kontrollperson“ bzw. „Patient mit Demenz am ehesten vom Alzheimer Typ“ durch den Prüfarzt ausschließlich auf Basis der vorliegenden klinischen Daten und in Unkenntnis des Ergebnisses der Amyloid-PET Bildgebung gestellt wurde.

Insgesamt konnten bei 272 in der gesamten Studie untersuchten Teilnehmern 201 Fragebögen ausgewertet werden. Von diesen entfielen 121 Fragebögen auf Patienten mit der klinischen Diagnose Demenz am ehesten vom Alzheimer Typ und 80 Fragebögen auf die kognitiv nicht beeinträchtigten Kontrollen. Vergleichbar mit dem Ergebnis in der ersten Kohorte (Barthel et al. 2011) und den Ergebnissen mit anderen Tracern, war bei 18% der Kontrollen ein positives Amyloid-PET und bei ca. 20% der Demenzpatienten, welche klinisch als Alzheimerpatienten beurteilt wurden, ein negatives Amyloid-PET festzustellen. In 83% der Fälle beeinflusste das Ergebnis der Amyloid-PET Untersuchung das Vertrauen in die klinische Diagnose. Während, wie erwartet, bei allen Amyloid-PET negativen, zuvor als ätiologisch der Alzheimer Erkrankung zugeordneten Patienten das Vertrauen in die Richtigkeit der Diagnose abnahm, hatte auch die Bestätigung der klinischen Diagnose durch einen positiven Amyloid-PET Befund in der Mehrzahl der Fälle (78%) eine Zunahme des Vertrauens in die Diagnose zur Folge. Bei 62% der Demenzpatienten wurde dem Ergebnis des Amyloid-Imaging eine Bedeutung im Hinblick auf das weitere Prozedere der Behandlung bzw. des Umgangs mit dem Patienten beigemessen. Zusammenfassend hatte das Ergebnis des Amyloid-Imagings über die Identifikation von Amyloid-negativen Demenzpatienten hinaus, deren Diagnose einer kritischen Überprüfung unterzogen werden sollte, eine Relevanz für die klinisch tätigen Ärzte. Obwohl einschränkend hervorgehoben werden muss, dass es sich bei den Befragten nur bedingt um eine repräsentative Stichprobe von Demenzpatienten versorgenden Ärzten gehandelt hat, und diese auf Grund ihrer Einbindung in die Durchführung der Studie beeinflusst gewesen sein könnten, konnten doch erstmals Daten erhoben werden, die die Wertigkeit der neuen Methode für den klinisch tätigen Arzt zu beurteilen helfen.

2.5 Validierung eines Gedächtnisdefizits an Hand von Biomarkern bei prodromaler Alzheimer Erkrankung

Wagner M, Wolf S, Reischies FM, Daerr M, Wolfsgruber S, Jessen F, Popp J, Maier W, Hüll M, Frölich L, Hampel H, Perneczky R, Peters O, Jahn H, Luckhaus C, Gertz HJ, Schröder J, Pantel J, Lewczuk P, Kornhuber J, Wiltfang J. Biomarker validation of a cued recall memory deficit in prodromal Alzheimer disease. *Neurology*. 2012 Feb 7;78(6):379-86. doi: 10.1212/WNL.0b013e318245f447.

Die Untersuchung der kognitiven Fähigkeiten eines Patienten im Rahmen einer Erst- oder Verlaufsuntersuchung wird, ungeachtet der Fortschritte in der Entwicklung von aussagefähigen Biomarkern für chronisch neurodegenerativen Erkrankungen, auf absehbare Zeit ein zentraler Bestandteil der Diagnostik bleiben. Die Bedeutung der neuropsychologischen Untersuchung besteht im Kern darin, die Ausprägung einer kognitiven Störung abzubilden und dadurch Rückschlüsse auf das zu vermutende funktionelle Defizit zu ermöglichen. Die neuropsychologischen Tests haben allerdings die Limitation Vorhandensein und Ausmaß von neurodegenerativen morphologischen Veränderungen nicht unmittelbar abbilden zu können. So könnte ein Patient mit guter kognitiver Reserve bereits eine weit fortgeschrittene Atrophie des Hippocampus haben, aber ungeachtet dessen z.B. im episodischen Gedächtnis besser abschneiden, als ein zweiter Patient ohne nachweisliche Atrophie des Hippocampus mit geringerer kognitiver Reserve. Die kognitive Leistungsfähigkeit und damit zusammenhängend auch die alltagspraktischen Fähigkeiten sind das Produkt einer Vielzahl von krankheitsassoziierten Faktoren.

Die neuen Verfahren der Biomarkerdiagnostik stehen bislang nicht flächendeckend zur Verfügung, während neuropsychologische Verfahren auch weitab von spezialisierten Laboren und Möglichkeiten der Bildgebung anwendbar sind. Es stellt sich bei allen Limitationen der Neuropsychologie also die Frage, welche neuropsychometrischen Verfahren am besten korrelieren mit der zu Grunde liegenden Neuropathologie. Dieses ist von besonderem Interesse in frühen Krankheitsstadien. Die Alzheimer's Disease Cooperative Study konnte zeigen, dass das am besten diskriminierende Verfahren zur Identifikation von amnesic MCI als möglicher Vorstufe einer Alzheimer Demenz, ein Defizit beim Erlernen einer Wortliste ist (Grundman et al. 2004). Im unmittelbaren oder verzögerten Wiedergeben einer Wortliste kann ein Patient schlecht abschneiden, weil eine Abruf- oder weil eine Enkodierstörung vorliegt. Jedoch gilt nur die Enkodierstörung als pathognomisch für die Alzheimer Erkrankung. Während der unmittelbare freie Abruf auch schlecht sein kann, weil ein unspezifisches Abrufdefizit vorliegt, ist das Abrufen unter Hilfestellung mittels eines Schlüssels typischerweise dann gestört, wenn eine Enkodierstörung vorliegt.

In der vorliegenden Arbeit wurden in einer Subgruppenanalyse 185 Patienten aus der MCI Kohorte des Kompetenznetzes Demenzen (n=813) untersucht, bei denen neben einer umfangreichen Testbatterie neuropsychometrischer Verfahren, bestehend aus dem CERAD, dem FCSRT und Wechsler Logical Memory (Kornhuber et al. 2009), zusätzlich eine Gehirnwasseruntersuchung durchgeführt wurde. Die MCI Patienten wurden unterteilt in eine Gruppe mit für die Alzheimer Erkrankung typischem und untypischem Liquorprofil. Folgende Gleichung wurde verwendet um eine Unterscheidung vorzunehmen: $A\beta_{1-42} / 240 + (1,18 \times t\text{-Tau})$. Werte kleiner als 1 wurden als für die Alzheimer Erkrankung typisch angesehen. Bei insgesamt 74 MCI-Patienten aus der Subgruppe konnten AD-typische Werte (CSF AD+) festgestellt werden, während 111 Patienten mit leichter kognitiver Störung einen Wert grösser als 1 und somit als untypisch für die Alzheimer Erkrankung gewertet wurden (CSF AD-). Es konnte festgestellt werden, dass MCI-Patienten mit einem AD-typischen Liquorprofil im Durchschnitt älter und besser gebildet waren, weniger Symptome einer Depression zeigten und häufiger ein APOE-4 Allel trugen. Wie erwartet waren alle drei getesteten Verfahren (CERAD, FCSRT, Wechsler Logical Memory) hoch signifikant ($p < 0.001$) assoziiert mit CSF AD+. Hinsichtlich der Effektstärken zeigte sich jedoch ein deutliches Ergebnis zu Gunsten des FCSRT (FCSRT total recall trial 1-3; $d=0.91$). Demgegenüber erreichten der Wechsler Logical Memory Test ($d=0.74$) und die CERAD Wortliste ($d=0.71$) deutlich geringere Effektstärken. Die Ergebnisse konnten durch zusätzliche Regressionsanalysen bestätigt und gefestigt werden.

Zusammenfassend zeigt die vorgelegte Arbeit, dass der Free and Cued Selective Reminding Test das Verfahren ist, welches am besten mit den AD-typischen Veränderungen im Liquor korreliert. Der FCSRT schneidet in dieser Untersuchung besser ab als die Wortliste aus der CERAD-Testbatterie und ebenfalls besser als der Wechsler Logical Memory Test. Der FCSRT ist das spezifischste neuropsychometrische Verfahren zur Detektion einer Alzheimer Erkrankung im Frühstadium.

2.6 Eine Kombination bestehend aus Galantamin und Memantin modifiziert kognitive Funktionen bei leichter kognitiver Störung

Peters O, Lorenz D, Fesche A, Schmidtke K, Hüll M, Perneckzy R, Rüter E, Möller HJ, Jessen F, Maier W, Kornhuber J, Jahn H, Luckhaus C, Gertz HJ, Schröder J, Pantel J, Teipel S, Wellek S, Frölich L, Heuser I. A combination of galantamine and memantine modifies cognitive function in subjects with amnesic MCI. *J Nutr Health Aging*. 2012;16(6):544-8.

Für die symptomatische Behandlung der Alzheimer Erkrankung sind zwei verschiedene Substanzgruppen zugelassen: Die Acetylcholinesterase-Inhibitoren (AChEI) Donepezil, Galantamin und Rivastigmin und der nicht-kompetitive NMDA-Rezeptor Antagonist Memantin. Der Nutzen der Behandlung eines an Alzheimer Demenz erkrankten Patienten mit einem Antidementivum, so konnte im Rahmen von klinischen Studien gezeigt werden, liegt neben einer möglichen Symptomverbesserung auf verschiedenen Ebenen (Kognition, alltagspraktische Fähigkeiten, etc.), in einer Parallelverschiebung des Krankheitsverlaufes um bis zu einem Jahr.

Folgerichtig kann angenommen werden, dass Antidementiva in den frühesten Stadien einer Alzheimer Erkrankung – im Stadium einer leichten kognitiven Störung (MCI) – eingenommen, zu einer Verzögerung der Zunahme von Defiziten und somit zu einem zeitlichen Hinauszögern der Transgression vom Stadium der leichten kognitiven Störung zu einer Demenz führen. Mehrere klinische Studien haben unter Verwendung der drei AChEI's versucht, diese Hypothese in großen, kontrollierten klinischen Studien zu prüfen: In einer ersten Studie testeten Salloway und Kollegen die Wirkung von Donepezil bei MCI-Patienten. Sie behandelten über einen vergleichsweise kurzen Zeitraum von 24 Wochen und konnten keinen signifikanten Effekt im Hinblick auf die kognitiven und die alltagspraktischen Fähigkeiten feststellen (Salloway et al. 2004). In der InDDEx Studie wurde die Wirkung von Rivastigmin auf Patienten mit MCI über einen deutlich längeren Zeitraum von insgesamt vier Jahren hinweg untersucht (Feldman et al. 2007). Auch hier konnte weder eine signifikante Wirkung auf die kognitiven Fähigkeiten, noch eine Beeinflussung der Transgressionsrate beobachtet werden. Schließlich wurde auch Galantamin im Hinblick auf seine Wirksamkeit bei MCI getestet (Winblad et al. 2008). In zwei großen Multicenterstudien (Gal-Int 11 und 18), welche die Probanden über 24 Monate hinweg untersuchten, konnten erneut keine signifikanten Effekte im Hinblick auf die Übergangsrate vom Stadium des MCI hin zur Demenz beobachtet werden.

Im Rahmen des Kompetenznetzes Demenzen (KND, www.kompetenznetz-demenzen.de) wurden mehr als 2000 Patienten, die sich mit einer Gedächtnisstörung in dem Netzwerk von

psychiatrischen Hochschulambulanzen vorstellten, untersucht (Kornhuber et al. 2009). Patienten, die die Kriterien des MCI nach der Festlegung des KND erfüllten, welche im Wesentlichen den sogenannten Petersen-Kriterien entsprachen (Petersen et al. 2006), wurde angeboten, an einer Placebo-kontrollierten Studie – der MCI-Kombi Studie – teilzunehmen, welche zum Ziel hatte zu überprüfen, ob die Kombination aus Memantin und Galantamin, der alleinigen Gabe von Galantamin im Hinblick auf Kognition und Fortschreiten der Erkrankung überlegen ist. Ein Hinweis darauf, dass die Kombination eines AChEI mit Memantin einen zusätzlichen Nutzen haben könnte, ergab sich, neben der Rationale aus der Addition verschiedener Wirkmechanismen, aus dem Befund, dass die Kombinationstherapie eine Verbesserung bei fortgeschrittener Alzheimer Erkrankung bewirken kann (Tariot et al. 2004).

Über einen Zeitraum von einem Jahr wurden 232 Probanden, die die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten, randomisiert und den drei Behandlungsgruppen zugeteilt. Die Patienten wurden im Rahmen der Operationalisierung des MCI-Konzeptes ausschließlich auf Grund des Syndroms einer nachweislichen Gedächtnisstörung und ungeachtet der vermuteten Ätiologie, welche jedoch zusätzlich erhoben wurde, eingeschlossen. Die Rekrutierung für die MCI-Kombi Studie musste nach einem Jahr beendet werden, weil der Hersteller von Galantamin auf Grund einer temporären Imbalance von schweren unerwünschten Nebenwirkungen (SAE) zu Ungunsten der Behandlung mit Galantamin, welche in den Gal-Int MCI-Studien aufgetreten war, entschied, die Prüfsubstanz nicht länger zur Verfügung zu stellen. In der abschließenden Auswertung der Gal-Int Studien konnte kein signifikant erhöhtes Auftreten von SAE bei MCI festgestellt werden (Winblad et al. 2008).

Die MCI-Kombi Studie konnte auf Grund des vorzeitigen Abbruchs die Hypothese, dass die Kombinationstherapie der Monotherapie mit Galantamin im Hinblick auf die Verzögerung der Transgression zur Demenz überlegen ist, nicht überprüfen. Nur die MCI-Patienten, welche der Gruppe der möglichen Alzheimer Erkrankung zugeordnet wurden, zeigten sechs Monate nach Behandlungsbeginn bessere kognitive Fähigkeiten gemessen an dem kognitiven neuropsychologischen Test ADAS-cog. Das Absetzen der Antidementiva führte bei den MCI-Patienten, die Galantamin erhalten hatten, zu einer vorübergehenden Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten. Die Behandlung der MCI-Patienten mit Galantamin und Memantin war sicher, es gab keine unerwarteten Nebenwirkungen, die ursächlich der Prüfmedikation hätten zugeordnet werden können.

3 Diskussion

Die chronische Neurodegeneration vom Alzheimer Typ ist in den Industrienationen nach ärztlicher Diagnose und Krankheitsstatistiken die häufigste Ursache einer Demenz. Die Anzahl von Demenzkranken wird in den nächsten Jahrzehnten deutlich zunehmen, im Wesentlichen bedingt durch das stetig steigende Durchschnittsalter der Bevölkerung. Mit dem Alter nimmt das Risiko an der sporadischen Form der Alzheimer Erkrankung zu erkranken kontinuierlich zu. Jeder dritte 90-Jährige leidet an einer Demenz. In Deutschland wird mit einer Zunahme der Demenzkranken von ca. 1,2 Millionen im Jahr 2013 auf etwa 2,5 Millionen im Jahr 2050 gerechnet. Besonders betroffen von dem Anstieg sind die ostdeutschen Bundesländer, in denen in vielen Regionen bereits bis 2025 ein Anstieg um 70% prognostiziert wird.

Die Ursachen der Alzheimer Erkrankung sind nicht umfassend geklärt, obwohl einige Mechanismen der Pathophysiologie bereits seit geraumer Zeit bekannt sind, und in Teilen sogar schon vom Namensgeber der Erkrankung beschrieben wurden (Alzheimer 1906). Zu diesen zentralen Mechanismen zählen (1) die Amyloid-Pathologie (Hardy, Selkoe 2002) und (2) die Tau-Pathologie (Stokin et al. 2005). Bereits sehr früh konnte gezeigt werden, dass Veränderungen der Konzentrationen von A β - und Tau-Protein in der Gehirnflüssigkeit von Alzheimerpatienten nachgewiesen werden können (Blennow, Vanmechelen 1998; Sunderland et al. 2003). Bis dato besteht aber ein wissenschaftlicher Dissens über die zeitliche Reihenfolge, also darüber, ob die Amyloid-Pathologie der Tau-Pathologie vorausgeht oder umgekehrt. Diese Frage scheint wesentlich zu beantworten, weil damit auch die Frage nach der alleinigen Ursache geklärt wäre. Es ist aber unklar, ob es eine alleinige Ursache der Alzheimer Erkrankung gibt oder ob es nicht vielmehr immer des Zusammentreffens von verschiedenen Mechanismen bedarf, die sich möglicherweise gegenseitig verstärken und einen sich beschleunigenden, neurodegenerativen Abbauprozess in Gang setzen. In der Überarbeitung eines vielbeachteten mathematischen Modells für die Entstehung der Alzheimer Erkrankung wurde jüngst vermutet, dass sich zu Beginn beide Pathologien voneinander unabhängig entwickeln können: Es könne einen in der Gehirnflüssigkeit unter der Nachweisgrenze bleibenden Anstieg des Mikrotubuli-assoziierten Tau-Protein, als Spiegel eines zunehmenden neuronalen Zellsterbens geben, welcher sich durch eine hinzutretende Störung des Amyloid-Stoffwechsels beschleunige (Jack et al. 2013). Es ist jedoch wahrscheinlich, dass das mathematische Modell, in welchem Tau- und Amyloid-Pathologie der chronischen Neurodegeneration, folgender Atrophie des Gehirnes und kognitiven wie weiteren funktionellen Defiziten vorausgehen, eine Vielzahl von neuropathologischen Kofaktoren bislang nicht zu benennen vermag. Dass Solche existieren und von Bedeutung sind, legt der individuell äußerst unterschiedliche klinische Krankheitsverlauf nahe,

welcher in dem revidierten Modell zwar benannt, aber nicht mit Mechanismen hinterlegt wird (Jack et al. 2013).

Protein-Biomarkerdiagnostik in der Gehirnflüssigkeit

Wichtige Fortschritte im Verständnis um die Ursachen der Entstehung und die Mechanismen des Fortschreitens der chronischen Neurodegeneration vom Alzheimer Typ sind bereits von der Biomarker-Forschung ausgegangen und möglicherweise in einem noch höheren Maß für die Zukunft zu erwarten. Die Biomarker-Diagnostik erlaubt gegenüber der Neuropathologie, welche abgesehen von selten durchgeführten Biopsien, die Erkrankung nur zu einem Meßzeitpunkt *postmortem* erfassen und interindividuell vergleichen kann (Braak, Braak 1995), den Krankheitsverlauf intraindividuell *in vivo* über die Zeit hinweg zu verfolgen. Ein erheblicher Wissenszuwachs in der Forschung im Hinblick auf die Neuropathologie der Alzheimer Erkrankung kann erreicht werden, wenn eine Vielzahl von Parametern vor oder zu Krankheitsbeginn bestimmt und dann der Verlauf der Erkrankung mit diesen korreliert werden kann. So konnte gezeigt werden, dass bei bereits nachweisbaren kognitiven Defiziten im Sinne einer leichten kognitiven Störung (Petersen et al. 2006), eine gleichzeitig vorliegende Amyloid-Stoffwechselstörung zu einem sehr hohen Prozentsatz die Konversion in eine Demenz vorhersagen lässt (Buchhave et al. 2012). Andererseits ist das alleinige Vorliegen einer Amyloid-Stoffwechselstörung, im Sinne eines abgesenkten A β 1-42 im Liquor, oder entsprechender Amyloid-Ablagerungen die mit nuklearmedizinischen Methoden sichtbar gemacht werden können, ohne begleitendes kognitives Defizit nicht aussagekräftig im Hinblick auf den klinischen Verlauf. Es ist inzwischen aus mehreren Studien mit Amyloid-Tracern bekannt, dass bis zu 20% der kognitiv unauffälligen Kontrollpersonen Amyloid-Ablagerungen haben (Vandenberghe et al. 2010; Barthel et al. 2011). Dieser Befund deckt sich auch mit früheren Studien, u.a. der sogenannten Nonnenstudie, die einen entsprechenden Sachverhalt neuropathologisch sichern konnten (Riley et al. 2002). Es ist nicht bekannt, ob überhaupt und wenn ja zu welchem Zeitpunkt isolierte Amyloid-Ablagerungen zu einem chronisch neurodegenerativen Abbauprozess führen. Spiegelbild einer fortschreitenden Neurodegeneration hingegen ist die Menge des in der Gehirnflüssigkeit nachweisbaren Tau-Proteins. Die Menge des Tau-Proteins, welches als Bestandteil der Mikrotubuli freigesetzt wird beim Absterben und Zerfall von Neuronen, korreliert mit der Geschwindigkeit des Fortschreitens des dementiellen Abbauprozesses (van Rossum et al. 2012).

Biomarkerdiagnostik im klinischen Alltag

Die Biomarkerdiagnostik in Form der Analyse von Proteinen im Liquor setzt sich, ungeachtet der erheblichen Bedeutung in der Forschung, bislang nur sehr langsam in der klinischen Diagnostik der versorgenden Medizin durch (Peters, Schipke 2013). Dieses ist auch begründet in dem nicht

flächendeckend vorhandenes Angebot der Frühdiagnostik von kognitiven Störungen, also dem Mangel an spezialisierten niedergelassenen Fachärzten oder akademischen Gedächtnissprechstunden. Ein wesentliches Problem aber sind die praktischen Herausforderungen und technischen Schwierigkeiten bei der Anwendung der Liquordiagnostik, welche nur unter strikter Einhaltung von standardisierten Verfahren durchgeführt werden sollte (Theunissen et al. 2009, del Campo 2012). Die Anwendung der Liquordiagnostik ist auf mehreren Ebenen fehleranfällig, bereits geringe Abweichungen im Vorgehen bei Entnahme, Aufbereitung, Lagerung und Messung der Liquorproben können zu erheblichen Meßwertunterschieden führen (Mattson et al. 2013). Im Rahmen der vorliegenden Habilitationsschrift wurden verschiedene Methoden der Messung von Proteinen im Liquor untersucht und die Frage gestellt, ob die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung vergleichbar sind (Schipke et al. 2011a). Untersucht wurden die antikörperbasierten Nachweisverfahren (ELISA) der Firmen Innogenetics® (A β 1-42 und t-Tau) und IBL® (A β 1-40 und A β 1-42), sowie der Multiplex-Assay von Mesoscale Discovery® (A β 1-40, A β 1-42 und t-Tau). Analog zu den Befunden des Vergleichs zwischen dem ELISA- und dem Luminexsystem von Innogenetics® (Fagan et al. 2011), konnten erneut erhebliche Unterschiede der absoluten Meßwerte festgestellt werden. Die Variabilität der Meßwerte innerhalb der Testsysteme schwankte zwischen 2.1% (A β 1-42, MSD) und 9.2% (A β 1-40, IBL ELISA). Durch die Einführung eines Korrekturfaktors ließen sich jedoch ausreichende bis sehr gute Korrelationskoeffizienten zwischen 0.8 (A β 1-42) und 0.99 (t-Tau) erreichen, so dass geschlussfolgert werden kann, dass auch mit verschiedenen Systemen quantifizierte Biomarker im Liquor miteinander verglichen werden können. Es bedarf allerdings eines Assay-spezifischen Cut-off, welcher vom Hersteller des Meßsystems näherungsweise angegeben und vom Nutzer des Systems überprüft und ggf. angepasst werden muss.

Biomarker-Forschung unter Nutzung von Biobanken

Biobanken werden in vielen Bereichen der medizinischen Forschung zu einer immer wichtiger werdenden wissenschaftlichen Ressource (Simon et al. 2006, Kiehntopf, Böer 2008). Insbesondere im Bereich chronisch-neurodegenerativer Erkrankungen, wie dem Morbus Alzheimer, bei denen es gilt, die komplexen pathophysiologischen Abläufe über lange Zeiträume hinweg zu beobachten, ist Biomaterial welches mit einem klinischen Krankheitsverlauf in Beziehung gesetzt werden kann, ein entscheidender Schlüssel, um klinischen Phänotyp und Neurobiologie zueinander in Beziehung setzen zu können. Das Kompetenznetz Demenzen hat, gefördert vom BMBF, beginnend im Jahr 2003 eine umfangreiche Biomaterialbank von Patienten mit chronisch-neurodegenerativen Erkrankungen aufgebaut. Die Biomaterialbank des KND e.V. umfasst neben Liquor auch Serum, EDTA- und Citrat-Plasma sowie Vollblut von jedem untersuchten Patienten, ggf. auch im Zeitverlauf (Kornhuber et al. 2009). Um diese Ressource auch perspektivisch nutzen zu können, ist von Bedeutung die

Veränderungen, die das eingefrorene Material erfährt, einschätzen zu können. Um einen Hinweis zu erhalten, welche Veränderungen auftreten und ob das Biomaterial auch nach Jahren der Lagerung noch genutzt werden kann, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit Wiederholungsmessungen der Proteine t-Tau, A β 1-40 und A β 1-42 vorgenommen (Schipke et al. 2011b). Bekannt ist, dass die Lagerung von Liquorproben bei Raumtemperatur bzw. oberhalb des Gefrierpunktes, ebenso wie wiederholtes Einfrieren und erneutes Auftauen, das Messergebnis beeinflussen können (Schonenboom et al. 2005, Kaiser et al. 2007, Simonsen et al. 2013). Generell gilt die Meinung, dass Biomaterial möglichst unmittelbar bei -80^o Grad eingefroren und das wiederholte Auftauen und Einfrieren vermieden werden sollte (Theunissen et al. 2009, del Campo et al. 2012). Die Haltbarkeit von Liquorproben bei -80^o Grad wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht. Während für das Tau-Protein und A β 1-42, in einem uni- und in einem multizentrischen Ansatz bei der Verwendung verschiedener Detektionssysteme, hohe Korrelationskoeffizienten erreicht wurden, fiel die Vergleichbarkeit der Ergebnisse für das A β 1-40 demgegenüber deutlich ab. Es konnte beobachtet werden, dass die Proben makroskopisch nach dem Auftauen deutliche Anzeichen für Denaturierung zeigten. Zusammenfassend ist festzustellen, dass auch in bei -80^o Grad eingefrorenen Proben Veränderungen auftreten, welche in ihrem Ausmaß im Hinblick auf die erstmalige Bestimmung neuer Biomarker am besten eingeschätzt werden können, wenn bekannte Biomarker parallel wiederholt bestimmt werden (Schipke et al. 2011b).

Klinischer Nutzen der Amyloid-PET Bildgebung

Die Darstellung der als pathognomonisch für die Alzheimer Erkrankung geltenden Amyloid-Ablagerungen mittels nuklearmedizinischer Verfahren stellt eine bislang noch nicht flächendeckend zur Verfügung stehende Methode dar. Der zunächst entwickelte Kohlenstoff (¹¹C)-basierte Tracer PIB (Klunk et al. 2004) hat auf Grund seiner kurzen Halbwertszeit kein Potential zu einer weiten Verbreitung. In den vergangenen Jahren wurden deswegen insgesamt drei Fluor (¹⁸F)-basierte Tracer (Florbetapir, Flutemetamol und Florbetaben) entwickelt, von denen zum Zeitpunkt des Verfassens dieser Arbeit nur Florbetapir bereits die Hürde der Zulassung durch FDA und EMEA genommen hat. Gegenwärtig finden die neuen Fluor-basierten Tracer im Wesentlichen Einsatz im Rahmen klinischer Phase III Studien mit passiven Antikörpern bei AD (Solanezumab, Ganterumab, Crenezumab) und dienen sowohl der Diagnosesicherung, als auch der Überwachung des Therapieerfolges auf neurobiologischer Ebene. Obwohl die Tracer im Hinblick auf die von ihnen markierten Strukturen nicht identisch sind (Ni et al. 2013), konnte bislang keine Über- oder Unterlegenheit bzw. Vor- oder Nachteile bei verschiedenen Fragestellungen festgestellt werden (Villemagne et al. 2012; Ossenkoppele et al. 2012, Landau et al. 2013). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Frage adressiert, welchen Mehrwert die Methode des Amyloid-Imagings am Beispiel des Einsatzes von

Florbetaben für den klinisch tätigen Arzt hat. Diese Frage ist gegenwärtig hypothetisch, weil die Methode noch nicht verfügbar ist und voraussetzt, dass neben der behördlichen Zulassung auch eine Aufnahme der Leistung in den Katalog der Kostenerstatter erfolgt. Ob diese erfolgt, ist aber auch von dem klinischen Nutzen abhängig, welcher im Rahmen der Fragebogenerhebung untersucht wurde. Insbesondere wenn andere Biomarker, wie eine Liquordiagnostik oder eine Glukose-PET Bildgebung nicht regelhaft zur Verfügung standen, was im Rahmen der Phase II Studie der Fall war, wurde den Ergebnissen des Florbetaben-Imagings ein hoher Nutzen beigemessen. Der Wert beschränkte sich bei den Befragten nicht nur auf Diagnosesicherheit, sondern beeinflusste nach Aussage der Teilnehmenden auch die Therapieentscheidungen (Peters et al. 2012). Zukünftige Studien müssen vergleichend klären, welche Biomarkerdiagnostik bezogen auf das Amyloid Anwendung finden sollte. Beide verfügbaren Methoden, also die Bestimmung des A β im Liquor und das Amyloid-Imaging haben methodische Vor- bzw. Nachteile, die auf Basis der gegenwärtig zur Verfügung stehenden Daten schwer gegeneinander abzuwägen sind und noch nicht abschließend beurteilt werden können.

Alternativen zur Biomarkerdiagnostik

Demenzerkrankungen sind bereits heute sehr häufig und ihre Inzidenz und Prävalenz werden weiter zunehmen. In diesem Kontext bestehen Zweifel, ob in absehbarer Zeit die neuen Methoden der Biomarker-basierten Diagnostik flächendeckend zur Verfügung gestellt werden können. Deswegen besteht nicht nur in der Forschung, sondern auch aus Sicht der medizinischen Versorgung, weiterhin ein großes Interesse an einfachen, überall einsetzbaren Verfahren der Frühdiagnostik. Auf diesem Hintergrund stellt sich die Frage, welche neuropsychologischen Tests im Falle der Alzheimer Erkrankung am besten mit dem neurobiologischen Hintergrund korrelieren. Im Kompetenznetz Demenzen wurde eine Vielzahl von Patienten mit leichten kognitiven Störungen und leichten dementiellen Syndromen untersucht (Kornhuber et al. 2009), bei etwa der Hälfte der Patienten wurde neben der neuropsychologischen Testung auch eine Biomarker-Diagnostik im Liquor durchgeführt (Lewczuk et al. 2008).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde analysiert, welches der angewendeten neuropsychometrischen Verfahren am besten mit der typischen Alzheimer-Signatur im Liquor korreliert. Der Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) setzte sich in der Analyse deutlich gegenüber den alternativen Verfahren (episodisches Gedächtnis, Wortliste CERAD) durch. Dieser Befund ist im Einklang mit dem Befund von Sarazin und Kollegen, welche einen vergleichbaren Sachverhalt feststellen konnten (Sarazin et al. 2007). Beide Publikationen unterstützen die von Dubois geäußerte Hypothese, dass der FCSRT das beste Verfahren zur Früherkennung der Alzheimer Erkrankung darstellt (Dubois et al. 2007, Dubois et al. 2010).

Symptomatische Behandlung der Alzheimer Erkrankung im Frühstadium

Bislang stehen ausschließlich symptomatisch wirksame Medikamente für die Behandlung der Alzheimer Erkrankung zur Verfügung, dabei handelt es sich um die Acetylcholinesterase-Inhibitoren (Galantamin, Donepezil und Rivastigmin), sowie den NMDA-Antagonisten Memantine. Die Wirksamkeit der Kombination der zwei unterschiedlichen Wirkmechanismen wurde sowohl bei unterschiedlichen Demenzstadien als auch bei Patienten mit MCI untersucht. Mit Ausnahme des Einsatzes von Memantine als add-on Therapie zu Donepezil bei schwerer Alzheimer Demenz (MMSE ~ 10 Punkte, Tariot et al. 2004), bei der ein Vorteil über den Verlauf von 24 Wochen gezeigt werden konnte (Tariot et al. 2004), waren placebo-kontrollierte, randomisierte Studien, welche die Wirksamkeit der Kombinationstherapie bei Alzheimer Demenz untersucht haben, im Ergebnis negativ. Eine Überlegenheit der Kombinationstherapie gegenüber der Monotherapie mit einem Acetylcholinesterase-Inhibitor konnte mehrfach nicht belegt werden (Porsteinsson et al. 2008, Peters et al. 2009, Howard et al. 2012). Da es mehrere Studien gibt, deren Ergebnisse nahelegen, dass eine frühzeitige Behandlung der Alzheimer Demenz einen Vorteil gegenüber einem späteren Beginn hat, bestand die Hypothese, dass die Behandlung von MCI-Patienten sinnvoll sein könnte, um den Übergang zur Demenz zu verlangsamen. In drei Studien wurde die Monotherapie mit jeweils einem Acetylcholinesterase-Inhibitor untersucht (Salloway et al. 2004, Feldman et al. 2007, Winblad et al. 2008). Obwohl die Laufzeit der Studien wegen der mangelnden Anzahl an Übergängen zur Demenz teilweise verlängert wurde, konnte ein Einfluss der Therapie auf den Krankheitsverlauf bei MCI-Patienten nicht nachgewiesen werden. Erstmals wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Wirkung der Kombinationstherapie, bestehend aus Galantamin und Memantin, auf kognitive Fähigkeiten und Krankheitsprogression untersucht (Peters et al. 2012). Da die Studie vorzeitig auf Grund von Sicherheitsbedenken abgebrochen werden musste, konnte der mögliche Einfluss auf die Krankheitsprogression nicht beurteilt werden. Interessanterweise war festzustellen, dass nur die MCI-Patienten einen signifikanten, wenn auch vorübergehenden Nutzen bezogen auf die kognitiven Fähigkeiten hatten, welche der Gruppe prodromale Alzheimer Erkrankung klinisch zugeordnet worden waren. Zusammenfassend konnte die Wirksamkeit von symptomatisch wirksamen Substanzen in der Indikation MCI nicht nachgewiesen werden, weshalb ein Einsatz der Antidementiva erst bei manifestem Demenzsyndrom vom Alzheimer Typ zu empfehlen ist.

4 Zusammenfassung

Chronisch neurodegenerative Erkrankungen des Gehirnes, welche zur Demenz führen, werden bislang in der versorgenden Medizin auf Basis von klinischen Informationen und weiteren Untersuchungsergebnissen diagnostiziert. Erst bei Vorhandensein von Symptomen in Form von kognitiven Defiziten erfolgt über das Syndrom eine ätiologische Zuordnung und Diagnose. Es ist jedoch seit geraumer Zeit bekannt, dass chronisch neurodegenerative Erkrankungen einen subklinischen, also klinisch stummen Vorlauf von vielen Jahren bis Jahrzehnten haben. Die Diagnostik chronisch neurodegenerativer Erkrankungen, allen voran die Diagnostik der Alzheimer Erkrankung, hat begonnen sich zu einer Biomarker-gestützten Diagnostik zu entwickeln, welche zunächst gewährleisten soll, in frühen klinischen Krankheitsstadien das oft nicht eindeutige Syndrom ätiologisch zuzuordnen. Mit der Etablierung einer eindeutig interpretierbaren und fehlerfrei einsetzbaren Biomarkerdiagnostik ist zukünftig auch eine ausschließlich auf neurobiologischen Parametern beruhende Diagnose denkbar. Die frühzeitige Erkennung und Diagnose mittels Biomarkerdiagnostik scheint unabdingbar notwendig, um neue kausale Therapieansätze so früh wie möglich und erfolgreich zum Einsatz bringen zu können.

Die in die vorliegende Habilitationsschrift eingeflossenen Publikationen haben einen Beitrag auf dem Weg, eine Biomarker-gestützte Frühdiagnostik der Alzheimer Erkrankung zu etablieren, geleistet. Verschiedene Meßmethoden zur Analyse von Proteinen im Liquor wurden miteinander verglichen und bewertet. Der systematische Vergleich der Meßmethoden ist wichtig, um die Aussagefähigkeit sowie Stärken bzw. Schwächen der verschiedenen Techniken beurteilen zu können. Des Weiteren wurden wiederholte Bestimmungen von Biomarkern im Zeitverlauf bei in einer Biobank gelagerten Proben durchgeführt. Im Ergebnis zeigt sich, dass auch bei niedrigsten Temperaturen noch von Veränderungen über die Zeit ausgegangen werden muss und dass diese Veränderungen Biomarker in unterschiedlichem Maß betreffen. Eine neue Methode der Biomarkerdiagnostik, das bildgebende nuklearmedizinische Verfahren der Sichtbarmachung von Amyloidablagerungen mittels des neuen Tracers Florbetaben wurde untersucht und der Nutzen für die Frühdiagnostik versucht zu beurteilen. Im Ergebnis wird deutlich, dass dem sogenannten Amyloid-Imaging eine hohe diagnostische Sicherheit und ein erheblicher Mehrwert seitens des Kliniklers beigemessen wird. In der Korrelationsanalyse zwischen neuropsychometrischen Testverfahren und Biomarkern konnte festgestellt werden, dass ein besonders auf die Erkennung von Enkodierstörungen optimiertes Verfahren am besten mit den für die Alzheimer Erkrankung typischen Biomarkern korreliert. Schließlich wurde die Wirkung von zugelassenen Antidementiva auf die kognitiven Fähigkeiten von Patienten mit möglicher Alzheimer Erkrankung untersucht und gefunden, dass ein kurzzeitiger Nutzen festgestellt werden kann, ohne dass ein langfristiger Nutzen hätte belegt werden können.

5 Literaturangaben

Alzheimer A. Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozeß der Hirnrinde. Neurologisches Centralblatt 1906; 23: 1129-36.

Barthel H, Gertz HJ, Dresel S, Peters O, Bartenstein P, Buerger K, Hiemeyer F, Wittemer-Rump SM, Seibyl J, Reiningner C, Sabri O; Florbetaben Study Group. Cerebral amyloid- β PET with florbetaben (18F) in patients with Alzheimer's disease and healthy controls: a multicentre phase 2 diagnostic study. *Lancet Neurol.* 2011 May;10(5):424-35.

Birks J. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Jan 25;(1):CD005593. Review.

Blennow K, Vanmechelen E. Combination of the different biological markers for increasing specificity of in vivo Alzheimer's testing. *J Neural Transm Suppl.* 1998; 53:223-35.

Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2003 Oct;2(10):605-13. Review.

Braak H, Braak E. Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging.* 1995 May-Jun;16(3):271-8; discussion 278-84.

Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin AK, Blennow K, Hansson O. Cerebrospinal fluid levels of β -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Arch Gen Psychiatry.* 2012 Jan; 69(1):98-106.

Clark CM, Pontecorvo MJ, Beach TG, Bedell BJ, Coleman RE, Doraiswamy PM, Fleisher AS, Reiman EM, Sabbagh MN, Sadowsky CH, Schneider JA, Arora A, Carpenter AP, Flitter ML, Joshi AD, Krautkramer MJ, Lu M, Mintun MA, Skovronsky DM; AV-45-A16 Study Group. Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid- β plaques: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 2012 Aug;11(8):669-78.

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* 2007 Aug; 6(8):734-46. Review.

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Cummings JL, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Delacourte A, Frisoni G, Fox NC, Galasko D, Gauthier S, Hampel H, Jicha GA, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Sarazin M, de Souza LC, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol.* 2010 Nov; 9(11):1118-27.

Fagan AM, Shaw LM, Xiong C, Vanderstichele H, Mintun MA, Trojanowski JQ, Coart E, Morris JC, Holtzman DM. Comparison of analytical platforms for cerebrospinal fluid measures of β -amyloid 1-42, total tau, and p-tau181 for identifying Alzheimer disease amyloid plaque pathology. *Arch Neurol.* 2011 Sep;68(9):1137-44

Grundman M, Petersen RC, Ferris SH, Thomas RG, Aisen PS, Bennett DA, Foster NL, Jack CR Jr, Galasko DR, Doody R, Kaye J, Sano M, Mohs R, Gauthier S, Kim HT, Jin S, Schultz AN, Schafer K, Mulnard R, van Dyck CH, Mintzer J, Zamrini EY, Cahn-Weiner D, Thal LJ; Alzheimer's Disease Cooperative Study. Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials. *Arch Neurol*. 2004 Jan;61(1):59-66.

Hansen RA, Gartlehner G, Webb AP, Morgan LC, Moore CG, Jonas DE. Efficacy and safety of donepezil, galantamine, and rivastigmine for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Interv Aging*. 2008;3(2):211-25. Review.

Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002 Jul 19;297(5580): 353-6.

Herholz K, Ebmeier K. Clinical amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2011 Jul; 10(7):667-70.

Howard R, McShane R, Lindesay J, Ritchie C, Baldwin A, Barber R, Burns A, Denning T, Findlay D, Holmes C, Hughes A, Jacoby R, Jones R, Jones R, McKeith I, Macharouthu A, O'Brien J, Passmore P, Sheehan B, Juszcak E, Katona C, Hills R, Knapp M, Ballard C, Brown R, Banerjee S, Onions C, Griffin M, Adams J, Gray R, Johnson T, Bentham P, Phillips P. Donepezil and memantine for moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2012 Mar 8;366(10):893-903.

Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, Shaw LM, Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Lesnick TG, Pankratz VS, Donohue MC, Trojanowski JQ. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol*. 2013 Feb;12(2):207-16.

Johnson KA, Sperling RA, Gidicsin CM, Carmasin JS, Maye JE, Coleman RE, Reiman EM, Sabbagh MN, Sadowsky CH, Fleisher AS, Murali Doraiswamy P, Carpenter AP, Clark CM, Joshi AD, Lu M, Grundman M, Mintun MA, Pontecorvo MJ, Skovronsky DM; AV45-A11 study group. Florbetapir (F18-AV-45) PET to assess amyloid burden in Alzheimer's disease dementia, mild cognitive impairment, and normal aging. *Alzheimers Dement*. 2013 Jan 30. pii: S1552-5260(12)02517-4.

Feldman HH, Ferris S, Winblad B, Sfikas N, Mancione L, He Y, Tekin S, Burns A, Cummings J, del Ser T, Inzitari D, Orgogozo JM, Sauer H, Scheltens P, Scarpini E, Herrmann N, Farlow M, Potkin S, Charles HC, Fox NC, Lane R. Effect of rivastigmine on delay to diagnosis of Alzheimer's disease from mild cognitive impairment: the InDDEx study. *Lancet Neurol*. 2007 Jun; 6(6):501-12.

Kaiser E, Schönknecht P, Thomann PA, Hunt A, Schröder J. Influence of delayed CSF storage on concentrations of phospho-tau protein (181), total tau protein and beta-amyloid (1-42). *Neurosci Lett*. 2007 May 1;417(2):193-5.

Kiehntopf M, Böer K. Biomaterialbanken – Checkliste zur Qualitätssicherung. 1. Auflage, 201 Seiten, Februar 2008, ISBN 978-3-939069-56-0

Klunk WE, Debnath ML, Pettegrew JW. Development of small molecule probes for the beta-amyloid protein of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 1994 Nov-Dec;15(6):691-8.

Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergström M, Savitcheva I, Huang GF, Estrada S, Ausén B, Debnath ML, Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, Långström B. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol*. 2004 Mar; 55(3):306-19.

Kornhuber J, Schmidtke K, Frolich L, Pernecky R, Wolf S, Hampel H, Jessen F, Heuser I, Peters O, Weih M, Jahn H, Luckhaus C, Hüll M, Gertz HJ, Schröder J, Pantel J, Rienhoff O, Seuchter SA, Rütger E, Henn F, Maier W, Wiltfang J. Early and differential diagnosis of dementia and mild cognitive impairment: design and cohort baseline characteristics of the German Dementia Competence Network. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2009; 27(5):404-17.

Landau SM, Breault C, Joshi AD, Pontecorvo M, Mathis CA, Jagust WJ, Mintun MA; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Amyloid- β imaging with Pittsburgh compound B and florbetapir: comparing radiotracers and quantification methods. *J Nucl Med*. 2013 Jan;54(1):70-7.

Lewczuk P, Kornhuber J, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Esselmann H, Bibl M, Wolf S, Otto M, Reulbach U, Kölsch H, Jessen F, Schröder J, Schönknecht P, Hampel H, Peters O, Weimer E, Pernecky R, Jahn H, Luckhaus C, Lamla U, Supprian T, Maler JM, Wiltfang J. Multiplexed quantification of dementia biomarkers in the CSF of patients with early dementias and MCI: a multicenter study. *Neurobiol Aging*. 2008 Jun;29(6):812-8.

Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Carrillo MC, Collins S, Chalbot S, Cutler N, Dufour-Rainfray D, Fagan AM, Heegaard NH, Robin Hsiung GY, Hyman B, Iqbal K, Lachno DR, Lleó A, Lewczuk P, Molinuevo JL, Parchi P, Regeniter A, Rissman R, Rosenmann H, Sancesario G, Schröder J, Shaw LM,

McShane R, Areosa Sastre A, Minakaran N. Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Apr 19;(2):CD003154. Review.

Morgan S, Kemp P, Booij J, Costa DC, Padayachee S, Lee L, Barber C, Carter J, Walker Z. Differentiation of frontotemporal dementia from dementia with Lewy bodies using FP-CIT SPECT. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012 Nov;83(11):1063-70.

Ni R, Gillberg PG, Bergfors A, Marutle A, Nordberg A. Amyloid tracers detect multiple binding sites in Alzheimer's disease brain tissue. *Brain*. 2013 Jul;136(Pt 7):2217-27.

Ossenkoppele R, Tolboom N, Foster-Dingley JC, Adriaanse SF, Boellaard R, Yaqub M, Windhorst AD, Barkhof F, Lammertsma AA, Scheltens P, van der Flier WM, van Berckel BN. Longitudinal imaging of Alzheimer pathology using [11C]PIB, [18F]FDDNP and [18F]FDG PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012 Jun;39(6):990-1000.

Peters O, Schmidtke K, Hüll M, Rütger E, Teipel S, Möller HJ, Jessen F, Maier W, Kornhuber J, Kurz A, Luckhaus C, Frölich L, Heuser I. The efficacy of galantamine and memantine in mild to moderate Alzheimer's disease. Oral presentation. ICAD 2009

Peters O, Schipke CG, Heuser I, Grimmer T, Sabbagh MN, Sabri O, Hock C, Kunz M, Kuhlmann J, Reininger C, Blankenburg M. Impact of beta-amyloid-specific florbetaben PET imaging on confidence in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2012; 33(6):416-22.

Peters O, Lorenz D, Fesche A, Schmidtke K, Hüll M, Pernecky R, Rüter E, Möller HJ, Jessen F, Maier W, Kornhuber J, Jahn H, Luckhaus C, Gertz HJ, Schröder J, Pantel J, Teipel S, Wellek S, Frölich L, Heuser I. A combination of galantamine and memantine modifies cognitive function in subjects with amnesic MCI. *J Nutr Health Aging*. 2012; 16(6):544-8.

Peters O, Schipke CG. Liquordiagnostik bei Demenzen. *Nervenheilkunde* 2013. in press

Petersen RC, Parisi JE, Dickson DW, Johnson KA, Knopman DS, Boeve BF, Jicha GA, Ivnik RJ, Smith GE, Tangalos EG, Braak H, Kokmen E. Neuropathologic features of amnesic mild cognitive impairment. *Arch Neurol*. 2006 May; 63(5):665-72.

Porsteinsson AP, Grossberg GT, Mintzer J, Olin JT; Memantine MEM-MD-12 Study Group. Memantine treatment in patients with mild to moderate Alzheimer's disease already receiving a cholinesterase inhibitor: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Curr Alzheimer Res*. 2008 Feb;5(1):83-9.

Riley KP, Snowden DA, Markesbery WR. Alzheimer's neurofibrillary pathology and the spectrum of cognitive function: findings from the Nun Study. *Ann Neurol*. 2002 May;51(5):567-77.

Rowe CC, Ackerman U, Browne W, Mulligan R, Pike KL, O'Keefe G, Tochon-Danguy H, Chan G, Berlangieri SU, Jones G, Dickinson-Rowe KL, Kung HP, Zhang W, Kung MP, Skovronsky D, Dyrks T, Holl G, Krause S, Friebe M, Lehman L, Lindemann S, Dinkelborg LM, Masters CL, Villemagne VL. Imaging of amyloid beta in Alzheimer's disease with 18F-BAY94-9172, a novel PET tracer: proof of mechanism. *Lancet Neurol*. 2008 Feb;7(2):129-35.

Salloway S, Ferris S, Kluger A, Goldman R, Griesing T, Kumar D, Richardson S; Donepezil 401 Study Group. Efficacy of donepezil in mild cognitive impairment: a randomized placebo-controlled trial. *Neurology*. 2004 Aug 24; 63(4):651-7.

Sarazin M, Berr C, De Rotrou J, Fabrigoule C, Pasquier F, Legrain S, Michel B, Puel M, Volteau M, Touchon J, Verny M, Dubois B. Amnesic syndrome of the medial temporal type identifies prodromal AD: a longitudinal study. *Neurology*. 2007 Nov 6;69(19):1859-67.

Schipke CG, Prokop S, Heppner FL, Heuser I, Peters O. Comparison of immunosorbent assays for the quantification of biomarkers for Alzheimer's disease in human cerebrospinal fluid. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2011a; 31(2):139-45.

Schipke CG, Jessen F, Teipel S, Luckhaus C, Wiltfang J, Esselmann H, Frölich L, Maier W, Rüter E, Heppner FL, Prokop S, Heuser I, Peters O. Long-term stability of Alzheimer's disease biomarker proteins in cerebrospinal fluid. *J Alzheimers Dis*. 2011b; 26(2):255-62.

Simon JW, Paslack R, Robiński J, Goebel JW, Krawczak M. Biomaterialbanken – Rechtliche Rahmenbedingungen. 1. Auflage, 240 Seiten, September 2006, ISBN 978-3-939069-14-0

Simonsen AH, Bahl JM, Danborg PB, Lindstrom V, Larsen SO, Grubb A, Heegaard NH, Waldemar G. Pre-analytical factors influencing the stability of cerebrospinal fluid proteins. *J Neurosci Methods*. 2013 May 15;215(2):234-40.

Stokin GB, Lillo C, Falzone TL, Bruschi RG, Rockenstein E, Mount SL, Raman R, Davies P, Masliah E, Williams DS, Goldstein LS. Axonopathy and transport deficits early in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Science*. 2005 Feb 25;307(5713):1282-8.

Sunderland T, Linker G, Mirza N, Putnam KT, Friedman DL, Kimmel LH, Bergeson J, Manetti GJ, Zimmermann M, Tang B, Bartko JJ, Cohen RM. Decreased beta-amyloid1-42 and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *JAMA*. 2003 Apr 23-30;289(16):2094-103.

Tariot PN, Farlow MR, Grossberg GT, Graham SM, McDonald S, Gergel I; Memantine Study Group. Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004 Jan 21; 291(3):317-24.

Teunissen CE, Petzold A, Bennett JL, Berven FS, Brundin L, Comabella M, Franciotta D, Frederiksen JL, Fleming JO, Furlan R, Hintzen RQ, Hughes SG, Johnson MH, Krasulova E, Kuhle J, Magnone MC, Rajda C, Rejda K, Schmidt HK, van Pesch V, Waubant E, Wolf C, Giovannoni G, Hemmer B, Tumani H, Deisenhammer F. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking. *Neurology*. 2009 Dec 1;73(22):1914-22.

Teunissen CE, Trojanowski JQ, Vanderstichele H, Vandijck M, Verbeek MM, Zetterberg H, Blennow K, Käser SA; Alzheimer's Association QC Program Work Group. CSF biomarker variability in the Alzheimer's Association quality control program. *Alzheimers Dement*. 2013 May; 9(3):251-61.

Thiele F, Young S, Buchert R, Wenzel F. Voxel-based classification of FDG PET in dementia using inter-scanner normalization. *Neuroimage*. 2013 Aug 15;77:62-9.

Vandenberghe R, Van Laere K, Ivanoiu A, Salmon E, Bastin C, Triau E, Hasselbalch S, Law I, Andersen A, Korner A, Minthon L, Garraux G, Nelissen N, Bormans G, Buckley C, Owenius R, Thurfjell L, Farrar G, Brooks DJ. 18F-flutemetamol amyloid imaging in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: a phase 2 trial. *Ann Neurol*. 2010 Sep; 68(3):319-29.

van Rossum IA, Visser PJ, Knol DL, van der Flier WM, Teunissen CE, Barkhof F, Blankenstein MA, Scheltens P. Injury markers but not amyloid markers are associated with rapid progression from mild cognitive impairment to dementia in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2012; 29(2):319-27.

Villemagne VL, Mulligan RS, Pejoska S, Ong K, Jones G, O'Keefe G, Chan JG, Young K, Tochon-Danguy H, Masters CL, Rowe CC. Comparison of 11C-PiB and 18F-florbetaben for A β imaging in ageing and Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012 Jun;39(6):983-9.

Wagner M, Wolf S, Reischies FM, Daerr M, Wolfsgruber S, Jessen F, Popp J, Maier W, Hüll M, Frölich L, Hampel H, Pernecky R, Peters O, Jahn H, Luckhaus C, Gertz HJ, Schröder J, Pantel J, Lewczuk P, Kornhuber J, Wiltfang J. Biomarker validation of a cued recall memory deficit in prodromal Alzheimer disease. *Neurology*. 2012 Feb 7; 78(6):379-86.

Walker Z, Costa DC, Walker RW, Shaw K, Gacinovic S, Stevens T, Livingston G, Ince P, McKeith IG, Katona CL. Differentiation of dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease using a dopaminergic presynaptic ligand. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002 Aug;73(2):134-40.

Winblad B, Gauthier S, Scinto L, Feldman H, Wilcock GK, Truyen L, Mayorga AJ, Wang D, Brashear HR, Nye JS; GAL-INT-11/18 Study Group. Safety and efficacy of galantamine in subjects with mild cognitive impairment. *Neurology*. 2008 May 27; 70(22)

Yang Z, Zhou X, Zhang Q. Effectiveness and safety of memantine treatment for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2013 Jan 1;36(3):445-58.

Zhang W, Arteaga J, Cashion DK, Chen G, Gangadharmath U, Gomez LF, Kasi D, Lam C, Liang Q, Liu C, Mocharla VP, Mu F, Sinha A, Szardenings AK, Wang E, Walsh JC, Xia C, Yu C, Zhao T, Kolb HC. A highly selective and specific PET tracer for imaging of tau pathologies. *J Alzheimers Dis*. 2012;31(3):601-12.

Danksagung

Alle vorgelegten Arbeiten sind entweder unmittelbar initiiert durch das Kompetenznetz Demenzen durchgeführt worden oder wurden möglich durch die Voraussetzungen die das Kompetenznetz Demenzen mit seiner Förderung durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung geschaffen hat.

Mein ausdrücklicher Dank gilt allen Patienten, Angehörigen und gesunden Kontrollpersonen, die an den klinischen Studien mitgewirkt haben.

Mein besonderer Dank gilt der Direktorin der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité-CBF, Frau Prof. Dr. Isabella Heuser, die mir die Möglichkeit gegeben hat neben der klinischen Ausbildung im Fach Psychiatrie und Psychotherapie, die Gedächtnissprechstunde der Klinik zu leiten und im Rahmen des Kompetenznetzes Demenzen zu arbeiten.

Weiterhin danken möchte ich den vielen Kollegen und Mitarbeitern der Zentren des Kompetenznetzes Demenzen, insbesondere den Mitgliedern des Vorstandes: Herrn Prof. Wolfgang Maier, Herrn Prof. Johannes Kornhuber, Herrn Prof. Lutz Frölich, Herrn Prof. Jens Wiltfang und Herrn Prof. Eckart Rüter.

Danken möchte ich desweiteren auch den Kolleginnen und Kollegen der psychiatrischen Klinik Eschenallee, insbesondere Frau Dr. Carola Schipke, Frau Dr. Brigitte Haas, Herrn Dr. Klaus-Peter Kühl und Frau Dipl.-Psych. Doreen Lorenz, für die über die Jahre hinweg kollegiale und unterstützende Zusammenarbeit.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabilOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Datum

Dr. Oliver Peters