

## 7. Zusammenfassung

Zwei Drittel aller Demenzpatienten weltweit leiden an Alzheimer-Demenz. Die Diagnose dieser Erkrankung erfolgt über Ausschluss anderer Demenzursachen und kann mit absoluter Sicherheit erst nach dem Tod des Patienten durch den histopathologischen Nachweis der Alzheimer-typischen Amyloid-Plaques, der Neurofibrillenbündel und einer fortgeschrittenen Neurodegeneration gestellt werden. Ein krankheitsspezifischer Biomarker aus dem Blut bzw. der Cerebrospinalflüssigkeit könnte eine genaue und frühzeitige Diagnose ermöglichen, steht jedoch bisher nicht zur Verfügung. Neuropeptide und Peptidhormone spielen im zentralen Nervensystem eine wichtige signalgebende und regulatorische Rolle und können bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie der Alzheimer-Demenz, pathophysiologischen Veränderungen unterliegen. Deshalb könnten diese Peptide potenzielle Biomarker für die Diagnose von Morbus Alzheimer darstellen. Die Detektion der reifen Neuropeptide und Peptidhormone, wie Substanz P, Enkephalin und Calcitonin, in Körperflüssigkeiten ist aufgrund ihrer geringen Stabilität, ihrer meist nur lokalen Wirkung und dem Vorhandensein spezifischer Bindeproteine nur bedingt möglich. Dieses Problem kann durch die Detektion der sehr viel stabileren Vorstufenmoleküle bzw. deren Fragmente als Surrogatmoleküle der biologisch aktiven Peptide umgangen werden. Für die Bestimmung von Enkephalinen bzw. Tachykininen, die sich von ihren Vorläufermolekülen Proenkephalin A und Protachykinin A ableiten, existierte eine solche alternative Quantifizierungsmethode noch nicht. Deshalb wurden im Rahmen dieser Arbeit zwei sensitive Sandwich-Immunoassays basierend auf der Chemilumineszenz- und Röhrenbeschichtungstechnik zur Detektion der Proenkephalin A<sub>119-159</sub>- und Protachykinin A<sub>1-37</sub>-Immunreaktivität im Blut und der Cerebrospinalflüssigkeit entwickelt und validiert. Für die Bestimmung der Procalcitoninkonzentration wurde der kommerzielle Sandwich-Immunoassay „PCTsensitiv“ verwendet.

Mit Hilfe dieser Immunoassaysysteme wurde die Expression der Proneuropeptide bzw. Prohormone PENK A<sub>119-159</sub>, PTA<sub>1-37</sub> sowie PCT im Blut und im CSF von augenscheinlich gesunden, nicht kognitiv beeinträchtigten Menschen sowie von Patienten mit primären Demenzerkrankungen, wie Alzheimer-Demenz, frontotemporale Demenz, Demenz mit Lewy-Körperchen und vaskuläre Demenz, und zusätzlich von Patienten mit akuten neuroinflammatorischen Erkrankungen, wie Meningitis und Enzephalitis, quantifiziert. Es konnte festgestellt werden, dass PENK A<sub>119-159</sub> die im Blut und CSF zirkulierende Hauptimmunreaktivität darstellt und in beiden Kompartimenten in messbaren Konzentrationen vorhanden war. Das Molekül ist bei Raumtemperatur in Blut (Serum, Plasma) und CSF für mindestens 48 h stabil. Darüber hinaus

wurde gezeigt, dass die PTA<sub>1-37</sub>-IR in beiden Körperflüssigkeiten identisch ist, jedoch nicht mit dem synthetischen PTA<sub>1-37</sub>-Peptid übereinstimmt. Auch die PTA<sub>1-37</sub>-IR war in messbaren Konzentrationen sowohl im Blut als auch im CSF vorhanden und bei Raumtemperatur im EDTA-Plasma und im CSF, nicht jedoch im Serum, für mindestens 48 h stabil.

Im Blut von Patienten mit primären neurodegenerativen Erkrankungen war kein Unterschied der PENK A<sub>119-159</sub>-, PTA<sub>1-37</sub>- und PCT-Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Personen zu finden. Dagegen zeigte sich, dass sowohl die PENK A<sub>119-159</sub>- als auch die PTA<sub>1-37</sub>-IR im CSF dieser Patienten signifikant erniedrigt und die PCT-Konzentration signifikant erhöht ist. Eine differenzialdiagnostische Unterscheidung der Demenzpatientengruppen war mit keinem der drei potenziellen Biomarkermoleküle möglich. Patienten mit akuter zerebraler Inflammation wiesen überraschend ebenfalls signifikant niedrigere PENK A<sub>119-159</sub>- und PTA<sub>1-37</sub>-Immunreaktivitäten im CSF auf. Wie für die biologisch aktiven Neuropeptide Substanz P und Methionin-Enkephalin im CSF bekannt, konnte auch für PENK A<sub>119-159</sub> und PTA<sub>1-37</sub> eine hochsignifikante Korrelation nicht nur im CSF sondern auch im Blut nachgewiesen werden. Zwischen den beiden Kompartimenten CSF und Blut existiert bei gesunden Menschen ein Konzentrationsgradient von 140:1 für die PENK A<sub>119-159</sub>-IR, von 70:1 für die PTA<sub>1-37</sub>-IR und von 2:1 für PCT. Im Vergleich dazu liegt der höchste bisher bekannte Konzentrationsgradient des  $\beta$ -trace-Proteins bei 34:1. Sowohl der PENK A<sub>119-159</sub>- als auch der PTA<sub>1-37</sub>-Konzentrationsgradient der Demenzpatienten war im Vergleich zu kognitiv unbeeinträchtigten Kontrollprobanden signifikant erniedrigt, wohingegen der PCT-Gradient der Patienten mit primärem Demenzsyndrom im Vergleich zu den Kontrollen signifikant höher war.

Die PENK A<sub>119-159</sub>- und PTA<sub>1-37</sub>-Immunreaktivitäten können als stabile Surrogatmoleküle für die Quantifizierung der biologisch aktiven, aber sehr instabilen Enkephaline und Tachykinin A-Peptide dienen. Des Weiteren liefert die Bestimmung der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Proneuropeptid- bzw. Prohormonfragmente einen Beitrag zur Diagnose von primären neurodegenerativen Demenzerkrankungen, wie der Alzheimer-Demenz, der frontotemporalen Demenz, der vaskulär bedingten Demenz sowie der Demenz mit Lewy-Körperchen. Eine differenzialdiagnostische Unterscheidung dieser Erkrankungsformen konnte hingegen nicht gezeigt werden. Die Konzentrationsgradienten der PENK A<sub>119-159</sub>- und PTA<sub>1-37</sub>-Immunreaktivität zwischen CSF und dem Blut sind deutlich höher als die bisher bekannten Gradienten hirnspezifischer Proteine. Deshalb könnten diese Proneuropeptidfragmente als zusätzliche Marker Kandidaten für eine Dysfunktion der Blut-CSF-Schranke bei neurologischen Erkrankungen, die nicht nur neurodegenerativen Ursprungs sind, in Betracht gezogen werden.