

Neue Wege zur Früherkennung der Alzheimer-Krankheit: »ALzheimer ASSociated Gene« und Biomarker im Blut

E. Kienzl¹, K. A. Jellinger², J. Attems³, B. Janetzky⁴, F. Rattay¹, H. Stachelberger¹, P. Dal-Bianco⁵

¹TUBioMed-Neuroscience, Technische Universität Wien

²Institut für Klinische Neurobiologie, Wien

³Pathologisch-Bakteriologisches Institut, Otto-Wagner-Spital Wien

⁴Klinik für Neurologie, Technische Universität Dresden

⁵Neurologische Universitätsklinik, Medizinische Universität Wien

Zusammenfassung

Einfache, nicht-invasive Testverfahren für eine möglichst frühe diagnostische Abklärung degenerativer Demenzen werden dringend benötigt. Vor allem sind bis jetzt keine validierten extrazerebralen, präklinischen Marker (Serum, Bindegewebe) der Alzheimer-Krankheit (AK) beschrieben worden. Erst in einem späten Stadium mit bemerkbaren Gedächtnisstörungen, die auf einen irreversiblen Verlust von Synapsen und Neuronen hinweisen, ist die klinische Diagnose einer wahrscheinlichen Alzheimer-Krankheit (AK) möglich. Die Bestimmung des Antikörpertiters im Blut gegen ein neu entschlüsselt Protein, das ALZAS-Protein (ALzheimer ASSociated Protein), könnte zur präklinischen Risikoabschätzung der AK beitragen. ALZAS wird am Chromosom 21 in der Region des Amyloid-Vorläuferproteins (APP) exprimiert und enthält u. a. die komplette Sequenz des Amyloid β 1-42 (A β)-Peptids. Im Gehirn von Alzheimer-Patienten lagert es sich innerhalb der Nervenzellen ab. Auch die internationale Grundlagenforschung hat die Frage nach zelltoxischem, löslichen A β aufgegriffen und dazu neue Tiermodelle sowie Nachweisverfahren an lebenden Menschen mittels moderner bildgebender Verfahren entwickelt. Die Pathobiologie der Synapsen, der Zusammenbruch der Zellmembranen, ihre Abhängigkeit von A β und andere nervenzellschädigende Proteinablagerungen wie Phospho-Tau sind aktuelle Fragen. Die Immunmodulation der AK ist ebenfalls von großer Bedeutung. In der frühen, präklinischen Phase ist im Blut von potentiellen Alzheimer-Patienten der ALZAS-Autoantikörper-Titer erhöht, während das ALZAS-Protein nur in späteren klinischen Stadien der AK im Serum detektierbar war. Dieser Biomarker-Test (ELISA) ist derzeit für die klinisch-diagnostische Anwendung in Kooperation mit europäischen Partnern in Entwicklung. Dieses einfache, nicht-invasive Diagnoseverfahren könnte in Zukunft dazu beitragen, die AK bereits vor dem Auftreten der ersten, bereits durch eine irreversible Hirnschädigung bedingten Symptome zu erkennen. Klinische Studien werden derzeit in Memory-Kliniken durchgeführt.

Schlüsselwörter: Demenz, ALZAS-Protein, Biomarker, Plasma, Alzheimer-Krankheit

New methods for an early diagnostic detection of Alzheimer's disease: "Alzheimer Associated Gene" and serum markers

E. Kienzl, K. A. Jellinger, J. Attems, B. Janetzky, F. Rattay, H. Stachelberger, P. Dal-Bianco

Abstract

Simple, non-invasive test methods for an early diagnostic detection of degenerative dementias are urgently needed. However, up to the present, no validated extracerebral preclinical markers (serum, connective tissue) of Alzheimer's disease (AD) have been described. Only in later disease stages, when memory disturbances become evident that indicate an irreversible loss of synapses and neurons, the clinical diagnosis of a probable AD becomes possible.

Recently, a novel gene/protein expressed in elderly patients diagnosed for Alzheimer's disease (AD) was discovered on chromosome 21 within the APP (amyloid precursor protein) region. This protein, ALZAS (ALzheimer ASSociated Protein) with a 79 amino acid sequence, contains the β -amyloid 1-42 fragment (A β), the APP transmembrane signal, and a unique 12 amino acid c-terminal which is not

present in any known allele of the APP. Reverse transcription-PCR revealed the transcript of this protein to be expressed in human AD cortical and hippocampal brain regions as well as in leucocytes derived from Alzheimer patients.

Moreover, the expression of ALZAS is mirrored by a specific autoimmune response. This autoimmune reaction detected in AD patients was found to be directed against the ct-12 end of the ALZAS-peptide and not against the A β -sequence. ELISA-studies from testing plasma revealed highest titers to be found in patients with obviously presymptomatic AD or mild cognitive impairment (MCI) and moderately increased titers in confirmed AD. Low or not detectable anti-ct12 titers characterized healthy age matched subjects or young controls. The antigen, ALZAS protein, could be detected in serum in later clinical stages of AD patients. It is suggested that ALZAS represents an indicator in a dynamic equilibrium between both peripheral and brain degenerative changes thus providing a simple diagnostic blood test.

Key words: dementia, ALZAS protein, biomarker, plasma, Alzheimer's disease

© Hippocampus Verlag 2007

Einleitung

Die demographische Entwicklung der Altersstruktur unserer Gesellschaft lässt künftig einen weiteren, deutlichen Anstieg von Demenzerkrankungen erwarten. Die Prävalenz der Demenzen steigt exponentiell mit dem Alter an. Die AK ist die häufigste degenerative Erkrankung des zentralen Nervensystems. Weniger als 10% der Fälle von AK sind familiär bedingt. Diese hereditären Formen haben zur Identifizierung von bislang drei Genen geführt, deren Mutation der Erkrankung zugrundeliegen kann: Chromosom 14 (Präsenilin I/PSEN1), Chromosom 1 (Präsenilin II/PSEN2) und Chromosom 21 (Amyloid-Vorläuferprotein/APP). Die senile, sporadische (late-onset) Spätform der AK ist mit etwa 90% die häufigste Variante der AK und tritt im Alter um 60 Jahre auf. Apolipoprotein E (ApoE) auf Chromosom 19 scheint hier einer der genetischen Risikofaktoren zu sein. ApoE liegt in drei Isoformen vor, von denen $\epsilon 3$ mit mehr als 75% das häufigste Allel ist. Dagegen ist $\epsilon 4$ ein Risikofaktor, doch weder hinreichend noch notwendig für die AK und ihre klinische Diagnose. Der gemeinsame Nenner, auf den der Effekt der Mutationen oder des Polymorphismus aller vier Gene, die mit der Entstehung der AK assoziiert sind, gebracht werden kann, ist, dass alle die Wahrscheinlichkeit der Entstehung von A β erhöhen [37].

Die Neurodegeneration bei der AK ist durch den Verlust von Synapsen und Neuronen in verschiedenen Hirnregionen gekennzeichnet. Betroffen sind die Projektionsneuronen im limbischen Cortex (Hippocampus, entorhinale Region), in den limbischen Kernen (Amygdala, Septum), den cholinergen, noradrenergen und serotoninergen Kernen im Vorderhirn und Hirnstamm (Nucleus basalis Meynert, Locus coeruleus, Raphekerne) sowie im frontalen, parietalen und temporalen Neocortex, siehe *Jellinger* 2007 [18]. Der Grad der Demenz korreliert mit dem Verlust von Synapsen im frontalen Cortex [34].

Pathogenetische Marker der Alzheimer-Krankheit

Die Diagnose der Alzheimer-Krankheit und die Abgrenzung von anderen Demenzerkrankungen ist aber bis heute proble-

matisch. Erst wenn Gedächtnisstörungen und typische Persönlichkeitsveränderungen bei Patienten auftreten, ist eine Diagnose mit etwa 90% Treffsicherheit möglich. Die meisten Patienten mit AK durchlaufen eine lange präklinische Phase. In diesem Kontext definiert der Begriff »leichte kognitive Beeinträchtigung« (»mild cognitive impairment«, MCI) eine Gruppe von Personen, die ein besonders hohes Risiko haben, eine Demenz zu entwickeln. International gibt es bisher keine validierte klinische Methodik für die Diagnostik präklinischer Demenzstadien. Auch ist für die neuropsychologischen Testverfahren nicht bekannt, ob durch ihren kombinierten Einsatz für den einzelnen Patienten bzw. für bestimmte Untergruppen der MCI der Übergang aus dem Stadium der leichten kognitiven Störung zur Demenz vorhergesagt werden kann [22, 36]. Es fehlen daher zuverlässige Verfahren zur differenzierten Diagnostik, um das Risiko von Demenzerkrankungen frühzeitig zu erkennen und damit die Voraussetzung für eine präventive Therapie zu schaffen. Bisher führten Gewebeuntersuchungen post mortem zu histopathologisch definierten Markern für die Alzheimer-Pathogenese und zur Entwicklung von laboranalytisch messbaren Markersubstanzen im Liquor cerebrospinalis. Unter Ausnutzung aller verfügbaren Verfahren – Klinik, Neuropsychologie, bildgebende (Magnetresonanztomographie, Positronenemissionstomographie) sowie Nachweis von A β - und Tau-Proteinen in Plasma und Liquor – wird die AK heute früher und mit größerer Genauigkeit klinisch diagnostiziert [28]. Die Kombination klinischer, neuropsychologischer und bildgebender Verfahren weist auf bestimmte Untergruppen des MCI hin [9, 32]. Wesentliche Fortschritte für die Beurteilung der AK waren die Erfassung der neuritischen Plaques im Gehirn in drei Stadien (CERAD, Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease [25]) und das Registrieren des Ausbreitungsmusters der Neurofibrillenbündel in sechs fortlaufenden hierarchischen Stadien, beginnend im entorhinalen Cortex des mediobasalen Schläfenlappens (Stadien I–II) mit späterem Übergreifen auf den Hippocampus (Stadien III–IV) und auf die Großhirnrinde (Stadien V–VI) [3, 4] (Abb. 1). Diese beiden Stadieneinteilungen wurden 1995 zu den sog. NIA-RI (National Institute of Aging – Reagan

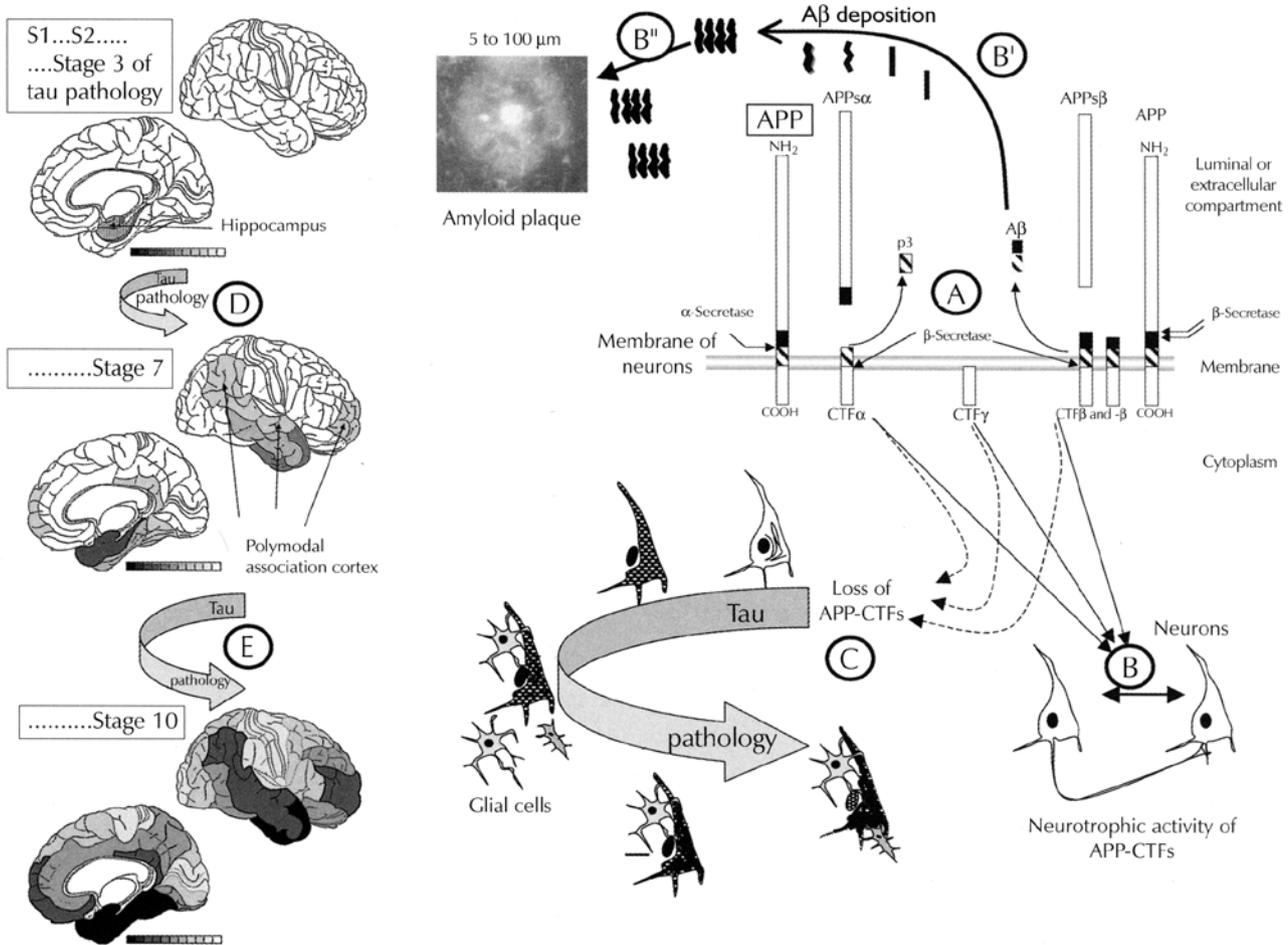


Abb. 1: Modifikation der Amyloidkaskaden-Hypothese mit Stadiengliederung der Tau-Pathologie (links) und möglicher Synergie mit Amyloid-Pathologie bei M. Alzheimer (nach [7])

Institute)-Kriterien kombiniert und ergaben gute Korrelationen von klinischen Daten und pathologischen Befunden zur Diagnose der AK und nicht-dementen Kontrollen. Allerdings erfassen diese Algorithmen nicht alle dementiven Erkrankungen.

Die histochemisch im Hirngewebe Alzheimer-Kranker nachweisbaren senilen Plaques setzen sich hauptsächlich aus proteolytischen Abbauprodukten des physiologischen Amyloid-Vorläuferproteins (APP), den sogenannten β-Amyloidpeptiden (Aβ-Peptiden), zusammen (Abb. 2). Im Liquor von Patienten mit Alzheimer Demenz finden sich niedrigere Werte des Aβ 1-42 Peptids bereits in frühen Krankheitsstadien und weisen gemeinsam mit erhöhtem Liquor-Tau-Proteinen auf kognitive Störungen bereits bei gesunden Senioren hin [10, 15]. Der ursächliche Zusammenhang ist noch nicht abschließend geklärt, es liegt aber wohl nicht nur eine verstärkte Amyloidablagerung in den Plaques vor. Wenngleich ein Anstieg des Plasmaspiegels von Aβ 1-42 bzw. ein erniedrigtes Verhältnis von Aβ 1-42/Aβ 1-40 im Plasma bei alten Menschen auf einen Übergang von kognitiv Gesunden oder MCI zur AK hinweist [14, 35], genügt der Plasma-Aβ 1-42-Gehalt allein nicht als Biomarker für die AK [2], zumal die Plasmaspiegel von Aβ 1-40 und Aβ 1-42 nicht mit jedem

Gehirn übereinstimmen [11]. Auch bei zerebraler Amyloid-angiopathie, amyotropher Lateralsklerose und Lewy-Körperchen-Demenz werden Senkungen des Amyloidspiegels im Liquor beobachtet, bei der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (CJD) eine Dissoziation des Aβ-Peptids [38]. Ein weiteres typisches Merkmal der Alzheimer-Demenz ist die verstärkte Bildung von Fibrillenbündeln in den Neuronen als Folge einer Destabilisierung der neuronalen Mikrotubuli. Das Tau-Protein unterstützt die normale Funktion der zytoskeletalen Mikrotubuli und spielt eine essentielle Rolle beim Transport von Molekülen in der Nervenzelle. Wird Tau phosphoryliert (Phospho-Tau), dann verliert es seine physiologische Funktion in der Zelle. Eine Erhöhung der messbaren Gesamt-Tau-Konzentration im Liquor hat sich als brauchbarer Indikator eines Nervenzelluntergangs erwiesen. Eine Zunahme von Gesamt-Tau oder Phospho-Tau weist gemeinsam mit der Abnahme von Aβ 1-42 im Liquor auf eine AK hin [1, 10, 14, 15, 16, 39] sowie gemeinsam mit dem Vorhandensein des ApoE ε4-Allels auf eine progrediente MCI [17]. Aber auch andere Erkrankungen mit Schädigung der Neuronen (degenerativ, entzündlich, vaskulär, tumorös) können zu erhöhten Tau-Werten führen. Die höchsten Tau-Konzentrationen werden bei der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung und bei

Hirnfarkten beobachtet [6]. Potentielle Biomarker sollen daher nicht nur die Treffsicherheit klinischer Diagnosen verbessern, sondern auch Hinweise auf grundlegende pathobiologische Vorgänge erbringen.

Amyloidkaskaden-Hypothese der Alzheimer-Krankheit: Amyloid Precursor Protein (APP) und Alzheimer Associated Protein (ALZAS)

Das APP ist ein Mitglied einer Familie von in der Evolution konservierten integralen Membranproteinen, das durch die Sequenzierung des A β in den Amyloidablagerungen des AK-Gehirns identifiziert und danach benannt wurde [13]. Auf Chromosom 21 kodieren 19 alternativ zusammengesetzte Exone für das bis zu 770 Aminosäuren lange und 140 kDa große, N-/O-glykosylierte, phosphorylierbare und tyrosinsulfatierbare APP. Es wird ubiquitär und in verschiedenen Isoformen exprimiert, besitzt ein langes extrazelluläres/intravesikuläres N-terminales sowie ein kurzes zytoplasmatisches C-terminales Ende und durchspannt die Membran einmal. Alle Isoformen enthalten die volle A β -Sequenz. Eine APP-Überexpression ist Folge verschiedener Stimuli wie Ischämie, Trauma oder Inflammation in vitro oder wird im transgenen Tiermodell erreicht [21].

Im Gehirn von Alzheimer-Patienten gibt es allerdings keine eindeutigen Hinweise für eine Überexpression von APP. Es kann an verschiedenen Schnittstellen durch α -, β -, und γ -Sekretasen proteolytisch gespalten werden. Neben dem A β -Peptid entstehen bei der Spaltung des APP noch weitere sekretierte Formen, so etwa Carboxy-terminale Fragmente (CTFs), die wichtige neurotrophische und neuroprotektive Eigenschaften zeigen, anterograd in den Axonen transportiert werden und eine funktionelle Bedeutung für die Synapsenbildung aufweisen [24]. Möglicherweise spielt hier der Verlust der neuroprotektiven Eigenschaften von APP-CTF ebenso eine Rolle in der Tau-Pathologie und der Pathogenese der AK (Abb. 1) [8].

Gemäß der Amyloidkaskaden-Hypothese wird angenommen, dass A β 42 die eigentliche neurotoxische Komponente ist. Es wird durch proteolytische Spaltung des APP freigesetzt und aggregiert zu Amyloidablagerungen in neuritischen Plaques und Gefäßwänden (Abb. 2). Andererseits wurde auf den schwachen Zusammenhang zwischen der Amyloidentstehung und der neurologischen Dysfunktion hingewiesen. So finden sich diese Plaques oft weit entfernt von Stellen mit Neuronenverlusten oder bei Individuen ohne Zellverlust und kognitive Einschränkungen. Auch im Tiermodell korrelieren die Amyloidablagerungen nicht unbedingt mit dem Verlust von Synapsen [27]. Jedoch findet sich ein direkter Zusammenhang zwischen Synapsenverlust und löslichem A β , was zur »A β -derived diffusible ligands« (ADDL)-Hypothese führte [20]. Dabei soll es sich um lösliche A β -Abkömmlinge mit hohem toxischen Potential handeln, deren Ursprung aber bisher ungeklärt ist.

In einem alternativen Tiermodell wurde die isolierte Rolle des A β bei der Genese des AK in vivo, ohne Behinderung durch die komplexen Vorgänge bei der Prozessierung von

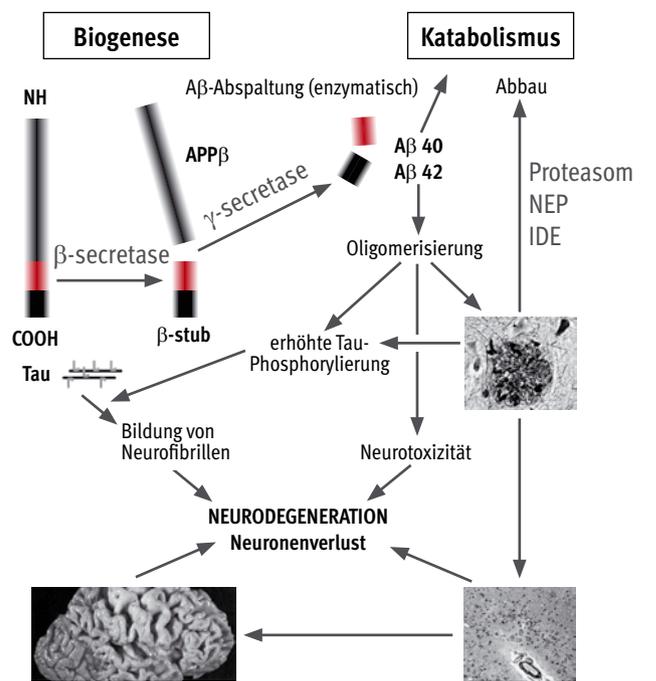


Abb. 2: Schematische Pathogenese der Alzheimer-Krankheit: Ablagerung von A β -Amyloid nach Spaltung des APP und Phosphorylierung am Tau-Protein bis zur Bildung von Plaques, Neurofibrillenbündel und Nervenzellausfall

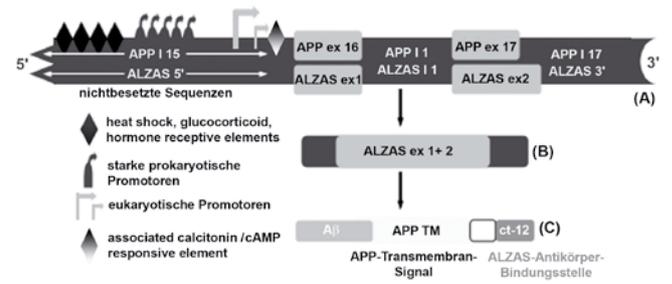


Abb. 3: Schematische Darstellung der Struktur des ALZAS-Gens (A), der mRNA (B) und des Proteins (C) innerhalb des APP-Gens

APP untersucht. Um dieses Ziel zu erreichen, wurde das murine A β unter Kontrolle des NF-L-Promotors gebracht (Promotor des low molecular weight neurofilament-Gens). Transgene Mäuse, welche dieses Konstrukt tragen, weisen signifikante pathologische Veränderungen auf: eine intraneuronale Expression von A β , die zu weitverbreiteter Apoptose und reaktiver Gliose in Hirnregionen und bis zum Tod der Tiere führt. Wird das A β -Peptid jedoch durch Kopplung an ein NCAM-Signalpeptid (neural cell adhesion molecule) in den Extrazellulärraum transportiert, kommt es nicht zu pathologischen Veränderungen. Die intraneuronale Ablagerung von A β scheint daher für die neurotoxischen Eigenschaften von A β primär verantwortlich zu sein und wird als Quelle für die extraneuronale Ablagerung von A β angesehen [29]. Kürzlich konnte durch »disease gene discovery by positional searching« ein neues, bisher unbekanntes A β -Protein beschrieben werden, dessen Gen innerhalb des APP-Gens

liegt und im Gegensatz zu theoretischen Splicevarianten sein Startcodon innerhalb von Exon 16 hat und dessen kodierende Sequenz im Intron 17 endet (Abb. 3). Das ALZAS-Gen konnte aus Gehirngewebe post mortem (Frontaler Cortex, Hippocampus) sowie aus Lymphozyten von Alzheimer-Patienten isoliert werden. Durch Klonierungsmethoden wurde die Genstruktur vollständig aufgeklärt (ALTEGEN Inc., Toronto). Pilotstudien haben gezeigt, dass ein bis zu zehnfach erhöhter ALZAS-Antikörpertiter, der gegen das C-terminale, nicht amyloide Ende dieses Proteins gerichtet ist, bei allen Patienten im Serum nachweisbar war, bei denen eine klinisch manifeste AK angenommen wurde. In diesen Untersuchungen war besonders in den frühen Stadien der Erkrankung ein hoher Antikörpertiter zu finden. Maximalwerte wurden überdies im Serum von Patienten >65 a, u. a. mit der Diagnose »Depression« und noch keinerlei Gedächtnisstörungen, gefunden. In diesem Zusammenhang ist hervorzuheben, dass im Frühstadium der AK bei mehr als der Hälfte der Patienten mit »leichter kognitiver Störung« (»mild cognitive impairment«/MCI) depressive Verstimmung beschrieben wird [19].

ALZAS-Immunhistologie

Die intraneuronale Ablagerung von ALZAS-Protein konnte in 30 Hirnschnitten von postmortal bestätigten Alzheimer-Patienten (Frontaler Cortex u. Hippocampus) mit einem Hühnerantikörper, der mittels Affinitätschromatographie gereinigt wurde, nachweisen. Kontrollen zeigten keine positiven Ergebnisse. Auch einige Kapillaren zeigten eine ALZAS-positive Färbung (Abb. 4).

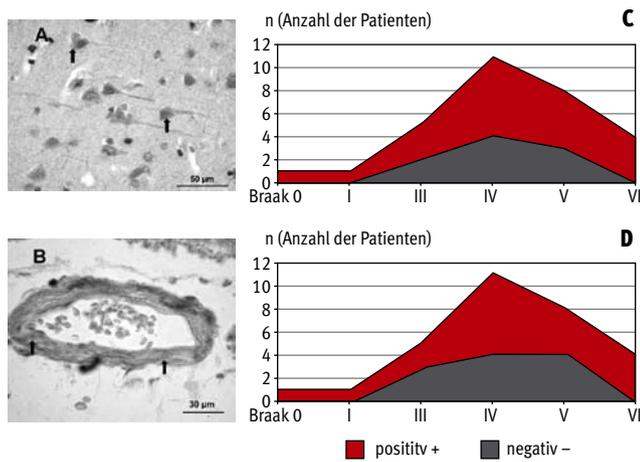


Abb. 4: Immunhistochemie: ALZAS-Färbungen an humanem zerebralen Gewebe. Korrelate zwischen Braak-Stadien und intraneuronalen ALZAS-Protein-Komplexen (A, B) sowie vaskulären ALZAS-Ablagerungen (C, D) im Hippocampus bzw. im Frontalcortex von histopathologisch bestätigtem post mortem-Gewebe von Alzheimer-Patienten

ALZAS-mRNA-Studien

Zur weiteren Verifizierung des postulierten ALZAS-Proteins wurde von unserer Arbeitsgruppe die ALZAS-mRNA eines

Patienten mittels RT-PCR amplifiziert und sequenziert. Die dabei erhaltene Sequenz entsprach der postulierten mRNA-Sequenz mit den APP-Exonen 16 und 17 sowie Teilen der flankierenden Introns APP I 15 und 17.

Eine erste Quantifizierung der ALZAS-mRNA in verschiedenen Geweben mittels quantitativer RT-PCR ergab, dass ALZAS in allen untersuchten Geweben (Lymphozyten, Cortex) transkribiert wird, dass sich jedoch nach einer vorläufigen Auswertung der Ergebnisse scheinbar kein großer Unterschied in der Transkriptionsrate zwischen den untersuchten Patienten und Kontrollen feststellen lässt.

Des Weiteren konnte bereits das ALZAS-Gen in einen induzierbaren Expressionsvektor zur weiteren Transfektion humaner Neuroblastoma-Zellen (SH-SY5Y) kloniert werden.

Trotz des erhöhten ALZAS-AK-Titers bei Alzheimer-Patienten scheint die Transkription in den untersuchten Geweben bei Patienten und Kontrollen mehr oder weniger gleich zu sein und es besteht lediglich ein Unterschied zwischen den Gewebetypen, wobei die höchste Transkription und der geringste Transkriptionsunterschied zwischen ALZAS und APP im Blut zu finden sind. Bisher völlig spekulativ bleibt die Rolle von ALZAS im Zellmetabolismus. Hier ist zu klären, inwieweit ALZAS per se oder in Interaktionen mit seinem »großen Bruder« Aβ42 zu den beobachteten Störungen im Metabolismus und der Proteinaggregation im Gehirn von Alzheimer-Patienten führt. Unbeantwortet ist auch weiterhin die Frage, in welchem Maße eine Expression von ALZAS nötig ist, welche Zellen bevorzugt betroffen sind und wodurch und wann eine potentiell pathogene Expression von ALZAS in Patienten ausgelöst wird. Die Klonierung der ALZAS-Promotorregion in einen Expressionsvektor wird es ermöglichen, Transkriptionsfaktoren zu finden, die selektiv die Genexpression beeinflussen und somit möglicherweise die Pathogenese der AK triggern. So deuten Einzelbeobachtungen an bisher untersuchten Blutproben sowie Sequenzvergleiche der Promotorregion auf eine mögliche hormonelle Beteiligung hin.

ALZAS als Biomarker?

Im Serum von AK-Patienten findet sich eine erhöhte Konzentration von ALZAS-Autoantikörpern. Eine größere Zahl unabhängiger Untersuchungen konnten diesen Befund bei AK-Patienten im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Kontrollpersonen replizieren. Mit einem speziell entwickelten ALZAS-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) werden spezifische Antikörper (IgG) erfasst, die sich ausschließlich gegen das C-terminale Ende richten, das vom Intron-Bereich das Amyloid Precursor Protein (APP)-Gen kodiert (Abb. 5). Wie vorläufige Testergebnisse zeigen, lässt sich auch der Anstieg des ALZAS-Peptids, das offensichtlich als »Autoantigen« fungiert, im Serum in späteren Stadien der AK erfassen (Abb. 6). Allerdings ist die Abgrenzung bzw. Trennschärfe zwischen der AK und anderen dementiellen Erkrankungen noch Gegenstand der Untersuchungen, wie z. B. bei Patienten mit vaskulärer Demenz. In

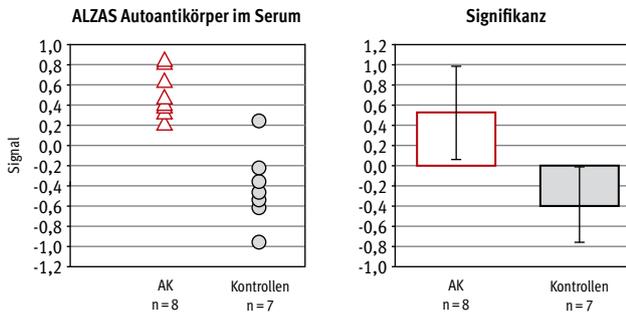


Abb. 5: ELISA-Studien: ALZAS-Antikörper-Nachweis (IgG-Nachweis) im EDTA-Plasma von Alzheimer-Patienten und Kontrollen (Signal: OD 492-620 nm, Optic Density)

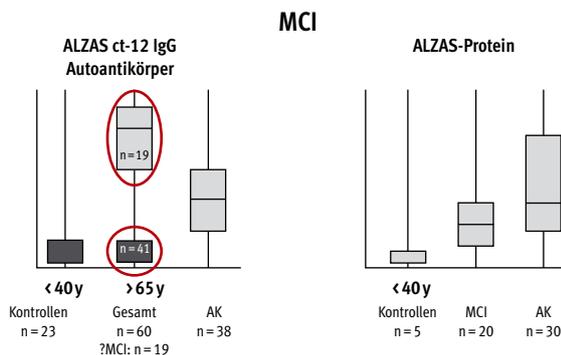


Abb. 6: ALZAS-ct-12 Test: ELISA-Studien-Nachweis von ALZAS-Antikörper (ALZAS IgG) und ALZAS-Protein mit ELISA-Methodik in verschiedenen Stadien der Alzheimer-Krankheit (unveröffentlichte Studie, mit Genehmigung von ALTEGEN Inc., Toronto)

einigen Untersuchungen fand sich eine signifikante Erhöhung von ALZAS IgG bereits bei Patienten mit beginnender Demenz, die in einem neuropsychologischen Screeningverfahren noch oberhalb des Schwellenwertes für eine Demenz lagen. Sogar bei »Risikopatienten« mit einer leichten kognitiven Störung, die im späteren Verlauf eine AK entwickelten, waren bei der Erstuntersuchung erhöhte ALZAS-Werte nachweisbar. Diese Befunde haben eine potentielle Bedeutung für die Frühdiagnose der AK. Eine erhöhte ALZAS-Konzentration könnte bei ersten klinischen Anhaltspunkten für eine AK ein zusätzliches Argument für eine Therapie in einem prädementiellen Stadium sein. Dagegen variieren die Angaben zu Spezifität und Sensitivität von ALZAS-Protein in Abhängigkeit davon, welche Vergleichsgruppen, statistische Verfahren und Grenzwerte gewählt wurden. Dabei ist der Einfluss des Faktors »Alter« mit zu berücksichtigen. Die Erfassung dieser Parameter ist derzeit Gegenstand der weiteren Untersuchungen.

Schlussfolgerung

Bei der Diagnose mittels biochemischer Marker werden Proteine und Stoffwechselprodukte gemessen, deren Konzentrationen in Geweben oder verschiedenen Körperflüssigkeiten

sich im Verlauf der Krankheit ändern. In der Alzheimer-Pathologie muss aber davon ausgegangen werden, dass biochemische Marker möglichst hirnspezifisch sein sollten. Derzeit stehen die am besten im Liquor validierten Biomarker A β - und Tau-Protein im direkten Zusammenhang mit den neurodegenerativen Befunden bei AK-Patienten [39, 5]. Daneben wurden andere mögliche, teils durch Proteomicanalyse entdeckte Biomarker im Liquor erprobt [12, 31, 33]. Als biochemische Plasma-Marker wurden bisher weitere Substanzen untersucht wie Isoprostan, 3-Nitrotyrosin, α 1-Antichymotrypsin, Interleukine, C-reaktives Protein, C1q-Komplementsystem, 24S-Hydroxycholesterol sowie Homocystein. Aber keiner dieser Marker hat die notwendige Sensitivität und Spezifität als klinisches Diagnostikum für die AK erreicht. Zukünftig dürfte die Bestimmung der Autoantikörper im Serum und in den Lymphozyten gegen A β und RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts) erfolgversprechender sein [2, 23, 26]. Daher wird sogar die Frage diskutiert, ob die AK den Autoimmunkrankheiten zuzurechnen wäre [7].

Die ct-12-Aminosäuresequenz (c-terminal immune response-eliciting sequence), die der endogene ALZAS-Antikörper erkennt, macht betroffene Zellen zu Zielscheiben von Mikrogliazellen im Hirngewebe, die somit die Immunreaktion und damit Entzündungsprozesse induzieren, eine Begleiterscheinung der AK. Diskutiert wird in diesem Zusammenhang die Bindung von ALZAS an den RAGE-Rezeptor, der als Amplifizierungs- und Aktivierungsfaktor der Mikroglia fungiert. RAGE erkennt Substanzen, die bei chronisch entzündlichen und altersbedingten Erkrankungen gebildet werden, dazu zählt auch A β . Neueste Studien zeigen, dass bereits der Übergang von MCI in die Alzheimer-Demenz von Entzündungsprozessen begleitet wird [30]. ALZAS als induzierbares Gen dürfte somit ein »missing link« in der Suche nach der Ursache der AK darstellen. Da das ALZAS-Peptid, ebenso wie das APP (Amyloid Precursor Protein), das Transmembran-Signal enthält und somit mit APP um den Einbau in die Zellmembran konkurriert, werden auch Membranschädigungen und axonale Transportprobleme bei der AK erklärbar.

Literatur

1. Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Klafki HW, Sparbier K, Smirnov A, Cepek L, Trenkwalder C, Ruther E, Kornhuber J, Otto M, Wiltfang J: CSF amyloid- β -peptides in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Brain* 2006; 129: 1177-1187
2. Blasko I, Jellinger KJ, Kemmler G, Krampla W, Jungwirth S, Wichart I, Tragl KH, Fischer P: Conversion from cognitive health to mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Prediction by plasma amyloid β -42, medial temporal lobe atrophy and homocysteine. *Neurobiol Aging* 2007; in press
3. Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretschmar H, Del Tredici K: Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol (Berl)* 2006; 112: 389-404
4. Braak H, Braak E: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 1991; 82: 239-259
5. Buerger K, Ewers M, Pirttila T, Zinkowski R, Alafuzoff I, Teipel SJ, DeBernardis J, Kerkman D, McCulloch C, Soininen H, Hampel H: CSF

- phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain* 2006; 129: 3035-41
6. Buerger K, Otto M, Teipel SJ, Zinkowski R, Blennow K, DeBernardis J, Kerkman D, Schroder J, Schonknecht P, Cepek L, McCulloch C, Moller HJ, Wiltfang J, Kretschmar H, Hampel H: Dissociation between CSF total tau and tau protein phosphorylated at threonine 231 in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurobiol Aging* 2006; 27: 10-15
 7. D'Andrea MR: Add Alzheimer's disease to the list of autoimmune diseases. *Med Hypotheses* 2005; 64: 458-463
 8. Delacourte A, Sergeant N, Champain D, Wattez A, Maurage CA, Lebert F, Pasquier F, David JP: Nonoverlapping but synergetic tau and APP pathologies in sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 2002; 59: 398-407
 9. Devanand DP, Pradhaban G, Liu X, Khandji A, De Santi S, Segal S, Rusinek H, Pelton GH, Honig LS, Mayeux R, Stern Y, Tabert MH, de Leon MJ: Hippocampal and entorhinal atrophy in mild cognitive impairment: prediction of Alzheimer disease. *Neurology* 2007; 68: 828-36
 10. Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM: Cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol* 2007; 64: 343-9
 11. Freeman SH, Raju S, Hyman BT, Frosch MP, Irizarry MC: Plasma Abeta levels do not reflect brain Abeta levels. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66: 264-71
 12. Finehout EJ, Franck Z, Choe LH, Relkin N, Lee KH: Cerebrospinal fluid proteomic biomarkers for Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2007; 61: 120-9
 13. Glenner GG, Wong CW: Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 120: 885-890
 14. Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, Boeve BF, Knopman DS, Ivnik RJ, Smith GE, Younkin LH, Petersen RC, Younkin SG: Association of low plasma Abeta42/Abeta40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2007; 64: 354-62
 15. Gustafson DR, Skoog I, Rosengren L, Zetterberg H, Blennow K: Cerebrospinal fluid beta-amyloid 1-42 concentration may predict cognitive decline in older women. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; 78: 461-4
 16. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Andreasson U, Londo E, Minthon L, Blennow K: Prediction of Alzheimer's Disease Using the CSF Abeta42/Abeta40 Ratio in Patients with Mild Cognitive Impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007; 23: 316-20
 17. Herukka SK, Helisalmi S, Hallikainen M, Tervo S, Soininen H, Pirttila T: CSF Aβ-42, Tau and phosphorylated Tau, ApoE ε4 allele and MCI type in progressive MCI. *Neurobiol Aging* 2007; 28: 507-514
 18. Jellinger KA: Alzheimer's disease. In: Gilman S (ed): *Neurobiology of Disease*. Elsevier Academic Press, Amsterdam 2007, 69-82
 19. Kienzl E, Jellinger K, Janetzky B, Steindl H, Bergmann J: A broader horizon of Alzheimer pathogenesis: ALZAS – an early serum biomarker? *J Neural Transm Suppl* 2002: 87-95
 20. Klein WL, Krafft GA, Finch CE: Targeting small Aβ oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum? *Trends Neurosci* 2001; 24: 219-224
 21. LaFerla FM, Tinkle BT, Bieberich CJ, Haudenschild CC, Jay G: The Alzheimer's Aβ peptide induces neurodegeneration and apoptotic cell death in transgenic mice. *Nat Genet* 1995; 9: 21-30
 22. Lehrner J, Gufler R, Guttmann G, Maly J, Gleiss A, Auff E, Dal-Bianco P: Annual conversion to Alzheimer disease among patients with memory complaints attending an outpatient memory clinic: the influence of amnesic mild cognitive impairment and the predictive value of neuropsychological testing. *Wien Klin Wochenschr* 2005; 117: 629-635
 23. Leszek J, Malyszczak K, Bartys A, Staniszewska M, Gamian A: Analysis of serum of patients with Alzheimer's disease for the level of advanced glycation end products. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* 2006; 21: 360-365
 24. Mandelkow EM, Stamer K, Vogel R, Thies E, Mandelkow E: Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 1079-1085
 25. Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, Vogel FS, Hughes JP, van Belle G, Berg L: The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1991; 41: 479-486
 26. Mruthinti S, Buccafusco JJ, Hill WD, Waller JL, Jackson TW, Zamrini EY, Schade RF: Autoimmunity in Alzheimer's disease: increased levels of circulating IgGs binding Aβ and RAGE peptides. *Neurobiol Aging* 2004; 25: 1023-1032
 27. Mucke L, Masliah E, Yu GQ, Mallory M, Rockenstein EM, Tatsuno G, Hu K, Kholodenko D, Johnson-Wood K, McConlogue L: High-level neuronal expression of Aβ 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *J Neurosci* 2000; 20: 4050-4058
 28. The National Institute on Aging, and Reagan Institute Working Group on Diagnostic Criteria for the Neuropathological Assessment of Alzheimer's Disease: Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18 (4 Suppl): 1-2
 29. Oddo S, Caccamo A, Smith IF, Green KN, Laferla FM: A Dynamic Relationship between Intracellular and Extracellular Pools of Aβ. *Am J Pathol* 2006; 168: 184-194
 30. Parachikova A, Agadjanyan MG, Cribbs DH, Blurton-Jones M, Perreau V, Rogers J, Beach TG, Cotman CW: Inflammatory changes parallel the early stages of Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 2006:
 31. Portelius E, Zetterberg H, Andreasson U, Brinkmalm G, Andreassen N, Wallin A, Westman-Brinkmalm A, Blennow K: An Alzheimer's disease-specific beta-amyloid fragment signature in cerebrospinal fluid. *Neurosci Lett* 2006; 409: 215-9
 32. Rossi R, Geroldi C, Bresciani L, Testa C, Binetti G, Zanetti O, Frisoni GB: Clinical and neuropsychological features associated with structural imaging patterns in patients with mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007; 23: 175-183
 33. Simonsen AH, McGuire J, Hansson O, Zetterberg H, Podust VN, Davies HA, Waldemar G, Minthon L, Blennow K: Novel panel of cerebrospinal fluid biomarkers for the prediction of progression to Alzheimer dementia in patients with mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2007; 64: 366-70
 34. Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, Hansen LA, Katzman R: Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 1991; 30: 572-580
 35. van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM: Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study. *Lancet Neurol* 2006; 5: 655-60
 36. Waldemar G, Dubois B, Emre M, Georges J, McKeith IG, Rossor M, Scheltens P, Tariska P, Winblad B: Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol* 2007; 14: 1-26
 37. Walsh DM, Selkoe DJ: Aβ Oligomers – a decade of discovery. *J Neurochem* 2007; 101: 1172-1184
 38. Wiltfang J, Esselmann H, Smirnov A, Bibl M, Cepek L, Steinacker P, Mollenhauer B, Buerger K, Hampel H, Paul S, Neumann M, Maler M, Zerr I, Kornhuber J, Kretschmar HA, Poser S, Otto M: β-Amyloid peptides in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 2003; 54: 263-267
 39. Wiltfang J, Lewczuk P, Riederer P, Grunblatt E, Hock C, Scheltens P, Hampel H, Vanderstichele H, Iqbal K, Galasko D, Lannfelt L, Otto M, Esselmann H, Henkel AW, Kornhuber J, Blennow K: Consensus paper of the WFSBP Task Force on biological markers of dementia: The role of CSF and blood analysis in the early and differential diagnosis of dementia. *World J Biol Psychiatry* 2005; 6: 69-84

Interessenskonflikt:

Der korrespondierende Autor versichert, dass das Thema unabhängig und produktneutral präsentiert wurde. Verbindungen zu einer Firma, die ein genanntes Produkt bzw. ein Konkurrenzprodukt herstellt oder vertreibt, bestehen nicht.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. K. Jellinger
 Institut für Klinische Neurobiologie
 Kenyongasse 18
 A-1070 Wien
 e-mail: kurt.jellinger@univie.ac.at