Aktuelle klinisch-neurochemische Diagnostik der Alzheimer-Krankheit

Current Clinical Neurochemical Diagnosis of Alzheimer's Disease

N. Rösler, I. Wichart, K. A. Jellinger

Zusammenfassung: Die Alzheimer-Krankheit (AK) als die häufigste Ursache einer Demenz im höheren Lebensalter kann klinisch als wahrscheinliche Diagnose gestellt werden, die neuropathologisch bestätigt werden muß. Aktuelle klinisch-neurochemische Messungen zielen darauf ab, die diagnostische Sensitivität, Spezifität, positive und negative prädiktive Werte sowie die diagnostische Effizienz zu verbessern. Punktmutationen auf den Amyloid-Vorläuferprotein- und Präsenilinen sind für etwa 7 % der Krankheitsfälle verantwortlich. Marker in peripheren Körperflüssigkeiten haben bisher im Rahmen der klinisch-neurochemischen Diagnostik keine relevante Bedeutung erlangt. Die meisten Befunde an einer Vielzahl neurobiologisch relevanter Substanzen im lumbalen Liquor cerebrospinalis haben einen zu breiten Überlappungsbereich von Patienten mit AK, Nicht-Alzheimer-Demenzen und neurologischen Kontrollen gezeigt; im Gegensatz dazu erreicht die kombinierte Bestimmung verminderter β -Amyloidpeptid₍₁₋₄₂₎- (Markersubstanz für senile Plaques) und erhöhter Total-Tau-Immunreaktivität (Markersubstanz für Neurofibrillenbündel) die Biomarker-Konsensuskriterien mit einer Sensitivität von 89 % und Spezifität der Abgrenzung von Kontrollpersonen, neurologisch Erkrankten ohne Demenz und Nicht-Alzheimer-Demenzen von 100 %, 90 % und 75 % bei diagnostischer Effizienz von 90 %. Ähnliche Ergebnisse wurden jüngst unter Einbeziehung von hyperphosphoryliertem (Serin-199) Tau mitgeteilt.

Schlüsselwörter: Alzheimer-Krankheit; Biomarker; Diagnose; Liquor cerebrospinalis.

Summary: 'Probable' Alzheimer's disease (AD), the most frequent cause of dementia in the elderly, can be diagnosed clinically, but the definite diagnosis is only possible by morphological examination of the brain. Recent neurobiochemical analyses try to improve sensitivity, specificity, positive and negative predictive

values, and diagnostic efficiency. Mutations of the amyloid precursor protein and presenilin genes are causative for approximately 7 % of all cases. Markers in peripheral body fluids have not yet obtained routine diagnostic value. In lumbar cerebrospinal fluid, many substances have already been investigated, most of the results exhibiting broad overlap areas when comparing AD and several non-AD conditions. Nevertheless, combined evaluation of low β amyloid peptide₍₁₋₄₂₎ (marker of AD plaques) and high total tau immunoreactivities (marker of AD neurofibrillary tangles) approximates current biomarker consensus criteria reaching a sensitivity of 89 %, specificity levels for controls without CNS disease, neurological disorders without dementia, and non-Alzheimer dementias of 100 %, 90 %, and 75 %, respectively, and diagnostic efficiency of 90 %. Recently, similar results were reported investigating levels of tau protein phosphorylated at serine 199.

Keywords: Alzheimer's disease; biomarkers; cerebrospinal fluid; diagnosis.

Wenngleich mehrere wichtige neurobiologische Korrelate der Alzheimer-Krankheit (AK) beschrieben worden sind, liegt eine einheitliche Theorie zur Pathogenese bisher nicht vor, und die Ursache der AK ist letztlich unbekannt [1]. Nach dem aktuellen Kenntnisstand deuten alle Befunde darauf hin, daß die AK keine einzelne Ursache hat; vielmehr führt das Zusammenwirken mehrerer pathogener Faktoren, die zu normalen Altersveränderungen des Gehirns hinzutreten, zur Manifestation des klinischen Syndroms der Alzheimer-Demenz. Demenz ist eine erworbene Störung mehrerer kognitiver Bereiche bei bewußtseinsklaren Patienten vorwiegend mit Gedächtnis- und Denkstörungen, die zur Beeinträchtigung sozialer, beruflicher und anderer Alltagsaktivitäten führen [2]. Die Diagnose von Demenzprozessen erfordert ein schrittweises Vorgehen mit Anamnese, neuropsychiatrischen, neuropsychologischen, bildgebenden und Laboruntersuchungen, die sich auf moderne Konsensuskriterien stützen [2, 3].

Die Prävalenz dementieller Erkrankungen steht in engem Zusammenhang mit dem Lebensalter, das der hauptsächliche Risikofaktor für die AK ist [4]. Etwa

Ludwig-Boltzmann-Institut für klinische Neurobiologie, Wien, Österreich.

Korrespondenz: Univ.-Professor Dr. Kurt A. Jellinger, Ludwig-Boltzmann-Institut für klinische Neurobiologie, Otto-Wagner-Krankenhaus, B-Gebäude, Baumgartner Höhe 1, 1140 Wien, Österreich.

Fax: +43 1 91 060 4 98 62

E-mail: kurt.jellinger@univie.ac.at

1 % der Menschen zwischen 60 und 65 Jahren leiden an einer Demenz, und dieser Anteil steigt bei Menschen, die 85 Jahre oder älter sind, auf 20 % bis 50 % an [5]. Die relative Demenzprävalenz nimmt jenseits des 95. Lebensjahres wieder ab, was vermutlich mit differentiellem Überleben von Personen mit geringer Disposition zu Demenzerkrankungen zusammenhängt. Die Prävalenz der AK jenseits des 55. Lebensjahres liegt bei 7,2 pro 1000 Personenjahre; jenseits des 90. Lebensjahres ist sie bei Frauen häufiger als bei Männern [6].

In den meisten klinischen und neuropathologischen Serien ist die AK mit 65 % bis über 90 % der Fälle die häufigste Ursache einer Demenz im höheren Lebensalter [7]. Sie wird gefolgt von anderen primären Nicht-Alzheimer-Demenzen wie der Lewy-Körperchen-Demenz mit 15–20 % und selteneren primären Formen mit rund 10 %, wie etwa der Frontotemporalen Demenz und der Chorea Huntington. Sie sind von vaskulären Demenzen, Mischformen aus AK und vaskulärer Demenz sowie anderen, teils reversiblen Demenzformen in der Häufigkeit von etwa 1–10 % (z. B. Hydrozephalus, Prionenkrankheiten, zerebrale Raumforderungen, metabolisch-toxische Enzephalopathien, depressive Syndrome mit Pseudodemenz u. a.) abzugrenzen [8].

Nach klinisch-pathologischen Vergleichsserien kann die Diagnose „wahrscheinliche“ AK [9] unter Zuhilfenahme standardisierter klinischer Kriterien insgesamt bei bis zu etwa 90 % der Patienten richtig gestellt werden, wobei dieser Wert bei Betrachtung neuropathologisch untersuchter „reiner“ AK ohne andere Hirnkrankheiten auf etwa 45 % bis unter 80 % sinkt [10]. Der negative prädiktive Wert für AK bei Anwendung dieser Kriterien liegt allerdings bei lediglich 33 % bis 53 % [11]. Da zudem anerkannte spezifische neurobiologische Marker bisher nicht etabliert sind, kann die Diagnose letztlich nach wie vor nicht anders als durch neuropathologische Untersuchung des Gehirns der Erkrankten nach ihrem Tod einwandfrei bestätigt werden. Andererseits werden zunehmend medikamentöse und nicht-medikamentöse therapeutische Möglichkeiten verfügbar oder erprobt, wie z. B. Acetylcholinesterasehemmstoffe, antioxidative, antiinflammatorische und neuroprotektive Pharmaka oder Substanzen, welche die Aggregation des β -Amyloidpeptids beeinflussen sollen [12, 13]. Zudem zeigen die meisten therapeutischen Ansätze in frühen Stadien der Demenz die beste Wirkung, sind dabei aber oft nicht nebenwirkungsarm. Hieraus folgt, daß die Etablierung zuverlässiger *intra vitam*-Marker der Erkrankung auf neurobiochemischem Gebiet immer wichtiger wird; mit ihrer Hilfe könnte es in Zukunft möglich sein, die Diagnose früher zu stellen und therapeutische Effekte im Längsschnitt zu beobachten.

Nach Konsensuskriterien sollen solche Biomarker grundlegende neurobiologische Korrelate der Erkrankung detektieren, an neuropathologisch bestätigten Krankheitsfällen validiert, reliabel, nicht-invasiv, reproduzierbar, nicht kostspielig und einfach auszuführen sein [14].

Die Auswahl relevanter Parameter gliedert sich in genetische, systemische und Marker im Liquor cerebrospinalis und orientiert sich an den hauptsächlichsten neurobiologischen Korrelaten der AK. Diese bestehen in der Synapsenpathologie, der neurofibrillären und neuritischen Degeneration sowie der Amyloidpathologie, weiterhin spielen chronische entzündliche und immunologische Prozesse sowie Veränderungen multipler Transmittersysteme eine bedeutsame Rolle. Die für die Praxis im klinisch-neurochemischen Labor derzeit am besten untersuchten Liquormarker sollen in der vorliegenden Übersicht in einem Schwerpunkt dargestellt werden.

Genetische Marker

Die überwiegende Mehrzahl der AK tritt sporadisch auf. Punktmutationen auf den Chromosomen 1, 14 und 21 mit den Genen für Präsenilin-2, Präsenilin-1 und Amyloid-Vorläufer-Protein (APP) sind demgegenüber bei etwa 7 % der AK wichtig und führen zu einem frühen Beginn der Erkrankung [15]. Mutationen dieser Gene beeinflussen den APP-Stoffwechsel mit gesteigerter Bildung des amyloidogenen $A\beta_{(1-42)}$, was durch Befunde an transgenen Mäusen bestätigt wurde. Der Nachweis von Mutationen des APP- und Präsenilin-1-Gens hat einen hohen Vorhersagewert von nahezu 100 % für die Entwicklung der AK. Praktisch alle bekannten Mutationen von Präsenilin-1 stellen autosomal-dominante „ursächliche“ Gendefekte dar, während Präsenilin-2-Mutationen inkomplett penetrant sind [16]. Beide Gene sind für 30–50 % aller Fälle von AK mit frühem Beginn und rund 5 % aller AK-Fälle verantwortlich. Daher sollte sich ihre Untersuchung und genetische Beratung auf Mitglieder von Familien mit AK mit frühem Beginn vor dem 60./65. Lebensjahr beschränken [14].

Eine Allelvariation des Gens für das Apolipoprotein E (ApoE) hat in den letzten Jahren besondere Beachtung gefunden. Dieses Gen auf Chromosom 19 tritt in den drei Varianten $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$ mit den Genprodukten ApoE2, ApoE3 und ApoE4 auf, die sich in den Aminosäurenresten in Position 112 und 158 sowie in ihren Sekundärstrukturen unterscheiden. In der Bevölkerung ist die Isoform ApoE- $\epsilon 3$ mit einer Allelfrequenz von etwa 80 % weitaus häufiger als ApoE- $\epsilon 4$ mit etwa 10–15 %. Die Allelfrequenz des ApoE- $\epsilon 4$ ist sowohl bei familiärer als auch sporadischer AK erhöht [17]. ApoE-4-Allele senken das Alter bei Krankheitsbeginn um 8–16 Jahre, erhöhen das Erkrankungsrisiko bei einem Allel um das 2–4fache, bei Homozygoten ($\epsilon 4/\epsilon 4$) sogar um das 10–13fache [18]. Eine Erhöhung der Allelfrequenz findet sich allerdings z. B. auch bei vaskulären Demenzformen, bei der Lewy-Körperchen-Demenz, bei kortikobasaler Degeneration, progressiver supranukleärer Lähmung (Steele-Richardson-Olszewski) und Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung. Der Nachweis eines $\epsilon 4$ -Allels zeigt mithin eine zu geringe Sensitivität (65 %)

und Spezifität (62 %), um als einziger diagnostischer Test für die AK verwendet zu werden [19]. In Verbindung mit klinischen Untersuchungen führt jedoch der Nachweis des $\epsilon 4$ -Allels zu einer Verbesserung der diagnostischen Konfidenz um 5–10 % [20], beweist jedoch nicht das Vorliegen einer AK. Es gibt jedoch zahlreiche Patienten mit AK ohne das ApoE- $\epsilon 4$ -Allel ebenso wie nicht-demente ApoE- $\epsilon 4$ -Allelträger. ApoE4 ist somit zwar ein Suszeptibilitäts- oder Risikomarker für AK, im Einzelfall eignet sich jedoch seine isolierte Bestimmung nicht zur Diagnosesicherung [21].

Biologische Marker in peripheren Körperflüssigkeiten

In Thrombozyten wurde ein signifikanter Aktivitätsanstieg der Monoaminoxidase-B bereits in frühen AK-Stadien [22], eine erhöhte Membranfluidität [23] sowie die Abnahme der mitochondrialen Cytochromoxidase C als Hinweis auf oxidativen Streß beobachtet, doch sind hierzu noch zusätzliche Validierungsstudien notwendig [14]. Gleiches gilt für die Abnahme von APP-Isoformen in Thrombozyten [24] und die Zunahme der löslichen Form des eisenbindenden Proteins p97 im Blut [25a]. Im Plasma sind die Konzentrationen des β -Amyloidpeptids ($A\beta$) bei Patienten mit früher AK und Mutationen im APP-, Präsenilin-1- und Präsenilin-2-Gen erhöht, meist ohne Unterschiede zwischen präsymptomatischen und dementen Personen [26]. Der $A\beta$ -Anstieg als vermutlich direkte Genfolge ist bei diesen Formen als früher Marker für die Entwicklung der AK anzusprechen. Bei sporadischen AK-Spätfällen wurde im Plasma zunächst keine Erhöhung von $A\beta_{(1-40)}$ und $A\beta_{(1-42)}$ gegenüber altersgleichen neurologischen Patienten ohne Demenz und Kontrollen gefunden [27], während jüngere Untersuchungen eine Zunahme von $A\beta_{(1-42)}$ bei älteren Personen bereits mehrere Jahre vor Demenzbeginn zeigten [28]. Andere Befunde ergaben eine Korrelation von Alter und $A\beta_{(1-40)}$ und dessen Zunahme bei AK gegenüber Kontrollen, aber keine Beziehung zwischen $A\beta_{(1-40)}$ und $A\beta_{(1-42)}$ zu psychometrischen Skalen. Wegen starker Überlappung zwischen AK und Kontrollen scheint die Messung von $A\beta_{(1-40)}$ im Plasma zur Diagnosestellung nicht geeignet [29]. Eigene (unveröffentlichte) Untersuchungen in einer prospektiven populationsbezogenen Studie an über 75jährigen in Wien (Vita-Studie) zeigen eine statistisch signifikante Korrelation zwischen $A\beta_{1-42}$ und LDL-Cholesterin im Serum, deren diagnostische Bedeutung durch klinisch-neuropsychologische Verlaufskontrollen noch geklärt werden muss. Tau-Proteine, die im Plasma in etwa 20 % bei Dementen und Kontrollen angetroffen werden, zeigen keine Unterschiede zwischen AK und Kontrollen und sind daher ohne diagnostische Aussagekraft [30].

In einer jüngeren Untersuchung wurde die diagnostische Wertigkeit der Konzentrationserniedrigung der Hämoxygenase-1 im Plasma, die die Degradation von

Häm zu Biliverdin katalysiert, mit einer Sensitivität und Spezifität von 88 % bzw. 75 % beschrieben [31]. Weiterhin wurden Konzentrationserhöhungen des Isoprostans 8,12-Iso-iPF 2α -VI als einem Marker der Lipidperoxidation in vivo in Blut, Urin und Liquor erhoben [32]. Auch Erhöhungen des Kallikrein-6 im Blut sind bei AK beschrieben [33]. Diese Beobachtungen bedürfen weiterer Validierung; zusammenfassend gibt es für die Praxis im klinisch-neurochemischen Labor bis jetzt keine Marker in peripheren Körperflüssigkeiten, die Eingang in die diagnostische Evaluation gefunden haben.

Biomarker im Liquor cerebrospinalis

Die klinische Diagnose „wahrscheinliche“ AK kann gestellt werden, wenn alle anderen möglichen Ursachen eines dementiellen Syndroms ausgeschlossen worden sind. Hierzu kann in der klinischen Praxis die Untersuchung des lumbalen Liquor cerebrospinalis, die seit mehr als 100 Jahren eingeführt ist, beitragen, indem sie infektiöse und nicht-infektiöse entzündliche Prozesse des Zentralnervensystems, wie z. B. Borreliosen oder Multiple Sklerose (Encephalomyelitis disseminata), aber auch eine Meningiosis carcinomatosa oder lymphomatosa als Ursache eines dementiellen Syndroms aufdeckt. Zellbild und Differentialzellbild sind bei AK nach allgemeiner Auffassung nicht pathognomonisch verändert [34]. Die Liquorproteinanalyse erlaubt den qualitativen und quantitativen Nachweis intrathekalen Immunglobulinproduktion bei entzündlichen Krankheiten des ZNS, die bei der Differenzialdiagnose der AK ausgeschlossen werden sollen. Qualitative Veränderungen des Immunglobulinmusters können durch isoelektrische Fokussierung nachgewiesen werden, quantitative Veränderungen werden mittels der Liquor/Serum-Quotientendiagramme von IgG, IgA und IgM erfaßt [35]. Ausgeprägtere Erhöhungen des Albuminquotienten als Hinweis auf eine bedeutsame Liquorflußstörung [36] können die Annahme einer AK zunächst nicht erhärten.

Die Indikation zur Liquoruntersuchung bei AK wird in erster Linie zur Ausschlußdiagnostik gesehen. Die lumbale Liquorentnahme bei AK wird zwar im allgemeinen als wünschenswert, weithin aber nicht als notwendig erachtet. Diesbezügliche Empfehlungen legen die Indikation zur Liquoruntersuchung in erster Linie bei Demenz mit akutem oder subakutem Beginn, bei atypischer oder rapide progredienter Initialsymptomatik, bei Personen mit Demenz, die jünger als 55 Jahre alt sind oder bei Verdacht auf Neurosyphilis bzw. eine andere Infektion oder Malignom des ZNS fest [3, 37]. Weiterhin sehen solche Empfehlungen bei Patienten mit Verdacht auf Normaldruckhydrozephalus, Immunsuppression, demyelinisierende Erkrankung oder Vaskulitis eine Liquorentnahme als indiziert an [37].

Andererseits umspült der Liquor cerebrospinalis das Gehirn, und es wird angenommen, daß mehr als ein

Drittel des Liquorvolumens der extrazellulären Flüssigkeit des Gehirns entstammt, so daß das Liquorkompartiment mindestens teilweise in Beziehung zu dortigen Stoffwechselvorgängen stehen kann [38]. Weitere Untersuchungen belegen darüber hinaus, daß die lumbale Liquorentnahme gerade bei älteren Patienten gut verträglich ist [39].

Erst in den letzten Jahren hat es zunehmend erfolgversprechende Bemühungen gegeben, „positive“ Markersubstanzen zur Bekräftigung der Diagnose im lumbalen Liquor cerebrospinalis zu identifizieren. Untersuchungen an Einzelsubstanzen haben bisher in den meisten Fällen die notwendige diagnostische Trennschärfe nicht erreicht. Daher wurde vorgeschlagen, mehrere neurobiologische Markersubstanzen kombiniert zu bestimmen [14].

Synapsen- und Membranpathologie

Die Abnahme der kortikalen und limbischen Synapsendichte ist eng mit dem Auftreten der Alzheimer-Demenz und ihrem klinischen Schweregrad korreliert. Diese Reduktion, die offenbar früh im Verlauf auftritt, mit Verlust von 30 % bis 50 % der Synapsen im frontalen, parietalen und temporalen Kortex mit frühestem Beginn im hippocampalen Gyrus dentatus und im entorhinalen Kortex gilt heute als das primäre morphologische Korrelate der AK [40–42].

Zahlreiche Markersubstanzen sind untersucht worden, beispielsweise sind Konzentrationsveränderungen bei verschiedenen Apolipoproteinen, Cholesterol, Chromogranin A, Gangliosiden, Neuromodulin und Synaptotagmin beschrieben worden [43–45]. Die Überlappungsbereiche zwischen AK und Kontrollen waren jedoch zumeist ausgeprägt. In verschiedenen Untersuchungen, auch aus der eigenen Arbeitsgruppe, fanden sich sowohl unveränderte, erhöhte und erniedrigte Konzentrationen der Gesamt-Apolipoprotein-E-Immunreaktivität bei AK im Vergleich zu den anderen Patientengruppen, in den eigenen Untersuchungen ohne Korrelation zum Lebensalter, zum Albuminquotienten, zur Krankheitsdauer und dem Ergebnis psychopathometrischer Skalen [46–49]. Andere Untersucher fanden hingegen eine signifikante Korrelation von ApoE und A β 1–42 im Liquor mit dem Mini-Mental-Status Score, insbesondere bei Homo- und Heterozygoten, jedoch keine Beziehung zwischen ApoE und A β -1-42 Konzentration, was auf einen unabhängigen Zusammenhang der beiden Marker mit dem kognitiven Abbau schließen lässt (49 a). ApoE trägt im Nervensystem zu Wachstums-, Erhaltungs- und Reparaturvorgängen von Myelin- und Axonmembranen bei und ist damit für die Synaptoneogenese wichtig [50]. Veränderungen der Liquor-ApoE-IR-Konzentrationen bei AK könnten Änderungen der Syntheserate anzeigen. Diese Ansicht wird durch Resultate unterstützt, die eine Erhöhung der ApoE-mRNA in Gehirnen von Patienten mit AK gezeigt haben [51], Ergebnisse, die allerdings von anderen Auto-

ren nicht bestätigt werden konnten [52]. Hypothetisch könnte der Befund einer Konzentrationserhöhung bei unveränderter Syntheserate darauf hindeuten, daß ApoE als Begleiterscheinung gesteigerter oder insuffizienter Synaptoneogenese vermehrt frei im Liquor vorkommt. Für die individuelle Diagnostik bei AK ist die Gesamt-ApoE-IR-Erhöhung von geringerem Wert, da der Überlappungsbereich zu den anderen Patientengruppen breit ist. Eine Gesamt-ApoE-Erhöhung kann jedoch im Einzelfall als Zusatzbefund die Diagnose unterstützen, wenngleich eine fehlende Erhöhung die Erkrankung nicht ausschließt.

Amyloidpathologie

Die intrazelluläre Prozessierung des Amyloid-Vorläufer-Proteins führt zur Bildung zweier β -Amyloidpools, des sezernierten A β _(1–40) und des nichtlöslichen intrazellulären A β _(1–42), das wesentlich an der Bildung der Plaques und neuronalen Schäden beteiligt ist. Mutationen im APP-, Präsenilin-1- und Präsenilin-2-Gen führen zu gesteigerter Bildung von A β und des stärker amyloidogenen und neurotoxischen A β _(1–42), wobei die Menge des löslichen A β -Pools bei der AK auf den dreifachen Wert gegenüber Alterskontrollen ansteigt und durch fortschreitenden Übergang in den nichtlöslichen A β -Pool die Schwere der Neurodegeneration bestimmt [53]. Studien, bei denen entweder die Gesamt- β -Amyloidpeptid- oder die β -Amyloidpeptid_(1–40)-Immunreaktivität gemessen wurde, haben unterschiedliche Befunde ergeben. Während einige Autoren erhöhte bzw. erniedrigte Werte [54, 55] fanden, sahen andere Studien keine Differenz zwischen AK und Vergleichsgruppen ohne Demenz [56, 57]. Seit selektiv die β -Amyloidpeptid_(1–42)-Immunreaktivität bestimmt werden kann, haben Messungen, auch aus der eigenen Arbeitsgruppe, übereinstimmend eine signifikante Erniedrigung der Liquor- β AP_(1–42)-Immunreaktivität gezeigt [49, 58, 59]. Die Spiegel sind überdies niedriger bei Patienten mit zerebraler Amyloidangiopathie [60], auch bei Lewy-Körperchen-Demenz wurde über erniedrigte Werte berichtet [61]. Als Interpretation der Erniedrigung bei AK kommt in erster Linie erhöhte Deposition in senilen Plaques, verminderte Sekretion in den Liquor oder erhöhte Clearance aus dem Liquor in Betracht.

Präanalytisch sollten Polypropylen-Röhrchen benützt werden, da unter Verwendung von Glas- oder Polystyren-Röhrchen artifiziell niedrige A β _(1–42)-Werte beobachtet wurden.

Nach eigenen Untersuchungen unter Verwendung sensitiver und spezifischer nicht-kompetitiver ELISA-Methodik wurden bei einem unteren Normalwert von 375 pg/ml und einer Spezifität von 100 % für die Abgrenzung der AK von der Kontrollgruppe eine Sensitivität von 78 % für die Erkennung von AK und eine Spezifität für die Abgrenzung der AK von Nicht-Alzheimer-Demenzen von 58 % gesehen. Die Spezifität für die Abgrenzung der AK von anderen neurologischen Erkrankungen ohne Demenz lag bei 84 %. Positi-

ve und negative prädiktive Werte für AK lagen bei 50 % bzw. 95 %, die diagnostische Effizienz bei 84 % [49].

Chronische entzündliche bzw. immunologische Prozesse

Bei AK finden sich mehrere Hinweise auf das Vorliegen eines chronischen entzündlichen bzw. immunologischen Prozesses. Konzentrationen z. B. von α_1 -Antichymotrypsin, α_1 -Antitrypsin, Glial fibrillary acidic protein (GFAP), Interferonen, Interleukinen, Komplementkomponenten, α_2 -Makro- und -Mikroglobulin, β_2 -Mikroglobulin und Tumor-Nekrose-Faktoren sind bestimmt und teils unverändert, teils erhöht gemessen worden [62–66]. Besonderes Interesse haben das Zytokin Interleukin-6 (IL-6) als der wichtigste endogene Stimulator der Synthese von Akutphaseproteinen und die Komponenten seines Rezeptorkomplexes gefunden. Bei dem in Plaques und als perineuronaler Randsaum um große kortikale Ganglienzellen herum nachweisbaren IL-6 handelt es sich um ein pathologisches Element bei AK, das in den Gehirnen nicht-dementer Patienten nicht nachgewiesen werden kann [67]. Darüber hinaus ist IL-6 in Plaques bereits vor dem Einsetzen einer neuroinflammatorischen Pathologie nachweisbar, was darauf hindeutet, daß IL-6 ein frühes pathogenetisches Moment ist [68]. IL-6-transgene Mäuse mit zusätzlichen Kopien des IL-6-Gens zeigen ausgeprägte neokortikale neurodegenerative Veränderungen [69]. In eigenen Untersuchungen [70] ergaben sich signifikante Erhöhungen von IL-6 bei Patienten mit AK, Nicht-Alzheimer-Demenzen und verschiedenen anderen neurologischen Erkrankungen ohne Demenz im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Korrelation zum Ergebnis psychometrischer Skalen. Dadurch wird zwar bestätigt, daß sich immunologische Mechanismen in Gehirnen von Patienten mit AK im Liquor cerebrospinalis abbilden; andererseits sind aber die Überlappungsbereiche groß, und Erhöhungen finden sich auch bei Nicht-Alzheimer-Demenzen, so daß hypothetisch der Messung der IL-6-IR Bedeutung zur Einschätzung der immunologischen Krankheitsaktivität bei einzelnen Patienten zukommen könnte. Interessanterweise zeigte die kombinierte Messung der Gesamt-Tau-Immunreaktivität im Liquor und löslichem IL-6-Rezeptorkomplex eine signifikante Verbesserung der Diskrimination im Vergleich zu den Einzelanalysen [71].

Veränderungen an Neurotransmittersystemen

Sowohl zum Kortex projizierende subkortiko-kortikale Bahnen als auch kortiko-kortikale Verbindungen sind bei AK von Veränderungen zentralnervöser Transmittersysteme betroffen. Im wesentlichen zeigen vier der zum Kortex aufsteigenden Projektionssysteme degenerative Veränderungen. Hierzu zählen die im Nucleus

basalis Meynert im basalen Vorderhirn entspringenden cholinergen Projektionen, das vom Nucleus coeruleus ausgehende noradrenerge System, die im Nucleus raphe dorsalis des dorsalen Tegmentum entspringenden serotonergen Bahnen sowie retikuläre Projektionen des Hirnstamms und des Hypothalamus. Es sind bei AK nicht alle genannten Transmittersysteme gleichermaßen verändert; vielmehr ist das cholinerge System am meisten betroffen, gefolgt vom serotonergen System, dem System der exzitatorischen Aminosäuren, dem γ -Aminobuttersäure-(GABA)-ergen System, dem noradrenergen, peptidergen und schließlich dem dopaminergen System [72]. Messungen im Liquor erfassen daher Bestimmungen von klassischen Neurotransmittern und ihren Metaboliten, wie beispielsweise Adrenalin, GABA, Cholin, Acetylcholin, Dopamin, 5-Hydroxyindolessigsäure, Dihydroxyphenylelessigsäure (DOPAC), 3-Methoxy-4-hydroxy-phenylglykol, Noradrenalin, Serotonin und Homovanillinsäure [73–76]. Darüber hinaus wurden verschiedenste Neuropeptide zumeist in erniedrigter Konzentration gemessen, wie z. B. Neuropeptid Y, δ -Schlaf-induzierendes Peptid (DSIP), Somatostatin, Substanz P, Ulinastatin, vasoaktives intestinales Polypeptid (VIP) oder Vasopressin [74, 77–81]. Die Befunde haben jedoch wegen der breiten Überlappungszonen zwischen AK, Nicht-Alzheimer-Demenzen und neurologischen Kontrollen für die Diagnostik im klinisch-neurochemischen Labor bei AK bisher keine Bedeutung erlangt. In einer eigenen Untersuchung fanden sich erhöhte Substanz P-Werte bei AK mit spätem Beginn als möglicher Marker für die Aktivität immunologischer Prozesse oder für die Kapazität Substanz P-erger neuroprotektiver Mechanismen in dieser Krankheitsuntergruppe [82].

Neuritische und neurofibrilläre Degeneration (Tau-Pathologie)

Gemeinsames biochemisches Merkmal neurofibrillärer und neuritischer Degeneration ist das Auftreten einer pathologisch hyperphosphorylierten Form des Mikrotubulus-assoziierten Proteins Tau, das im Gehirn in sechs Isoformen vorkommt. Diese hyperphosphorylierte Form ist der Hauptbestandteil der gepaarten helikalen Filamente, die eine wesentliche Komponente der Alzheimer-Neurofibrillenbündel repräsentieren [83]. Abnorm phosphoryliertes Tau besitzt eine stark reduzierte Tubulinbindungsfähigkeit, wodurch seine physiologische Funktion beeinträchtigt wird, die in der Stabilisierung der axonalen Mikrotubulusstruktur besteht [84]. Es wird diskutiert, daß zwischen abnormer Tau-phosphorylierung und Synapsenverlust ein Zusammenhang besteht, da sich eine quantitative Beziehung zwischen der Ablagerung abnorm phosphorylierter Tau-Proteine und der Abnahme der Synaptophysin-Immunreaktivität im Kortex zeigen läßt [85]. Seit einigen Jahren hat eine Reihe von Untersuchungen, auch aus der eigenen Arbeitsgruppe, übereinstimmend über eine Erhöhung von

Total-Tau-Immunreaktivität (TTIR) bei Patienten mit AK berichtet [86–89]. In einigen Studien wurde auch hyperphosphoryliertes Tau (PHF-Tau) gemessen, und es wurde eine ausgeprägte Korrelation zwischen Tau- und PHF-Tau sowohl bei AK als auch bei Vergleichspersonen gefunden. PHF-Tau war in diesen Untersuchungen bei AK höher als bei vaskulären Demenzen, eine Differenz, die für Gesamt-Tau nicht gefunden wurde [90–92]. Erhöhte Werte wurden jüngst bei Messungen von hyperphosphoryliertem Tau an Position Serin-199 berichtet [93]. Die Liquor-Tau-Erhöhen werden interpretiert durch die Freisetzung von Tau-Protein aus degenerierenden Neuronen in den extrazellulären Raum mit nachfolgender Diffusion in den Liquor und Akkumulation in diesem Kompartiment. In jüngsten Untersuchungen fand sich ein signifikanter Abfall von Tau, das an der Aminosäureposition Threonin-231 phosphoryliert ist, im Längsschnittverlauf mit Zunahme der Demenz [94].

TTIR ist allerdings im Liquor nicht nur bei AK erhöht, sondern auch bei einer Reihe anderer neurologischer Erkrankungen mit und ohne Neurofibrillenbündel [95]. Erhöhte Werte fanden sich neben Erkrankungen, die in der Regel keine klinische Differentialdiagnose zur AK darstellen, auch bei vaskulärer Demenz, AIDS-Demenz-Komplex sowie bei Normaldruckhydrozephalus. Eine ausgeprägte TTIR-Erhöhung ist bei Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung meßbar [96, 97]. Ferner zeigen sich Erhöhungen bei Frontallappen-Demenzen [98], und bei der Lewy-Körperchen-Demenz wurden ähnlich hohe Werte wie bei AK [99] oder normale Werte [100] beschrieben. In eigenen Untersuchungen unter Verwendung sensitiver und spezifischer nicht-kompetitiver ELISA-Methodik fand sich bei einem oberen Normalwert von 445 pg/ml und einer Spezifität von 100 % für die Unterscheidung von AK und Kontrollen eine Sensitivität von 89 % sowie eine Spezifität von 70 % hinsichtlich der Unterscheidung von AK gegenüber Nicht-Alzheimer-Demenzen sowie eine Spezifität von 73 % für die Unterscheidung von AK und anderen neurologischen Erkrankungen ohne Demenz. Positive und negative prädiktive Werte für AK lagen bei 49 % bzw. 97 %, die diagnostische Effizienz bei 85 %. Die fehlende Korrelation zum Ergebnis psychometrischer Testskalen spricht dafür, daß TTIR schon in frühen Stadien der Demenz erhöht sein und also zur Frühdiagnose dienen kann [49].

Befunde an weiteren Substanzen

Eine Vielzahl von Substanzen aus dem Aminosäurestoffwechsel ist bei AK teils in erniedrigter, teils in unveränderter oder erhöhter Konzentration gemessen worden [101–103]. Befunde zum Energiemetabolismus, Lipidperoxidation und zum oxidativen Streß umfassen z. B. Messungen an Eicosanoiden, Glukose, Nitrit und Nitrat sowie Quinolinsäure [104–107]. Neueste Untersuchungen zeigen eine deutliche Erhöhung des Quo-

tienten von 8-Hydroxyguanin, einem Marker der DNA-Oxidation, in intakter DNA im Verhältnis zu freiem 8-Hydroxyguanin [108]. Weiterhin wurden Erhöhungen der F₂-Isoprostane beschrieben [109]. Die Befunde bedürfen weiterer Validierung.

Erhöhungen wie Erniedrigungen verschiedener Enzyme sind beschrieben worden, so z. B. bei Acetylcholinesterase einschließlich glykosylierter Formen, Angiotensin converting enzyme (ACE), Butyrylcholinesterase, Cathepsin D, Dopamin-β-Hydroxylase, Glutathiontransferase, Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase, Neuronspezifische Enolase (NSE) und Superoxiddismutase [110–116]. Weiterhin wurden Erhöhungen der Glutaminsynthetase beschrieben [117]. Verschiedene Metalle und Spurenelemente (z. B. Aluminium, Eisen, Kupfer, Mangan, Selen, Zink) [118, 119] und Vitamine (z. B. Vitamine B₁₂, C und E) [120, 121] sind bei AK im Liquor untersucht worden. Die Ergebnisse haben bisher wegen der großen Überlappungsbereiche oder wegen weiterer nötiger Evaluierungsstudien keinen Eingang in die klinisch-neurochemische Diagnostik gefunden.

Kombinierte Auswertung von Liquor-Biomarkern

Derzeit am besten untersucht ist die kombinierte Auswertung von Aβ₄₂- und Tau-Protein-Immunreaktivität im lumbalen Liquor bei AK. Bei einer Sensitivität von 85 % ergab sich eine Spezifität von etwa 58 % für die Abgrenzung von Nicht-Alzheimer-Demenzen [58]. Weitere Berichte, teils unter Verwendung des Produktes aus Gesamt-Tau und dem Quotienten aus Aβ₄₀ und Aβ₄₂ oder der Kombination von TTIR mit Komponenten des IL-6-Rezeptorkomplexes haben ähnliche Ergebnisse mitgeteilt [71, 122, 123, 124].

Nach Einbeziehung von Evaluationskollektiven ergab sich aus eigenen Untersuchungen [49] folgende Trenngerade zwischen AK und Nicht-AK (Kontrollen, Nicht-Alzheimer-Demenzen und anderen neurologischen Erkrankungen ohne Demenz): $\beta\text{AP}_{(1-42)}\text{-IR} [\text{pg/ml}] = 0,73 \times \text{TTIR} + 150 [\text{pg/ml}]$. Bei einer Sensitivität von 89 % und einer Spezifität für die Abgrenzung von AK und Kontrollen von 100 % ließ sich unter Hinzuziehung einer weiteren Trennlinie beim oberen TTIR-Grenzwert (445 pg/ml) die Spezifität für die Unterscheidung von AK und Nicht-Alzheimer-Demenzen auf 75 % anheben, die Spezifität für die Unterscheidung zwischen AK und neurologisch Erkrankten ohne Demenz ergab sich zu 90 %. Die positiven und negativen prädiktiven Werte für AK errechneten sich zu 65 % bzw. 98 %, die diagnostische Effizienz lag bei 90 %. Dieses Ergebnis entspricht den Biomarker-Konsenskriterien (Sensitivität und Spezifität jeweils bei 80 %), und in Zukunft dürften durch Einbeziehung zusätzlicher Parameter (z. B. synaptischer und neuronaler Proteine wie Synaptophysin oder neuronal thread protein, Isoprostanen oder Bestandteilen des Rezeptorkomplexes

von Interleukinen) [38, 71, 109, 125] weitere Verbesserungen, insbesondere im Hinblick auf die Abgrenzung verschiedener Nicht-Alzheimer-Demenzen zu erzielen sein.

Fazit für die Praxis

Die möglichst frühe Diagnosestellung ist bei Alzheimer-Krankheit angesichts vorhandener und in Erprobung befindlicher symptomatischer Therapieansätze ein wichtiges Anliegen. Genetische und eine Vielzahl anderer biologischer Marker sind aktuell zur Diagnosestellung oft nur eingeschränkt verwertbar; z. B. stellt das Apolipoprotein E- ϵ 4-Allel einen genetischen Risikofaktor mit geringer Sensitivität/Spezifität dar und reicht damit als einziger diagnostischer Test nicht aus. Von den Liquormarkern ergibt derzeit die kombinierte Untersuchung von Tau-Protein (Anstieg) und β -Amyloidpeptid_(1–42) (Abnahme) eine die Biomarker-Konsensuskriterien erreichende Verbesserung der Diagnose und Frühdiagnose der Alzheimer-Krankheit und ihrer Abgrenzung gegen andere Demenzformen, neurologische Erkrankungen ohne Demenz und Vergleichsgruppen. Durch Einbeziehung weiterer neurobiologisch relevanter Marker sollten diese Möglichkeiten der Demenzdiagnostik und -differentialdiagnostik in Zukunft optimiert werden.

Literatur

- Jellinger KA. Neuropathologie der Demenzen. *J Neurol Neurochir Psychiatr* 2001;2:7–31.
- World Health Organization: The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders. Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines. World Health Organization, Genf, 1992.
- Waldemar G, Dubois B, Emre M, Scheltens P, Tariska P, Rossor M. Diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia. The role of neurologists in Europe. *Eur J Neurol* 2000;7:133–144.
- Mohs RC, Breitner JC, Silverman JM, Davis KL. Alzheimer's disease. Morbid risk among first-degree relatives approximates 50 % by over 90 years of age. *Arch Gen Psychiatry* 1987;44:405–408.
- Reischies FM, Geiselmann B, Gessner R, Kanowski S, Wagner M, Wernicke F, Helmchen H. Demenz bei Hochbetagten. Ergebnisse der Berliner Altersstudie. *Nervenarzt* 1997;68:719–729.
- Ruitenbergh A, Ott A, van Swieten JC, Hofman A, Breteler MMB. Incidence of dementia: does gender make a difference? *Neurobiol Aging* 2001;22:575–580.
- Jellinger K, Danielczyk W, Fischer P, Gabriel E. Clinicopathological analysis of dementia disorders in the elderly. *J Neurol Sci* 1990;95:239–258.
- Jellinger KA, Rösler N. Neuropathologie und biologische Marker degenerativer Demenzen. *Internist* 2000;41:524–537.
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984;34:939–944.
- Jellinger KA. Diagnostic accuracy of Alzheimer's disease: a clinicopathological study. *Acta Neuropathol* 1996;91:219–220.
- Nagy Z, Esiri MM, Hindley NJ, Joachim C, Morris JH, King EM, McDonald B, Litchfield S, Barnettson L, Jobst KA, Smith AD. Accuracy of clinical operational diagnostic criteria for Alzheimer's disease in relation to different pathological diagnostic protocols. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1998;9:219–226.
- Frey U, Retz W, Riederer P, Rösler M. Neue Aspekte in der antedementiven Pharmakotherapie der Alzheimer-Erkrankung. *Akt Neurol* 2000;27:305–317.
- Golde TE, Younkin SG. Presenilins as therapeutic targets for the treatment of Alzheimer's disease. *Trends Mol Med* 2001;7:264–269.
- Consensus Report of the Working Group on Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease. *Neurobiol Aging* 1998;19:109–116.
- Percy MD, Andrews DE, Potter H. Peripheral markers of Alzheimer's disease. In: Scinto LFM, Daffner KR (eds) Early diagnosis of Alzheimer's disease. Humana Press, Totowa, NJ. 2000;pp. 191–268.
- Lendon CL, Ashall F, Goate AM. Exploring the etiology of Alzheimer disease using molecular genetics. *JAMA* 1997;227:825–831.
- Blackner D, Tanzi RE. The genetics of Alzheimer's disease – current status and future prospects. *Arch Neurol* 1998;55:294–296.
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD. Apolipoprotein E: high avidity binding to β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad USA* 1993;90:1977–1981.
- Growdon JH. Biomarkers of Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1999;56:281–283.
- Tsuang D, Larson EB, Bowen J, McCormick W, Teri L, Nochlin D, Leverenz JB, Peskind ER, Lim A, Raskind MA, Thompson ML, Mirra SS, Gearing M, Schellenberg GD, Kukull W. The utility of apolipoprotein E genotyping in the diagnosis of Alzheimer disease in a community-based case series. *Arch Neurol* 1999;56:1489–1495.
- Mayeux R, Saunders AM, Shea S, Mirra S, Evans D, Roses AD, Hyman BT, Crain B, Tang MX, Phelps CH. Utility of the apolipoprotein-E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease. *New Engl J Med* 1998;338:506–511.
- Bird TD. Apolipoprotein E genotyping in the diagnosis of Alzheimer's disease: a cautionary view. *Ann Neurol* 1995;38:2–4.
- Götz ME, Fischer P, Gsell W, Riederer P, Streifler M, Simanyi M, Müller F, Danielczyk W. Platelet monoamine oxidase B activity in dementia. A 4-year follow up. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1998;9:74–77.
- Zubenko GS, Teply MS, Winwood E, Huff TJ, Moosy J, Sunderland T, Martinez AJ. Prospective study of increased platelet membrane fluidity as a risk factor for Alzheimer's disease: results at 6 years. *Am J Psychiatry* 1996;153:420–423.
- DiLuca M, Pastorino L, Bianchetti A, Perez J, Vignolo LA, Lenzi GL, Trabucchi M, Cattabeni F, Padovani A. Differential level of platelet amyloid β precursor protein isoforms: an early marker for Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998;55:1195–1200.
- Kennard ML, Feldman H, Yamada T, Jeffries WA. Serum levels of the iron binding protein p97 are elevated in Alzheimer's disease. *Nature Med* 1996;2:1230–1235.
- Jeffries WA, Dickstein DL, Ujiie M. Assessing p97 as an Alzheimer's disease serum biomarker. *J Alzheimer's, Dis* 2001;3:339–344.
- Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, Bird TD, Hardy J, Hutton M, Kukull W, Larson E, Levy-Lahad E, Viitanen M, Peskind E, Poorkaj P, Schellenberg G, Tanzi R, Wasco W, Lannfelt L, Selkoe D, Younkin S. Secreted amyloid β -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature Med* 1996;2:864–870.

27. Tamaoka A, Fukushima T, Sawamura N, Ishikawa K, Oguni E, Komatsuzaki Y, Shoji S. Amyloid β protein in plasma from patients with sporadic Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1996;151:65–68.
28. Mayeux R, Tang MX, Jacobs DM, Manly J, Bell K, Merchant C, Small SA, Stern Y, Wisniewski HM, Mehta PD. Plasma amyloid β -peptide 1–42 and incipient Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999;46:412–416.
29. Mehta PD, Pittilä T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM. Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid β proteins 1–40 and 1–42 in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2000;57:100–105.
30. Ingelsson M, Blomberg M, Benedikz E, Wahlund LO, Karlsson E, Vanmechelen E, Lannfelt L. Tau immunoreactivity detected in human plasma, but no obvious increase in dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999;10:442–445.
31. Schipper HM, Chertkow H, Mehndate K, Frankel D, Melmed C, Bergman H. Evaluation of heme oxygenase-1 as a systemic biological marker of sporadic AD. *Neurology* 2000;54:1297–1304.
32. Pratico D, Clark CM, Lee VM, Trojanowski JQ, Rokach J, Fitz-Gerald GA. Increased 8,12-iso- $\text{IPF}_2\alpha$ -VI in Alzheimer's disease: correlation of a noninvasive index of lipid peroxidation with disease severity. *Ann Neurol* 2000;48:809–812.
33. Diamandis EP, Yousef GM, Petraki C, Soosaipillai AR. Human kallikrein 6 as a biomarker of Alzheimer's disease. *Clin Biochem* 2000;33:663–667.
34. Fishman RA. *Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Nervous System*. Philadelphia: Saunders, 1992.
35. Reiber H, Felgenhauer K. Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chim Acta* 1987;163:319–328.
36. Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) – a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci* 1994;122:189–203.
37. Corey-Bloom J, Thal LJ, Galasko D, Folstein M, Drachman D, Raskind M, Lanska DJ. Diagnosis and evaluation of dementia. *Neurology* 1995;45:211–218.
38. Blennow K, Vanmechelen E. Combination of the different markers for increasing specificity of in vivo Alzheimer's testing. *J Neural Transm Suppl* 1998;53:223–235.
39. Blennow K, Wallin A, Häger O. Low frequency of post-lumbar puncture headache in demented patients. *Acta Neurol Scand* 1993;88:221–223.
40. Lassmann H, Weiler R, Fischer P, Bancher C, Jellinger K, Floor E, Danielczyk W, Seitelberger F, Winkler H. Synaptic pathology in Alzheimer's disease: immunological data for markers of synaptic and large dense-core vesicles. *Neuroscience* 1992;46:1–8.
41. Tiraboschi P, Hansen LA, Masliah E, Thal LJ, Corey-Bloom J. The decline in synapses and cholinergic activity is asynchronous in Alzheimer's disease. *Neurology* 2000;55:1278–1283.
42. Scheff SW, Price DA, Sparks D. Quantitative assessment of possible age-related changes in synaptic numbers in the human frontal cortex. *Neurobiol Aging* 2001;22:155–165.
43. Blennow K, Davidsson P, Wallin A, Fredman P, Gottfries CG, Karlsson I, Mansson JE, Svennerholm L. Gangliosides in cerebrospinal fluid in „probable Alzheimer's disease“. *Arch Neurol* 1991;48:1032–1035.
44. Davidsson P, Jahn R, Bergquist J, Ekman R, Blennow K. Synaptotagmin, a synaptic vesicle protein, is present in human cerebrospinal fluid: a new biochemical marker for synaptic pathology in Alzheimer disease? *Mol Chem Neuropathol* 1996;27:195–210.
45. Davidsson P, Puchades M, Blennow K. Identification of synaptic vesicle, pre- and postsynaptic proteins in human cerebrospinal fluid using liquid-phase isoelectric focusing. *Electrophoresis* 1999;20:431–437.
46. Blennow K, Hesse C, Fredman P. Cerebrospinal fluid apolipoprotein E is reduced in Alzheimer's disease. *Neuroreport* 1994;5:2534–2536.
47. Lefranc D, Vermersch P, Dallongeville J, Daems-Monpeurt C, Petit H, Delacourte A. Relevance of the quantification of apolipoprotein E in the cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1996;212:91–94.
48. Rösler N, Wichart I, Jellinger KA. Intra vitam lumbar cerebrospinal fluid and serum and post mortem ventricular immunoreactive apolipoprotein E in Alzheimer's disease patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;60:452–454.
49. Rösler N, Wichart I, Jellinger KA. Clinical significance of neurobiochemical profiles in the lumbar cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *J Neural Transm* 2001;108:231–246.
50. Poirier J. Apolipoprotein E in animal models of CNS injury and in Alzheimer's Disease. *Trends Neurosci* 1994;17:525–530.
51. Yamada T, Kondo A, Takamatsu JI, Tateishi J, Goto I. Apolipoprotein E mRNA in the brains of patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1995;129:56–61.
52. Poirier J, Hess M, May PC, Pasinetti G, Finch CE. Astroglial gene expression in the hippocampus following partial deafferentiation in the rat and in Alzheimer's disease. In: Nagatsu T, editor. *Basic, Clinical, and Therapeutic Aspects of Alzheimer's and Parkinson's Diseases*. New York: Plenum Publishing, 1990:191–194.
53. McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, Fuller SJ, Smith MJ, Beyreuther K, Bush AI, Masters CL. Soluble pool of A β -amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999;46:860–866.
54. Nakamura T, Shoji M, Harigaya Y, Watanabe M, Hosoda K, Cheung TT, Shaffer LM, Golde TE, Younkin LH, Younkin SG, Hirai S. Amyloid β protein levels in cerebrospinal fluid are elevated in early-onset Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1994;36:903–911.
55. Pirttilä T, Kim KS, Mehta PD, Frey H, Wisniewski HM. Soluble amyloid β -protein in the cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease, vascular dementia and controls. *J Neurol Sci* 1994;127:90–95.
56. Southwick PC, Yamagata SK, Echols CL, Higson GJ, Neynaber SA, Parson RE, Munroe WA. Assessment of amyloid β -protein in cerebrospinal fluid as an aid in the diagnosis of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1996;66:259–265.
57. Van Gool WA, Kuiper MA, Walstra GJ, Wolters EC, Bolhuis PA. Concentrations of amyloid β protein in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995;37:277–279.
58. Hulstaert F, Blennow K, Ivanioiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD, Iqbal K, Pottel H, Vanmechelen E, Vanderstichele H. Improved discrimination of Alzheimer's disease patients using β -amyloid_(1–42) and tau levels in CSF. *Neurology* 1999;52:1555–1562.
59. Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, Chang L, Miller B, Clark C, Green R, Olson D, Southwick P, Wolfert R, Munroe B, Lieberburg I, Seubert P, Schenk D. Reduction of β -amyloid peptide₄₂ in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995;38:643–648.
60. Pirttilä T, Mehta PD, Soininen H, Kim KS, Heinonen O, Paljärvi L, Kosunen O, Riekkinen P, Wisniewski HM. Cerebrospinal fluid concentrations of soluble amyloid β -protein and apolipoprotein E in patients with Alzheimer's disease: correlations with amyloid load in the brain. *Arch Neurol* 1996;53:189–193.
61. Kanemaru K, Kameda N, Yamanouchi H. Decreased CSF amyloid β 42 and normal τ levels in dementia with Lewy bodies. *Neurology* 2000;54:1875–1876.
62. Delamarche C, Berger F, Gallard L, Pouplard-Barthelaix A. Aging and Alzheimer's disease: protease inhibitors in cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging* 1991;12:71–74.

63. Engelborghs S, De Brabander M, De Cree J, D'Hooge R, Geerts H, Verhaeghen H, De Deyn PP. Unchanged levels of interleukins, neopterin, interferon- γ and tumor necrosis factor- α in cerebrospinal fluid of patients with dementia of the Alzheimer type. *Neurochem Int* 1999;34:523–530.
64. März P, Heese K, Hock C, Golombowski S, Müller-Spahn F, Rose-John S, Otten U. Interleukin-6 (IL-6) and soluble forms of IL-6 receptors are not altered in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* 1997;239:29–32.
65. Pirttilä T, Mehta PD, Frey H, Wisniewski HM. α_1 -Antichymotrypsin and IL-1 β are not increased in CSF or serum in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1994;15:313–317.
66. Fukuyama R, Izumoto T, Fushiki S. The cerebrospinal fluid level of glial fibrillary acidic protein is increased in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients and correlates with severity of dementia. *Eur Neurol* 2001;46:35–38.
67. Bauer J, Strauss S, Schreiter-Gasser U, Ganter U, Schlegel P, Witt I, Volk B, Berger M. Interleukin-6 and α_2 -macroglobulin indicate an acute-phase state in Alzheimer's disease cortices. *FEBS Lett* 1991;285:111–114.
68. Hüll M, Strauss S, Volk B, Berger M, Bauer J. Interleukin-6 is present in early stages of plaque formation and is restricted to the brains of Alzheimer's disease patients. *Acta Neuropathol* 1995;89:544–551.
69. Campbell IL, Abraham CR, Masliah E, Kemper P, Inglis JD, Oldstone MBA, Mucke L. Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10061–10065.
70. Rösler N, Wichart I, Jellinger KA. Intra vitam lumbar and post mortem ventricular cerebrospinal fluid immunoreactive interleukin-6 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 2001;103:126–130.
71. Hampel H, Teipel SJ, Padberg F, Haslinger A, Riemenschneider M, Schwarz MJ, Köter HU, Scheloske M, Buch K, Stübner S, Dückhoff R, Lasser R, Müller N, Sutherland T, Rapoport SI, Möller HJ. Discriminant power of combined cerebrospinal fluid tau protein and of the soluble interleukin-6 receptor complex in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Brain Res* 1999;823:104–112.
72. Gsell W, Strein I, Krause U, Riederer P. Neurochemical abnormalities in Alzheimer's disease and Parkinson's disease – a comparative review. *J Neural Transm Suppl* 1997;51:145–159.
73. Peskind ER, Elrod R, Dobie DJ, Pascualy M, Petrie E, Jensen C, Brodtkin K, Murray S, Veith RC, Raskind MA. Cerebrospinal fluid epinephrine in Alzheimer's disease and normal aging. *Neuropsychopharmacology* 1998;19:465–471.
74. Martignoni E, Blandini F, Petraglia F, Pacchetti C, Bono G, Nappi G. Cerebrospinal fluid norepinephrine, 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol and neuropeptide Y levels in Parkinson's disease, multiple system atrophy and dementia of the Alzheimer type. *J Neural Transm P-D Sect* 1992;4:191–205.
75. Tohgi H, Abe T, Kimura M, Saheki M, Takahashi S. Cerebrospinal fluid acetylcholine and cholin in vascular dementia of Binswanger and multiple small infarct types as compared with Alzheimer-type dementia. *J Neural Transm* 1996;103:1211–1220.
76. Parnetti L, Gottfries J, Karlsson I, Langstrom G, Gottfries CG, Svennerholm L. Monoamines and their metabolites in cerebrospinal fluid of patients with senile dementia of Alzheimer type using high performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Acta Psychiatr Scand* 1987;75:542–548.
77. Ernst A, Cramer H, Strubel D, Kuntzmann F, Schoenenberger GA. Comparison of DSIP (δ -sleep-inducing-peptide)- and P-DSIP-like (phosphorylated) immunoreactivity in cerebrospinal fluid of patients with senile dementia of Alzheimer type, multi-infarct syndrome, communicating hydrocephalus and Parkinson's disease. *J Neurol* 1987;235:16–21.
78. Cramer H, Schaudt D, Rissler K, Strubel D, Warter JM, Kuntzmann F. Somatostatin-like immunoreactivity and substance P-like immunoreactivity in the CSF of patients with senile dementia of Alzheimer type, multi-infarct syndrome and communicating hydrocephalus. *J Neurol* 1985;232:346–351.
79. Shikimi T, Inagaki T, Ishino H, Kobayashi S, Matsubara K, Okunishi H, Takaori S. Significant decreases of ulinastatin-like immunoreactive substance in the cerebrospinal fluid of patients with dementia. *Neuropsychobiology* 1997;35:187–190.
80. Yasuda M, Minamitani N, Maeda K. Peptide histidine methionine in cerebrospinal fluid of patients with senile dementia of the Alzheimer type. *Jpn J Psychiatry Neurol* 1993;47:85–90.
81. Raskind MA, Peskind ER, Lampe TH, Risse SC, Taborsky GJ, Dorsa D. Cerebrospinal fluid vasopressin, oxytocin, somatostatin, and β -endorphin in Alzheimer's disease. *Arch Gen Psychiatry* 1986;43:382–388.
82. Rösler N, Wichart I, Jellinger KA. Ex vivo lumbar and post mortem ventricular cerebrospinal fluid substance P-immunoreactivity in Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* 2001;299:117–120.
83. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:4913–4917.
84. Bramblett GT, Goedert M, Jakes R, Merrick SE, Trojanowski JQ, Lee VMY. Abnormal tau phosphorylation at Ser 396 in Alzheimer's disease recapitulates development and contributes to reduced microtubule binding. *Neuron* 1993;10:1089–1099.
85. Arendt T, Holzer M, Zedlick D, Bruckner MK, Bigl V. Relationship between neurofibrillary degeneration, neurotransmitter deficiency and severity of cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1994;63, Suppl 1:6.
86. Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, van de Voorde A, Martin JJ, Cras P. Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 1993;61:1828–1834.
87. Rösler N, Wichart I, Jellinger KA. Total tau protein immunoreactivity in lumbar cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;60:237–238.
88. Nishimura T, Takeda M, Nakamura Y, Yoshida Y, Arai H, Sasaki H, Shouji M, Hirai S, Khise K, Tanaka K, Hamamoto M, Yamamoto H, Matsubayashi T, Urakami K, Adachi Y, Nakashima K, Toji H, Nakamura S, Yoshida H. Basic and clinical studies on the measurement of tau protein in cerebrospinal fluid as biological marker for Alzheimer's disease and related disorders: multicenter study in Japan. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1998;20:227–235.
89. Vigo-Pelfrey C, Seubert P, Barbour R, Blomquist C, Lee M, Lee D, Coria F, Chang L, Miller B, Lieberburg I, Schenk D. Elevation of microtubule-associated protein tau in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1995;45:788–793.
90. Blennow K, Wallin A, Agren H, Spenger C, Siegfried J, Vanmechelen E. Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer disease? *Mol Chem Neuropathol* 1995;26:231–245.
91. Ishiguro K, Ohno H, Arai H, Yamaguchi H, Urakami K, Park JM, Sato K, Kohno H, Imahori K. Phosphorylated tau in human cerebrospinal fluid is a diagnostic marker for Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1999;270:91–94.
92. Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, van Kerschaver E, van der Perre B, Sjögren M, Andreasen N, Blennow K. Quantification of tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid: a sandwich ELISA with a synthetic phosphopeptide for standardization. *Neurosci Lett* 2000;285:49–52.

93. Itoh N, Arai H, Urakami K, Ishiguro K, Ohno H, Hampel H, Buerger K, Wiltfang J, Otto M, Kretschmar H, Möller HJ, Imagawa M, Kohno H, Nakashima K, Kuzuhara S, Sasaki H, Imahori K. Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2001;50:150–156.
94. Hampel H, Bürger K, Kohnen R, Teipel SJ, Zinkowski R, Möller HJ, Rapoport SI, Davies P. Tracking of Alzheimer's disease progression with cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at threonine 231. *Ann Neurol* 2001;49:545–546.
95. Feany MB, Dickson DW. Neurodegenerative disorders with extensive tau pathology: a comparative study and review. *Ann Neurol* 1996;40:139–148.
96. Otto M, Wiltfang J, Tumani H, Zerr I, Lantsch M, Kornhuber J, Weber T, Kretschmar HA, Poser S. Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 1997;225:210–212.
97. Kapaki E, Kilidireas K, Paraskevas GP, Michalopoulou M, Patouris E. Highly increased CSF tau protein and decreased β -amyloid (1–42) in sporadic CJD: a discrimination from Alzheimer's disease? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;71:401–403.
98. Green AJ, Harvey RJ, Thompson EJ, Rossor MN. Increased tau in the cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1999;259:133–135.
99. Arai H, Morikawa Y, Higuchi M, Matsui T, Clark CM, Miura M, Machida N, Lee VM, Trojanowski JQ, Sasaki H. Cerebrospinal fluid tau levels in neurodegenerative diseases with distinct tau-related pathology. *Biochem Biophys Res Comm* 1997;236:262–264.
100. Kanemaru K, Kameda N, Yamanouchi H. Decreased CSF amyloid β 42 and normal τ levels in dementia with Lewy bodies. *Neurology* 2000;54:1875–1876.
101. Csernansky JG, Bardgett ME, Sheline YI, Morris JC, Olney JW. CSF excitatory amino acids and severity of illness in Alzheimer's disease. *Neurology* 1996;46:1715–1720.
102. Fisher G, Lorenzo N, Abe H, Fujita E, Frey WH, Emory C, Di Fiore MM, D'Aniello A. Free D- and L-amino acids in ventricular cerebrospinal fluid from Alzheimer and normal subjects. *Amino Acids* 1998;15:263–269.
103. Tohgi H, Abe T, Takahashi S, Kimura A. A selective reduction of excitatory amino acids in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer type dementia compared with vascular dementia of the Binswanger type. *Neurosci Lett* 1992;141:5–8.
104. Montine TJ, Sidell KR, Crews BC, Markesbery WR, Marnett LJ, Roberts LJ, Morrow JD. Elevated prostaglandin E_2 levels in patients with probable AD. *Neurology* 1999;53:1495–1498.
105. Redjems-Bennani N, Jeandel C, Lefebvre E, Blain H, Vidailhet M, Gueant JL. Abnormal substrate levels that depend upon mitochondrial function in cerebrospinal fluid from Alzheimer patients. *Gerontology* 1998;44:300–304.
106. Kuiper MA, Visser JJ, Bergmans PL, Scheltens P, Wolters EC. Decreased cerebrospinal fluid nitrate levels in Parkinson's disease, Alzheimer's disease and multiple system atrophy patients. *J Neurol Sci* 1994;121:46–49.
107. Mouradian MM, Heyes MP, Pan JB, Heuser IJ, Markey SP, Chase TN. No changes in central quinolinic acid levels in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1989;105:233–238.
108. Lovell MA, Markesbery WR. Ratio of 8-hydroxyguanine in intact DNA to free 8-hydroxyguanine is increased in Alzheimer disease ventricular cerebrospinal fluid. *Arch Neurol* 2001;58:392–396.
109. Montine TJ, Kaye JA, Montine KS, McFarland L, Morrow JD, Quinn JF. Cerebrospinal fluid A β 42, tau, and f2-isoprostane concentrations in patients with Alzheimer disease, other dementias, and in age-matched controls. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:510–512.
110. Saez-Valero J, Mok SS, Small DH. An unusually glycosylated form of acetylcholinesterase is a CSF biomarker for Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 2000;176:49–52.
111. Appleyard ME, McDonald B. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in cerebrospinal fluid from different levels of the neuraxis of patients with dementia of the Alzheimer type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:1074–1078.
112. Schwagerl AL, Mohan PS, Cataldo AM, Vonsattel JP, Kowall NW, Nixon RA. Elevated levels of the endosomal-lysosomal proteinase cathepsin D in cerebrospinal fluid in Alzheimer disease. *J Neurochem* 1995;64:443–446.
113. Soininen H, Pitkanen A, Halonen T, Riekkinen PJ. Dopamine- β -hydroxylase and acetylcholinesterase activities of cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 1984;70:29–34.
114. Lovell MA, Xie C, Markesbery WR. Decreased glutathione transferase activity in brain and ventricular fluid in Alzheimer's disease. *Neurology* 1998;51:1562–1566.
115. Demeester N, Castro G, Desrumaux GC, De Geitere C, Fruchart JC, Santens P, Mulleners E, Engelborghs S, De Deyn PP, Vandekerckhove J, Rosseneu M, Labeur C. Characterization and functional studies of lipoproteins, lipid transfer proteins, and lecithin:cholesterol acyltransferase in CSF of normal individuals and patients with Alzheimer's disease. *J Lipid Res* 2000;41:963–974.
116. De Deyn PP, Hiramatsu M, Borggreve F, Goeman J, D'Hooge R, Saerens J, Mori A. Superoxide dismutase activity in cerebrospinal fluid of patients with dementia and some other neurological disorders. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998;12:26–32.
117. Tumani H, Shen G, Peter JB, Bruck W. Glutamine synthetase in cerebrospinal fluid, serum, and brain: a diagnostic marker for Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1999;56:1241–1246.
118. Meseguer I, Molina JA, Jimenez-Jimenez FJ, Aguilar MV, Mateos-Vega CJ, Gonzalez-Munoz MJ, de Bustos F, Orti-Pareja M, Zurdo M, Berbel A, Barrios E, Martinez-Para MC. Cerebrospinal fluid levels of selenium in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1999;106:309–315.
119. Molina JA, Jimenez-Jimenez FJ, Aguilar MV, Meseguer I, Mateos-Vega CJ, Gonzalez-Munoz MJ, de Bustos F, Porta J, Orti-Pareja M, Zurdo M, Barrios E, Martinez-Para MC. Cerebrospinal fluid levels of transition metals in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1998;105:479–488.
120. Nijst TQ, Wevers RA, Schoonderwaldt HC, Hommes OR, de Haan AF. Vitamin B₁₂ and folate concentrations in serum and cerebrospinal fluid of neurological patients with special reference to multiple sclerosis and dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990;53:951–954.
121. Schippling S, Kontush A, Arlt S, Bühmann C, Sturenburg HJ, Mann U, Müller-Thomsen T, Beisiegel U. Increased lipoprotein oxidation in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* 2000;28:351–360.
122. Galasko D, Chang L, Motter R, Clark CM, Kaye J, Knopman D, Thomas R, Khodolenko D, Schenk D, Lieberburg I, Miller B, Green R, Basherad R, Kertiles L, Boss MA, Seubert P. High cerebrospinal fluid tau and low amyloid β 42 levels in the clinical diagnosis of Alzheimer disease and relation to apolipoprotein E genotype. *Arch Neurol* 1998;55:937–945.
123. Kanai M, Matsubara E, Isoe K, Urakami K, Nakashima K, Arai H, Sasaki H, Abe K, Iwatsubo T, Kosaka T, Watanabe M, Tomidokoro Y, Shizuka M, Mizushima K, Nakamura T, Igeta Y, Ikeda Y, Amari M, Kawarabayashi T, Ishiguro K, Harigaya Y, Wakabayashi K, Okamoto K, Hirai S, Shoji M. Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A β _(1–40) and A β _{(1–42)(43)} in Alzheimer's disease: a study in Japan. *Ann Neurol* 1998;44:17–26.
124. Shoji M, Kanai M. Cerebrospinal fluid A β 40 and A β 42: Natural course and clinical usefulness. *J Alzheimer's Dis* 2001;3:131–321.
125. Kahle PJ, Jakowec M, Teipel SJ, Hampel H, Petzinger GM, Di Monte DA, Silverberg GD, Möller HJ, Yesavage JA, Tinklenberg JR, Shooter EM, Murphy GM. Combined assessment of τ and neuronal thread protein in Alzheimer's disease CSF. *Neurology* 2000;54:1498–1504.