

Aus der Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. med. L. Timmermann
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

Zytokine und das genetische Risiko für Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Frank Lohmüller aus Westerstede
Marburg 2020



Angenommen vom Fachbereich Medizin der
Philipps-Universität Marburg am 09.11.2020
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan i.V. der Prodekan: Prof. Dr. R. Müller
Referent: Herr Prof. Dr. R. Dodel
1. Koreferent: Frau PD Dr. B. Fritz

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	10
1.1 Morbus Parkinson (PD)	10
1.1.1 Klinik: motorische und nicht-motorische Symptome	12
1.1.2 Epidemiologische Daten	14
1.1.3 Neuropathologie	15
1.1.4 Diagnose	17
1.1.5 Therapie	17
1.2 Genetik des Morbus Parkinson	18
1.3 Morbus Alzheimer (AD)	21
1.3.1 Epidemiologie	21
1.3.2 Klinik	23
1.3.3 Therapie	24
1.3.4 Neuropathologische Läsionen bei Morbus Alzheimer	29
1.4 Genetik des Morbus Alzheimer	31
1.5 Zytokine und ihre Bedeutung bei neurodegenerativen Erkrankungen	34
1.5.1 Interleukin-1-alpha	38
1.5.2 Interleukin-6	41
1.6 Zielsetzung der eigenen Untersuchung	45
2. Materialien	46
2.1 Geräte	46
2.2 Puffer und Reagenzien	46
2.3 Oligonukleotide (Primer)	47
2.4 Agarosegelelektrophorese	48
2.5 Patientengruppen	49
2.5.1 Probanden und Kontrollen AD	49
2.5.2 Probanden und Kontrollen PD	50

3.	Methoden	52
3.1	Extraktion der Desoxyribonukleinsäure (DNA)	52
3.1.1	Isolierung der genomischen DNA aus dem Blut	52
3.1.2	Konzentrationsbestimmung der DNA	52
3.2	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	52
3.2.1	Einleitung	52
3.2.2	Grundlagen	53
3.2.3	Primerdesign	53
3.2.4	Ablauf der PCR	53
3.2.5	RFLP	55
3.2.6	Gelelektrophorese	57
3.3	Statistische Verfahren	58
3.3.1	Assoziationsstudien	58
3.3.2	Statistische Auswertung	59
4.	Ergebnisse	60
4.1	Interleukin-1 α (-889)-Polymorphismus	60
4.2	Interleukin-6 (-174)-Polymorphismus und Morbus Alzheimer	62
4.3	Interleukin-1 α (-889)-Polymorphismus und PD	63
5.	Diskussion	67
5.1	Morbus Alzheimer und Neuroinflammation	69
5.2	Morbus Parkinson und Neuroinflammation	78
5.3	Fazit	82
5.4	Zusammenfassung (deutsch und engl.)	83
6.	Literaturverzeichnis	86
	Publikationen	107
	Verzeichnis der akademischen Lehrer	108
	Danksagung	109

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Polymorphismen bei Morbus Parkinson: Historische Einteilung von <i>PARK1-PARK18</i>	20
Tab. 2	Kandidatengene Morbus Alzheimer	33
Tab. 3	Restriktionsenzyme und Schnittprodukte	55
Tab. 4	Anzahl und Frequenz (in Prozent) des IL-1 α (-889)-Polymorphismus sowie APOE-Allelfrequenzen (in Prozent) in der gepoolten Gruppe von Morbus Alzheimer Patienten und Kontrollen	60
Tab. 5	Nach Mantel-Haenszel geschätzte Odds ratio für betroffene heterozygote und homozygote IL.1 α (-889)-Genträger sowie APOE ϵ 4 und das Risiko an Morbus Alzheimer zu erkranken	61
Tab. 6	Anzahl und Frequenz der IL-6 (-174) Allele der Gruppe von Morbus Alzheimer Patienten und Kontrollen.	62
Tab. 7	Frequenz der verschiedenen APOE-Genotypen und IL-6 (-174) Genotypen in der Gruppe von Morbus Alzheimer Patienten und Kontrollen.	63
Tab. 8	Anzahl und Frequenz des IL-1 α (-889)-Polymorphismus in der gepoolten Gruppe von PD Patienten und Kontrollen. IL = Interleukin	64
Tab. 9	Anzahl und Frequenz des IL-1 α (-889)-Polymorphismus in der Gruppe von E-OPD Patienten und Kontrollen.	65

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Neuropathologische Läsionen PD	15
Abb. 2	Immunhistochemie: α -Synuclein-Färbung eines Lewy-Körperchens in der Substantia nigra bei Parkinson-Krankheit.	16
Abb. 3	β -Amyloid-Plaques und Neurofibrilläre Tangles bei Morbus Alzheimer	21
Abb. 4	Substanzen in klinischer Erprobung zur Behandlung des Morbus Alzheimer	25
Abb. 5	Substanzen in klinischer Erprobung unter Anti-Tau-Aggregation	27
Abb. 6	Aktuelle Therapieansätze zur Behandlung des Morbus Alzheimer	29
Abb. 7	Zytokine und Neurodegeneration (modifiziert nach Eikelenboom und Veerhuis 1996)	37

Abb. 8	Proteinstruktur von Interleukin-1 α (modifiziert nach Protein Data Base)	38
Abb. 9	„Tauopathien“= Hinweise auf gemeinsame Pathophysiologien verschiedener neurodegenerativer Erkrankungen? (Shulman und de Jager, Nat Genet 2009)	39
Abb. 10	Bändermodell von Interleukin-6 (modifiziert nach Protein Data Base)	41
Abb. 11	RFLP-Bandenmuster APOE	56
Abb. 12	RFLP-Bandenmuster IL-1A (-889)	56
Abb. 13	RFLP-Bandenmuster IL-6 (-174)	57
Abb. 14	Signalkaskade einer akuten Infektion (modifiziert nach Kumar et al. 2003)	68
Abb. 15	Signalkaskade Morbus Alzheimer (modifiziert nach Thal et al. 2006)	69
Abb. 16	Pathophysiologische Kaskade der Alzheimer-Demenz	75
Abb. 17	Bedeutung der Mikroglia bei Morbus Alzheimer	76
Abb. 18	multistep mechanism of A β plaque-mediated tau pathogenesis	77
Abb. 19	200 Jahre Morbus Parkinson	81

Abkürzungsverzeichnis:

A	=	Adenin
A β	=	β -Amyloid
ApoE	=	Apolipoprotein E
Alpha-2M	=	α 2-Makroglobulin
AD	=	Demenz vom Alzheimerstyp
AS	=	Aminosäuren
APP	=	Amyloid-Vorläufer-Protein; Amyloid-Precursor-Protein
bp	=	Basenpaare
C	=	Cytosin
C1q, C4, C3	=	Komplementfaktoren
Grad C	=	Grad Celsius
Cys	=	Cystein
ddNTP	=	2', 3'- Dideoxynukleotid-5-Triphosphat
dH ₂ O	=	destilliertes Wasser
CERAD	=	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer`s Disease
DMSO	=	Dimethylsulfoxid
DNA	=	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	=	2' Desoxynukleosid-5-Triphosphat
ϵ 2	=	Apo E – ϵ 2 – Allel
ϵ 3	=	Apo E – ϵ 3 – Allel
ϵ 4	=	Apo E – ϵ 4 – Allel
EDTA	=	Ethylendiamintetraessigsäure
EOPD	=	Early Onset Parkinson`s Disease
et al.	=	und andere
etc.	=	et cetera
g	=	Gramm
G	=	Guanin

Glu (E)	=	Glutaminsäure
GLY (G)	=	Glycin
gp	=	Glycoprotein
γ -INF	=	Gamma Interferon
h	=	Stunde
HR	=	Hazard Ratio
IL-1	=	Interleukin-1
IL-1 α	=	Interleukin-1-alpha
IL-1 β	=	Interleukin-1-beta
IL-1 RA	=	Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist
IL-6	=	Interleukin-6
IL-10	=	Interleukin-10
kb	=	Kilobasenpaare
kDa	=	Kilodalton
Konz.	=	Konzentration
μ	=	mikro
m	=	milli
M	=	Molar
MP	=	Morbus Parkinson
mRNA	=	Messenger (= Boten-) RNA (Ribonukleinsäure)
MPP ⁺	=	1-Methyl-4-Phenylpyridin
MPDP	=	1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin
Min	=	Minuten
MMSE	=	Mini Mental Status Examination
NMDA	=	N-Methyl-D-Aspartat
NSAID	=	nicht-steroidale Antiphlogistika

NINCDS-ADRDA	=	National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Alzheimer`s Disease and Related Disorders Association
nm	=	Nanometer
<i>p</i>	=	Zufallswahrscheinlichkeit
PAGE	=	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PCR	=	Polymerase-Kettenreaktion
PINK 1	=	PTEN-induced putative kinase 1
PARK-Gene	=	Parkinson-assoziierte Gen-Polymorphismen
PS-1	=	Presenilin 1
PS-2	=	Presenilin 2
PD	=	Parkinson Disease; Morbus Parkinson
SDAT	=	Senile Demenz vom Alzheimer Typ
s	=	Sekunden
SDS	=	Sodium Dodecyl-Sulfat
SNP	=	Single-Nukleotide Polymorphism
s.u.	=	siehe unten
T	=	Thymin
Taq Polymerase	=	Termophilus aquaticus-Polymerase
TNF	=	Tumor-Nekrose-Faktor
U	=	Uracil
VAL	=	Valin
u/ μ l	=	Units pro Mikroliter
ZNS	=	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Neurodegenerative Erkrankungen wie der Morbus Parkinson (PD) und der Morbus Alzheimer (AD) zählen zu den häufigsten neurologischen Krankheitsbildern. Auch aufgrund der weitreichenden individuellen und sozioökonomischen Konsequenzen des Morbus Parkinson und Morbus Alzheimer rücken diese Erkrankungen, insbesondere vor dem Hintergrund des demographischen Wandels, in den Fokus. Sowohl beim Morbus Parkinson als auch beim Morbus Alzheimer wird eine multifaktorielle Pathogenese angenommen, welche neben natürlichen Alterungsprozessen auch umweltbedingte Faktoren und insbesondere genetische Faktoren umfasst; bei beiden Erkrankungen wird zudem eine inflammatorische Komponente angenommen (Shulman und de Jager 2009).

Vor diesem Hintergrund scheinen Kandidatengene der Interleukine, die mit immunologisch vermittelten Mechanismen von neurodegenerativen Erkrankungen in Verbindung gebracht wurden, von besonderer Bedeutung zu sein. Entsprechend wurden in den vorliegenden Allelassoziationsstudien die vermutliche Beteiligung von Polymorphismen in den Genen der Zytokine Interleukin-1-alpha und Interleukin-6 am Erkrankungsrisiko für Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson anhand von molekulargenetischen Untersuchungen erforscht.

1.1. Morbus Parkinson

Epidemiologie, Klinik und Prognose

Das Parkinson-Syndrom ist ein klinisches Syndrom, welches durch den motorischen Symptomkomplex Rigor, Ruhetremor und Akinese gekennzeichnet ist, weiterhin finden sich Störungen der Halte- und Stellreflexe (Oertel et al. 2011). 1817 wurde eine als Paralysis agitans bezeichnete Erkrankung von dem Londoner Arzt James Parkinson beschrieben, die lange Zeit im deutschen Sprachraum als sogenannte „Schüttellähmung“ bekannt war (Parkinson 1817). Der französische Neurologe Charcot führte schließlich den Begriff Morbus Parkinson ein.

Bei der Parkinson Erkrankung (auch idiopathisches Parkinson-Syndrom, primärer Parkinson) lassen sich neben dem oben beschriebenen klinischen Syndrom klassische neuropathologische Veränderungen nachweisen, die ursächlich auf einen progredienten Untergang dopaminerg, melaninhaltiger Zellen der Pars compacta der Substantia nigra und anderer dopaminerg Neurone zurückgeht und mit einem konsekutiven striatalem Dopaminmangel einhergeht. Wird das idiopathische Parkinson-Syndrom manifest, sind bereits bis zu 80% der nigralen dopaminergen Neurone untergegangen, die fortschreitende Degeneration ist bisher durch eine Therapie nicht aufzuhalten (Shapira 1999). Die Ätiologie und Pathogenese sind allerdings derzeit nicht komplett entschlüsselt.

Vom sogenannten primären Parkinson-Syndrom wird das sogenannte sekundäre Parkinson-Syndrom abgegrenzt, welches z.B. Neuroleptika-induziert oder postencephalisch auftreten kann. Auch Intoxikationen, Traumata oder Tumoren können ein Parkinson-Syndrom auslösen. Es tritt auch bei seltenen Stoffwechselerkrankungen, wie der Wilson-Erkrankung, oder auch bei Multi-Systematrophien auf.

Das idiopathische Parkinson-Syndrom ist neben der Alzheimer-Erkrankung die zweithäufigste der neurodegenerativen Erkrankungen des fortgeschrittenen Lebensalters. Hinsichtlich der Prävalenzraten der Erkrankung gibt es weltweit eine deutliche Schwankung, die sich auch auf Grund eines Mangels an validen diagnostischen Tests und Markern begründet. In den Industrienationen wird eine Prävalenz von ca. 100 bis 200 pro 100.000 Einwohner angegeben, bei Personen zwischen der 8. und 9. Dekade steigt die Rate auf bis zu 4% an (de Lau und Breteler 2006a, Tanner et al. 1999a). Der Erkrankungsgipfel der Parkinson-Demenz liegt zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr. Männer sind dabei etwas häufiger betroffen als Frauen. Das primäre Parkinson-Syndrom wird basierend auf dem Erkrankungsalter in 3 Gruppen eingeteilt: 1. die juvenile Form (Erkrankungsalter unter 20 Jahre), 2. die „früh beginnende Form“ (Early-Onset PD, EOPD, Erkrankungsalter zwischen 21. und 50. Lebensjahr) und die spät beginnende Form (Late Onset PD, LOPD, Erkrankungsalter über 50 Jahre).

Klinisch unterscheiden sich die verschiedenen Subgruppen durch eine unterschiedliche Prognedienz sowie Inzidenz von motorischen Komplikationen. Letztere scheinen vor allem bei Patienten mit frühem Erkrankungsbeginn häufiger zu sein (Foltynie et al. 2002).

1.1.1. Klinik: motorische und nicht-motorische Symptome

Die klinische Symptomatik des Morbus Parkinson lässt sich in zwei Kategorien einteilen

- motorische Symptome
- nicht-motorische Symptome

Viele nicht-motorische Symptome, wie Depressivität, zwanghafte Persönlichkeitsakzentuierungen und Störungen der Sensibilität werden vom Patienten oft vor Manifestation von motorischen Symptomen berichtet. Oft werden diffuse Schmerzen oder Missempfindungen der Extremitäten beklagt, die die klinische Diagnose auf Grund der unspezifischen Beschwerden erschweren. Hierbei sind auch eine leichte Ermüdbarkeit, ein verändertes Schriftbild oder leichte Veränderungen des Gangbildes zu nennen. Dieser Symptomkomplex ist sehr unspezifisch und kann nur schwer vom natürlichen Alterungsprozess abgegrenzt werden. Allerdings können derartige Prodromalsymptome den typischen motorischen Auffälligkeiten um Jahre vorausgehen (Meissner et al. 2012).

Die motorischen Kardinalsymptome Ruhetremor, Rigor und Akinese beschreiben das Vollbild der Manifestation einer Parkinson-Erkrankung. Der Tremor ist ein Ruhetremor der Frequenz von 4 bis 6 Hertz (sogenannter „Pillendreher“-Tremor) und entsteht durch alternierende Aktivierung von antagonistischen Muskeln (Gelb et al. 1999).

Rigor beschreibt einen erhöhten Muskeltonus, der in Flexoren und Extensoren gleichermaßen ausgeprägt ist und klassischerweise mit dem sogenannten Zahnradphänomen bei der klinischen Untersuchung imponieren kann.

Die Akinese betrifft sowohl willkürliche als auch unwillkürliche Bewegungen. Hierbei fällt bei Parkinson-Patienten insbesondere auf, dass es zu einer verlangsamten Initiation und Exekution von Bewegungen kommt (Gerlach et al. 2007), was als Bradykinese bezeichnet wird. Typische Begleitbewegungen z.B. das Mitschwingen der Arme sowie weitere spontane bzw. automatische Bewegungen sind zudem verarmt (Hypokinese), es kommt klassischerweise zu einer leichten Ermüdbarkeit bei repetitiven Bewegungen. Manifestationsformen des Morbus Parkinsons wie Haltungsinstabilität oder Ganganomalie treten oft erst im späteren Verlauf der Erkrankung hinzu. Die motorische Symptomatik beginnt charakteristisch unilateral, die Gegenseite ist oft erst im Verlauf betroffen.

Bei den nicht-motorischen Symptomen, die wie oben erwähnt auch im Rahmen einer prodromalen Symptomatik imponieren können, sind vor allem psychiatrische Symptome bzw. Syndrome zu nennen. Bei bis zu 40% der betroffenen Patienten lässt sich im Verlauf eine depressive Symptomatik nachweisen (Haltenhof et al. 1994, McDonald et al. 2003). Weitere psychiatrische Symptome wie psychotische Symptome, Angst, Schlafstörungen in Form von Durchschlafstörungen, vegetative Störungen oder kognitive Störungen lassen sich ebenso nachweisen. Dabei ist insgesamt weiterhin unklar, ob z.B. die häufige depressive Symptomatik Ausdruck des neurodegenerativen Prozesses ist oder sekundär zu sehen ist (McDonald et al. 2003). Im Vergleich zu gleichaltrigen Menschen ist für Parkinson-Patienten die Wahrscheinlichkeit, an einer Demenz zu erkranken, fast sechsfach so hoch (Aarsland et al. 2001). Die Arbeitsgruppe von Aarsland ermittelte in einer Übersichtsarbeit sogar eine Häufigkeit zwischen 24% und 31% (Aarsland et al. 2005). Auch in aktuelleren prospektiven Studien ergeben sich inkonsistente Befunde, so schwankte die Prävalenz eines dementielles Syndromes bei PD zwischen 5% vier Jahre nach Diagnosestellung bis zu 15-20% nach fünf Jahren sowie bis zu 46% nach zehn Jahren. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten unterschiedlichen Patientenpopulationen, unterschiedlichen Beobachtungszeiträumen entweder abhängig von ersten aufgetretenen Symptomen oder Diagnosestellung, unterschiedlichen Diagnosekriterien oder fehlenden Folgeuntersuchungen bei einigen Studien geschuldet sein (Williams-Gray et al. 2013, Santangelo et al. 2015)

1.1.2. Epidemiologische Daten

Analog zur Alzheimer-Erkrankung (vergleiche Kapitel 1.3.1) steigt auch beim Morbus Parkinson das Risiko einer Erkrankung mit dem Alter (Langston 1998). Im Alter kommt es zu einer natürlichen Abnahme von Dopamin im Striatum, was beim Morbus Parkinson beschleunigt erscheint. Nikotinkonsum konnte in verschiedenen Studien negativ mit dem Auftreten eines Morbus Parkinsons assoziiert werden, in weiteren Metaanalysen konnten diese Befunde bestätigt werden, ohne dass ein eindeutiger Pathomechanismus beschrieben werden konnte (Hernan et al. 2002, Ritz et al. 2007, Li et al. 2015). In einer Übersichtsarbeit von Wood wird dieser mögliche Zusammenhang eher kritisch bewertet (Wood 2017).

Powers konnte nachweisen, dass interessanterweise auch nicht-steroidale Antiphlogistika (NSAR) das Risiko, an Morbus Parkinson zu erkranken, reduzieren (Powers et al. 2008). Auch exogene Faktoren standen oder stehen im Verdacht, bei der Pathogenese des Morbus Parkinson eine Rolle zu spielen. Seit der Entdeckung des MPTP (1-Methyl-Phenyl-1,2,3,6 Tetrahydropyridin) induzierten Parkinsonismus durch Degeneration von Neuronen in der Substantia nigra durch die Arbeitsgruppe von Tolwani (1999) lag die Vermutung nahe, dass Umweltgifte mit MPTP-ähnlicher Struktur eine Ursache für Morbus Parkinson sein könnten (Tolwani et al. 1999). Vergleichbare Substanzen finden sich z.B. in Form von Pestiziden, Herbiziden oder Fungiziden (Le Couteur et al. 1999). Allerdings kam das erwähnte Toxin MPDP neben 6 Hydroxydopamin (6 OHDA) in verschiedenen Tiermodellen zum Einsatz und diese stellen noch heute das wichtigste (pharmakologische) Modell zur Erforschung der Pathogenese des Morbus Parkinson dar (Langston 2017).

Zu erwähnen bleiben weitere mögliche exogene Faktoren, die einen Parkinsonismus verursachen können, wie Schädelhirntraumata, Infektionen, Stoffe wie Zyanid, Karbondisulfid und Mangan (Goldman 2014). Letztlich kann es auch durch die Einnahme von Neuroleptika zum sogenannten Parkinsonoid kommen, der auf eine Dopaminblockade an Dopaminrezeptoren (D2-, D3-Rezeptoren) zurückzuführen ist und als sogenannte extrapyramidalmotorische Nebenwirkung von Medikamenten zu sehen ist.

1.1.3 Neuropathologie

Der progrediente Zelluntergang durch Degeneration dopaminergener Neurone der Pars compacta der Substantia nigra wurde bereits im Jahr 1919 erstmals durch den jungen Mediziner Tretjakoff in seiner Doktorarbeit beschrieben (zitiert nach Andrade et al. 2009). Neuere Erkenntnisse scheinen allerdings zu belegen, dass bei der Parkinson-Erkrankung mehrere neuronale Systeme betroffen sind. Neben dem dopaminergen System sind dies z.B. auch das noradrenerge System (Locus Coeruleus und dorsaler Vagus Kern), das serotonerge (Raphe Kerne) als auch das cholinerge System (Nucleus basalis Meynert) (Jellinger et al. 1987, 1989, Hornykiewicz und Kish 1987) sowie die peripheren Ganglien des autonomen Nervensystems. Schließlich scheint auch das glutamaterge System z.B. bei der Entstehung von Dyskinesien mitbeteiligt zu sein (Soghomonian et al. 1997).

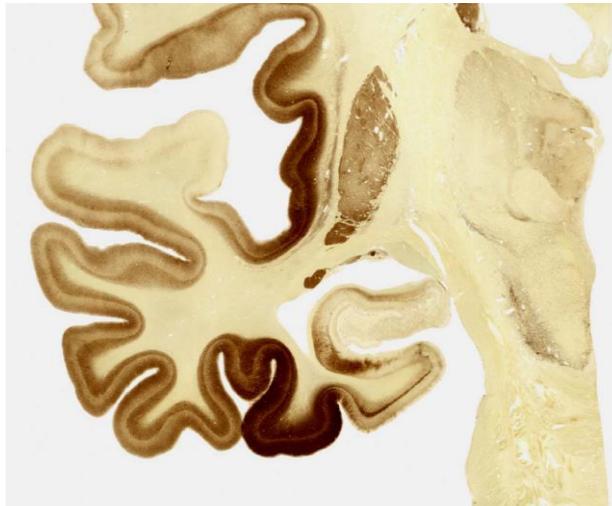


Abb.1: Neuropathologische Läsionen PD: Im Endstadium des M. Parkinson verstärken sich die kortikalen Veränderungen erheblich. Dabei bleiben Dichteunterschiede zwischen den mesokortikalen und neokortikalen Veränderungen erhalten (immunozytochemische Reaktion gegen α -Synuklein ohne Gegenfärbung) (modifiziert nach Braak et al 2003).

Analog zur Alzheimer-Erkrankung gibt es auch beim Morbus Parkinson charakteristische neuropathologische Korrelate, die sogenannten Lewy-Körperchen, welche sich in den betroffenen Hirnregionen als zytosolische Einschlüsse zeigen (Baba et al. 1998). Die charakteristischen Lewy-Körper sind eosinophile Proteinaggregate bestehend aus Proteinen wie Alpha-Synuclein, Ubiquitin und Neurofilamenten. Deren Rolle bei der Entstehung des Morbus Parkinson

ist bisher noch weitgehend unklar. Aus Untersuchungen des Dopaminstoffwechsels, der dopaminergen nigrostriatalen Projektionen und des Zelluntergangs in bei Signalkaskaden betroffenen Regelkreisen der Basalganglien, Striatum und Putamen konnte zumindest ein Teil der klinischen Symptomatik des Morbus Parkinson ursächlich erklärt werden. Aus der Pars compacta der Substantia nigra projizieren dopaminerge Neurone über das mediane Vorderhornbündel in das Striatum und vermitteln Signale, welche über Inhibition/Disinhibition modulierend auf Bewegungsimpulse und Bewegungsabläufe wirken. Untersuchungen hinsichtlich der Zusammensetzung der beschriebenen Proteinablagerung lassen jedoch weitere Rückschlüsse und somit neuere Ansatzpunkte für die Suche nach genetisch prädisponierenden Faktoren zu (Hurtig et al. 2000). Beim Abtransport von Proteinen ist das histochemisch in Lewy Körperchen nachweisbare Ubiquitin von großer Bedeutung. Inwieweit es hier zu einem gestörten Abbau (Love et al. 1988) oder möglicherweise Zellfunktionen durch Lewy-Körper direkt gestört werden (Rockwell et al. 2000), ist weiterhin ungeklärt. Die Ablagerung von Lewy Körperchen ist dabei nicht pathognomonisch für den Morbus Parkinson, weitere Synucleinopathien (Lewy Body Demenz) zeigen ebenso Alpha-Synuclein-Aggregate in speziellen Neuronenpopulationen (Marti et al. 2003). Bei der Multisystematrophie finden sich oligodendrogliale Einschlusskörperchen (Papp et al. 1989).

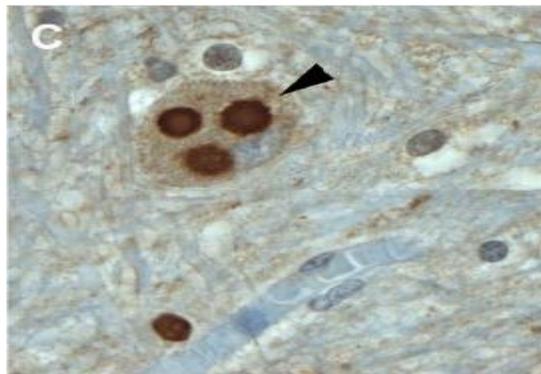


Abb. 2: Immunhistochemie. α -Synuclein-Färbung eines Lewy-Körperchens (sphärische, eosinophile, neuronale zytoplasmatische Einschlüsse (Pfeil), die aus Aggregaten von α -Synuclein, einem synaptischen Protein, gebildet werden) in der Substantia nigra bei Parkinson-Krankheit (aus Feany 2010).

1.1.4 Diagnose

Die Diagnose eines Morbus Parkinson erfolgt in der Regel durch eine klinisch neurologische Untersuchung. Es stehen heutzutage neben einer Magnetresonanztomografie und genetischen Untersuchung auch spezielle bildgebende Verfahren wie z.B. die FP-CIT SPECT-Untersuchung zur Verfügung, durch die das Ausmaß des Zellverlustes beurteilt werden kann. Dabei fungieren sogenannte FP-CIT-Tracer als hochspezifische Liganden der präsynaptischen Dopamintransporter. Im Rahmen der Anamneseerhebung sollte neben dem Beginn und der Dynamik der Entstehung auch auf vegetative Symptome (Wasserlassen, Stuhlgang und orthostatische Hypotonie) geachtet werden. Riechstörungen sind häufig das erste Symptom einer degenerativen Hirnerkrankung, beim Morbus Parkinson kann eine Anosmie als Frühsymptom imponieren (Chen et al. 2017). Neben der klinisch neurologischen Untersuchung kommen auch orientierende testpsychologische Verfahren, wie Mini Mental State Examination (MMSE) und eine Untersuchung der Depressivität (Beck Depressions Inventar, BDI) zum Einsatz.

1.1.5 Therapie

Bei eindeutigem klinischem Verdacht auf das Vorliegen eines Morbus Parkinson ist eine Therapie mit L-Dopa angezeigt. Ziel ist dabei, den Mangel an Dopamin bzw. das Ungleichgewicht der Neurotransmitter auszugleichen. Oft wird L-Dopa mit Decarboxylasehemmern kombiniert, um eine nebenwirkungsärmere Therapie zu ermöglichen (die Dopa-Decarboxylase wandelt L-Dopa in Dopamin um). Weiterhin stehen mit Dopaminagonisten (Stimulation postsynaptischer Dopaminrezeptoren) weitere medikamentöse Behandlungsoptionen zur Verfügung. Weiter kommen auch MAO- (Monoaminoxidase) und COMT- (Catechol-O-methyltransferase) Inhibitoren zum Einsatz, welche den Abbau von Dopamin und Vorläufermolekülen hemmen. Schließlich sind noch NMDA-Rezeptor Antagonisten als Therapieoption zu nennen. NMDA-Antagonisten (auch Glutamat-Rezeptor-Antagonisten genannt) wirken dabei dem Ungleichgewicht der Botenstoffe Dopamin und Glutamat entgegen und helfen unter anderem, Überbewegungen zu verringern und erhöhen darüber hinaus erhöhen die Menge von aktivem Dopamin im Gehirn.

Bei therapieresistenten Verläufen ist ggf. eine nichtmedikamentöse Behandlung indiziert, diese steht durch die sogenannte Tiefenhirnstimulation zur Verfügung. Hierbei wird eine Mikroelektrode in bestimmte Areale der basalen Ganglien stereotaktisch implantiert, um die motorische Kernsymptomatik positiv zu beeinflussen (Beitz 2014).

1.2 Genetik des Morbus Parkinson

Ein kleiner Teil der unterschiedlichen Erkrankungsformen (5-10 %) ist monogen, d. h. durch Mutationen in einzelnen Genen, bedingt. Es sind bis heute drei Gene für autosomal dominante familiäre Formen des Morbus Parkinson identifiziert worden, *PARK-SNCA (PARK1)*, *PARK-LRRK2 (PARK8)* sowie *PARK-VPS35*, welche bei der Entstehung der LOPD eine Rolle spielen (Polymeropoulos et al. 1997, Paisan-Ruiz et al. 2004, Zimprich et al. 2004, Lill et al. 2016). Weiterhin konnten weitere „Loss-of-function-Mutationen“ entdeckt werden, die einem autosomal rezessiven Erbgang folgen: *PARK-PARKIN (PARK2)*, *PARK-PINK1 (PARK6)* und *PARK-DJ1 (PARK7)*. Es konnte eine weitere autosomal rezessiv vererbte Mutation DNAJC6 mit dem juvenilen, aber auch mit typischen Morbus Parkinson in Verbindung gebracht werden (Edvardson et al. 2012). Es gab aber auch Studien, die keine Verbindung des Polymorphismus mit dem Morbus Parkinson nachweisen konnten (Shi et al. 2016).

Im Rahmen von sogenannten Multicase-Studien sowie durch Studien mit Populationen mit größeren Stammbäumen konnten neben diesen krankheitsassoziierten Genen weitere 12 Genloci identifiziert werden. Nach der „Hugo Gene Nomenclature Comitee“ wurden alle nach dem Zeitpunkt ihrer Entdeckung in *PARK 1* bis *PARK 18* klassifiziert (Bonifati et al. 2003a, Farrer et al. 1999b, Funayama et al. 2002, Gasser et al. 1998, Hicks et al. 2002, Kitada et al. 1998, Le et al. 2003, Leroy et al. 1998, Pankratz et al. 2003, Polymeropoulos et al. 1997, Ramirez et al. 2006, Valente et al. 2001; siehe hierzu Tabelle 1.). Im Folgenden wird auf diese frühere Nomenklatur verzichtet und die aktuell gebräuchlichen Konsensusempfehlung der „MDS Task Force for Nomenclature of Genetic Movement Disorders“ verwendet. In dieser Nomenklatur werden unter anderem die numerischen Bezeichnungen durch Gennamen ersetzt

(z. B. *PARK-SNCA* statt *PARK1*) und nur noch Gene eingeschlossen, die unabhängig validiert werden konnten (siehe hierzu Marras et al. 2016).

Insbesondere bei den monogenen Early Onset Parkinson-Syndromen, die auf Mutationen im *PARK-PARKIN* oder *PARK-PINK1*-Gen zurückzuführen sind, konnten die Ergebnisse in verschiedenen Studien repliziert werden (Valente et al. 2004), sodass von einer großen klinischen Relevanz ausgegangen werden kann. Gleiches gilt für Mutationen im *PARK-LRRK2* und im *PARK-VPS35* Gen bei LOPD. Epidemiologisch bedeutsamer ist hingegen der typische, sporadische M. Parkinson, der mehr als 90% der Erkrankungen ausmacht. Die Mehrzahl der Erkrankungen an Morbus Parkinson können somit vorgenannte Ergebnisse, die große Rückschlüsse auf die Ätiopathogenese des Morbus Parkinson zulassen, nicht erklären.

Eine große Bedeutung kommt daher auch beim Morbus Parkinson sogenannten genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) potentieller Kandidatengene zu. Von besonderem Interesse sind dabei Polymorphismen, die auch von funktioneller Bedeutung sind, im Sinne z.B. einer veränderten Proteinexpression oder Enzymaktivität. Beim Morbus Parkinson sind hier z.B. Polymorphismen in der Promoterregion des α -Synucleins (Chiba-Falek et al. 2003b) oder der N-Acetyltransferase 2 (*NAT-2*) (Cascorbi et al. 1995) zu nennen. 2009 gelang es der Arbeitsgruppe von Gasser, in einer großen GWAS die Gene von α -Synuclein (*SNCA*) und *MAPT* (Microtubule-Associated Protein Tau) als Risikofaktoren für den sporadischen Morbus Parkinson zu identifizieren (Simón-Sánchez et al. 2009), erstere Assoziation konnte durch eine Arbeitsgruppe von Mata bestätigt werden (Mata et al. 2011). Der bereits bekannte Zusammenhang zwischen *SNCA* und seltenen familiären Formen von Morbus Parkinson konnte somit erstmals mit der sporadischen Form des Morbus Parkinson nachgewiesen werden. Weiterhin wurde eine weitere Risikovariante in der Nähe des *LRRK2* Gens als häufigste Ursache für die familiäre Form der Erkrankung identifiziert und als *PARK16* klassifiziert. Assoziationsstudien unter Dopaminrezeptoren sind neben Morbus Parkinson auch für verschiedene andere Erkrankungen durchgeführt worden, beim Morbus Parkinson zeigt nur der D2-Rezeptor eine signifikante Assoziation (Plante-Bordeneuve et al. 1997). Insgesamt sind heute bis zu 26 Kandidatengene bekannt, die im Zusammenhang mit der Entstehung des Morbus Parkinson untersucht werden (Lill et al. 2016).

Genort	Gen	Chromosom	Vererbung	Proteinfunktion/ Vorkommen	Referenz
<i>PARK1</i>	<i>SNCA</i>	4q21	AD	Präsynaptisches Protein	(Polymeropoulos et al. 1997, Singleton et al. 2003)
<i>PARK2</i>	<i>PARKIN</i>	6q25-2-27	AR	Ubiquitin-E3-Ligase	(Kitada et al. 1998)
<i>PARK3</i>	unbekannt	2p13	AD	unbekannt	(Gasser 1998)
<i>PARK4</i>	α -Synuclein	4q21-q23	AD	Lewy-Körperchen-Bestandteil	(Singleton et al. 2003)
<i>PARK5</i>	<i>UCH-L1</i>	4p14	AD	Ubiquitin-Hydrolase	(Leroy et al. 1998)
<i>PARK6</i>	<i>PINK1</i>	1p35-36	AR	Mitochondriale Kinase	(Valente et al. 2004)
<i>PARK7</i>	<i>DJ-1</i>	1p36	AR	Chaperon, Antioxidant	(Bonifati et al. 2003a)
<i>PARK8</i>	<i>LRRK2</i>	12p11.2	AD	Kinase	(Paisan-Ruiz et al. 2004, Zimprich et al. 2004)
<i>PARK9</i>	<i>ATP13A2</i>	1p36	AR	ATPase	(Ramirez et al. 2006)
<i>PARK10</i>	unbekannt	1p32	AD	unbekannt	(Hicks et al. 2002)
<i>PARK11</i>	<i>GIGYF2</i>	2q36-37	AD	Regulation von Tyrosinkinase-Rezeptorsignalwegen	(Lautier et al. 2008)
<i>PARK12</i>	unbekannt	Xq21-p25	unbekannt	unbekannt	(Pankratz et al. 2003)
<i>PARK13</i>	<i>HTRA2</i>	2p12	unbekannt	Mitochondriale Serin-Protease	(Strauss et al. 2005)
<i>PARK14</i>	<i>PLA2G6</i>	22q13.1	AR	PhospholipaseA2	(Paisan-Ruiz et al. 2009)
<i>PARK15</i>	<i>FBX07</i>	22q12-q13	AR	F-Box Protein, Untereinheit einer Ubiquitin Protein Ligase	(DiFonzo et al. 2009)
<i>PARK16</i>	unbekannt	1q32	unbekannt	unbekannt	(Satake et al. 2009)
<i>PARK17</i>	<i>VPS35</i>	16q11.2	AD	VPS35 retromer complex component	(Zimprich et al. 2004)
<i>PARK18</i>	<i>EIF4G1</i>	3q27.1	unbekannt	unbekannt	(Chartier-Harlin 2004)

Tab. 1 Polymorphismen bei PD: Historische Einteilung von PARK1-PARK18

1.3 Morbus Alzheimer

1.3.1 Epidemiologie

Bei dem nach Alois Alzheimer (1864 bis 1916) benannten Krankheitsbild handelt es sich um eine neurodegenerative Erkrankung, deren Ursache und Pathogenese weitgehend ungeklärt ist. Der Morbus Alzheimer ist durch die Ausbildung von sogenannten Amyloid-Plaques sowie umschriebenen Degenerationen von Neuronen im Hippocampus sowie dem basalem Vorderhirn gekennzeichnet. Das histologische Bild des Morbus Alzheimer ist dabei neben den Amyloid-Plaques insbesondere durch Neurofibrillenbündel gekennzeichnet, die von einer Entzündungsreaktion umgeben sind. Hierbei spielen aktivierte Mikroglia sowie eine Vielzahl von Entzündungsmediatoren eine Rolle (Mrak and Griffin 1996).

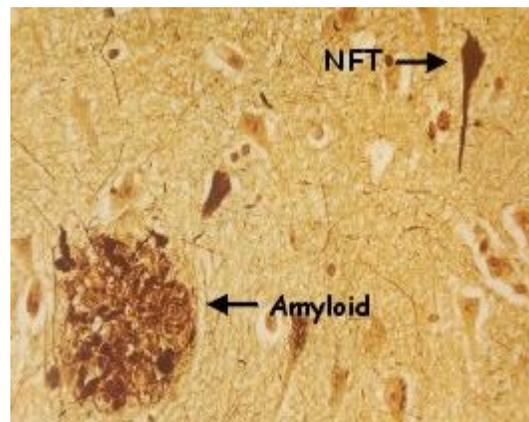


Abb.3: β -Amyloid-Plaque und Neurofibrilläre Tangles (NFT) bei Morbus Alzheimer (de la Torre: „Alzheimers turnig point“: Springer 2016)

Die weltweite Prävalenz des Morbus Alzheimer lag 2006 bei 26,6 Millionen Menschen (Brookmeyer et al. 2007). In neueren Studien wird eine Verdopplung alle 20 Jahre prognostiziert (Mayeux et al. 2012) – eine Entwicklung, die für alle Gesundheitssysteme eine große Herausforderung darstellt. Schätzungen von Weltgesundheitsorganisation und Alzheimer's Disease International zufolge litten im Jahr 2015 weltweit 46,8 Millionen Menschen an einer Demenz. In Europa waren 2011 bereits 6,5 Millionen Menschen an Morbus Alzheimer erkrankt (Alcove = Alzheimer Cooperative Valuation in Europe). In Deutschland litten nach Angaben des Berlin-Instituts für Bevölkerung und Entwicklung 2012 ca. 1,4 Millionen Menschen an einer demenziellen Erkrankung (EuroCoDe Daten von Alzheimer Europe 2012). Legt

man die europäischen Prävalenzraten einer Schätzung der Krankenzahl zugrunde, litten Ende 2016 bereits über 1,6 Millionen Menschen in Deutschland an einer dementiellen Erkrankung. Aktuell leben in Deutschland ca. 1,7 Millionen Demenzerkrankte in Deutschland, nach Vorausberechnungen der Bevölkerungsentwicklung wird sich die Krankenzahl bis zum Jahr 2050 auf rund 3 Millionen erhöhen, sollte es keinen Durchbruch bei Therapie und Prävention der Erkrankungen geben.

In einer Studie der Arbeitsgruppe von Lobo sind 6,4% aller über 65-Jährigen und 28,5% der über 90-Jährigen an einer Demenz erkrankt (Lobo et al. 2000). Die Inzidenzrate steigt mit dem Alter, in der Gruppe der über 65-Jährigen liegt sie bei 1,5 % pro Jahr (Bickel und Cooper, 1994). Insgesamt stellt das Alter einen wichtigen Risikofaktor für den Morbus Alzheimer dar, diese Annahme konnte in einer Studie von Lautenschlager et al. (1996) bestätigt werden. Bei 85-Jährigen liegt das Risiko zu erkranken bei 38%. Der Beginn der ersten Krankheitssymptome der auch als early-onset AD bezeichneten familiären Form setzt typischerweise vor dem 65., mitunter bereits zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr ein (Weyerer et al. 2005).

In mehreren Studien konnte der natürliche Alterungsprozess als ein wesentlicher Risikofaktor für Morbus Alzheimer nachgewiesen werden, die Inzidenzrate steigt dabei exponentiell mit dem Alter, insbesondere während der 7. und 8. Lebensdekade (Mayeux und Stern 2012). Dementielle Erkrankungen können verschiedene Ätiologien zugrunde liegen, jedoch ist der Morbus Alzheimer mit 60 bis 70% die häufigste Demenzform (Fratiglioni et al. 2000). Dabei wird zwischen zwei Verlaufsformen differenziert: Der Morbus Alzheimer mit spätem Beginn und langsamem Verlauf wird von dem Morbus Alzheimer mit frühem Beginn (<65 Jahre) und rasch progredientem Verlauf unterschieden. Letztere Verlaufsform ist dabei weniger häufig.

Als prädisponierende Risikofaktoren sind sowohl genetische als auch individuelle Lebensbedingungen und Umweltfaktoren zu nennen, die neben dem unvermeidbaren Alterungsprozess das Erkrankungsrisiko bedingen. So konnte beispielsweise ein erhöhtes Erkrankungsrisiko nachgewiesen werden, wenn ein Schädelhirntrauma in der Vorgeschichte vorlag (Mortimer et al. 1991). Ebenso sind einige Erkrankungen wie Diabetes mellitus (Adolfsson et al. 1980, Leibson et al. 1997) oder Hypothyreose (Breteler et al. 1991) mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko assoziiert. In einer Meta-Analyse wurde das Alter der Mutter bei Geburt im Hinblick auf

das Risiko, an Alzheimer zu erkranken, untersucht. Überraschenderweise zeigte sich sowohl für ein Alter von über 40 Jahren bei Geburt als auch bei niedrigem Alter (15-19 Jahre) eine positive Assoziation und somit ein erhöhtes Risiko, an einer Alzheimer-Demenz zu erkranken (Rocca et al. 1991). Für den Morbus Alzheimer konnte ein negativer Effekt eines Nikotinkonsums nachgewiesen werden (Oddo et al. 2005). Ein Zusammenhang zwischen einem metabolischen Syndrom (Adipositas, arterieller Hypertonie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus) wird ebenso diskutiert.

1.3.2 Klinik

Das klinische Bild des Morbus Alzheimer ist initial durch Kurzzeitgedächtnisstörungen sowie Orientierungsstörungen geprägt. Im weiteren Verlauf treten Beeinträchtigungen des Denkens und der Auffassung, kognitive Sprachstörungen, Antriebsstörungen und Persönlichkeitsveränderungen hinzu. Oft ist das psychopathologische Syndrom mit motorischen Störungen und Koordinationsstörungen vergesellschaftet. Der Morbus Alzheimer führt in allen Altersgruppen und bei beiden Geschlechtern zu einer verminderten Lebenserwartung. Nach Diagnosestellung beträgt die mittlere Überlebenszeit zwischen ca. vier (Männer) und sechs Jahren (Frauen) (Larson et al. 2004). Die Persönlichkeit des Patienten kann dabei lange erhalten bleiben, in den Endstadien der Erkrankung ist das Bild jedoch durch weitere Symptome wie Sprachverarmung, Verlust des Sprachverständnisses und psychologische und Verhaltenssymptome gekennzeichnet (Chobor und Brown 1990). In groß angelegten Studien wurde in letzter Zeit vermehrt die Bedeutung der Früherkennung und Erfassung von Beeinträchtigungen des täglichen Lebens bei Morbus Alzheimer mittels Informations- und Kommunikationstechnologien (ICT) herausgestellt (Sacco et al. 2012). Entsprechende Biomarker sind bisher nicht verfügbar. Hierdurch könnte in Zukunft möglicherweise das Fortschreiten der Erkrankung überwacht und mögliche Effekte eines Medikamentes überprüft werden.

Aufgrund der unspezifischen Symptomatik zu Beginn muss die Diagnose unter Zuhilfenahme von testpsychologischen Untersuchungen (z.B. CERAD) klinisch gestellt werden. Differentialdiagnostisch ist dabei grundsätzlich die Abgrenzung der Alzheimer-Demenz von z.B.

depressiven Syndromen, chronischem Alkoholabusus bzw. Folgekrankheiten, Medikamentenabhängigkeiten sowie anderen organischen Syndromen wie Vaskulitiden, cerebrale Ischämien oder entzündlichen Erkrankungen des ZNS (z.B. Neurolyues) erforderlich. Die Diagnose eines Morbus Alzheimer bleibt somit überwiegend eine Ausschlussdiagnose. Der „Goldstandard“ bleibt somit die neuropathologische Diagnose mit Zeichen der Hirnatrophie, Erweiterung des Ventrikelsystems sowie die bereits erwähnten histologischen Befunde wie Amyloid-Plaques und neurofibrilläre „tangles“. Zum Tode der betroffenen Patienten kommt es dabei häufig im Verlauf der Erkrankung durch interkurrente Infekte.

1.3.3 Therapie

Heutzutage ist es durch Einsatz von z.B. zentral wirksamen Acetylcholinesterasehemmern wie Rivastigmin und Galantamin oder Donepezil möglich, symptomatisch die Erkrankung zu behandeln. Hierbei kommt ebenso der NMDA-Modulator Memantine zum Einsatz, das eine Zulassung im fortgeschrittenen Bereich der Erkrankung hat. Im weiteren Verlauf der Erkrankung fordern häufig die akzessorischen Symptome wie Verhaltensstörungen oder delirante Syndrome eine stationäre und medikamentöse Behandlung, bei der oftmals Neuroleptika eingesetzt werden. Nicht zuletzt spielt die psychosoziale Betreuung unter Einbeziehung von Ergotherapeuten, Bewegungstherapeuten und Psychotherapeuten sowie andere soziale Hilfsdienste eine besondere Rolle. Unter diesem Therapieregime und Einbeziehung der Angehörigen der Betroffenen kann ein Erhalt von Lebensqualität über einen längeren Zeitraum erreicht werden (Berlit 2007).

Ziel der aktuellen Forschung kann daher nur sein, Methoden der Früherkennung inklusive valider biologischer Marker zu etablieren, um den Morbus Alzheimer auch in Frühstadien zu erkennen und positiv zu beeinflussen. Die Anzahl von therapeutischen Optionen ist zum heutigen Zeitpunkt als unbefriedigend einzustufen, aktuell stehen weiterhin keine kausalen Therapieoptionen zur Verfügung. Zurzeit befinden sich zahlreiche neue Substanzen in klinischen Studien oder sind noch in der präklinischen Entwicklungsphase (Mangialasche et al. 2010, Cummings 2018).

Bei zahlreichen, initial vielversprechenden Ansätzen einer „Anti-Amyloid-Therapie“ führten die untersuchten Substanzen zwar zum Teil zum gewünschten Effekt hinsichtlich der Elimination von β -Amyloid-Plaques, der dementielle Prozess konnte jedoch leider nicht entscheidend beeinflusst werden (Holmes et al. 2008). Die Rolle von A β bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer bleibt somit weiterhin unklar (Hardy 2009). Der aus der Diabetesbehandlung bekannte Wirkstoff Rosiglitazone wirkt als β -Sekretase-Inhibitor, in einer Phase-III-Studie konnten keine positiven Effekte auf Kognition oder das globale Funktionsniveau erreicht werden (Gold et al. 2010). Substanzen, die eine modulatorische Wirkung auf die γ -Sekretase haben (z.B. Ibuprofenderivate, s.u.) zeigten in einer Phase-III-Studie ebenfalls keine klinisch signifikanten Effekte (Green et al. 2009).

Ein weiterer vielversprechender Ansatz ist die aktive und passive Immunisierung gegen β -Amyloid (Schenk et al. 1999). Einige monoklonale und polyklonale Antikörper gegen A β befanden sich in klinischer Erprobung (Dodel et al. 2004, Taguchi et al. 2008, Dodel et al. 2010), zum Teil im Rahmen von Phase III-Studien (Relkin et al. 2009). Insgesamt konnte in keiner der Studien ein signifikant positiver Effekt nachgewiesen werden. In weiteren Phase III- Studien konnte durch den Einsatz eines monoklonalen Antikörpers (Solanezumab) gegen A β ein geringer Effekt auf den Abbau von kognitiven Funktionen bei leicht beeinträchtigten Morbus Alzheimer-Patienten gezeigt werden, eine Beobachtung, die die Bedeutung von Amyloid- β und neuroimmunologischen Kaskaden unterstreicht. Insgesamt blieben die Ergebnisse allerdings deutlich unter den Erwartungen zurück, die primären Endpunkte der Studie konnten nicht erreicht werden (Tayeb et al. 2013), zum Teil kam es zu erheblichen Nebenwirkungen bei der Immunisierung (AN1792, Meningoenzephalitis) (Gilman et al. 2005) Im Rahmen einer Follow-up-Studie konnte hierbei ebenso kein wesentlicher Effekt hinsichtlich Verbesserung der Kernsymptomatik des Morbus Alzheimer erreicht werden (Holmes et al. 2008). In Studien mit größeren Fallzahlen zur Untersuchung der Wirksamkeit von intravenös verabreichten Immunglobulinen zur Behandlung des Morbus Alzheimer konnten keine positiven Ergebnisse erzielt werden (Tsakanikas et al. 2008). Unter Berücksichtigung

der aktuellen Ergebnisse mit positiven Wirkungen von Antikörpern gegen β -Amyloid scheint eine abgewandelte „Amyloid-Hypothese“ auch über 25 Jahre nach ihrer Formulierung bei der Entstehung des Morbus Alzheimer weiterhin aktuell (Selkoe und Hardy 2016). Die untersuchten Antikörper finden dabei allerdings in Studien aktuell eher bei leichten und mittelschweren Ausprägungen der Erkrankungen zum Einsatz.

Substanzen, die einer Aggregation von Tau-Protein entgegen wirken sollen, zeigten enttäuschende Ergebnisse (Wischik et al. 2014). Alternative Ansätze verlassen die Ebene der Beeinflussung auf Proteinebene und setzen z.B. bei der Modulation der mitochondrialen Funktionen an (Doody et al. 2008). Ebenso befinden sich momentan nasale Applikationsformen der sogenannten Neurotrophine (nerve growth factor, NGF), die in Studien zu einer Verbesserung von kognitiven Funktionen führten, in der klinischen Erprobung (Cattaneo et al. 2008, Eriksson et al. 2010). Aktuell befinden sich weitere Substanzen, die die einer Aggregation von Tau entgegen wirken sollen, in der klinischen Erprobung (Abb.5, Cummings et al. 2018).

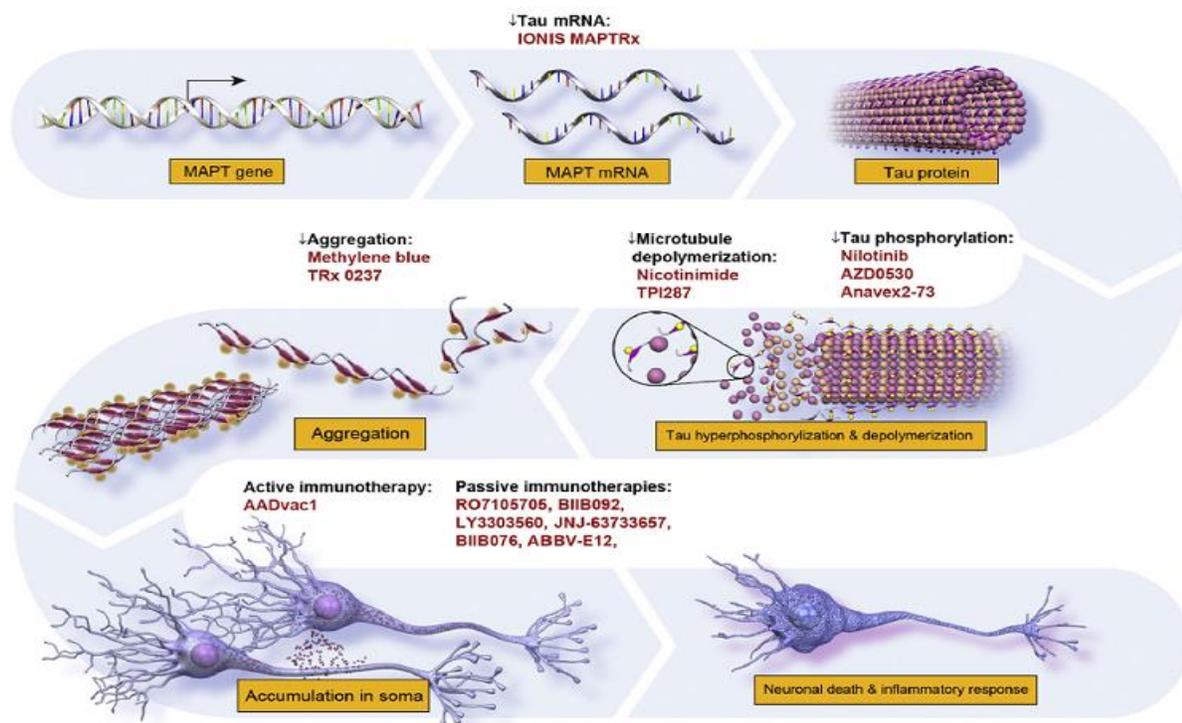


Abb. 5: Therapieansätze Anti-Tau-Aggregation (modifiziert nach Cummings et al. 2018)

Die entzündliche Komponente scheint bei der Entstehung des Morbus Alzheimer eine entscheidende Rolle zu spielen. β -Amyloid-Plaques sind von einer Entzündungsreaktion umgeben (Town et al. 2005). Hier spielen aktivierte Mikroglia und eine Vielzahl von Entzündungsmediatoren eine Rolle (Mrak et al. 2005b). Für die pro-inflammatorischen Interleukine IL-1 und IL-6 konnten erhöhte Expressionen im Gewebe von Patienten mit Alzheimer- Demenz gezeigt werden (Akiyama et al. 2000). Ob antientzündliche Arzneimittel, insbesondere nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR), die Entstehung einer Alzheimer-Erkrankung hinauszögern oder sogar verhindern können, ist aufgrund der bisherigen Studienlage unklar. Einige Beobachtungsstudien wiesen auf eine schützende Wirkung der NSAR hin, andere zeigten keinen Zusammenhang (Jenkinson et al. 1989, Mc Geer et al. 1990). Die langfristige Einnahme des nicht-steroidalen Antiphlogistikums Ibuprofen war in einer Fall-Kohorten-Studie von amerikanischen Veteranen mit einem signifikant vermindertem Risiko an Morbus Alzheimer zu erkranken assoziiert (Vlad et al. 2008). Für andere NSAR (z.B. Coxibe) konnte keine präventive Wirkung nachgewiesen werden. Im Rahmen von prospektiven Kohortenstudien konnte eine Reduktion der Erkrankungszahlen von bis zu 80% beobachtet werden (in't Veld et al. 2001), was zur Durchführung der Alzheimers`disease Anti-Inflammatory Prevention Trial (ADAPT) führte. An über 2500 Teilnehmern wurde der Effekt von NSAR gegenüber Placebo untersucht, die Häufigkeit von Demenzerkrankungen konnte gegenüber Placebo nicht gesenkt werden. Ibuprofen wurde in dieser Studie allerdings nicht eingesetzt. Vielmehr wurde die Studie 2004 abgebrochen, nachdem es unter der Einnahme von Naproxen zu vermehrten kardiovaskulären Nebenwirkungen gekommen war.

Im Hinblick auf die gewünschten Verbesserungen für Patienten mit Morbus Alzheimer sind die Ergebnisse der unterschiedlichen Therapieansätze insgesamt wenig befriedigend. Aufgrund der zum Teil frustrierten Ergebnisse zielt die aktuelle Forschungsarbeit eher auf Präventionsstudien ab, um Substanzen zu entdecken, welche den Ausbruch der Erkrankung verzögern oder gar verhindern können. Ein weiterer vielversprechender Ansatz

ist in diesem Zusammenhang der Anti-Amyloid-Antikörper Aducanumab, der seit Sommer 2016 in einer Phase-III-Studie untersucht wird und auf die Reduktion der Amyloid-Ablagerungen abzielt.

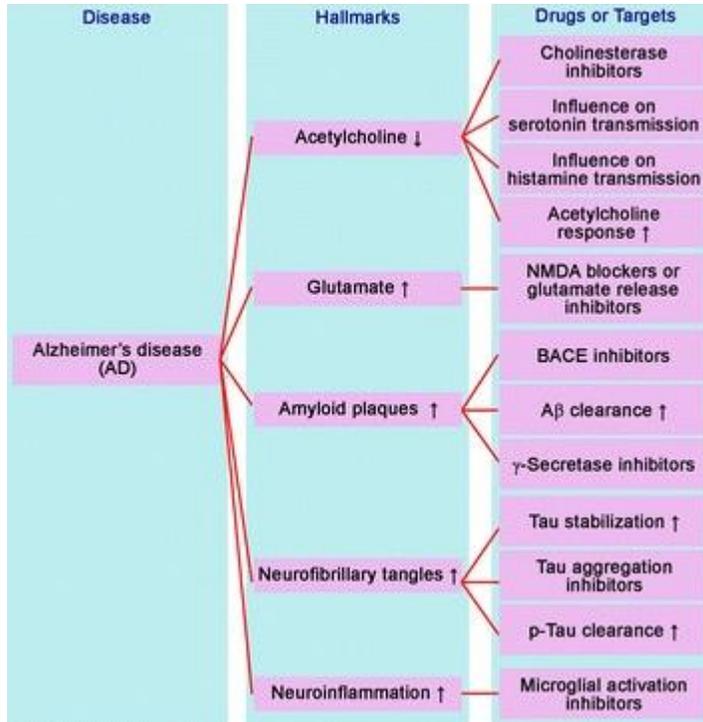


Abb. 6 Aktuelle Therapieansätze zur Behandlung des M. Alzheimer (modifiziert nach Hung et al. 2017)

1.3.4 Neuropathologische Läsionen bei Morbus Alzheimer

a) Amyloid Plaques

Die Bildung von unlöslichen, multizellulären β -Amyloid-Plaques gilt als ein zentraler Pathomechanismus bei der Entstehung der Alzheimer-Demenz. β -Amyloid besteht aus 38-42 Aminosäuren in Beta-Faltblattstruktur mit einem Molekulargewicht von ca. 4 kD, welches bei der Spaltung des Amyloid-Precursor-Proteins (APP) entsteht. Die klassische, senile Plaque besteht aus einer kompakten Ablagerung mit zentralem Kern und einem Ring neuritischer Fasern, die von aktivierter Mikroglia, Astrozyten und Makrophagen umlagert wird. In Gehirnregionen von Patienten mit Alzheimer-Demenz findet man vermehrt sogenannte diffuse Plaques, die durch einen hohen Anteil an Amyloid ($A\beta_{1-42}$) gekennzeichnet sind (Yamaguchi et al. 1989). Nach der APP-Synthese als Transmembranprotein wird dieses durch

sogenannte Sekretasen proteolytisch gespalten (α -, β - und γ -Sekretasen). Das längere n-terminale Ende des APP verbleibt zellmembrangebunden, die freiwerdenden A β -Fragmente (38-42 Aminosäuren lang) werden freigesetzt (Masters et al. 1985). Bestimmte Unterformen des Beta-Amyloids (Amyloid- β_{1-42}) aggregieren im Anschluss irreversibel zu den charakteristischen Plaques.

b) Neurofibrilläre Läsionen

Als neurofibrilläre Läsionen werden knäuelartige Verdichtungen bezeichnet, die u.a. das neuropathologische Bild des Morbus Alzheimer prägen. Sie sind paarig angeordnete Helices, die aus hyperphosphorylierten Tau-Proteinen bestehen. Das Tau-Protein bindet an stützende Zytoskelett-Proteine (Mikrotubuli) und reguliert deren Zusammenbau. Eine abnorme Hyperphosphorylierung der gepaarten Helices führt zu einem nicht mehr funktionellen Protein, welches nicht mehr mit den Mikrotubuli interagieren kann. Die entstehenden intrazellulären Aggregate können in den Gehirnen von Alzheimer-Patienten beobachtet werden. Die sich im Verlauf des Morbus Alzheimer entwickelnden neurofibrillären Läsionen sind nach Braak in einem stereotypen Muster im Gehirn angeordnet (Braak und Braak 1991).

Interessanterweise galt lange Zeit, dass die neurofibrillären Läsionen enger mit den kognitiven Störungen im Sinne der Schwere der Erkrankung bei der Alzheimer-Demenz korrelieren, als dies bei Amyloid-Plaques der Fall gewesen war (Gomez-Isla et al. 1996).

Cummings konnte in seiner Übersichtsarbeit jedoch aufzeigen, dass auch die Amyloiddeposition (wenngleich auch nicht in gleichem Ausmaße wie Tau-Aggregation) signifikant mit kognitiven Störungen korreliert (Cummings 2000). Die Frage, inwieweit die beschriebenen Amyloidablagerungen die Ursache für die Bildung von neurofibrillären Läsionen sind oder diese einem unabhängigen Pathomechanismus unterliegen, ist bisher noch ungeklärt (Hardy et al. 1998). Forschungsergebnisse der Arbeitsgruppe Wischik legen den Verdacht nahe, dass durch neue Substanzen (Leukomethylthioniumchlorid) sowohl Tau-Fibrillen als auch deren Vorstufen, die sogenannten Tau-Oligomeren, aufgelöst werden können, was in einer Phase-III-Studie gezeigt werden konnte (Wilcock et al. 2018). Insgesamt scheint eher ein komplexes Zusammenspiel aus hyperphosphoreliertem tau und β -Amyloid

für die neurodegenerativen Veränderungen und kognitiven Störungen verantwortlich zu sein (Canter et al. 2016).

1.4 Genetik des Morbus Alzheimer

Es gibt eine klare genetische Komponente bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer. Dabei unterscheidet man eine familiär gehäuft auftretende Form (FAD), die einem autosomal-dominanten Erbgang folgt und eine spät auftretende Form (Late-Onset AD, LOAD), letztere betrifft die Mehrzahl der Patienten. Die frühe monogene Form geht oft auf Mutationen in den Genen Presenilin 1 (Ps1), Presenilin 2 (Ps2) und APP zurück, betrifft jedoch nur ca. 1 bis 5% der Patienten (WHO, Dilling et al. 2008).

Bisher sind über 600 verschiedene Mutationen bekannt, deren gemeinsame funktionale Bedeutung in einer gemeinsamen Endstrecke liegt, nämlich zur Erhöhung des APP Spaltproduktes Amyloid- β (insbesondere $A\beta_{1-42}$ -Fragmente), das längere $A\beta_{42}$ -Fragment weist dabei eine höhere Tendenz zur Aggregation auf (Bentahir et al. 2006). Zurzeit sind etwa 32 pathologische Mutationen im *APP*-Gen, 178 im *PSEN1*-Gen und 14 im *PSEN2*-Gen bekannt (Morbus Alzheimer und FTD Mutation Database, Bertram und Tanzi 2012).

Mutationen in den Presenilin-Genen führen zu einer veränderten enzymatischen Spaltung von APP über die γ -Sekretasen, ebenfalls mit der Folge einer verstärkten Bildung von $A\beta_{1-42}$ Fragmenten, den neurotoxischen Spaltprodukten des APP.

Anekdotisch ist hierbei zu erwähnen, dass die Arbeitsgruppe Müller retrospektiv bei der „ersten“ Patientin Auguste D. von Alois Alzheimer eine Presenilin-1 Mutation ursächlich identifizieren konnte (Müller et al. 2013).

Bei der spät beginnenden Form der Alzheimer-Erkrankung sind es vor allem Suszeptibilitäts-gene, die zwar das Risiko für die Manifestation der Krankheit erhöhen, nicht jedoch hinreichend notwendig hierfür sind. Das Apolipoprotein E- ϵ 4-Allel konnte 1993 als Risikofaktor für die LOAD identifiziert werden (Strittmatter et al. 1993). Seither besteht Evidenz dafür, dass genetische Risikofaktoren der Alzheimer-Demenz nicht nur autosomal-dominanten Erbgängen folgen müssen. Das ApoE ϵ 4-Allel steigert das Risiko für Morbus Alzheimer um

den Faktor drei, bei homozygoten Allelen sogar um den Faktor acht (Rubinsztein und Easton 1999). Das ApoE- ϵ 4- Allel führt zur Ausbildung einer differenten Isoform des Proteins ApoE. Der ApoE-Genotyp scheint dabei mit dem Zeitpunkt der Erkrankung zu korrelieren, nicht jedoch mit der Entstehung überhaupt (Meyer et al. 1998). In welcher Weise das ApoE- ϵ 4-Allel den Pathomechanismus der Alzheimer-Demenz beeinflusst, bleibt bisher unklar. Weiterhin kann durch den ApoE- ϵ 4-Polymorphismus nur ein Teil der genetischen Varianz erklärt werden. Zahlreiche Kandidatengenstudien wurden folglich in den vergangenen Jahren durchgeführt, um weitere Gene zu identifizieren. Hierzu kamen insbesondere genomweite Assoziationsstudien zum Einsatz. Ergebnisse können in einer Online-Datenbank eingesehen werden (www.alzgene.org). In einer dieser Studien konnten Harold et al. 2009 zwei weitere signifikante Gene identifizieren, die eng mit der Alzheimer-Demenz assoziiert sind: Das *CLU*- und das *PICALM*-Gen. Das *PICALM*-Gen liegt auf Chromosom 11 und kodiert das „Phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein“. Dieses Protein kommt in verschiedenen Geweben vor, insbesondere jedoch in Neuronen. Hier scheint es die Ausschüttung von Neurotransmittern prä- und postsynaptisch zu modulieren (Harel und Zhou 2007) sowie die Zellproliferation zu beeinflussen (Scotland et al. 2012). Das *CLU*-Gen liegt auf Chromosom 8 und kodiert Clusterin, welches ubiquitär als sogenanntes Apolipoprotein J im Gehirn vorkommt und vor allem bei Verletzung des Gehirns oder chronischen Entzündungen erhöht sein soll. Bei Alzheimer-Patienten lässt es sich vermehrt in Amyloid-Plaques nachweisen (Calero et al. 2000).

Im Rahmen weiterer genomweiter Allelassoziationsstudien konnten sieben weitere Genloci mit der spät beginnenden Alzheimer-Demenz assoziiert werden, u.a. *BIN1*, *MS4A4/MS4A6E*, *CD2AP*, *CD33* und *ABLA7* (Seshadri et al. 2010, Hollingworth et al. 2011b, Naj et al. 2011). In einer weiteren Studie konnten Thambisetty et al. das Gen *CR1* als Risikogen für LOAD nachweisen (Thambisetty et al. 2012), einem Polymorphismus des Komplementfaktors 3b/4b Rezeptor 1 (CR1), welches als ein immunmodulierender Faktor angesehen wird. Interessanterweise ist dieser Zusammenhang mit einer niedrigen Amyloid-Deposition bei den betroffenen Patienten assoziiert. Somit liegt der Verdacht nahe, dass diese Genvariante das Risiko für Morbus Alzheimer auf andere Weise erhöht. Der Polymorphismus korreliert zudem positiv mit dem ApoE- ϵ 4-Polymorphismus. Bei den alternativen Pathomechanismen werden mögliche

entzündliche Komponenten im Gehirn in Betracht gezogen. In der sogenannten Framingham-Studie konnte ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Produktion von Interleukin-1 und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-alpha) und ein zweifach erhöhtes Risiko für Morbus Alzheimer aufgezeigt werden. Diese Befunde unterstreichen die Bedeutung inflammatorischer neben genetischen Prozessen bei der LOAD (Tan und Seshardi 2010). In den vergangenen Jahren wurde darüberhinaus einerseits ein Polymorphismus im *PLD3*-Gen als Risikofaktor für M. Alzheimer identifiziert und mit der Mutation im *TREM2*-Gen eine Assoziation vergleichbar mit der Stärke des APOE-e4-Allels gefunden (Cruchaga et al. 2014, Guerreiro et al. 2013).

	Gen	Chromosom	Polymorphismus	Etnizität	OR (95%CI)
1	APOE-e2/3/4	19	APOE- e2/3/4	alle	3.685 (3.30-4.12)
2	BIN1	2	rs744373	alle	1.166 (1.13-1.20)
3	CLU	8	rs11136000	kaukasisch	0.879 (0.86-0.90)
4	ABCA7	19	rs3764650	alle	1.229 (1.18-1.28)
5	CR1	1	rs3818361	kaukasisch	1.174 (1.14-1.21)
6	PICALM	11	rs3851179	kaukasisch	0.879 (0.86-0.9)
7	MS4A6A	11	re610932	alle	0.904 (0.88-0.93)
8	CD33	19	re3865444	alle	0.893 (0.86-0.93)
9	MS4A4E	11	rs670139	alle	1.079 (1.05-1.11)
10	CD2AP	6	re9349407	alle	1.117 (1.08-1.16)
11	TREM2	6	p.H157Y	kaukasisch	11.01 (1.38-88.05)
12	PLD3	19	V232M	alle	2.10 (1.47-2.99)

Tabelle 2: Kandidatengene Morbus Alzheimer (modifiziert nach Piaceri et al. 2013)

1.5 Zytokine und ihre Bedeutung bei neurodegenerativen Erkrankungen

Bei der Pathogenese von neurodegenerativen Erkrankungen spielen chronische entzündliche Prozesse eine entscheidende Rolle, daher sollen diese chronischen Prozesse und die Beteiligung von Zytokinen vorab von akut entzündlichem Geschehen abgegrenzt werden. Die Bedeutung von Zytokinen sowohl bei der Immunantwort bei akuten Entzündungen des Körpers als auch im Rahmen von chronisch-entzündlichen Erkrankungen (wie z.B. von Interleukin-1 bei der rheumatoiden Arthritis) ist bekannt. Interleukine vermitteln die Kommunikation zwischen Leukozyten und anderen an der Immunantwort beteiligten Zellen (z.B. Makrophagen) und werden von T-Helferzellen, Monozyten, aber auch von Zellen des Endothels gebildet. Das Immunsystem spielt eine essentielle Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase von Geweben und der akuten und chronischen Entzündungsreaktion. Interleukine stellen dabei eine heterogene Gruppe von Polypeptiden dar, die unterschiedliche Funktionen bei der Immunantwort übernehmen. So aktivieren sie Entzündungszellen, bewirken die Aktivierung, Differenzierung und Ausreifung von Lymphozyten und können sowohl die Hämatopoese beeinflussen als auch die Apoptose induzieren. Im Gehirn scheinen mikrogliale Zellen einer der wichtigsten Protagonisten bei der Immunantwort zu sein. Sie produzieren Faktoren wie Interleukine, die wiederum umgebende neuronale Zellen, insbesondere Astrozyten aktivieren. Unter physiologischen Bedingungen sind dies eher entzündungshemmende oder neurotrophe Faktoren (Streit 2002). Die unter physiologischen Bedingungen deaktivierte Mikroglia "switcht" bei entsprechenden Reizen zum "aktivierten" Status, sobald es zu einer akuten Infektion oder Gewebeschädigung gekommen ist. Insgesamt ist dieser Prozess selbstlimitierend.

Zytokine können prinzipiell von jeder Zelle des Körpers produziert werden. Sie üben vielfältige regulatorische Effekte auf das hämatopoetische System aus. Sie wirken zudem auf Zellen der Immunantwort und Zellerneuerung (Hanisch 2002). Zytokine haben charakteristische Eigenschaften (eine Übersicht bietet Thomson und Lotze 2003). Sie sind Polypeptide oder Glycoproteine von geringem Gesamtgewichtes < 30 kD. Sie wirken para- oder autokrin und binden hochspezifisch an Zellrezeptoren, wo sie vereinfacht gesagt eine veränderte Genexpression

der Zielzelle induzieren. Im ZNS führt eine vermehrte Zytokinausschüttung oft zu einer Aktivierung von glialen Zellen und spielt bei Traumen, cerebralen Infarkten, Infektionen und degenerativen Prozessen eine Rolle (Hopkins und Rothwell 1995, Rothwell und Hopkins 1995, Becher et al. 2000, Hanisch 2002). Bei neurodegenerativen Erkrankungen - wie dem Morbus Alzheimer - scheinen neuroimmunologische Prozesse neben den bekannten neuropathologischen Veränderungen (Amyloid-Plaques und Neurofibrillen) eine entscheidende Rolle zu spielen (Akiyama et al. 2000). Diese neuroinflammatorischen Prozesse werden dabei oft durch Zytokine vermittelt. Bei der Alzheimer-Erkrankung kommt es offenbar im Verlauf einer Signalkaskade zu einer chronisch-entzündlichen Reaktion. Nach dieser Hypothese resultiert der neuronale Zelluntergang beim Morbus Alzheimer einerseits aus direkten Effekten von inflammatorischen Zytokinen und aktiviertem Komplement, andererseits aus Zytokin-vermittelter vermehrter Produktion von neurotoxischem β -Amyloid (Giulian 1999). Zahlreiche weitere Befunde stützen diese Hypothese: Pro-inflammatorische Zytokine - wie Interleukin-1 und Interleukin-6 - sind dabei Mediatoren der sogenannten Akut-Phase-Reaktion, in welcher reaktiv z.B. α 2-Makroglobulin, CRP, α 1-Antichymotrypsin und Fibrinogen als Antwort auf pathologische Prozesse gebildet werden (Eikelenboom und Verhuis 1996). Zytokine, wie Interleukin-1 α , Interleukin-1 β , Interleukin-6, TNF- α oder Proteine wie α 2-Macroglobulin und α 1-Antichymotrypsin finden sich vermehrt im Hirngewebe von Alzheimer-Patienten (McGeer und McGeer. 2002b, Akiyama et al. 2000). Im Gewebe von Patienten mit Morbus Alzheimer konnten erhöhte Expressionen von IL-1 und IL-6 in aktivierter Mikroglia und Astrozyten nachgewiesen werden, die die Bedeutung dieser pro-inflammatorischen Zytokine bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer unterstreicht (Akiyama et al. 2000).

Für IL-1 α konnte bereits ein Zusammenhang zwischen der erhöhten Expression in durch aktivierter Mikroglia vermittelter Überexpression von ApoE nachgewiesen werden (Liu et al. 2005). Für IL-6 werden sowohl neuroprotektive als auch neurotrophe Eigenschaften angenommen, zudem wirkt es durch eine TNF- α Hemmung antiinflammatorisch. Untersuchungen konnten zeigen, dass die temporale IL-6 mRNA-Expression bei Demenzpatienten signifikant erhöht ist (Luterman et al. 2000). In anderen Studien konnte auch ein protektiver Effekt für Träger von bestimmten IL-6-Allelen gezeigt werden (Qi et al. 2012). Weiterhin konnte in tier-

experimentellen Studien gezeigt werden, dass das Zytokin IL-6 die Mikroglia zum Abbau von Plaques veranlassen kann (Chakrabarty et al. 2010). Diese Befunde stehen im Einklang mit der Entzündungshypothese des Morbus Alzheimer. Welche Bedeutung tatsächlich den Interleukinen beim Morbus Alzheimer zukommt, bleibt aktuell weiter unklar.

Bei Patienten mit Morbus Parkinson konnte in Post-mortem Untersuchungen ebenso eine erhöhte Konzentration von aktivierter Mikroglia als Ausdruck eines entzündlichen Prozesses inklusive erhöhter Werte von Interleukin-1 α und Interleukin-6 im Bereich der Substantia nigra festgestellt werden (Hirsch und Hunot 2009). Insgesamt stützen diese Befunde die Hypothese, dass die Zytokine IL-1 und IL-6 eine wichtige Rolle im Rahmen der Pathogenese des Morbus Parkinson spielen könnten.

Bei anderen Erkrankungen (Down-Syndrom, AIDS-assoziierte Demenz, Epilepsie, Trauma) konnten neuropathologische Gemeinsamkeiten mit der Alzheimer Demenz gefunden werden, die sich auch im Nachweis von Überexpression von Interleukin-1 α zeigten (Griffin et al. 2006b, Stanley et al. 2000, Esiri et al. 1998).

Interleukine wiederum können die Regulation von Neurotransmittern beeinflussen, z.B. Acetylcholin (Li et al. 2000) und Glutamat (Barger et al. 2001). Bezogen auf den Morbus Alzheimer führen diese und weitere Effekte zu einer erhöhten Produktion von APP, welches seinerseits erneut die Kaskade aus Mikrogliaaktivierung und Interleukin-1-Synthese triggert, was einen initialen inflammatorischen Prozess bei der Entstehung von neurodegenerativen Erkrankungen wahrscheinlich machen könnte. Dabei scheinen die beschriebenen neuro-inflammatorischen Prozesse nicht auf die Alzheimer-Demenz beschränkt. Griffin und Mitarbeiter konnten sowohl in vitro als auch in vivo zeigen, dass aktivierte Mikroglia sowohl eine vermehrte Expression von neuropathologischen Markerproteinen der Alzheimer Demenz (β -Amyloid) als auch der Parkinson Erkrankung (α -Synuclein) über Interleukin-1 induziert (Griffin et al. 2006b).

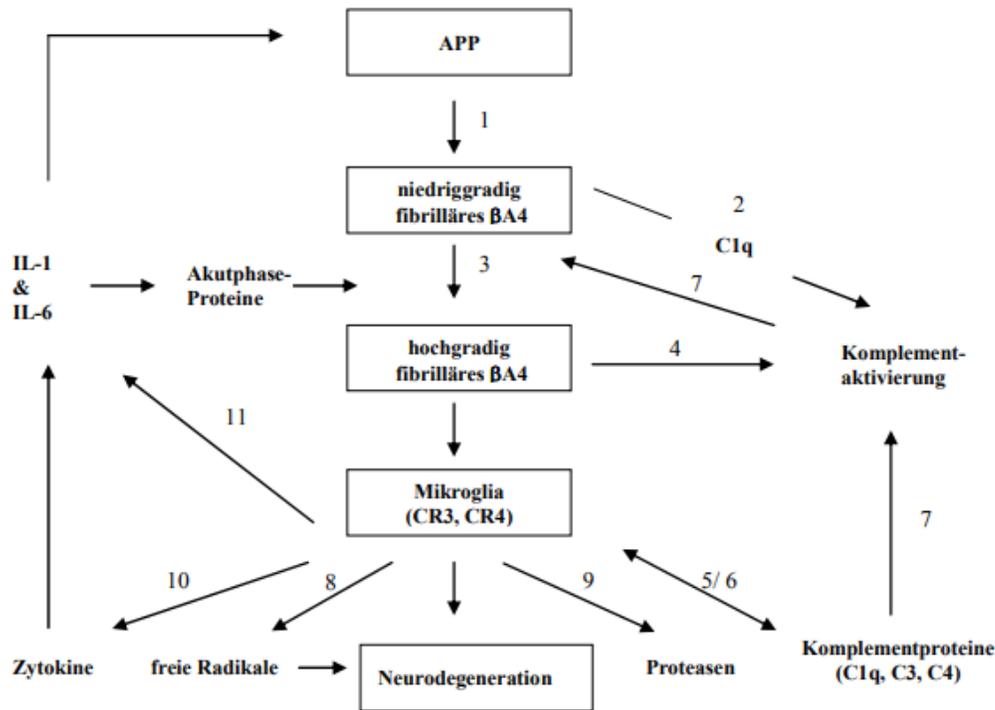


Abb. 7: Zytokine und Neurodegeneration (modifiziert nach Eikelenboom und Veerhuis 1996): ausgehend von einem fehlerhaften APP-Metabolismus (1) kommt es über eine immunvermittelten Plaquebildung (7) zur Neurodegeneration, bei der Zytokine (10) Mediatoren der sog. Akutphase-Reaktion darstellen

Diese Befunde sind vor dem Hintergrund der großen Überlappung der klinischen Symptomatik von Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson sehr interessant, so kommt es beispielsweise im Rahmen der Parkinson-Erkrankung häufig zu dementiellen Symptomen im weiteren Verlauf. Dementielle Syndrome mit charakteristischen Lewy-Körperchen in spezifischen Regionen (Lewy-Body-Demenz, LBD) sowie häufig in der Nähe von β -Amyloidplaques und neurofibrillären Läsionen nachweisbare Lewy-Körperchen zeigen die große neuropathologische Schnittmenge dieser beiden neurodegenerativen Erkrankungen.

Auch bei der Parkinson-Erkrankung wird eine neuro-inflammatorische Komponente bei der Degeneration von dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra angenommen. Hierbei sind neben oxidativem Stress auch Zytokin-vermittelte Apoptose nachweisbar (Pimentel et

al. 2012). Der Mechanismus scheint neben der postulierten Mikrogliaaktivierung auch über periphere Immunzellen vermittelt zu werden.

Lange Zeit lag der Fokus der Alzheimer-Forschung auf der Untersuchung der Aktivität von neuronalen Zellen. Die Neurodegeneration bei der Alzheimer-Demenz und der Parkinson-Erkrankung scheint jedoch eher aus einem gestörten Zusammenspiel aus Neuronen und vor allem glialen Zellen zu entstehen. Hierbei scheinen extrazelluläre Prozesse durch die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen durch Astrozyten und Mikroglia getriggert (Rojo et al. 2008). Weiterhin triggern sie die Produktion von APP, welches seinerseits die Expression von Interleukin-1 β , TNF- α und Interleukin-6 im Zellkulturmodell induzieren kann (Gitter et al. 1995). Hinsichtlich des komplexen Zusammenspiels aus initial fehlerhaften APP- Metabolismus und Neurotoxizität spielen auch weitere Faktoren, wie das Komplementsystem oder freie Radikale (siehe Abb. 7), eine Rolle.

Da die Zytokine Interleukin-1 und Interleukin-6 im Mittelpunkt dieser Dissertation stehen, wird im Folgenden deren Zusammenhang mit neurodegenerativen Erkrankungen, wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson, näher ausgeführt.

1.5.1 Interleukin-1:

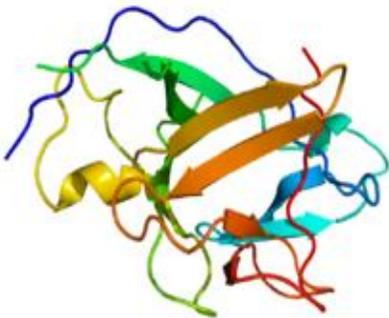


Abb. 8: Proteinstruktur von Interleukin-1 α (Bändermodell der IL-1A-Helices aus Protein Data Base)

Interleukine (IL) sind eine Gruppe von Peptidhormonen, die vor allem von Leukozyten und Makrophagen sezerniert werden und der Regulierung bzw. Modulation des Immunsystems dienen. Die Wirkung der verschiedenen Interleukine ist dabei sehr unterschiedlich. Während z.B. anti-inflammatorische Zytokine wie z. B. IL-10 von regulatorischen T-Zellen sezerniert wer-

den und die Wirkung z.B. aktivierter T-Zellen hemmen, ist Interleukin-1 wie Interleukin-6 und TNF- α ein endogenes Pyrogen, d.h. ein potentes pro-inflammatorisches Zytokin.

Die Interleukin-1-Familie besteht aus 3 Gruppen: Interleukin-1 α (Abb.8), Interleukin-1 β und Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1RA). Interleukin-1 α und Interleukin-1 β werden vor allem von aktivierten Makrophagen, Keratinozyten, aktivierten B-Lymphozyten und Fibroblasten sezerniert. Interleukin-1 α wirkt als autokriner Botenstoff intrazellulär oder an der Zelloberfläche. Im Gegensatz dazu wirkt Interleukin-1 β parakrin, d. h. es entfaltet seine Wirkung auf andere Zellen (Dinarello 1996). IL-1RA übt seine modulierende Wirkung durch Bindung an den Interleukin-1-Rezeptor (IL-1R) aus und hemmt hierdurch die Bindung von Interleukin-1 α und Interleukin-1 β an den Rezeptor (Arend et al. 1991). Im ZNS wird Interleukin-1 (IL-1) überwiegend von Astrozyten und aktivierter Mikroglia sezerniert, jedoch auch aktiv durch die Blut-Hirn-Schranke transportiert. IL-1 zählt dabei zu den wichtigsten aktivierenden Zytokinen, welches seinerseits Zellen zur Produktion anderer Zytokine anregen kann. IL-1 wirkt dabei im ZNS pro-inflammatorisch, die mögliche Bedeutung von entzündlichen Prozessen bei der Pathogenese von neurodegenerativen Erkrankungen wurde in Kap. 1.5 ausführlich thematisiert worden. Es liegen zahlreiche Befunde vor, die einen Zusammenhang zwischen Interleukin-1 α bei der Alzheimer-Erkrankung und der Parkinson-Erkrankung nahelegen:

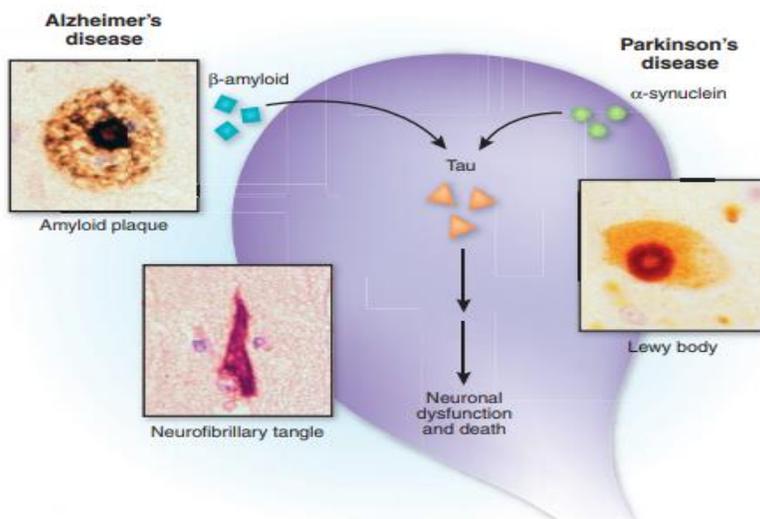


Abb. 9: „Tauopathien“= Hinweise auf gemeinsame Pathophysiologien verschiedener neurodegenerativer Erkrankungen (Shulman und De Jager, 2009)

Wie bereits in Kap. 1.5 erwähnt, konnte für Interleukin-1 α ein Zusammenhang mit der erhöhten Expression in durch aktivierter Mikroglia vermittelten Überexpression von ApoE nachgewiesen werden (Liu et al. 2005). Das pro-inflammatorische Interleukin-1 α induziert wiederum eine Aktivierung von Mikroglia (Mrak und Griffin 2005b). Eine Aktivierung von Mikroglia ist jedoch nicht gleichzusetzen mit einer erhöhten Expression von Zytokinen bei neurodegenerativen Erkrankungen (Perry et al. 2002, Depino et al. 2003), daher wird angenommen, dass es durch alternative Signalkaskaden zu eben einer solchen erhöhten Expression von Zytokinen bei neurodegenerativen Erkrankungen kommen kann. Der „Status der Mikroglia“ scheint hierbei eine besondere Rolle einzunehmen (Depino et al. 2003). Im Gewebe von Patienten mit Alzheimer-Demenz konnten Akiyama mit seiner Arbeitsgruppe bereits 2006 eine erhöhte Expression sowohl von IL-1 α als auch IL-6 in aktivierter Mikroglia und Astrozyten nachweisen (Akiyama et al. 2006). Bei Patienten mit Parkinson Erkrankung konnten in post-mortem Untersuchungen ebenso erhöhte Konzentrationen von aktivierter Mikroglia im Bereich der Substantia nigra als auch erhöhter Werte von Interleukin-1 α , Interleukin-1 β und Interleukin-6 als Ausdruck eines neuro-inflammatorischen Prozesses festgestellt werden (McGeer et al. 2002a, Nagatsu et al. 2000a). Diese Befunde stützen insgesamt die Hypothese, dass die pro-inflammatorischen Zytokine Interleukin-1 α und Interleukin-6 eine wichtige Rolle im Rahmen der Pathogenese von neurodegenerativen Erkrankungen spielen könnten.

Der bei dieser Arbeit untersuchte Polymorphismus IL-1 α -(-889) liegt in der Promotorregion von IL-1-alpha. Für homozygote Träger des T-Allels konnte dabei ein erhöhtes Risiko, an Alzheimer zu erkranken, nachgewiesen werden (Grimaldi et al. 2000, Nicoll et al. 2000, Rebeck 2000). In einer aus 27 Allelassoziationsstudien bestehenden Meta-Analyse konnten diese Ergebnisse insbesondere für kaukasische Patientenpopulationen, nicht jedoch für Patienten aus dem asiatischen Raum, bestätigt werden. Eine starke Assoziation konnte insbesondere für die Alzheimer-Demenz mit spätem Beginn und dem IL-1 α (-889)-Polymorphismus nachgewiesen werden (Hua et al. 2012). Der Interleukin-1 β (-511)-Polymorphismus ist zudem positiv mit dem Erkrankungsalter für eine Parkinson-Erkrankung assoziiert (Nishimura et al. 2000). In einer finnischen Population konnte für diesen Polymorphismus ein erhöhtes Risiko an Parkinson zu erkranken nachgewiesen werden (Mattila et al. 2002). Diese Ergebnisse wurden von anderen

Arbeitsgruppen bestätigt (McGeer und McGeer 2002b). Zwei Polymorphismen des Interleukin-1 β - Gens konnten ebenso mit der Alzheimer-Demenz assoziiert nachgewiesen werden, je einen für den SNP an der Stelle -511 im Promotor des IL-1 β -Gens (Grimaldi et al. 2000) sowie an Position +3953 (Nicoll et al. 2000).

1.5.2 Interleukin-6

Interleukin-6 ist ein pro-inflammatorisches Zytokin, dessen Gen auf dem kurzen Arm von Chromosom 7 (7p21) lokalisiert ist. Es ist ein 26kD schweres Glykoprotein (Abb.7), welches als Botenstoff zwischen den verschiedenen Zellen des Immunsystems wirkt und dem insbesondere bei der Differenzierung der Zellen des Immunsystems eine entscheidene Rolle zukommt (Jones 2005). Es gilt als potenter Induktor bei der Expression von Akut-Phase-Proteinen in der Leber (Morrone et al. 1988). Es wurde ursprünglich als B-Zell-Differenzierungsfaktor oder Interferon- β 2 bezeichnet und wirkt als Differenzierungsfaktor und Wachstumsfaktor von Zellen des hämatopoetischen Systems. Die biologische Wirkung von Interleukin-6 erfolgt analog zu IL-1 über ein Rezeptorsystem. Dieses besteht aus zwei Rezeptoren, einem IL-6-Rezeptor (IL-6R, gp80, α -chain, 80kDa) und einem weiteren 130 kDa langen Glykoprotein, das lediglich gp130 genannt wird. Nach Bindung von IL-6 an IL-6R ist für die eigentliche Signaltransduktion das gp130 verantwortlich, wenn es membrangebunden vorliegt. Im ZNS wirkt es sowohl neurotroph als auch neuroprotektiv (März et al. 1998). Im Gehirn wirkt es zudem über eine TNF- α -Hemmung antiinflammatorisch (Oh et al. 1998).

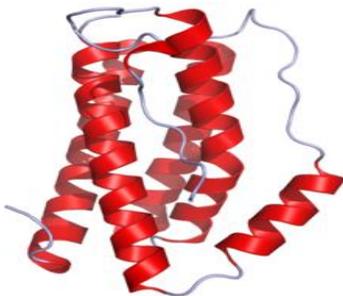


Abb.10: 3D-Bändermodell der Proteinstruktur von Interleukin-6 (Protein Data Base)

IL-6 ist demnach ein multifunktionales Zytokin, welches bei einer Vielzahl von immunologischen Prozessen eine Rolle spielt (Ishihara und Hirano 2002). Im Gehirn kann es von Astrozyten, Oligodendrozyten oder Mikroglia sezerniert oder aktiviert werden (Gruol und Nelson 1997). In Gehirnen von Patienten mit Alzheimer-Demenz konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein von Interleukin-6 möglicherweise zu einer frühen Ablagerung und Aggregation von β -Amyloid führt (Hull et al. 1996b).

Sowohl Interleukin-6 als auch Interleukin-1 scheinen beim Metabolismus des Amyloid-Precursor-Proteins (APP) eine Rolle zu spielen, Interleukin-6 induziert dabei eine erhöhte APP-Synthese (Altstiel und Sperber 1991). In der Umgebung von Amyloid-Plaques konnten erhöhte Konzentrationen von Interleukin-1 und Interleukin-6 nachgewiesen werden (Akiyama et al. 2000). Für Interleukin-6 konnten in Studien sowohl neuroprotektive als auch neurotrophe Eigenschaften nachgewiesen werden, durch eine TNF- α -Hemmung kann es auch anti-inflammatorisch wirken. Untersuchungen konnten zeigen, dass die temporale mRNA-Expression bei Demenzpatienten im Vergleich zu gesunden Probanden signifikant erhöht ist. Bei Ersteren besteht zudem eine Korrelation zwischen Interleukin-6-mRNA-Erhöhung und Ablagerung von Neurofibrillenbündeln (Luterman et al. 2000). In den anderen Studien zeigte sich auch ein protektiver Effekt von bestimmten Interleukin-6-Polymorphismen bzw. Allelen (Qi et al. 2012). Bei Patienten mit Parkinson-Erkrankung wurden in Post-mortem-Untersuchungen ebenfalls erhöhte Konzentrationen von aktiver Mikroglia inklusive der Werte von Interleukin-1 α und Interleukin-6 im Bereich der Substantia nigra als Ausdruck eines entzündlichen Prozesses festgestellt (Hirsch und Hunot 2009). Auch fanden sich peripher erhöhte Zytokinkonzentrationen im Serum von Patienten mit Morbus Parkinson (Brodacki et al. 2008, Scalzo et al. 2010). Konzentrationsveränderungen fanden sich auch im Liquor, wobei Interleukin-6-Konzentrationen negativ mit der Schwere der Parkinson-Erkrankung korrelierten (Müller et al. 1998).

Bei Patienten mit Morbus Alzheimer ist die IL-6 mRNA-Expression signifikant im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht. Zudem besteht bei AD-Patienten eine Korrelation zwischen IL-6- mRNA-Erhöhung und Ablagerung von Neurofibrillenbündeln. Weiterhin konnten in Studien erhöhte IL-6-Serumwerte bestätigt werden (z.B. Kalman et al. 1997), wenngleich auch hier

inkonsistente Befunde in der Literatur zu finden sind. So ergab die Studie von Richartz sogar erniedrigte IL-6-Werte im Blut für AD-Patienten (Richartz et al. 2005). Ähnlich inkonsistente Befunde liegen hinsichtlich Messung der Interleukin-6-Konzentration im Liquor bei Alzheimer-Patienten vor (Blum-Degen et al. 1995, Yamada et al. 1995, Martinez et al. 2000).

Bei der genetischen Variante des Interleukin-6-Gens im Promotor an Position -174 konnte ein funktioneller Zusammenhang hinsichtlich Expression dieses Zytokins nachgewiesen werden. Es handelt sich um einen G→C-Polymorphismus. Wegen einer reduzierten Häufigkeit des C-Allels beim Morbus Alzheimer-Erkrankten wird diesem ein möglicherweise protektiver Effekt zugeschrieben (Bagli et al. 2000). In anderen Studien wurde hingegen ein gegenteiliges Ergebnis gefunden (z.B. Arosio et al. 2004). In einer 2012 veröffentlichten Metaanalyse der vorliegenden Allelassoziationsstudien zu Interleukin-6 und Morbus Alzheimer konnte die positive Assoziation des IL-6-(-174)-Polymorphismus mit Morbus Alzheimer bestätigt werden, ebenso wurde ein Zusammenhang zwischen dem IL-6-(-572) C→G-Polymorphismus ebenfalls im Promotor für Interleukin-6 gezeigt (Qi et al. 2012). Zudem konnten für andere Allel-Konstellationen dieser beiden Polymorphismen ein jeweils protektiver Effekt aufgezeigt werden. Besonders starke Assoziationen zeigten sich in Studienpopulationen, bei denen gleichzeitig Polymorphismen anderer Gene untersucht wurden. So konnte für das gleichzeitige Vorliegen des Interleukin-6-(-174) und eines Interleukin-10-Polymorphismus (in der Promotorregion an Stelle (-1082) ein 11-fach erhöhtes Risiko an Alzheimer zu erkranken, berechnet werden (Arosio et al. 2004). Ähnliches gilt für das gleichzeitige Vorkommen des Interleukin-6 (-174) C-Allels und des TNF- α (-308)-Polymorphismus (Vural et al. 2009). Insgesamt vermuteten die Autoren einen modulierenden Effekt hinsichtlich der Pathogenese der Alzheimer-Erkrankung bzw. einen Effekt bei Vorliegen verschiedener Polymorphismen, was die zum Teil inhomogenen Befunde erklären könnte.

Auch beim Morbus Parkinson lassen sich Zusammenhänge mit peripher erhöhtem IL-6 nachweisen. Lindqvist und Mitarbeiter konnten nachweisen, dass bei Patienten mit Morbus Parkinson signifikant erhöhte IL-6-Werte mit stärkeren nicht-motorischen Symptomen wie Depressivität, Angst oder Fatigue-Symptomatik korrelierten (Lindqvist et al. 2012). Die Autoren

vermuten neben einem direkten Zusammenhang von erhöhten IL-6-Werten als Ausdruck eines entzündlichen Prozesses mit der Pathogenese des Morbus Parkinson einen Einfluss auf die Ausbildung von nicht-motorischen Symptomen. Analog zum Morbus Alzheimer wurde, wie erwähnt, auch beim Morbus Parkinson aktivierte Mikroglia im Bereich der neuropathologischen Läsionen (Substantia nigra) nachgewiesen (McGeer und McGeer 2008). Ebenso wurden erhöhte IL-6 Werte sowohl in striatalem Gewebe (Brodacki et al. 2008), Liquor (z.B. Müller et al. 1998) und im Serum von Morbus Parkinson-Patienten (Scalzo et al. 2010) belegt. Hinsichtlich des Interleukin 6 (-174)-Gen-Polymorphismus konnte in einer Studie gezeigt werden, dass das G-Allel ein genetischer Risikofaktor für den Morbus Parkinson mit frühem Beginn sein könnte (Hakansson et al. 2005a). Dieser Trend wurde in einer Studie (mit allerdings geringen Fallzahlen) bestätigt (San Luciano et al. 2012).

In einer Metaanalyse von Chu et al. fanden sich keine Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem IL-1 α (-889)-Polymorphismus und der Parkinson-Erkrankung. Allerdings konnte in der Untersuchung die mögliche Assoziation von IL-6 (-174) und Morbus Parkinson bestätigt werden (Chu et al. 2012).

Insgesamt stützen diese Befunde die Hypothese, dass die Zytokine Interleukin-1 und Interleukin-6 eine wichtige und vielfältige Rolle im Rahmen der Pathogenese von neurodegenerativen Erkrankungen, wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson, spielen könnten.

1.6 Zielsetzung der eigenen Untersuchungen

Ein Ziel der Forschung von neurodegenerativen Erkrankungen ist es, mögliche diagnostische Parameter zu finden, welche die Diagnosestellung und Verlaufskontrolle vereinfachen. Für eine Früherkennung und zur Entwicklung spezifischer Therapien von Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson ist somit die Untersuchung von sogenannten Kandidatengenen im Rahmen von Allelassoziationsstudien von großer Bedeutung.

Die pro-inflammatorischen Zytokine Interleukin-1 α und Interleukin-6 gelten im Zusammenhang mit diesen neurodegenerativen Erkrankungen als bedeutsam. Ziel dieser Arbeit ist daher, die Hypothese einer multifaktoriellen Genese inklusive des Einflusses von neuroimmunologischen Faktoren bei der Pathogenese von neurodegenerativen Erkrankungen zu überprüfen. Im Rahmen von vier Allelassoziationsstudien an Alzheimer-Patienten und Parkinson-Patienten sollte im Vergleich zu gesunden Kontrollen untersucht werden, ob der Interleukin 1 α (-889)-Polymorphismus mit einem erhöhten Risiko an Morbus Parkinson oder Morbus Alzheimer zu erkranken, assoziiert ist.

Weiterhin sollte in einer Subgruppenuntersuchung das Risiko fokussiert betrachtet werden, ob der Interleukin 1 α (-889)-Polymorphismus mit einem erhöhten Risiko an einem Morbus Parkinson mit frühem Beginn (EOPD) zu erkranken, assoziiert ist.

Schließlich sollte untersucht werden, ob ein möglicher Zusammenhang des Interleukin-6 (-174)-Polymorphismus und ein erhöhtes Risiko für Morbus Alzheimer besteht.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden bereits publiziert (Du et al. 2000, Dodel et al. 2001, Depboylu et al. 2004, Möller et al. 2004, Depboylu et al. 2006).

2. Materialien, Methoden und Patienten

2.1 Geräte

Gelkammer	White Mini-Sub-Cell GT® von Bio-Rad Laboratories, California, USA
Gel-Elektrophorese	PowerPac 3000® von Bio-Rad Lab., California, USA
Laborwaage	von Heraeus Sepatech von Heraeus Instruments GmbH, Düsseldorf, Deutschland
PCR Thermocycler	PTC-200 Peletier-Thermal Cycler® von MJ Research, Global Medical Instrumentation Inc., St. Paul, Minnesota, USA
Fotodokumentation	Hero Lab.-Transilluminator
Tischzentrifuge	Modell 5415R von Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Köln, Deutschland
Zentrifuge	Minifuge 3,0 R® von Heraeus Sepatech von Heraeus Instruments GmbH, Düsseldorf, Deutschland

2.2 Puffer und Reagenzien

PCR SuperMix HF®	Gibco Life Technologies, Invitrogen, Darmstadt, Deutschland (22mM Tris-HCL, 55mM-KCL, 1,65mM-Mg Cl ₂ , 220µM-dGTP, 220µM-dATP, 220µM-dTTP, 220µM-dCTP, 22 U recombinant Taq-DNA-Polymerase)
Agarose A4718	Firma Sigma
TBE-Puffer (10x)	Firma Sigma (0,89 M Tris-Base 0,025 M EDTA ad 1l)

Ethidiumbromid 1:10000	Firma Sigma
Gold Stain SYBR®	Molecular Probes, Inc., Invitrogen Darmstadt, Deutschland
DMSO	Firma Sigma
Restriktionsenzyme (Hha I, Nco I, Nla III)	New England Biolabs GmbH, Frankfurt, Deutschland
Primer	Firma MWG Biotech, Ebersberg, Deutschland
QIAamp® DNA Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
Blue Juice® DNA Proben Ladepuffer	Invitrogen, Darmstadt, Deutschland (Glycerin 80%, EDTA 100mM, Bromphenolblau 0,025%, Xylenxanol F0,025%)

2.3 Primer

Nachfolgend sind die Sequenzen der verwendeten Oligonukleotiden aufgelistet, welche immer in 5' → 3' Richtung angegeben sind. Mit F (forward) und R (reverse) wurden die in 5' → 3' bzw. 3' → 5' gerichteten Primer gekennzeichnet.

Verwendete Oligonukleotide

IL-1 α -889: F 5`AAG CTT GTT CTA CCA CCT GAA CTA GGC 3`
R 5`TTA CAT ATG AGC CTT CCA TG 3`

IL-6-174: F5`TTG TCA AGA CAT GCC AAA GTG 3`
R5`TCA GAC ATC TCC AGT CCT ATA 3`

APOE- ϵ 4: F 5`TCC AAG GAG CTG CAG GCG GCG CA 3`
R 5`TG GCA GTG TAC CAG GCC GGG GCG AAT TCT GT3`

2.4 Agarosegelelektrophorese

- a) 4g Agarose in 200ml TBE Puffer (1x) aufkochen lassen, Mischen auf einem Magnetrührer
- b) Abkühlen lassen unter dem Abzug, 20µl Ethidiumbromid (alternativ 4µl SYBR Gold Stain® der Firma Invitrogen) hinzugeben. Gießen des Gels in eine Gelform mit einem Probenkamm
- c) Die Taschen (wells) des Gels mit TBE-Puffer (1x) bedecken und mit 5 bis 20µl DNA vermischen mit 1/10 BlueJuice®-DNA Ladepuffer beschicken. Zur Bestimmung des Molekulargewichtes wird parallel ein Molekulargewichtsstandard aufgetragen.
- d) Die Auftrennung der DNA-Proben erfolgt in einem elektrischen Feld mit einer Spannung zwischen 70 und 120 Volt (4 V/cm) für ca. 1-2 Stunden. Die DNA wird im Agarosegel durch das Ethidiumbromid angefärbt und unter UV-Licht fotografiert.

2.5 Patientengruppen

2.5.1 Probanden und Kontrollen AD

Alle durchgeführten Studien wurden der zuständigen Ethikkommission vorgelegt und genehmigt.

Kohorte 1: Morbus Alzheimer und IL-1A (-889)

In die Studie wurden insgesamt 451 Probanden und Kontrollen des Indiana AD Center, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, USA (IU) und der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Technische Universität München, Deutschland (MU) eingeschlossen.

Die IU-Gruppe bestand aus 78 Patienten mit gesicherter Morbus Alzheimer-Diagnose (Durchschnittsalter $72,5 \pm 9,6$ Jahre, Spanne: 50-94 Jahre, 43 Frauen und 35 Männer) und 71 Kontrollen (Durchschnittsalter $72,5$ Jahre $\pm 9,1$ Jahre; 51 bis 94 Jahre alt, 38 Frauen und 33 Männer). Die MU-Gruppe bestand aus 181 Patienten mit gesicherter Morbus Alzheimer-Diagnose (Durchschnittsalter $70,9 \pm 9,8$ Jahre; Spanne: 50 bis 95 Jahre, 112 Frauen und 69 Männer) und 121 Kontrollen (Durchschnittsalter $69,0 \pm 10,8$ Jahre, Spanne: 50 bis 95 Jahre, 84 Frauen und 37 Männer).

Einschlusskriterien:

Probanden und Kontrollen, bei denen eine positive Familienanamnese hinsichtlich autosomal-dominanter Demenzen bekannt war, wurden nicht in die Studie eingeschlossen. Die Kontrollen der IU-Gruppe wurden körperlich und klinisch-neurologisch untersucht, es erfolgte zudem eine neuropsychologische Testung mittels der CERAD (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer`s Disease)-Batterie (Morris et al. 1989, Welsh et al. 1994). In die MU-Gruppe wurden nur Kontrollen mit einem Mini-Mental Status Test-(MMST, Folstein et al. 1975) Score über 28 (von 30) eingeschlossen. Bei allen Kontrollen wurden neurologische Erkrankungen, die mit einer Störung der kognitiven Funktion einhergehen können, ausgeschlossen. Sämtliche Probanden mit einer Alzheimer-Erkrankung erfüllten sowohl die ICD-10 Kriterien (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, World Health Organisation WHO 2012*) als auch die NINCDS-ADRDA-Kriterien (Mc Khann et

al. 1984) für einen möglichen bzw. wahrscheinlichen Morbus Alzheimer. Sie wurden sowohl internistisch als auch klinisch-neurologisch untersucht und erhielten eine neuropsychologische Testung (mittels CERAD).

Es wurden nur Patienten und Kontrollen ab einem Alter von 50 Jahren in die Studie eingeschlossen. Alle Studienteilnehmer wurden über die Verwendung ihrer Blutproben aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Bei fehlender Einwilligungsfähigkeit bei z.B. kognitiv schwer beeinträchtigten Probanden erfolgte die Einverständniserklärung durch gesetzlich bevollmächtigte Personen.

Kohorte 2: Morbus Alzheimer und IL-6

Die Studie wurde an 221 Probanden durchgeführt, die sowohl in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilian-Universität München (MU) als auch in der Klinik für Neurologie der Philipps-Universität Marburg (MR) eingeschlossen wurden. Die Gruppe der Alzheimer-Patienten bestand aus 113 Patienten mit Morbus Alzheimer (Durchschnittsalter $69,8 \pm 9,1$ Jahre, Spanne: 51 bis 90 Jahre), die Kontrollgruppe aus 108 Kontrollen (Durchschnittsalter $68,4 \pm 10,4$ Jahre, Spanne: 50 bis 93 Jahre).

2.5.2 Probanden und Kontrollen PD

Kohorte 3: Morbus Parkinson und IL-1A (-889)

Es wurden 398 Probanden der Ludwig-Maximilian-Universität München in die Studie eingeschlossen, 201 Patienten mit einer Parkinson Erkrankung (Durchschnittsalter $62,7 \pm 12,6$ Jahre) und 197 Kontrollen (Durchschnittsalter $60,5 \pm 12,6$ Jahre). In einer Subgruppenanalyse von Parkinson-Patienten mit frühem Erkrankungsbeginn < 50 Jahre wurden 83 Probanden gesondert untersucht (Durchschnittsalter $55,6 \pm 8,5$ Jahre, Erkrankungsbeginn $42,8 \pm 5,1$ Jahre). Die entsprechend gematchte Kontrollgruppe betrug 149 Personen (Durchschnittsalter $57,9$ Jahre $\pm 6,7$ Jahre).

Alle Probanden wurden ausführlich internistisch und neurologisch untersucht, inklusive Untersuchung der Parkinson-spezifischen Symptome. Die Diagnose erfolgte nach den Kriterien der „UK PD Society Brain Bank“ (Hughes et al. 1992). Die medikamentöse Behandlung der Parkinson-Patienten erfolgte den Leitlinien nach Oertel und Quinn (2006).

Die Kontroll-Probanden wurden für Alter und Geschlecht gematcht, es lagen keine positiven Familienanamnesen für Parkinson-Erkrankungen oder andere neurologische Erkrankungen vor. Die Teilnahme an der Studie erfolgte ausschließlich nach ausführlicher Aufklärung und nach schriftlicher Einverständniserklärung.

Kohorte 4: Early Onset PD (EOPD) und IL-1A (-889)

In einer größeren Fallkontrollstudie von Patienten mit einer Parkinson-Erkrankung mit frühem Erkrankungsbeginn (<50 Jahre) wurden insgesamt 346 Individuen eingeschlossen. Dabei wurden 176 Patienten mit EOPD der Ludwig-Maximilian-Universität München und der Phillips-Universität Marburg (Durchschnittsalter $42,1 \pm 6,4$ Jahre, 42,4% männliche Patienten) und 170 Kontrollprobanden (Durchschnittsalter $40,4 \pm 8,7$ Jahre, 57,6 männliche Probanden) untersucht. Alle Patienten wurden analog zur vorigen Studie internistisch und klinisch neurologisch untersucht, die Erfassung der Parkinson Symptomatik erfolgte anhand der UPDRS (Unified Parkinson Disease Rating Scale, Fahn et al. 1987), die Diagnosestellung erfolgte nach den Diagnosekriterien der UK PD Society Brain Bank (Hughes et al. 1992). Alle Probanden erfüllten die Kriterien nach ICD-10.

Alle Kontrollprobanden waren alters- und geschlechtsgematcht, vor Einschluss in die Studie wurden neurologische Erkrankungen oder eine positive Familienanamnese für Parkinson-Erkrankungen ausgeschlossen, zuvor erfolgte jeweils nach ausführlicher Aufklärung eine schriftliche Einverständniserklärung.

3. Methoden

3.1 Extraktion der Desoxyribonukleinsäure (DNA)

3.1.1 Isolierung der genomischen DNA aus dem Blut

Die genomische DNA wurde unter Zuhilfenahme des QIAamp[®] DNA Kits der Firma Qiagen[™] nach Herstellerangaben aus 10ml EDTA-Blut isoliert, es wurde jeweils EDTA Vollblut verwendet. Nach Isolation der DNA wurde diese in TE-Puffer gelöst und bei 4°C gelagert.

3.1.2 Konzentrationsbestimmung der DNA

Die Konzentrationsbestimmung der DNA-Probe erfolgte nach Verdünnung der Proben 1:50 in Aqua dest. und anschließenden Messung der optischen Dichte (OD) bei 260nm und 280nm mit einem Spektralphotometer. Die Soll-Konzentration von 1 µg/µl wurde durch Verdünnung mit TE-Puffer (1x) eingestellt.

3.2 Polymerase - Ketten- Reaktion (PCR)

3.2.1 Einleitung

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (Mullis et al. 1986) dient der selektiven Amplifikation von definierten DNA-Fragmenten mittels einer thermostabilen DNA-Polymerase und spezifischen Oligonukleotiden. Mit Hilfe von spezifischen Primern wird der zu amplifizierende Abschnitt eingegrenzt und amplifiziert.

Die hitzestabile Taq-Polymerase ist eine DNA-Polymerase aus thermophilen Bakterien (*Thermophilus aquaticus*), welche auch unter Denaturierungsbedingungen über 94°C ihre biologische Aktivität behält. Die PCR dient in der vorliegenden Untersuchung der Amplifikation der genomischen DNA vor sich anschließendem Restriktionsenzymverdau.

3.2.2 Grundlagen

Für eine PCR werden eine zu untersuchende DNA-Probe sowie zwei synthetisch hergestellte Oligonukleotide, die sogenannten Primer, benötigt. Die Primer lagern sich an jeweils einen der beiden Stränge der Ursprungs-DNA (Template) an. Sie hybridisieren am 3`-Ende des Stranges, die Taq-Polymerase liest die Einzelstrang-DNA vom 5`-Ende in Richtung 3`-Ende komplementierend. Die entstehenden Kopien (ca. 1 Million bei 30 bis 35 Zyklen, Saiki et al. 1988) dienen als Matrize für weitere Kopien.

3.2.3 Primerdesign

In der Regel sind die Primer zwischen 20 und 30 Nukleotide lang, die Spezifität der Primer nimmt dabei beim Hybridisierungsprozess nicht weiter zu, wenn die Primer aus mehr als 30 Nukleotiden bestehen. Der Primer sollte weder Bereiche mit ungewöhnlichen Sequenzabschnitten wie z.B. sich wiederholende Sequenzen noch am Ende komplementäre Strukturen aufweisen, da sich ansonsten Primerdimere bilden können. Weiterhin sind beim Design der Primer T`s am 3`-Ende zu vermeiden, um eine unspezifische Anlagerung (Annealing) zu vermeiden (Löffert et al. 1997).

Die Primer werden in der PCR meist in einer Konzentration von 10µM (Stock) bis 100µM eingesetzt (Löffert et al. 1997). Das Design der Primer erfolgt üblicherweise durch ein entsprechendes Programm (NCBI-Primer Blast). Die Sequenzspezifität der Primer wurde an Online-Datenbanken überprüft (Altschul et al. 1997). Die Primer wurden von der Firma MWG Biotech, Ebersberg synthetisiert.

3.2.4 Ablauf der PCR

Zu Beginn der PCR wird die DNA bei einer Temperatur von 92° bis 95°C denaturiert, um optimale Anlagerungsbedingungen für die Primer zu schaffen, die sich an die nun denaturierten DNA-Einzelstränge anlagern können. Die PCR läuft nun in einem Zyklus ab, der daraufhin ca. 25 bis 30mal wiederholt wird.

Zu Beginn des Zyklus erfolgt ein erneuter Denaturierungsschritt, um die hybridisierten Einzelstränge zu trennen. Im zweiten Schritt erfolgt die Anlagerung der Primer, das sogenannte „annealing“, was im Falle der vorliegenden Studien bei der Temperatur zwischen 55° und 63°C erfolgte. Im Rahmen einer Etablierungsphase wurden die PCR-Bedingungen anhand von schrittweiser Temperaturerhöhung um 1° C bzw. Veränderung der Anlagerungszeit beispielsweise um jeweils 10s optimiert, um die größtmögliche Menge an gewünschtem Amplifikat bei möglichst wenigen unerwünschten Nebenprodukten bzw. Artefakten zu erhalten.

Im 3. Abschnitt des Zyklus erfolgt schließlich die Elongation der Primer durch den Einbau von Nukleotiden durch die thermostabile Taq-Polymerase, die ein Temperaturoptimum von 72°C aufweist. Diese ist im Puffergemisch „PCR Supermix®“ bereits enthalten, im Probenansatz muss lediglich die zu amplifizierende DNA zugefügt und mit Ladepuffer aufgetragen werden. Am Ende des Vorgangs erfolgt eine sogenannte Endelongation, um eine größtmögliche Ausbeute an amplifizierter DNA zu gewährleisten, bevor eine Abkühlung auf 4°C erfolgt.

Die PCR Bedingungen der vorliegenden Studien sind nachfolgend zusammengefasst:

APO E-ε4: 95° 5 min; (95° >20s; 55° für 30s; 72° für 40s) x 30 Zyklen; 72° für 7min. Verdau mit Hha I. Auftrennen durch 4%iges Agarosegel. Protokoll nach Hixson et al. (1990).

IL-1α-889: 95° für 2min.30s; (95° für 60s; 60° für 60s; 72° für 60s) x 40 Zyklen. 72° für 10 min. Verdau mit Nco I über Nacht. Auftrennen durch 2%iges Agarosegel. Protokoll nach Kornman et al. (1997).

IL-6-174: 95° für 2 min.; (95° für 60s; 63° für 60s; 72° für 60s) x 35 Zyklen. 72° für 7min. Verdau mit Nla-III. Auftrennung auf 2%igem Agarosegel. Protokoll nach Fishman et al. (1998)

3.2.5 PCR und Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)

Zahlreichen Polymorphismen liegt lediglich der Austausch eines Nukleotids zugrunde. Dieses macht man sich bei der PCR-basierten RFLP zunutze, in dem man das DNA-Amplifikat der PCR im Hinblick auf eine bestimmte Mutation bzw. Polymorphismus untersucht. Genauer gesagt wurden die Primer im Vorfeld der PCR so „designed“, dass das Amplifikat eine genau definierte DNA-Sequenz mit dem identifizierten Polymorphismus beinhaltet.

Restriktionsenzyme erkennen bestimmte Nukleotid-Sequenzen und schneiden die DNA an einer definierten Stelle. Liegt z.B. eine entsprechende Punktmutation vor, die dieses Restriktionsenzym anhand der Sequenz „erkennt“, besteht die Möglichkeit, die DNA an genau dieser Stelle zu schneiden.

Die amplifizierte DNA wurde mit Restriktionsenzymen inkubiert (im Rahmen dieser Arbeit jeweils 2µl Restriktionsenzym, 3µl NE Buffer 4® +16µl Aqua Dest +30µl DNA-Amplifikat) und bei 37°C für mindestens 10 Stunden verdaut.

Tabelle 3: Restriktionsenzyme und Schnittprodukte

Gen	SNP	Restriktionsverdau	Länge des Amplifikations-Produkts (bp)	Erkennungssequenz und Schnittstelle	Länge der Schnittprodukte (bp)
IL-1α	-889 C/T	Nco-I	99	5`-CACA-3` 3`-GTGT-5`	Allel 1: 83+16 bp Allel 2: 99 bp
IL-6	-174 G/C	Nla-III	296	5`-GCATC (N)5*-3` 3`-CGTAG(N)9*-5`	G-Allel 296 bp C-Allel 127+169 bp
APOE	ε2,3,4	Hha-I	228	5`-GCG*C-3` 3`-C* GCG-5`	jedes Allel: 16 + 18 + 38 ε2-Allel: 81 + 91 ε3-Allel: 33 + 48 + 91 ε4-Allel: 20 + 33 + 48 + 71

Je nach Vorliegen von bestimmten Polymorphismen bzw. je nach Sequenz liegt nun nach Restriktionsverdau ein ungeschnittenes DNA-Fragment oder geschnittene Teilfragmente vor (siehe Tabelle 3). In Abhängigkeit der Länge der „Spaltprodukte“ ergibt sich bei der elektrophoretischen Auswertung (siehe 3.2.6) ein unterschiedliches Laufverhalten mit entsprechend charakteristischen Bandenmustern, welche nachfolgend anhand der untersuchten Polymorphismen in Abb.11 - Abb.13 dargestellt sind:

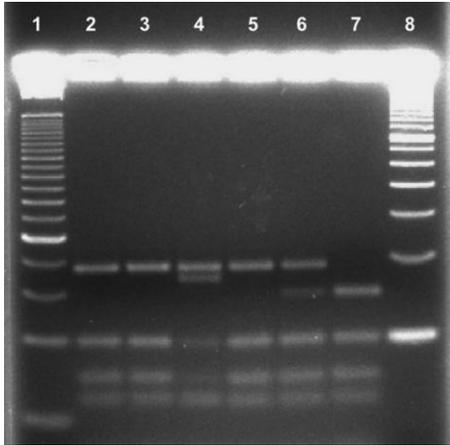


Abb. 11: RFLP-Bandenmuster APOE (HhaI-Restriktionsverdau, Mitter et. al 2012): Spalte 1: 50-Basenpaar DNA Leiter; Spalte 4: APOE2,3 Genotyp; Spalte 5: APOE3,3 Genotyp; Spalte 6: APOE3,4 Genotyp; Spalte 7: APOE4,4 Genotyp; Spalte 8: 100-Basenpaar-DNA Leiter.

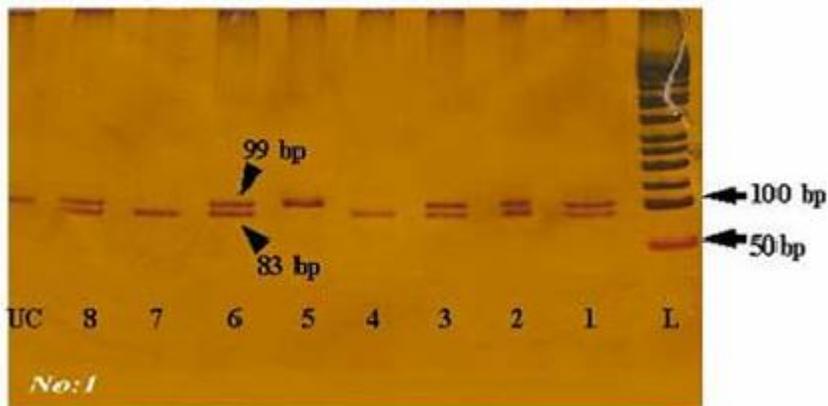


Abb. 12: RFLP-Bandenmuster IL-1A -889 (Nco-I-Restriktionsverdau, Kiani et. al 2009): Spalte L: 50-Basenpaar DNA Leiter; Spalte 1,2,3: heterozygot, Spalte 4,7: homozygot Allel 2, Spalte 5, UC: homozygot Allel 1.

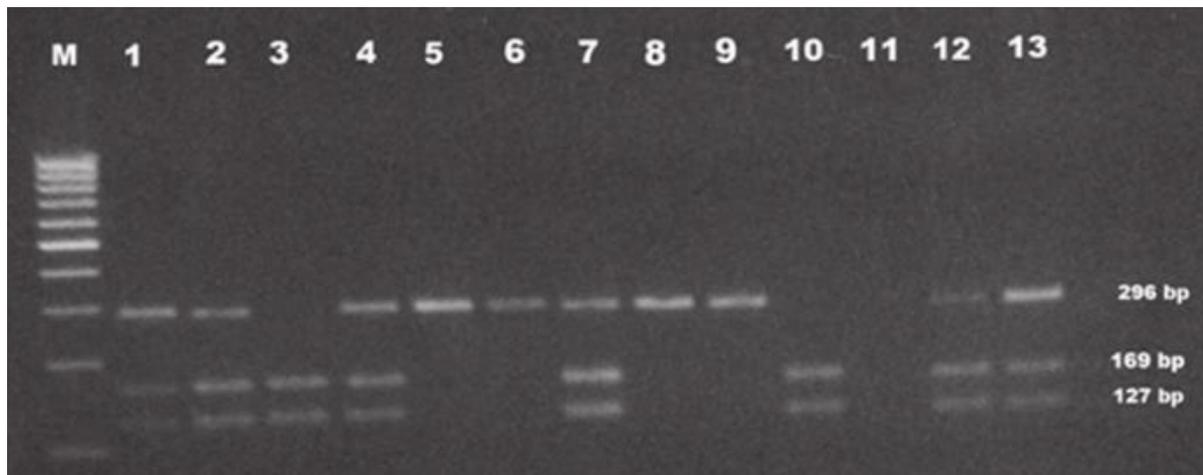


Abb. 13: Beispielhaftes RFLP-Bandenmuster IL-6 -174 (Nla-III-Restriktionsverdau, Ibrahim et al. 2017, Abb: Akbas et al. 2012): Spalte M: 50-Basenpaar DNA Leiter; Spalte 5, 6: G- Allel, Spalte 3, 10: C-Allel.

3.2.6 Agarose-Gelelektrophorese

In den Untersuchungen wurde die Agarose-Gelelektrophorese durchgeführt.

In einer Elektrophorese werden geladene Teilchen in einem elektrischen Feld durch unterschiedliche Molekulargewichte und Wechselwirkungen mit dem Trennmedium (z.B. Agarose) aufgetrennt. Bei einer Spannung von 50 bis 160 Volt „wandern“ die negativ geladenen DNA-Fragmente aufgrund ihrer polyanionischen Ladung umgekehrt proportional zu ihrem Molekulargewicht zur Anode. Zur Identifizierung der DNA-Fragmente wird ein DNA-Längenstandard (z.B. von der Firma Molecular Probes) ebenfalls als Marker aufgetrennt. Je nach aufzutrennender Fragmentgröße werden aufgrund der notwendigen Netzstrukturen des Agarosegels 2%ige oder 4%ige Gele eingesetzt.

Die Agarose-Gelelektrophoresen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt für ca. 1 bis 2 Stunden bei 160 Volt. Im Anschluss wurden die Gele unter UV-Licht mittels eines UV-Transilluminators ausgewertet (Abb. 11 - 13).

3.3. Statistische Verfahren

3.3.1 Allelassoziationsstudien

Mittels Allelassoziationsstudien lassen sich Merkmalsträger z.B. einer Erkrankung mit nicht verwandten Kontrollen innerhalb einer Studienpopulation vergleichen. Die Häufigkeit eines bestimmten Allels beschreibt dabei eine mögliche positive Assoziation eines Allels und eines Merkmals bzw. Erkrankung.

Im Rahmen von Allelassoziationsstudien lassen sich zum einen Assoziationen nachweisen, d.h. es besteht ein Zusammenhang zwischen Allel und Merkmal (Erkrankung). Häufig besteht jedoch lediglich eine sehr enge Kopplung, d. h. das untersuchte Gen ist nicht merkmals- oder krankheitsauslösend, wird aber mit den Genen zusammen vererbt (linkage disequilibrium) (Strachan und Read 2010). Allelassoziationsstudien werden heutzutage üblicherweise im großen Rahmen in sogenannten genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) durchgeführt. Im Rahmen der durchgeführten GWAS konnten in den vergangenen Jahren eine Vielzahl von neuen Kandidatengenen auch für den Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson identifiziert werden (siehe hierzu Genetik des Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson Kap. 1.3). Für die Untersuchungen gelten die von Cohen vorgeschlagenen – per Konvention festgelegten – Kriterien von Alpha- ($\alpha = 0,05$) und Beta-Risiko ($1 - \beta = 0,80$) sowie einer mittleren Effektstärke (siehe Bortz und Döring 2009). Dabei konnte auf bisherige Untersuchungen zurückgegriffen werden, die eine Gruppengröße von 170 Teilnehmern zur Bestätigung der Null-Hypothese nahelegten. Diese Annahme konnte bei Morbus Parkinson-Teilnehmern umgesetzt werden, bei Morbus Alzheimer-Teilnehmern gelang es sogar aufgrund der Zusammenarbeit der Technischen Universität München und der Universität Marburg eine große Stichprobe zu rekrutieren, dabei gilt die Morbus Alzheimer-Kontrollgruppe als repräsentative Kohorte. Die Vergleichsgruppen wurden darüber hinaus jeweils nach Alter und Geschlecht gematcht.

3.3.2 Statistische Auswertung

Für die statistischen Berechnungen wurden das SAS/STAT-Programm und die Statistik-software IBM SPSS Statistics (IBM Statistical Package for Social Sciences, Armonk, USA) eingesetzt sowie unter Verwendung von Microsoft Office Excel (Microsoft, Redmond, USA) erstellt.

Zur Analyse der soziodemografischen Variablen Alter und Geschlecht wurden zwischen den Gruppen (Erkrankte vs. Nicht-Erkrankten) t -Tests und Chi-Quadrat-Tests durchgeführt. Für die Untersuchung des Genotyps wurden Varianzanalysen (analysis of variance) berechnet, dabei galt das Alter bzw. Geschlecht als unabhängige Variable.

Zur Schätzung und zum Vergleich von Odds Ratios wurde der Mantel-Haenszel-Test eingesetzt, dabei wurden stratifizierte Altersgruppen verwendet, um das Erkrankungsrisiko zu ermitteln. Zusätzlich wurde mittels des Chi-Quadrat-Tests die Verteilung der Genotypfrequenzen mit den erwarteten Frequenzen eines Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes verglichen. Das Hardy-Weinberg-Gewicht beschreibt die Genotyphäufigkeiten aus den Anteilen der Allele eines Genes in einer Population. Zur Ermittlung eines Zusammenhanges zwischen dem Erkrankungsalter und dem Genotyp wurde die Kaplan-Meier-Methode angewandt.

Bei allen Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,05$ als Signifikanzniveau festgelegt.

Die statistischen Auswertungen wurden vom Referenten gemeinsam mit seinem Betreuer durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Interleukin-1 α (-889)-Polymorphismus und Morbus Alzheimer

Es wurde eine Genotypisierung des Interleukin-1 α und des APO E-Genes durchgeführt. Die vorliegenden Daten stützen die bekannte Assoziation des APO E- ϵ 4 Allels und der Alzheimer Erkrankung (Farrer et al. 1997). Die Verteilung der Interleukin-1 α (-889)- Allele und der APO E- ϵ 4-Allele in der kombinierten Patienten- und Kontrollgruppe (IU + MU) sind in Tabelle 4 dargestellt.

	Kontrollen (n=191)			AD (n=259)		
IL-1α(-889)	1/1	1/2	2/2	1/1	1/2	2/2
n	126	62	3	141	97	21
Genotypfrequenz (%)	65.6	32.8	1.6	54.4	37.5	8.1
APOE	/2	/3	/4	/2	/3	/4
ϵ2	0.5	18.8	1.6	0	8.9	1.5
ϵ3	18.8	59.9	17.2	8.9	34.4	44.0
ϵ4	1.6	17.2	2.1	1.5	44.0	11.2

Daten aus Du et al. 2000

Tabelle 4: Anzahl und Frequenz (in Prozent) des IL-1 α (-889)-Polymorphismus sowie APO E-Allelfrequenzen (in Prozent) in der gepoolten Gruppe von AD-Patienten und Kontrollen. In der Tabelle steht 1 für den Wildtyp (C an der Stelle -889 des IL-1 α -Gens, 2 steht für den Polymorphismus (T an der Stelle -889 des IL-1 α -Gens; ϵ 2, ϵ 3 und ϵ 4 stehen für die drei Apolipoprotein E-Allele E2, E3 und E4, die sich lediglich durch einen Polymorphismus an der Stelle 112 bzw. 158 unterscheiden; IL= Interleukin). Bei den Kontrollen war eine Probe nicht auswertbar (191 statt 192 eingeschlossenen Kontrollen).

Die Daten weisen auf einen Zusammenhang zwischen homozygoten Trägern des Allels 2 (T>C Polymorphismus an Position -889 im Promoter von IL-1 α) und Morbus Alzheimer hin. Es konnte eine Mantel-Haenszel Odds ratio (OR) von 7,2 (95% CI 2,0 bis 24,5, p=0,003) errechnet werden. Die OR für heterozygote Träger des Allels 2 in der Gesamtpopulation betrug 1,68 (95% CI: 1,1 bis 2,6, p=0,022). Bei der Untersuchung von Patienten über 60 Jahre zeigten sich in der statistischen Auswertung ähnliche Ergebnisse, hier konnte eine OR von 1,75 (95% CI 1,1 bis 2,6, p=0,02) für die Gesamtpopulation und einer OR von 8,7 (95% CI 1,8 bis 42,5, p=0,007) für homozygote Träger des Allels 2 errechnet werden. Es zeigten sich keine alters- (p=0,48) oder geschlechtsspezifischen (p=0,030) Zusammenhänge mit dem IL-1 α -Allel 2 oder von diesem zu Apo E- ϵ 4 (p=0,64). Die berechneten Mantel- Haenszel Odds ratios (OR) sind in Tabelle 5 dargestellt.

Faktor	Odds ratio	95% CI	p-Wert
IL-1α(-889) heterozygot	1.68	1.1-2.6	0.02
IL-1α(-889) homozygot	7.2	1.9-27.6	0.004
APOE ϵ4	5.1	3.3-7.9	0.001

Daten aus Du et al. 2000

Tabelle 5: Nach Mantel-Haenszel geschätzte Odds ratio für betroffene heterozygote und homozygote IL.1 α (-889)-Genträger sowie APOE ϵ 4 und das Risiko an AD zu erkranken.

Mittels logistischer Regression wurde schließlich die gemeinsame Verteilung von IL-1 alpha - 889 Allel 2 und APO E- ϵ 4 in der gesamten Kohorte untersucht. Neben der bekannten positiven Assoziation von APO E- ϵ 4 und Morbus Alzheimer fanden sich keine Hinweise auf einen signifikanten Zusammenhang zwischen Interleukin-1 α (-889)- Allel 2 und APO E- ϵ 4 (p=0,584).

4.2 Interleukin-6(-174) Polymorphismus und Morbus Alzheimer

Die Genotyp-Verteilungen der Alzheimer-Patienten und Kontrollen aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilian-Universität München als auch aus der Klinik für Neurologie der Philipps-Universität Marburg (Kohorte 2) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Bei der Untersuchung des Interleukin-6-Promoter-Polymorphismus an Stelle -174 konnte kein erhöhtes Risiko an Morbus Alzheimer zu erkranken festgestellt werden. Die Allel und Genotypfrequenzen sind in Tabelle 6 dargestellt.

IL-6(-174)	Kontrollen			AD		
Allel	1	2		1	2	
n	116	100		131	95	
Allelfrequenz	0.54	0.46		0.58	0.42	
Genotyp	1/1	1/2	2/2	1/1	1/2	2/2
n	26	64	18	33	65	15
Genotypfrequenz	0.24	0.59	0.17	0.29	0.58	0.13

Daten aus Depboylu et al. 2004

Tabelle 6: Anzahl und Frequenz (in Prozent) des IL-6(-174)-Polymorphismus (in Prozent) in der gepoolten Gruppe von AD-Patienten und Kontrollen. In der Tabelle steht 1 für den Wildtyp (G an der Stelle -174 des IL-6-Gens, 2 steht für den Polymorphismus (C an der Stelle -174 des IL-6-Gens)

Es konnte eine OR für heterozygote Träger eines G-Allels an Stelle -174 des Interleukin-6-Promotors von 0,98 in der Gesamtpopulation und für homozygote konnte eine OR von 0,77 errechnet werden. Es zeigten sich darüber hinaus keine alters- ($p=0,48$) oder geschlechtsspezifischen Zusammenhänge ($p=0,30$).

Analog zur Untersuchung für IL-1 α -889 hinsichtlich einer Interaktion mit APO E- ϵ 4 als bekanntem Risikofaktor für Morbus Alzheimer erfolgte eine Untersuchung hinsichtlich einer Interaktion mit Interleukin-6 -174 Allel C, die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Obwohl unsere Daten die bekannte Assoziation von APO E- ϵ 4 und Morbus Alzheimer (Meyer et al. 1998) stützen, konnte keine signifikante Interaktion zwischen APO E- ϵ 4 und IL-6 (-174)-Allel C nachgewiesen werden.

Genotyp	Kontrollen						AD					
	ϵ 2/2	ϵ 2/3	ϵ 2/4	ϵ 3/3	ϵ 3/4	ϵ 4/4	ϵ 2/2	ϵ 2/3	ϵ 2/4	ϵ 3/3	ϵ 3/4	ϵ 4/4
APOE												
IL-6 (-174)												
1/1	0	3.7	0	16,7	1.9	1.9	0	0.9	0	8.0	15.9	4.4
1/2	0.9	12.0	0.9	36.1	9.3	0	0	6.2	0	18.6	27.4	5.3
2/2	0	3.7	0	10.2	2.8	0	0	0.9	0	6.2	4.4	1.8

Daten aus Depboylu et al. 2004

Tabelle 7: Frequenz der verschiedenen APOE-Genotypen und IL-6 (-174) Genotypen in der Gruppe von AD-Patienten und Kontrollen. IL-6 (-174): 1= G an Position -174 des IL-6-Gens (Wildtyp); 2 = C an Position -174 des Interleukin-6-Gens; APOE= Apolipoprotein E Allel ϵ 2,3 und 4; IL = Interleukin.

4.3 Interleukin-1 α -889 bei Morbus Parkinson sowie EO-PD

Bei der Untersuchung des Interleukin-1 α (-889)-Polymorphismus in einer Gruppe von 201 Patienten mit Parkinson Erkrankung im Vergleich zu 197 Kontrollprobanden (Kohorte 3) zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Verteilung der Allelfrequenzen, die in Tabelle 8 dargestellt sind.

	Kontrollen			PD		
IL-1α(-889)	1/1	1/2	2/2	1/1	1/2	2/2
n	115	77	5	108	86	7
Genotypfrequenz	58.4	39.1	2.5	53.7	42.8	3.5
	Kontrollen			EOPD		
IL-1α(-889)	1/1	1/2	2/2	1/1	1/2	2/2
n	92	54	3	44	34	5
Genotypfrequenz	61.8	36.2	2.0	53.0	41.0	6.0

Daten aus Dodel et al. 2001

Tabelle 8: Anzahl und Frequenz des IL-1A (-889)-Polymorphismus in der gepoolten Gruppe von PD Patienten und Kontrollen. In der Tabelle steht 1 für den Wildtyp (C an der Stelle -889 des IL-1 α -Gens, 2 steht für den Polymorphismus (T an der Stelle -889 des IL-1 α -Gens IL = Interleukin). In der unteren Tabellenhälfte sind die Daten einer Subgruppenanalyse für Parkinson-Patienten mit frühem Erkrankungsbeginn (EOPD) und gematchten Kontrollen zu sehen.

Anhand der logistischen Regression ließ sich ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem Interleukin-1 α (-889)-Polymorphismus und dem Risiko, an Morbus Parkinson zu erkranken feststellen. Die Wahrscheinlichkeit zu erkranken liegt bei einer Odds Ratio (OR) von 1,2 (95% CI: 0,85 bis 1,8, $p=0,377$) und 1,42 (95% CI: 0,5 bis 4,1, $p=0,523$) für ein oder zwei T-Allele im Vergleich zu keinem T-Allel. Es konnte zudem kein Zusammenhang zwischen Interleukin-1 α -889 und dem Alter der Patienten festgestellt werden. Bestätigt werden konnte allerdings, dass das Alter ein wichtiger

Risikofaktor für die Entstehung eines Morbus Parkinsons darstellt. In einer Analyse der Patienten mit frühem Erkrankungsbeginn (EOPD) (siehe Tabelle 7) konnte eine OR von 3,1 (95% CI: 0,8 bis 11,5, $p=0,092$) für homozygote Träger des IL-1 α -889 T-Allels errechnet werden. Das Ergebnis war aber hier auch vor dem Hintergrund der zu kleinen Fallzahl ($n=83$) nicht signifikant. Für heterozygote Träger des T-Allels konnte eine Odds Ratio von 1,4 (95% CI: 0,8 bis 2,3; $p=0,234$) im Vergleich zu gesunden Kontrollen errechnet werden. Zur genauen Einordnung der zuletzt genannten Ergebnisse erfolgte eine Subgruppenuntersuchung von Patienten mit EOPD.

In einer Fallkontrollstudie mit größerer Fallzahl ($n=346$) mit 176 Parkinson-Patienten mit frühem Erkrankungsbeginn (EOPD; <50 Jahre) und 170 Kontrollprobanden (Kohorte 4) konnte kein signifikant erhöhtes Risiko an Morbus Parkinson zu erkranken für Träger des IL-1 α (-889)-Polymorphismus und Morbus Parkinson gezeigt werden. In der logistischen Regression konnte keine Assoziation des IL-1 α (-889)-Polymorphismus und Morbus Parkinson gezeigt werden ($\chi^2=1,07$, $df=2$, $p=0,586$). Die Genotyp- und Allelfrequenzen sind in Tabelle 9 dargestellt.

	IL-1 α (-889)				
	1/1	1/2	2/2	1	2
Kontrollen					
n	79	86	5	244	96
Genotypfrequenz	46.5	50.6	2.9	71.8	28.2
PD					
n	83	84	9	250	102
Genotypfrequenz	47.2	47.7	5.1	71.0	29.0

Daten aus Möller et al. 2004

Tabelle 9: Anzahl und Frequenz des IL-1 α (-889)-Polymorphismus in der Gruppe von EOPD Patienten und Kontrollen. In der Tabelle steht 1 für den Wildtyp (C an der Stelle -889 des IL-1 α -Gens, 2 steht für den Polymorphismus (T an der Stelle -889 des IL-1 α -Gens IL = Interleukin)

Die Wahrscheinlichkeit, an einer PD zu erkranken, lag bei einer Odds Ratio von 1,0 (95% CI: 0,65 bis 15) für heterozygote und bei 1,8 (95% CI: 0,58 bis 55) für homozygote Träger der IL-1 α (- 889)- T-Allels. Gezeigt werden konnte hingegen, dass das Alter und das Geschlecht mit einer PD im Zusammenhang stehen (Alter: $\chi^2=4,87$, $df=1$, $p=0,031$; Geschlecht: $\chi^2=7,65$, $df=1$; $p=0,006$). Unter Zuhilfenahme der Kaplan-Meier Methode konnte kein Zusammenhang zwischen dem Interleukin-1 α -889-Polymorphismus und dem Erkrankungsalter aufgezeigt werden (log rank = 0,42; $df= 2$, $p=0,81$).

5. Diskussion

Vor dem Hintergrund der aktuellen demographischen Entwicklung der immer älter werdenden Bevölkerung und somit zu erwartender vermehrter Inzidenz von neurogenerativen Erkrankungen des Alters, wie z.B. Morbus Parkinson und Morbus Alzheimer rückt die Erforschung der Pathogenese dieser Erkrankungen vermehrt in den Fokus.

Ziel der Erforschung von neurodegenerativen Erkrankungen ist es, mögliche diagnostische Parameter zu finden, welche einerseits eine frühzeitige Diagnosestellung ermöglichen und andererseits eine Verlaufskontrolle durch prognostische Marker erlauben. Langfristig soll sie die Erstellung von Therapieplänen, inklusive Entwicklung von neuen Therapieansätzen vorantreiben.

Sowohl beim Morbus Parkinson als auch dem Morbus Alzheimer wird eine multifaktorielle Pathogenese angenommen, welche neben natürlichen Alterungsprozessen auch umweltbedingte Faktoren und insbesondere genetische Faktoren umfasst. Bei beiden Erkrankungen wird dabei eine neuro-inflammatorische Komponente angenommen (Shulman und De Jager 2009). Entsprechend wurden in den vorliegenden Allelassoziationsstudien die Bedeutung der Polymorphismen von IL-1A und IL-6 bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson anhand von molekulargenetischen Untersuchungen erforscht. Ziel der Studien war es, zu untersuchen, ob die genannten Polymorphismen mit einem erhöhten Risiko einer neurodegenerativen Erkrankung wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson einhergehen.

Die vorliegenden molekulargenetischen Untersuchungen zeigen, dass homozygote Träger des IL-1 α (-889)-Allels ein erhöhtes Risiko aufweisen, an einem Morbus Alzheimer zu erkranken. Der bekannte Zusammenhang zwischen dem APOE- ϵ 4-Allel und einem Morbus Alzheimer konnte somit in den eigenen Untersuchungen bestätigt werden. Für einen IL-6 (-174)-Polymorphismus hingegen konnte kein erhöhtes Risiko an Morbus Alzheimer zu erkranken belegt werden.

Im Rahmen der Untersuchung der Parkinsonpatienten konnte kein erhöhtes Risiko für Träger des IL-1 α (-889)-Polymorphismus errechnet werden.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Hinweisen aus Studien der vergangenen Jahren, dass insbesondere in der Pathogenese des Morbus Alzheimers neuroinflammatorische Prozesse möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese spielen könnten (Parihar und Hemnani 2004, Giunta et al. 2008, Heneka et al. 2013).

Bei der Differenzierung von akutem entzündlichen Geschehen und chronisch inflammatorischen Prozessen und deren Mediatoren ist von großer Bedeutung, dass es bei der chronischen Entzündung offenbar entweder zu chronischer Aktivierung oder zu fehlender Limitierung von pro-inflammatorischen Prozessen bis hin zur Entkopplung von exogenen oder endogenen Stimuli kommt.

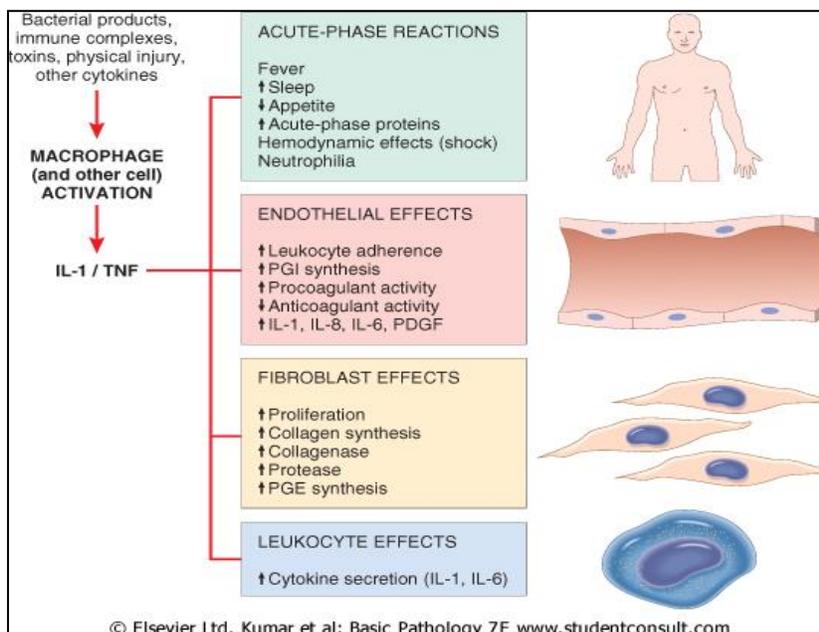


Abb. 14: Signalkaskade einer akuten Infektion (Basic Pathology 7E, Kumar et al. 2003)

Unter den Zytokinen, die an neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson beteiligt sind, wurde für TNF- α , IL-1 und IL-6 bereits gezeigt, dass sie eine Schlüsselrolle bei vielen chronischen Krankheiten spielen, zu denen auch die rheumatoide Arthritis gehört. Aus der Neuropsychimmunologie gibt es Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen proinflammatorischen Interleukinen (IL-6) und der Depression (Valkanova et al. 2013).

In Abb. 15 sind die verschiedenen Mediatoren (vasoaktive Amine, Neuropeptide, Plasmaproteasen, Arachnoidonsäure-Metaboliten, Zytokine, Chemokine, NO und Sauerstoffradikale sowie lysosomale Enzyme) und mögliche Interaktionen bei einer peripheren Infektion beim Morbus Alzheimer dargestellt (modifiziert nach Thal et al. 2006)

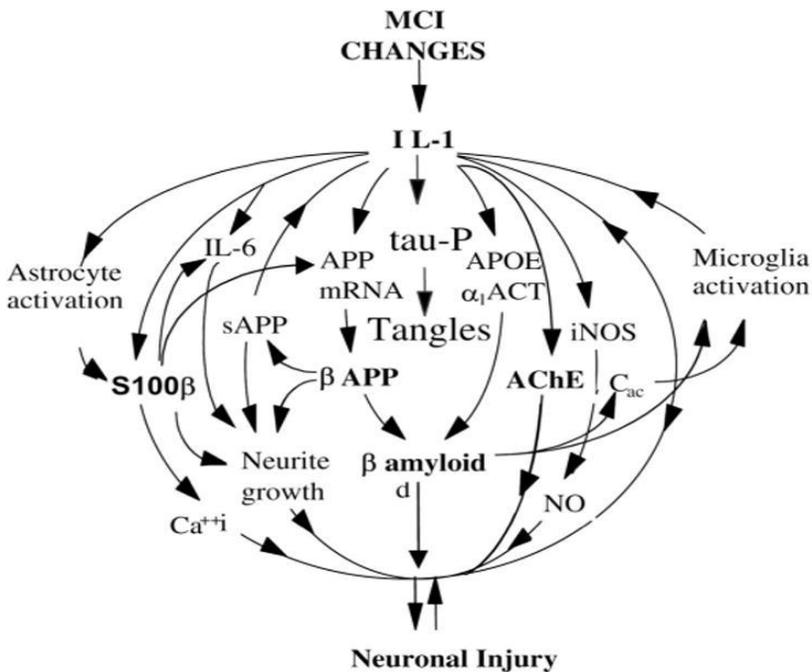


Abb.15: Signalkaskade M. Alzheimer (modifiziert nach Thal et al. 2006)

5.1 Morbus Alzheimer und Neuroinflammation

Die Pathogenese der Alzheimer-Krankheit ist nicht auf das neuronale Kompartiment beschränkt. Vielmehr interagieren fehlgefaltete und aggregierte Proteine wie β -Amyloid oder Tau über bisher nicht geklärte Weise mit Mikro- und Astroglia und lösen eine Immunantwort aus, die durch die Freisetzung von Entzündungsmediatoren wie z.B. Zytokinen wie IL-1A, IL-1 β und IL-6 gekennzeichnet ist. Der neuro-inflammatorische Prozess scheint dabei zum Fortschreiten der Krankheit und zur Schwere der Erkrankung beizutragen. Eine genomweite Analyse lässt vermuten, dass mehrere Gene, die das Risiko für sporadische

Alzheimer-Krankheit erhöhen, für Faktoren kodieren, die die Glia-Clearance von β -Amyloid und die Entzündungsreaktion regulieren. Bei der Alzheimer-Krankheit (AD) trägt die Neuroinflammation, die durch senile Plaques und NFT aktiviert bzw. aufrechterhalten wird, möglicherweise mehr zur Pathogenese bei als die Proteine selbst. Kürzlich gefundene Assoziationen von Polymorphismen in den Genen von *CD33* und *TREM2*, also Immunrezeptoren, bestätigen diese Hypothese (eine Übersicht bietet Zhao 2019).

Seltene Mutation in APP und in den Presenilinen sind Ursache von familiär gehäuften Formen der Alzheimer-Demenz, ein Geschehen, das die Hypothese der Beteiligung von β -Amyloid bei der Pathogenese unterstreicht. Analog zum Morbus Parkinson, bei der von einem 30%igem Risiko durch genetischen Faktoren ausgegangen wird und monogenetische familiäre Formen nur <5% eine Erkrankung belegen, liefern auch genetische Untersuchungen der Kandidatengene der Alzheimer-Demenz häufig nur Hinweise auf eine Beteiligung von Genen an der Erkrankung, ohne hiermit die Pathogenese der Erkrankung selbst zu erklären (Thomas und Beal 2007).

Für die Expressionsraten von Genen haben möglicherweise Faktoren wie Gen-Gen, Protein-Protein und chromosomale Interaktionen sowie exogene Faktoren (chronischer Stress, Noxen oder andere physikalische Einflüsse) größeren Einfluss, als das alleinige Vorhandensein eines polymorphen Allels. Dies verdeutlicht auch die Grenzen von Allelassoziationsstudien. Eine der stärksten genetischen Assoziationen mit Morbus Alzheimer ist für APOE ϵ 4 beschrieben. Studien deuten daraufhin, dass die Expression des Proteins APO E4 zu Defekten in der β -Amyloid-Clearance und somit zu einer vermehrten Disposition von A β führen könnte (Licastro et al. 2007, Vitek et al. 2009). Diese bekannte Assoziation konnte in den eigenen Untersuchungen als starker Risikofaktor für Morbus Alzheimer bestätigt werden.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte ein Zusammenhang des IL-1 α -889 Polymorphismus und Morbus Alzheimer festgestellt werden, insbesondere das Allel 2 zeigt eine starke Assoziation (OR 7,2) mit Morbus Alzheimer (vergleiche Tabelle 4). Der Polymorphismus befindet sich in der Promotorregion des Interleukin-1-Gens, was somit

einen möglichen Einfluss auf die Expression des Interleukin-1-Proteins nahelegt. Shirodaria und Mitarbeiter konnte in vivo an einer Kohorte von Patienten mit Parodontitis nachweisen, dass Träger des IL-1 α (-889)- Polymorphismus 4-fach erhöhte IL-1 α -Werte aufwiesen (Shirodaria et al. 2000). Zur weiteren Klärung der funktionellen Bedeutung des untersuchten Polymorphismus sind weitere Untersuchungen wie z.B. Messung der Proteinkonzentration von Interleukin-1 α im Liquor sowie im peripheren Kreislauf, notwendig.

Interessant könnte sein, inwieweit eine Gendosis-abhängige Hochregulation bzw. Aktivierung der neuroinflammatorischen Kaskade in entsprechenden Subpopulationen nachzuweisen ist. Die beschriebene Assoziation konnte in mehreren Studien bestätigt werden (Grimaldi et al. 2000, Nicoll et al. 2000, Rebeck 2000), allerdings zeigen sich im Verlauf in anderen Studien auch divergente Ergebnisse. In einer asiatischen Population war eine deutlich geringere Prävalenz des T-Allels, insbesondere der homozygoten Form, nachweisbar (Kuo et al. 2003); ein Befund, der die fehlende Assoziation erklären könnte. In einer Metaanalyse aus dem Jahre 2004 konnte die Arbeitsgruppe von Rainero einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Allel 2 des Interleukin-1 α Gens und der Alzheimer Demenz ebenso bestätigen (Rainero et al. 2004). Diese Befunde belegen insgesamt, dass der IL-1 α (-889)-Polymorphismus als starker Risikofaktor für Morbus Alzheimer anzusehen ist.

Hinsichtlich des IL-6 (-174)-Polymorphismus konnte kein signifikanter Zusammenhang mit dem Morbus Alzheimer in unserem untersuchten Kollektiv nachgewiesen werden. Die Tatsache, dass andere Arbeiten sowohl vergleichbare als auch unterschiedliche Ergebnisse ermittelten, könnte in einer voneinander abweichenden Methodik liegen, hierbei könnte unterschiedliche Einschlusskriterien oder Fallzahlen zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben. Darüber hinaus können Faktoren wie genetische und soziodemografische Heterogenität der unterschiedlichen Studien divergente Ergebnisse bedingen. Carpurso und Mitarbeiter beschreiben beispielsweise einen regionalen europäischen Unterschied in der IL-6 (-174)-Genotyp- und Allelverteilung als mögliche Ursache für die inkonsistenten Befunde (Carpurso et al. 2004). Für den Interleukin-6 (-174)-Polymorphismus in der Promotorregion des Gens von Interleukin-6 wurde eine reduzierte IL-6-Expression und reduzierte IL-6 Level im Blut und im Gehirn von Alzheimer-Patienten nachgewiesen (Jellinger 2010, Carpurso

et al. 2004). Zudem wurde für einen weiteren Polymorphismus im Promotor des Interleukin-6-Gens an der Stelle -572 ebenfalls mit einer reduzierten Interleukin-6-Genexpression assoziiert. In der Literatur häufen sich die Erkenntnisse, dass durch Interaktionen dieser beiden Polymorphismen im Promotor des Interleukin-6-Gens möglicherweise das Risiko an Alzheimer-Demenz zu erkranken, reduziert ist. In einer Metaanalyse von Qi und Mitarbeiter konnte dies bestätigt werden (Qi et al. 2012).

Die Heterogenität der Ergebnisse in den verschiedenen durchgeführten Allelassoziationsstudien lässt sich neben den oben genannten Gründen auch auf vorhandene soziodemografische Unterschiede sowie experimentelle Faktoren zurückführen. So bestehen die unterschiedlichen Populationen aus verschiedenen Ethnitäten. Es könnten zudem Unterschiede bei der klinischen Untersuchung der Patienten vorgelegen haben, die zu unterschiedlich gut charakterisierten Populationen führen würden.

Die Auswahl der Studiendesigns und die Probenaufbereitung können unterschiedliche Ergebnisse erklären. Weiterhin können Sensitivitätsunterschiede der verwendeten Untersuchungskits die Ergebnisse beeinflussen. Hinsichtlich des Studiendesigns müssen bezüglich der Auswertung einige limitierende Faktoren bedacht werden. Die Fallzahl war vor allem in der Subgruppenanalyse sehr klein, d. h. die Power damit schwach. Darüber hinaus sind die Meßmethoden aus aktueller Sicht verhältnismäßig grob, heute würden sicherlich genomweite genetische Untersuchungen angewandt werden (Moreno-Grau et al. 2019).

Die Bedeutung des pro-inflammatorischen Interleukins bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer ist dabei unbestritten und gut untersucht: für Interleukin-6 konnte nachgewiesen werden, dass es über eine Mikroglia-Aktivierung zu einer vermehrten Akkumulation der Akutphasenproteine in senilen Plaques kommt. (Wang et al. 2015). Eine „fehlerhafte“ Immunreaktion wird für die Pathogenese des Morbus Alzheimer vielseitig diskutiert. (Heneka et al. 2015) Mikrogliaaktivierung und Aktivierung von Interleukin-1 und Interleukin-6 vermittelten neuroimmunologischen Reaktionen werden als Teil eines „Teufelskreises“ angesehen, der in einer Degeneration von Neuronen endet (Stamouli et al. 2016). Viele der in den vergangenen Jahren als sehr vielversprechend eingeschätzten Ansätze konnten die Erwartung aus heutiger Sicht jedoch zusammengefasst nicht bestätigen. Heute gilt

insbesondere die Untersuchung des Antikörpers Adacanumab als sehr vielversprechend, dieser wird aktuell in klinischen Studien intensiv erforscht und eine mögliche positive Wirkung für Patienten mit Morbus Alzheimer untersucht. Insgesamt stehen aktuell eher präventive Forschungsansätze als Therapiestudien im Vordergrund. Hierbei werden allerdings sowohl die aktive als auch die passive Immunisierung und A β weiter untersucht.

Insgesamt stehen die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Arbeit im Einklang mit den Forschungsergebnissen, die sich auf den Zusammenhang zwischen Neuroinflammation und Morbus Alzheimer konzentrieren. So konnte die Arbeitsgruppe von Heneka nachweisen, dass das sogenannte NLRP3-Inflammasom eine möglicherweise entscheidende Rolle bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer spielen könnte. Der Proteinkomplex mit der Bezeichnung NLRP3-Inflammasom ist ein aus mehreren Proteinen zusammengesetztes Ensemble mit aktivierender Schlüsselfunktion für das Immunsystem. In einer Caspase-1 vermittelten Signalkaskade kommt es unter anderem zu einer vermehrten Freisetzung von Interleukin-1 β . Im Zellkulturmodell konnte bereits nachgewiesen werden, dass β -Amyloidablagerungen diese NLRP3-Inflammasome aktivieren können. Im Rahmen von tierexperimentellen Untersuchungen an Mäusen, die für Alzheimer typische Verhaltensstörungen zeigten, wurde eine aktivierte Form des NLRP3-Inflammasoms festgestellt (Heneka et al. 2013).

In einer weiteren Gruppe von NLRP3-knock-out-Mäusen wurde untersucht, ob sich oben beschriebene Entzündungsreaktionen unterdrücken lassen. Es zeigte sich tatsächlich, dass die Tiere nur relativ milde Krankheitssymptome entwickelten. Weiterhin konnte ein deutlicher Rückgang der typischen β -Amyloid-Plaques beobachtet werden, es wurde zudem weniger Interleukin-1 β nachgewiesen. Angesichts dieser Befunde erscheint es vielversprechend, die Aktivität des Inflammasoms zu blockieren. Dazu geeignete Substanzen sind nach Angaben des Autors bereits zugelassen und werden zurzeit in klinischen Studien getestet (Daniels et al. 2016). Auch beim Morbus Parkinson wird ein möglicher Zusammenhang zwischen Inflammasom und Interleukin-1 β und Caspase-1 vermittelter Prozesse im Zusammenhang mit α -synuclein diskutiert (Lang et al. 2018).

Es wurden seit 2001 zahlreiche vielversprechende Untersuchungen zu antiinflammatorischen Therapien bei Morbus Alzheimer durchgeführt (in't Veld et al. 2001). Hierbei rückten insbesondere die nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAR) und Glukokortikoide in den Fokus. Aus epidemiologischen Studien ist bekannt, dass die nichtsteroidalen Antiphlogistika das Risiko für Morbus Alzheimer reduzieren können (Hoozemans et al. 2008, In't-Veld et al. 2002, Pasinetti und Pompl 2002). Auch für Patienten mit einer langfristigen Einnahme von nichtsteroidalen Antiphlogistika konnte ein vermindertes Risiko, an Alzheimer zu erkranken, nachgewiesen werden (In't-Veld 2001). In Post-mortem-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass NSAR die für den Morbus Alzheimer typischen inflammatorischen Prozesse in menschlichen Gehirnen reduzieren können. Weiterhin konnte in Zellkulturmodellen gezeigt werden, dass entsprechende Substanzen (Naproxen, Celecoxib oder Aspirin) direkt die β -Amyloid-42-Peptide bis zu 80% minimieren können. Die Wirkung von NSAR könnte ebenso über eine Aktivierung der PPAR, eine Gruppe von nuklearen Hormonrezeptoren, welche die Transkription von proinflammatorischen Genen inhibieren, vermittelt sein. PPAR α -Agonisten hemmen sowohl Interleukin-6, TNF- α und eine COX-2 Expression in Zellkulturen (Combs et al. 2001). Allerdings konnten diese Forschungsergebnisse in randomisierten, Placebokontrollierten Phase-3-Studien nicht repliziert werden (Aisen et al. 2002). In einer randomisierten doppelblinden Placebokontrollierten Studie wurde der Effekt von dem COX-2 Inhibitor Rofecoxib und den COX-1 und COX-2 Inhibitor Naproxen gegen Placebo getestet, wobei kein signifikanter Unterschied gegenüber Placebo festgestellt wurde (Aisen 2008).

In einer anderen randomisierten doppelblinden Placebokontrollierten Studie mit dem COX-2 Inhibitor Rofecoxib konnte ebenso kein signifikanter Effekt nachgewiesen werden (Reines et al. 2004). Möglicherweise sind nur die NSAR, die in der Lage sind, spezifisch β -Amyloid zu reduzieren oder die Deposition zu hemmen geeignet, den Ausbruch der Erkrankung zu verhindern oder zu verzögern.

Insgesamt muss unter Berücksichtigung der Forschungsergebnisse davon ausgegangen werden, dass NSAR eher im Sinne eines protektiven Effektes einzusetzen sind. Bei bereits ausgebrochener Erkrankung scheinen sie bisher keinen günstigen Effekt auf den Verlauf der Erkrankung zu nehmen. Unter Berücksichtigung all dieser Ergebnisse und in Kenntnis der

postulierten Entzündungskaskade, die in direktem Zusammenhang mit der Entstehung von Morbus Alzheimer zu stehen scheint, ist es offenbar von besonderer Bedeutung, die Kaskade an geeigneter Stelle zu beeinflussen. Eine mögliche geeignete Stelle könnte der Proteinkomplex „Inflammasom“ sein. Forschungsergebnisse legen zudem nahe, dass eine Immunisierung mit Aβ-42 langfristig zu einer verminderten Aktivierung von Mikroglia und Ablagerung von β-Amyloid und Tau-Fibrillen führt. Hier sind weitere Studien notwendig, um die funktionelle Bedeutung dieser Ergebnisse besser einordnen zu können (Zotova et al. 2013).

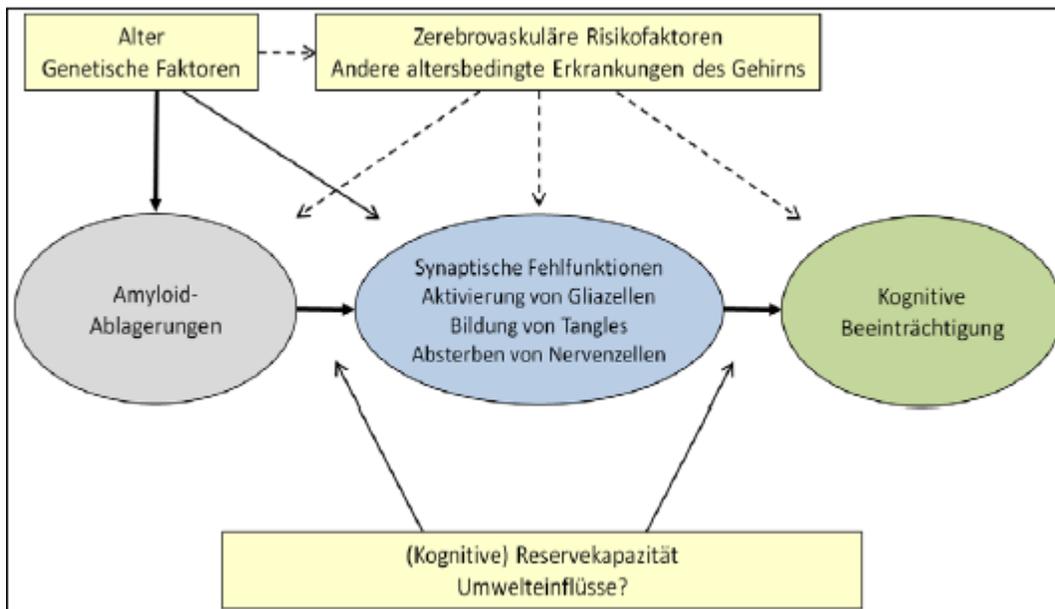


Abb.16: Pathophysiologische Kaskade der Alzheimer-Demenz (aus Sperling et al. 2011)

Heute steht mit der Messung der Konzentration von Amyloid-beta (1-42) (bzw. die Ratio von Amyloid-beta (1-42) zu Amyloid-beta (1-40)) im Liquor bereits ein sehr hilfreicher Biomarker bei der Diagnosestellung der Alzheimer-Erkrankung zur Verfügung (in Kombination mit anderen Biomarkern wie Tau und Phospho-Tau). Die typische Alzheimer-Erkrankung ist offenbar schon vom frühen Stadium an mit einer Amyloidstoffwechselstörung im Gehirn assoziiert (Jack et al. 2010). Die Ursachen der Amyloidablagerungen sind dabei unverändert ungeklärt. Es konnte bisher nicht gezeigt werden, dass das Entfernen der Amyloid-Ablagerungen durch aktive oder passive Immunisierung gegen Aβ-Proteine die Erkrankung positiv beeinflusst, was zu Zweifel an der Amyloid-Hypothese geführt hat. Vielmehr geht man

davon aus, dass der Morbus Alzheimer sowohl mit einer Amyloid- als auch Tau- assoziierten Pathologie beginnen kann. (Jack et al. 2013). Interessanterweise ist bekannt, dass Mutationen im Tau-Gen nicht zur AD führen, sondern zu einer anderen Form demenzieller Erkrankungen, den Fronto-Temporalen Demenzen (FTD), die ebenfalls, wie AD durch die Bildung von Neurofibrillenbündeln gekennzeichnet ist (Yasuda et al. 2000). Allerdings finden sich keine Plaques. Dieser Befund unterstreicht die Bedeutung der Amyloid-Hypothese bei der Pathogenese der AD.

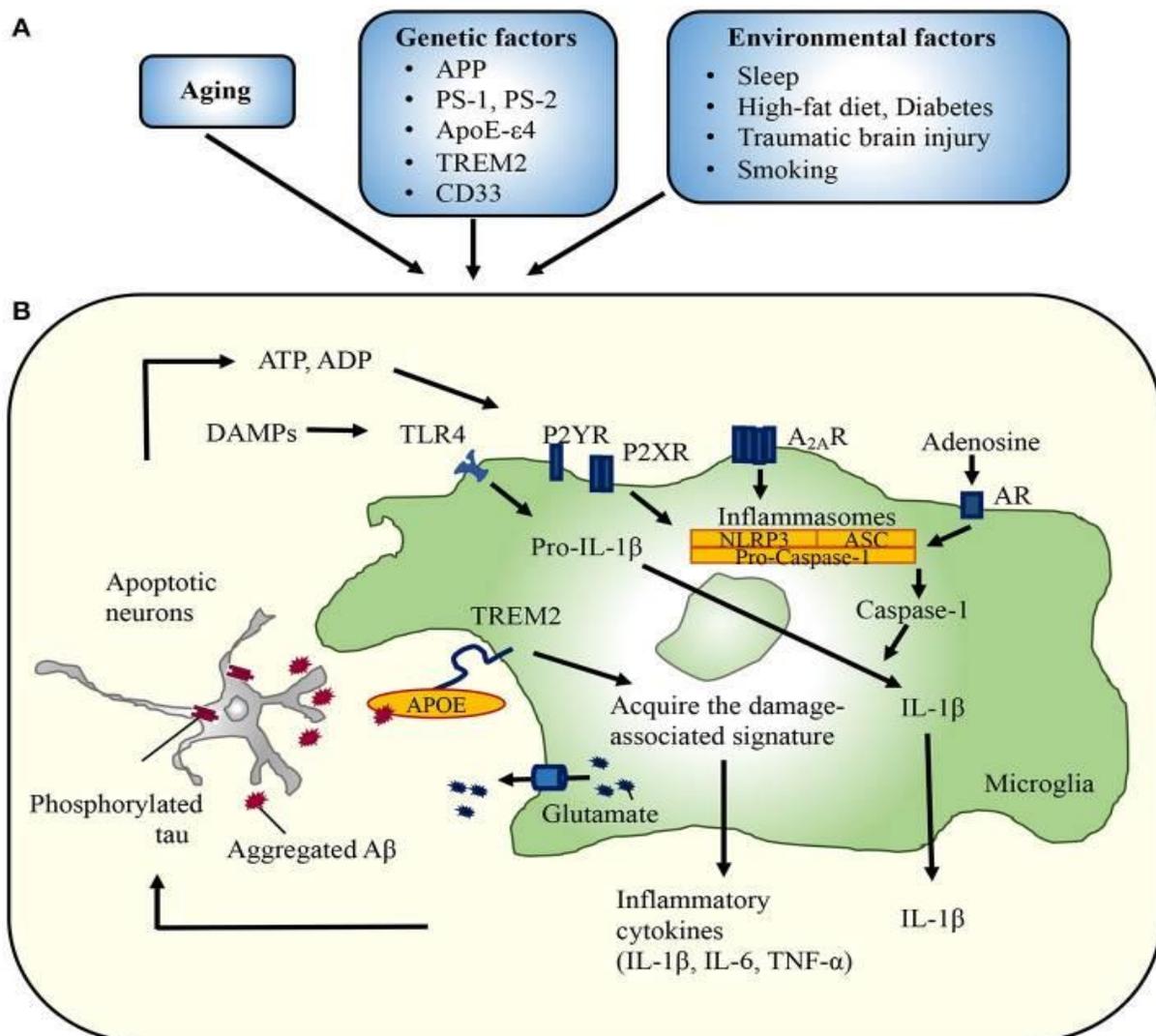


Abb. 17: Bedeutung der Mikroglia bei Morbus Alzheimer (aus Katsumoto et al. 2018)

Auf der Basis der zuvor erwähnten Ergebnisse in transgenen Mausmodellen sowie neueren Erkenntnissen aus Zellkultur-Experimenten und Post-mortem-Analysen, geht man davon aus, dass intrazelluläre Akkumulationen von A β -Peptiden neben extrazellulärer Plaque-Ablagerung, eine zentrale Rolle in der pathologischen Kaskade einnehmen (Wirhth et al. 2004). Diese aktuellen Befunde werfen die Frage auf, ob die alleinige Reduzierung extrazellulärer Plaques, z. B. durch Immunisierung, ausreichen wird, um die neurodegenerativen Veränderungen im Gehirn von Alzheimer-Patienten nachhaltig zu beeinflussen. In der Zusammenschau scheint es nicht eine alleinige Ursache des Morbus Alzheimer zu geben, sondern es bedarf viel mehr des Zusammentreffens verschiedener Pathomechanismen, die einen neurodegenerativen Prozess in Gang setzen und aufrechterhalten (siehe Abb.17).

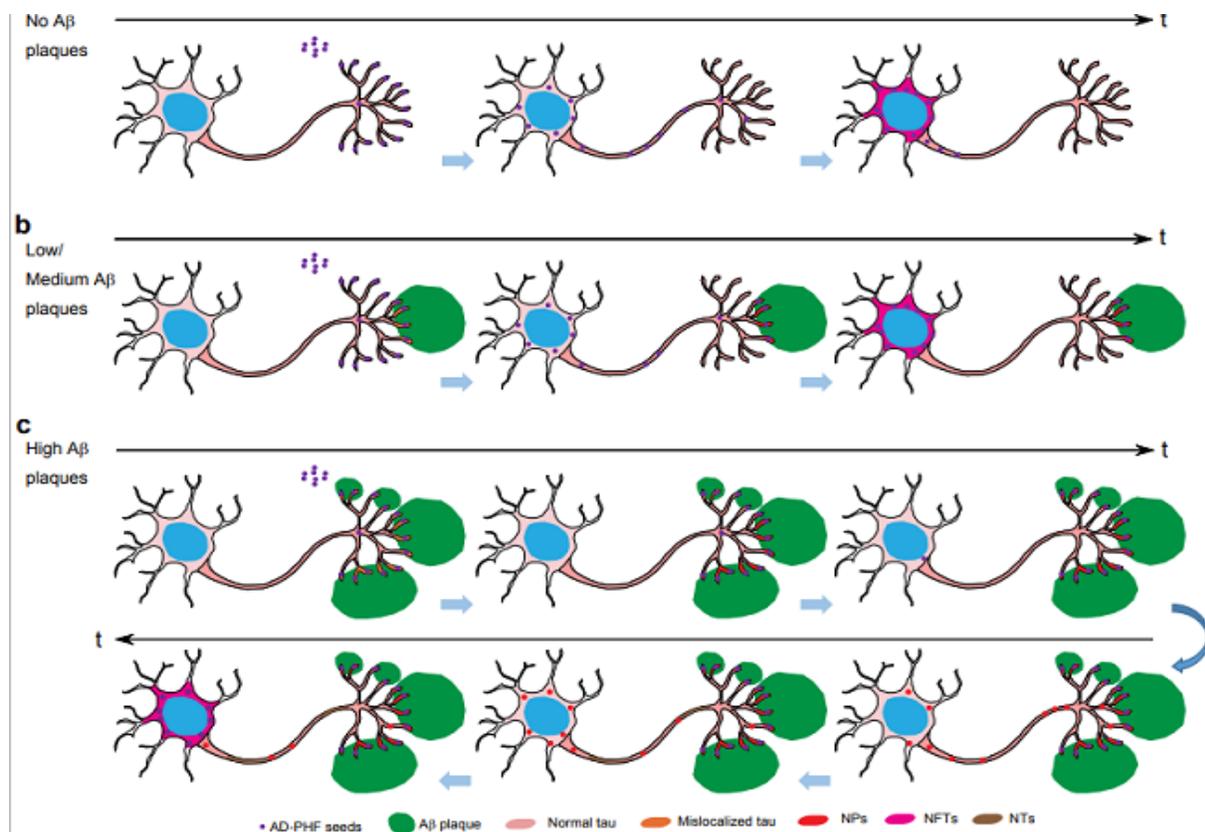


Abb.18: Hypothese eines mehrstufigen Mechanismus der A β Plaquer-vermittelten Tau-Pathogenese bei AD (und Ausbildung von neurofibrillären Tangles (NFT), aus He et al. 2018)

Ob und in welchem Ausmaß extrazelluläre β -Amyloid-Plaques am Untergang von Nervenzellen beteiligt sind, ist ebenfalls Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten, wobei der Fokus aufgrund der zum Teil frustrierten Ergebnisse der Therapiestudien vermehrt auf präventive Ansätze gelegt wird. Während Plaques vor einigen Jahren noch als ursächliches toxisches Agens betrachtet wurden, haben vermehrte Berichte über fehlende Korrelationen zwischen Plauepathologie, kognitivem Status und Nervenzellverlust die Amyloid-Hypothese in ihrer ursprünglichen Form in Frage gestellt. Einen möglichen Zusammenhang und somit eine veränderte Einordnung der bisherigen Amyloid-Hypothese liefert die Arbeit von He (He et al. 2018, siehe Abb. 18)

5.2 Morbus Parkinson und Neuroinflammation

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen Morbus Parkinson und dem Vorhandensein des Interleukin-1 α (-889)-Polymorphismus mittels einer Fall-Kontroll-Studie untersucht. In der Stichprobe ergab sich kein Hinweis für eine positive Assoziation zwischen dem beschriebenen Interleukin-1 α -Polymorphismus und dem Auftreten des Morbus Parkinson. Dieser Befund ist kongruent mit einer Vielzahl von Fallkontrollstudien (Ketan et al. 2012). In einer Studie konnte sogar ein protektiver Effekt des Interleukin-1 α -Polymorphismus nachgewiesen werden (Zhou et al. 2008). Insgesamt ist die Datenlage aber nicht eindeutig, so fanden Wu und Mitarbeiter einen synergistischen Effekt zwischen dem IL-1 α (-889) und IL-1 β (-511)-Polymorphismus und eine leichte Assoziation mit Morbus Parkinson (Wu et al. 2007).

Trotz des fehlenden Nachweises eines signifikanten Zusammenhangs zwischen dem Interleukin-1 α -Polymorphismus und Morbus Parkinson/EOPD in der vorliegenden Arbeit und möglicher methodischer Kritikpunkte (siehe Seite 74) sprechen die epidemiologischen Daten sowie insbesondere Ergebnisse aus Post-mortem-Untersuchungen (erhöhte Zytokinwerte im Bereich der substantia nigra) und peripher erhöhter proinflammatorischer Zytokine bei Morbus Parkinson dennoch für eine mögliche Bedeutung der Interleukine auch bei der Parkinson-

Erkrankung (Hasegawa et al. 2000). Ein kausaler Zusammenhang kann jedoch aus den vorliegenden Daten nicht abgeleitet werden. Weitere Untersuchungen sind zur Erforschung des Zusammenhangs zwischen Neuroinflammation und Parkinson erforderlich.

Bei der Parkinson-Erkrankung konnte im Bereich der Substantia nigra ebenfalls aktivierte Mikrogliazellen sowie vermehrte proinflammatorische Zytokine wie Interleukin-1 β , TNF- α und Interleukin-6 nachgewiesen werden (Hirsch et al. 2009). Weiterhin konnte in in-vivo-Studien gezeigt werden, dass Morbus Parkinson-Patienten erhöhte Serum- und Liquorwerte von Interleukin-1 β , TNF- α , Interleukin-2 und CD4+ und CD 8+ -Lymphozyten aufwiesen (Nagatsu et al. 2000a,b). Hierdurch könnte eine periphere Aktivierung von Lymphozyten induziert sein. Weiterhin konnte für den Interleukin-1 β (-511)-Polymorphismus nachgewiesen werden, dass homozygote Träger dieses Polymorphismus ein zweifach erhöhtes Risiko an Parkinson zu erkranken aufwiesen (Wahner et al. 2007). Auch für Parkinson-Patienten wurden Untersuchungen mit nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAR) durchgeführt. Hintergrund waren auch hier Beobachtungen, dass die regelmäßige Einnahme von nichtsteroidalen Antiphlogistika wie Ibuprofen zu einem verminderten Auftreten von Parkinson führt (Chen et al. 2005, Gao et al. 2011). Minocyclin als bekannter Inhibitor von Mikrogliaaktivierung und Induktion von proinflammatorischen Zytokinen konnte ein gewisser protektiver Effekt bei Parkinson zugewiesen werden (Übersicht bei Zemke et al. 2004, Kim und Suh 2009, Maik et al. 2012).

Unter Berücksichtigung der Datenlage muss insgesamt davon ausgegangen werden, dass der neuroinflammatorische Anteil bei der Parkinsonerkrankung nicht so groß ist wie bei der Alzheimer Demenz (Frank-Cannon et al. 2009, Barnum et al. 2010).

Die Entdeckung einer Reihe von Kandidatengenen des Morbus Parkinson beginnend mit der Beschreibung des α -Synuklein Gens (Polymeropoulos et al. 1997) bis zu LRRK2 (Paisan-Ruiz et al. 2004)- der häufigsten genetisch bedingten Ursache für Morbus Parkinson - und VPS35 (Zimprich et al. 2011) haben zu einem radikalen Perspektivenwechsel geführt und das Verständnis der Pathogenese des Morbus Parkinson wesentlich erweitert. α -Synuclein-Mutationen sind zwar sehr selten, dieses Protein ist jedoch ein wichtiger Bestandteil der Lewy-Körper. Eher seltene Mutationen im Parkin-, Pink1- und DJ1-Gen unterstreichen jedoch

die Bedeutung der Mitochondrienfunktion und des Ubiquitin-Proteasom-Komplexes bei der Pathogenese des Morbus Parkinson. Als eigentlich pathogenetischer Mechanismus wird eine gestörte mitochondriale „Clearance“ angenommen. Bei der regulären Teilung von schadhafte Mitochondrien die beiden Parkinsongene Parkin und Pink1 eine wichtige Rolle spielen, indem sie zu einer Störung der zellulären Atmung beitragen (Deng et al. 2008). Ein interessanter Befund ist in diesem Zusammenhang auch, dass Parkinson-Patienten eine erhöhte Rate an mitochondrialen Mutationen in der Substantia Nigra aufweisen (Bender et al. 2006).

Die häufigste monogene Parkinsonform wird durch die Mutation im LRRK2-Gen verursacht. Mutationen in diesem Gen sind für etwa 10% der familiären und 1 bis 2% der sporadischen Parkinson-Fälle verantwortlich (Simon-Sanchez et al. 2009).

In einer weiteren Hypothese wird die Aggregation von α -Synuclein-Proteinen als entscheidender pathogenetischer Mechanismus diskutiert. α -Synuclein-Mutationen erklären dabei nur einen verschwindend kleinen Teil aller Parkinsonfälle, dennoch hat die Identifikation des α -Synuclein-Genes sehr viel zum Verständnis der Pathogenese beigetragen. Da α -Synuclein ein Hauptbestandteil der Lewykörperchen ist, nimmt man an, dass eine Aggregation von α -Synuclein am Anfang in einer Reihe von Prozessen steht, die zur Bildung von Lewykörpern führen. Desweiteren könnten Alpha-Synuclein-Prionenprotein ähnliche Eigenschaften besitzen (Angot et al. 2010). Diese Hypothese stützt sich im Wesentlichen auf histopathologische Befunde von Patienten, die 16 Jahre nach der Transplantation fetalen Mittelhirngewebes autopsiert wurden. Dabei fanden sich Lewykörper nicht nur wie erwartet im Netzgewebe, sondern eine ähnliche Pathologie auch in den transplantierten Zellen (Li et al. 2008).

Die Parkinson-Forschung sollte in Zukunft auf verbesserte Methoden zur Früherkennung der Krankheit abzielen, da die Ursachen von Parkinson bisher medikamentös noch nicht behandelt werden können. Neuroprotektive Substanzen zur Verhinderung der Aggregation von α -synuclein befinden sich gerade in Erprobung (Schenk et al. 2017). Aktuell wird der Fokus der Therapieforschung auch auf präventive Ansätze und somit präsymptomatischen Phasen der Erkrankung gelegt. So konnte kürzlich bei Risikopatienten mit der sogenannten REM-

Schlafverhaltensstörung der Biomarker Alpha-Synuklein in der Haut identifiziert und damit Parkinson nachgewiesen werden, Jahre bevor die Erkrankung sichtbar ausbrach. (Doppler et al. 2017). Weiterhin werden alternative, wenig invasive Therapieansätze wie Gamma-Knife oder hochintensiver fokussierter Ultraschall zur Behandlung des Morbus Parkinson erforscht (Martinez-Fernandez et al. 2018).

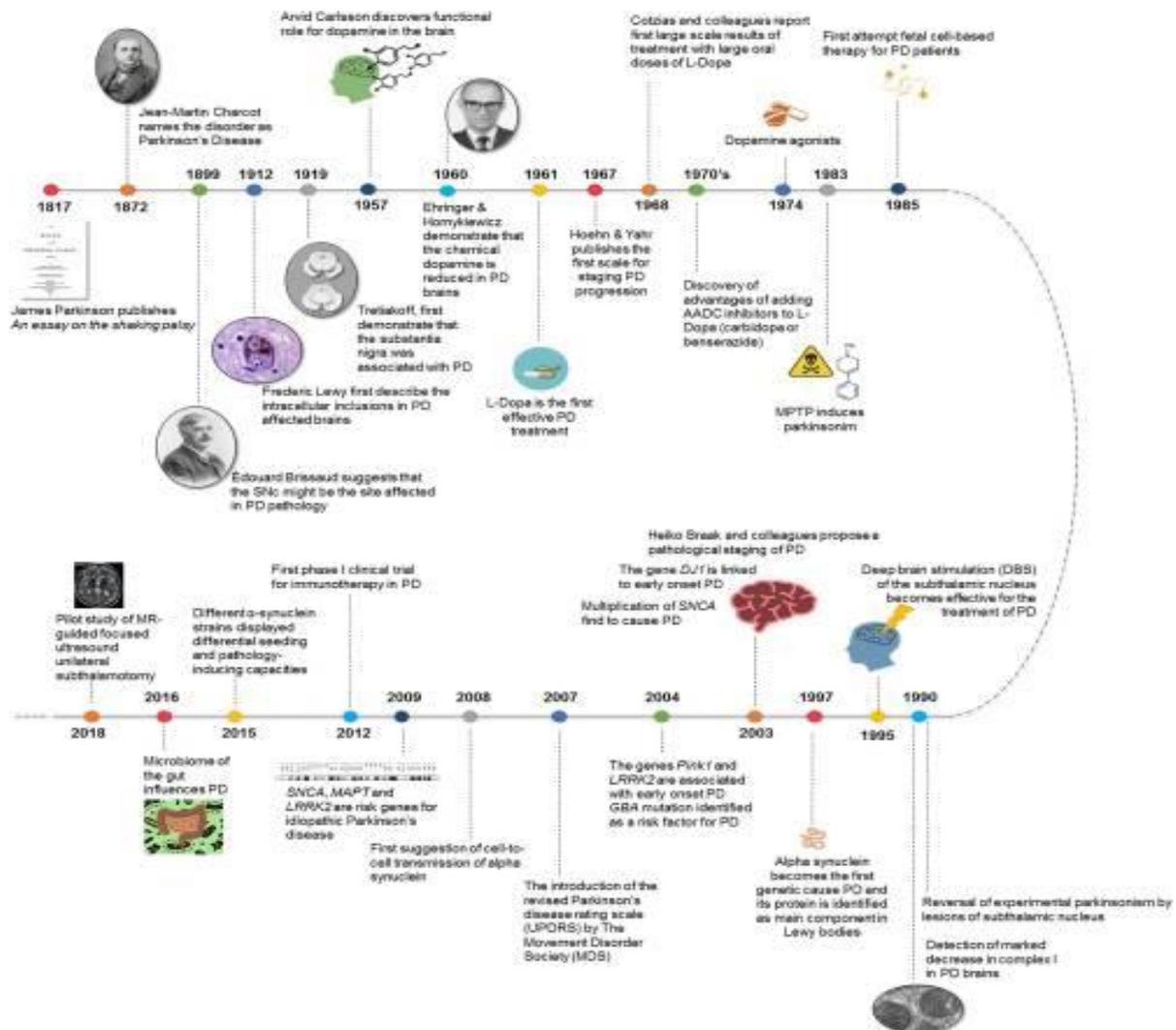


Abb. 19: 200 Jahre Morbus Parkinson (aus Del Rey et al. 2018)

5.3 Fazit

Die Aufklärung der pathogenen Mechanismen und die Entwicklung effektiver Therapiemöglichkeiten stellen die größten Herausforderungen in der Erforschung neurodegenerativer Erkrankungen dar. Die vorliegende Studie schafft einen Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus im Promoter des Gens von Interleukin-1 α und dem genetischen Risiko an Morbus Alzheimer zu erkranken, und deutet darauf hin, dass eine Fehlregulierung eines neuroinflammatorischen Signalweges mit direkter Beteiligung von Interleukin-1 α eine pathophysiologische Rolle bei der Alzheimer-Erkrankung spielt. Dafür spricht auch eine 2013 publizierte Arbeit, in der die Bedeutung des Inflammasoms NLRP3 bei der β -Amyloid-Deposition und somit neue Perspektiven hinsichtlich der pharmakologischen Therapieoptionen des Morbus Alzheimer herausgestellt werden konnten (Heneka et al. 2013). Bei der Signalkaskade spielen sowohl Caspase-1-vermittelte als auch Interleukin-1-vermittelte Prozesse eine Rolle. Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse ermöglichen neue Einblicke in die physiologische und pathophysiologische Funktion von Zytokinen wie Interleukin-1 und können den Weg für das Verständnis der Neuroinflammation bei neurodegenerativen Erkrankungen weiter ebnen. Allerdings zeigen sie unter besonderer Berücksichtigung der jüngsten Forschungsergebnisse auch die Grenzen der Bedeutung von genetischen Faktoren bei der Pathogenese von neurodegenerativen Erkrankungen auf. Andere Zytokine wie IL-12 und IL-23 scheinen bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer ebenso von großer Bedeutung zu sein (vom Berg et al. 2012).

Es ist zu erwarten, dass in den nächsten Jahren eine Reihe weiterer familiärer Parkinsongene identifiziert werden. Die Entdeckung weiterer Gene wird hier sicherlich einen wertvollen Beitrag leisten, das Rätsel der Erkrankung zu entschlüsseln.

Allerdings scheint es ebenso möglich, dass hinsichtlich der Pathogenese des Morbus Parkinson unverändert wichtige Teile des „Puzzles“ fehlen und die bisherigen Betrachtungen die bedeutenderen Trigger-Ereignisse viele Jahre zuvor noch nicht integrieren, so dass aktuell lediglich ein nachgeschalteter Prozess mit dem Endstadium des neuronalen Zelltodes untersucht werden kann. Die Entdeckung der pathogenen Wirkung der Kinasefunktion ist hingegen ein aktuell vielversprechender Ansatz in der Parkinsonforschung.

5.4 Zusammenfassung

Bei der Pathogenese der neurodegenerativen Erkrankungen Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson spielen neuroinflammatorische Prozesse eine wichtige Rolle. Interleukin-1 α und Interleukin-6 sind multifunktionelle Zytokine, die neben anderen pro-inflammatorischen Faktoren wie Komplement oder oxidativem Stress eine wichtige Rolle bei neurodegenerativen Erkrankungen spielen. Entsprechend wurden in den vorliegenden Allelassoziationsstudien untersucht, inwieweit die untersuchten Polymorphismen IL-1 α (-889) und IL-6 (-174) mit einem erhöhten Risiko an Morbus Alzheimer oder Morbus Parkinson zu erkranken assoziiert sind und ob es Unterschiede in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Vorhandensein des APOE- ϵ 4-Allels gibt. In den vorliegenden Untersuchungen konnte ein Zusammenhang zwischen dem IL-1 α (-889)-Polymorphismus und Morbus Alzheimer festgestellt werden, hierbei zeigte insbesondere das Allel 2 eine starke Assoziation (Odds ratio 7.2) mit Morbus Alzheimer. Hinsichtlich des IL-6 (-174)-Polymorphismus konnte kein signifikanter Zusammenhang mit Morbus Alzheimer in dem untersuchten Kollektiv nachgewiesen werden.

Darüber hinaus zeigten sich keine Hinweise auf eine positive Assoziation zwischen dem IL-1 α (-889)-Polymorphismus und dem Auftreten von Morbus Parkinson. Auch in einer Untersuchung einer Subgruppe von Parkinsonpatienten mit frühem Erkrankungsbeginn konnte für homozygote Träger des IL-1 α (-889) Allels 2 kein erhöhtes Risiko an Morbus Parkinson zu erkranken nachgewiesen werden. Den bekannten Zusammenhang des APOE- ϵ 4-Allels und dem Risiko für Morbus Alzheimer konnten wir durch die Ergebnisse unserer Untersuchungen bestätigen.

Insgesamt stehen die Ergebnisse im Einklang mit den Hinweisen der Studien der vergangenen Jahre, dass insbesondere bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer neuroinflammatorische Prozesse möglicherweise von großer Bedeutung sind. Die Untersuchungen liefern wertvolle Hinweise dafür, die multifaktorielle Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen besser zu verstehen und die Bedeutung von Zytokinen als Baustein bei inflammatorischen Kaskaden zu sehen. Die tatsächliche Relevanz bei der Pathogenese von neurodegenerativen Erkrankungen

wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson lässt sich nun durch weitere Untersuchungen klären.

5.4 Summary

Neuroinflammatory processes are known to be involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease. Next to other pro-inflammatory factors such as complements or oxidative stress, interleukine-1 α as well as interleukine-6 are multifactorial cytokines playing a major role in neurodegenerative disorders. Accordingly, in the present study it was investigated to what extent the investigated polymorphisms IL-1 α (-889) and IL-6 (-174) can be associated with a higher risk with either AD or PD on the basis of all existing allele-associated studies. In this context, it was also investigated whether any differences can be found in relation to age, sex, and the availability of the APOE- ϵ 4-allele.

In the current study, a relation was found between the polymorphism IL-1 α (-889) and AD. Particularly, the allele 2 was strongly associated (odds ratio 7.2) with AD. Regarding the polymorphism IL-6 (-174), no significant relation to AD could be verified in the investigated sample.

Moreover, results showed no indication of a positive association between the polymorphism IL-1 α (-889) and the occurrence of PD. In an additional investigation of a sub-sample of patients with an early onset of Parkinson's disease, an increased risk of coming down with PD for homzygous bearers of the IL-1 α (-889) allele 2 could not be verified. The well-known relation between the APOE- ϵ 4-allele and the risk of AD could be confirmed by the results of the current study.

Altogether, the results of this study are consistent with evidence of previous studies regarding neuroinflammatory processes possibly being of great importance in the pathogenesis of AD. The current research adds valuable evidence for better understanding of the multifactorial pathogenesis of neurodegenerative disorders. By means of the present research, the importance of cytokines as a component in inflammatory cascades can additionally be

illustrated. On the basis of this study, their actual relevance in the pathogenesis of neurodegenerative disorders such as AD and PD needs to be clarified in further research

Literaturverzeichnis

- Aarsland, D., Andersen, K., Larsen, J.P., Lolk, A., Nielsen, H., Kragh-Sørensen, P. (2001). Risk of dementia in Parkinson's disease: a community-based, prospective study. *Neurology*. 27;56(6):730-6
- Aarsland, D., Zaccai, J., Brayne, C. (2005). A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 20(10): 1255-63.
- Adolfsson, R., Bucht, G., Lithner, F., Winblad, B. (1980). Hypoglycemia in Alzheimer's disease. *Acta Med Scand* 208: 387-8.
- Aisen, P.S. (2002). Evaluation of selective COX-2 inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *J Pain Symptom Manage*. 23(4 Suppl): S35-40.
- Aisen, P.S. (2008). The potential of anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 1(5): 279-84.
- Aisen, P.S., Thal, L.J., Ferris, S.H., Assaid, C., Nessly, M.L., Giuliani, M.J., Lines, C.R., Norman, B.A., Potter, W.Z. (2008). Rofecoxib in patients with mild cognitive impairment: further analyses of data from a randomized, double-blind, trial. *Curr Alzheimer Res*. 5(1):73-82.
- Akbaş, H., Yalcin, K., Isi, H., Tekes, S., Atay, A.E., Akkus, Z., Budak, T. (2012). Role of p53 codon 72 polymorphism in chromosomal aberrations and mitotic index in patients with chronic hepatitis B. *Braz J Med Biol Res*. 45(11):1011-6.
- Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Brandt, B., Bauer, J. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 21(3): 383-421.
- Akiyama, H. (2006). Abeta, tau and alpha-synuclein and glial cells. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*. 26(1):23-31.
- Altschul, S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acid Res*. 25(17): 3389-402.
- Altstiel, L.D., Sperber, K. (1991). Cytokines in Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 15(4): 481-95.
- Andrade, L.A., Selikhova, M., Lees, A.J. (2009). Konstantin N. Tretiakoff in Brazil: a historical perspective and discussion of his contribution to brazilian neuroscience. *Arg Neuropsiquiatr*. 67(2A): 322-7.
- Angot E., Steiner, J.A., Hansen, C., Li, J.Y., Brundin, P. (2010). Are synucleinopathies prion-like disorders? *Lancet Neurol*. 9(11): 1128-38.
- Arend, W.P. (1991). Interleukin 1 receptor antagonist. A new member of the interleukin 1 family. *J Clin Invest*. 88(5): 1445-51.
- Arend, W.P., Malyak, M., Eisenberg, S.P., Joslin, F.G., Verderber, E.P. (1991). The biological role of naturally-occurring cytokine inhibitors. *Br J Rheumatol*. 30 Suppl 2: 49-52.
- Arosio, B., Bucciarelli, P., Galimberti, L., Trabattoni, G. (2004). Interleukin-10 and interleukin-6 gene polymorphisms as risk factors for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 25(8): 1009-15.
- Baba, M., Giasson, B., Leight, S., Nakajo, S, Tomita, T. (1998). Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Am J Pathol* 152(4): 879-84.
- Bagli, M., Jessen, F., Knapp, M., Papassotiropoulos, A. (2000). Gene-gene interaction between interleukin-6 and alpha2-macroglobulin influences the risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 47(1): 138-9.
- Bagli, M., Jessen, F., Knapp, M., Papassotiropoulos, A. (2000). Association between an interleukin-6 promoter and 3' flanking region haplotype and reduced Alzheimer's disease risk in a German population. *Neurosci Lett*. 283(2): 109-12.

- Barger, S.W., Basile, A.S. (2001). Activation of microglia by secreted amyloid precursor protein evokes release of glutamate by cystine exchange and attenuates synaptic function. *J Neurochem.* 76(3):846-54.
- Barger, S.W., DeWall, K.M., Liu, L., Mrak, R.E., Griffin, W.S. (2008). Relationships between expression of apolipoprotein E and beta-amyloid precursor protein are altered in proximity to Alzheimer beta-amyloid plaques: potential explanations from cell culture studies. *J Neuropathol Exp Neurol.* 67(8): 773-83.
- Barnum, C.J., Tansey, M.G. (2010). Modeling neuroinflammatory pathogenesis of Parkinson's disease. *Prog Brain Res.* 184: 113-32.
- Barr, C., Riolacci-Dhoyen, N., Galbraith, M., Leperre-Desplanques, A.; COVE GROUP (2012). Sharing knowledge to advance healthcare policies in Europe for people living with dementia and their carers: the ALCOVE project. *Arch Public Health.* 70(1):21.
- Becher, B., Prat, A., Antel, J.P. (2000). Brain-immune connection: immuno-regulatory properties of CNS-resident cells. *Glia.* 29(4):293-304.
- Beitz, J.M. (2014). Parkinson's disease: a review. *Front Biosci.* 6: 65-74.
- Bender, A., Krishnan K.J., Morris C.M., Taylor G.A., Reeve A.K., Perry R.H., Jaros E., Hersheson J.S., Betts J., Klopstock T., Taylor R.W., Turnbull D.M. (2006). High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat Genet.* 38(5): 515-7.
- Bentahir, M., Nyabi, O., Verhamme, J., Tolia, A., Horré, K., Wiltfang, J., Esselmann, H., De Strooper, B. (2006). Presenilin clinical mutations can affect gamma-secretase activity by different mechanisms. *J Neurochem.* 96(3): 732-42.
- Berlit, P. *Basiswissen Neurologie.* (2007). Springer. Heidelberg.
- Bertram, L., Tanzi, R.E. (2012). The genetics of Alzheimer's disease. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 107:79-100
- Bertram, L. (2016). Next Generation Sequencing in Alzheimer's Disease. *Methods Mol Biol.* 2016;1303: 281-97.
- Bickel, H., Cooper, B. (1994). Incidence and relative risk of dementia in an urban elderly population: findings of a prospective field study. *Psychol Med.* 24(1): 179-92.
- Billings, L.M., Green, K.N., McGaugh, J.L. (2005). Intraneuronal Aβ causes the onset of early Alzheimer's disease-related cognitive deficits in transgenic mice. *Neuron.* 45(5): 675-88.
- Blum-Degen, D., Muller, T., Kuhn, W., Gerlach, M., Przuntek, H., Riederer, P. (1995). Interleukin-1 beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's and de novo Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett.* 202(1-2): 17-20.
- Bonifati, V., Rizzu, P., Heutink, P., Hoozeveld, A. (2003a). DJ-1 (PARK7), a novel gene for autosomal recessive, early onset parkinsonism. *Neurol Sci.* 24(3): 159-60.
- Bonifati, V., Rizzu, P., Baren, M.J., Schaap, O., Breedveld, G.J., Krieger, E., Dekker, M.C., Squitieri, F., Ibanez, P., Joesse, M., Dongen, J.W., Vanacore, N., Swieten, J.C., Brice, A., Meco, G., Duijn, C.M., Oostra, B.A., Heutink, P. (2003b). Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science.* 299(5604): 256-9.
- Bortz, J. und Döring, N. *Forschungsmethoden und Evaluation für Human- und Sozialwissenschaftler* (4. Auflage). (2009) Springer. Heidelberg.
- Braak, H., Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 82(4): 239-59.
- Braak, H., Del Tredici, K., Rüb, U., de Vos, R. A. I., Jansen Steur, E. N. H., Braak E (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging.* 24: S. 197 – 210.
- Breteler, M.M., van Duijn, C.M., Chandra, V., Fratiglioni, L., Graves, A.B., Heyman, A., Jorm, A.F., Kokmen, E., Kondo, K., Mortimer, J.A. (1991). Medical history and the risk of Alzheimer's

- disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol.* 20 Suppl 2: 36-42
- Brodacki, B., Staszewski, J., Chalimoniuk, M., Drela, N., Kozłowska, E., Stepień, A., Toczyłowska B. (2008). Serum interleukin (IL-2, IL-10, IL-6, IL-4), TNF α , and INF γ concentrations are elevated in patients with atypical and idiopathic parkinsonism. *Neurosci Lett.* 441(2): 158-62.
- Brookmeyer, R., Johnson, E., Ziegler-Graham, K., Arrighi, H.M. (2007). Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 3(3):186-91.
- Caccamo, A., Oddo, S., Akbari, Y., La Ferla, F.M., Sugarman, S.G. (2005). Age- and region-dependent alterations in A β -degrading enzymes: implications for A β -induced disorders. *Neurobiol Aging.* 26(5): 645-54.
- Calero, M., Rostagno, A., Matsubara, E. (2000). Apolipoprotein J (clusterin) and Alzheimer's disease. *Microsc Res Tech.* 50(4): 305-15.
- Calne, D.B., Langston, J.W. (1983). Aetiology of Parkinson's disease. *Lancet.* 2 (836 5-66): 1457-9.
- Canter, R.G., Penney, J., Tsai, L.H. (2016). The road to restoring neural circuits for the treatment of Alzheimer's disease. *Nature.* 539(7628): 187-196.
- Capurso, C., Solfrizzi, V., D'Introno, A., Colacicco, A.M., Capurso, S.A., Capurso, A., Panza, F. (2004). Interleukin 6-174 G/C promoter gene polymorphism and sporadic Alzheimer's disease: geographic allele and genotype variations in Europe. *Exp Gerontol.* 39(10): 1567-73.
- Cascorbi, I., Drakoulis, N., Brockmüller, J., Maurer, A., Sperling, K., Roots, I. (1995). Arylamine N—acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals: correlation with phenotypic activity. *Am J Hum Genet.* 57(3): 581-92.
- Cattaneo, A., Capsoni, S., Paoletti, F. (2008). Towards non-invasive nerve-growth-factor therapies for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 25: 255-83.
- Chakrabarty, P., Jansen-West, K., Beccard, A., Ceballos-Diaz, C., Levites, Y., Verbeeck, C., Zubair, A.C. (2010). Massive gliosis induced by interleukin-6 suppresses A β deposition in vivo: evidence against inflammation as a driving force for amyloid deposition. *J Faseb.* 24(2): 548-59.
- Chartier-Harlin, M.C., Kachergus, J., Roumier, C., Mouroux, V., Douay, X., Lincoln, S., Levecque, C., Larvor, L., Andrieux, J., Hulihan, M., Waucquier, N., Defebvre, L., Amouyel, P., Farrer, M., Destée, A. (2004). Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet.* 364(9440): 1167-9
- Chen, H., O'Reilly, E.J., Schwarzschild, M.A., Ascherio, A. (2008). Peripheral inflammatory biomarkers and risk of Parkinson's disease. *Am J Epidemiol.* 167(1): 90-5.
- Chen H., Jacobs E., Schwarzschild M.A., McCullough M.L., Calle E.E., Thun M.J., Ascherio A. (2005). Nonsteroidal antiinflammatory drug use and the risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 58(6): 963-7.
- Chen, H., Shrestha, S., Huang, X., Jain, S., Guo, X., Tranah, G.J., Garcia, M.E., Satterfield, S., Phillips, C., Harris, T.B.; Health ABC Study (2017). Olfaction and incident Parkinson disease in US white and black older adults. *Neurology.* 89(14): 1441-47.
- Chiba-Falek, O., Nussbaum, R.L. (2003a). Regulation of alpha-synuclein expression: implications for Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 68: 409-15.
- Chiba-Falek, O., Touchman, J.W., Nussbaum, R.L. (2003b). Functional analysis of intra-allelic variation at NACP-Rep1 in the alpha-synuclein gene. *Hum Genet.* 113(5): 426-31.
- Chobor, K.L., Brown, J.W. (1990). Semantic deterioration in Alzheimer's: the patterns to expect. *Geriatrics.* 45: 68-70, 75.
- Chu, K., Zhou, X., Luo, B.Y. (2012). Cytokine gene polymorphisms and Parkinson's disease: a meta-analysis. *Can J Neurol Sci.* 39(1): 58-64.
- Combs, C.K., Bates, P., Karlo, J.C., Landreth, G.E. (2001). Regulation of beta-amyloid stimulated proinflammatory responses by peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Neurochem Int.* 39(5-6): 449-57.

- Corder, E.H., Saunders, A.M., Lancet, N.I. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 261(5123): 921-3.
- Cruchaga, C., Karch, C.M., Sheng Chih Jin, S.C. et al. (2014). Rare coding variants in *Phospholipase D3 (PLD3)* confer risk for Alzheimer's disease. *Nature*. 2014 Jan 23; 505(7484): 550-4.
- Cummings, J.L. (2000). Cognitive and behavioral heterogeneity in Alzheimer's disease: seeking the neurobiological basis. *Neurobiol Aging*. 21(6):845-61.
- Cummings, J., Lee, G., Ritter, A., Zhong, K. (2018). Alzheimer's disease drug development pipeline: 2018. *Alzheimers Dement (N Y)*. 3;4:195-214.
- Daniels, M.J., Rivers-Auty, J., Schilling, T. et al. (2016). Fenamate NSAIDs inhibit the NLRP3 inflammasome and protect against Alzheimer's disease in rodent models. *Nat Commun*. 11;7:12504.
- Das, P., Verbeeck, C., Chakrabarty, P., Minter, L. (2012). Transient pharmacologic lowering of Aβ production prior to deposition results in sustained reduction of amyloid plaque pathology. *Mol Neurodegener*. 7: 39.
- De Lau, L.M., Breteler M.M. (2006a). Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 5(6): 525-35.
- De Lau, L.M., Koudstaal, P.J., Hofman, A. (2006b). Serum cholesterol levels and the risk of Parkinson's disease. *Am J Epidemiol*. 164(10): 998-1002.
- Del Rey, N.L., Quiroga-Varela, A., Garbayo, E., Carballo-Carbajal, I., Fernández-Santiago, R., Monje, M.H.G., Trigo-Damas, I., Blanco-Prieto, M.J., Blesa, J. (2018). Advances in Parkinson's Disease: 200 Years Later. *Front Neuroanat*. 12: 113
- Deng H., Le W., Shahed J., Xie W., Jankovic J. (2008). Mutation analysis of the parkin and PINK1 genes in American Caucasian early-onset Parkinson disease families. *Neurosci Lett*. 430(1): 18-22.
- Depboylu, C., Lohmuller, F., Du, Y., Gocke, P., Zimmer, R. (2006). Alpha2-macroglobulin, lipoprotein receptor-related protein and lipoprotein receptor-associated protein and the genetic risk for developing Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 400(3): 187-90.
- Depboylu, C., Lohmuller, F., Du, Y., Gocke, P. (2004). An interleukin-6 promoter variant is not associated with an increased risk for Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 17(3): 170-3.
- Depino, A.M., Earl, C., Kaczmarczyk, E. (2003). Microglial activation with atypical proinflammatory cytokine expression in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*. 18(10): 2731-42.
- Di Fonzo, A., Dekker, M.C., Montagna, P., Baruzzi, A., Yonova, E.H., Correia Guedes, L., Szczerbinska, A., Zhao, T., Dubbel-Hulsman, L.O., Wouters, C.H., de Graaff, E., Oyen, W.J., Simons, E.J., Breedveld, G.J., Oostra, B.A., Horstink, M.W., Bonifati, V. (2009). *FBXO7* mutations cause autosomal recessive, early-onset parkinsonian-pyramidal syndrome. *Neurology*. 20;72(3):240-5.
- Dinarello, C.A. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 87(6): 2095-147.
- Dodel, R.C., Lohmuller, F., Du, Y., Eastwood, B., Gocke, P. (2001). A polymorphism in the intronic region of the *IL-1α* gene and the risk for Parkinson's disease. *Neurology*. 56(7): 982-3.
- Dodel, R.C., Du, Y., Depboylu, C., Hampel, H., Frölich, L., Haag, A., Hemmeter, U., Paulsen, S., Teipel, S.J., Brettschneider, S., Spottke, A., Nölker, C., Möller, H.J., Wie, X., Farlow, M., Sommer, N., Oertel, W.H. (2004). Intravenous immunoglobulins containing antibodies against beta-amyloid for the treatment of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 75(10): 1472-4.

- Dodel, R., Neff, F., Noelker, C., Pul, R., Du, Y., Bacher, M., Oertel, W. (2010). Intravenous immunoglobulins as a treatment for Alzheimer's disease: rationale and current evidence. *Drugs*. 70(5):513-28.
- Doody, R.S., Gavrilova, S.I., Sano, M., Thomas, R.G., Aisen, P.S., Bachurin, S.O., Seely, L., Hung, D.; dimeboninvestigators. (2008). Effect of dimebon on cognition, activities of daily living, behaviour, and global function in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet* 372(9634): 207-15.
- Doppler, K., Jeschke, H.M., Schulmeyer, L., Vadasz, D., Janzen, A., Luster, M., Höffken, H., Mayer, G., Brumberg, J., Booij, J., Musacchio, T., Klebe, S., Sittig-Wiegand, E., Volkmann, J., Sommer, C., Oertel, W.H. (2017). Dermal phospho-alpha-synuclein deposits confirm REM sleep behaviour disorder as prodromal Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 2017; 133: 535-45.
- Du, Y., Dodel, R.C., Eastwood, B.J. et al. (2000). Association of an interleukin 1 alpha polymorphism with Alzheimer's disease. *Neurology* 55(4): 480-3.
- Edvardson, S., Cinnamon, Y., Ta-Shma, A., Shaag, A., Yim, Y.I., Zenvirt, S., Jalas, C., Lesage, S., Brice, A., Taraboulos, A., Kaestner, K.H., Greene, L.E., Elpeleg, O. (2012). A deleterious mutation in DNAJC6 encoding the neuronal-specific clathrin-uncoating co-chaperone auxilin, is associated with juvenile parkinsonism. *PLoS One*. 7(5):e36458. doi: 10.1371/journal.pone.0036458. Epub 2012 May 1.
- Eikelenboom, P., Veerhuis, R. (1996). The role of complement and activated microglia in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 17: 673-680.
- Eriksdotter, J.M., Linderöth, B., Almqvist, P. (2010). Therapy of Alzheimer's disease with Nerve-Growth-Factor. *Neurobiol Aging*. 31(suppl 1): 59
- Esiri, M.M., Biddolph, S.C., Morris, C.S. (1998). Prevalence of Alzheimer plaques in AIDS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 65(1): 29-33.
- Fahn, S., Elton, R.L. (1987). Development Committee, Unified Parkinson's Disease Rating Scale UPDRS. 153-163
- Farrer, L.A., Cupples, L.A., Haines, J.L. (1997). Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*. 278(16): 1349-56.
- Farrer, M., Gwinn-Hardy, K., Hutton, M. (1999a). The genetics of disorders with synuclein pathology and parkinsonism. *Hum Mol Genet*. 8(10): 1901-5.
- Farrer, M., Gwinn-Hardy, K., Muentner, M. (1999b). A chromosome 4p haplotype segregating with Parkinson's disease and postural tremor. *Hum Mol Genet*. 8(1): 81-5.
- Feany, M.B. (2010). New Approaches to the Pathology and Genetics of Neurodegeneration. *Am J Pathol* 176 (5): 2058-66.
- Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L. (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet*. 366(9503): 2112-7.
- Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R. (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest*. 102(7): 1369-76.
- Folstein, M.F., Folstein, S.E., McHugh, P.R. (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 12(3): 189-98.
- Foltynie, T., Brayne, C., Barker, R.A. (2002). The heterogeneity of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol*. 249(2):138-45.
- Frank-Cannon, T.C., Alto, L.T., McAlpine, F.E., Tansey, M.G. (2009). Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases? *Mol Neurodegener*. 16;4: 47.

- Fratiglioni L, Launer LJ, Andersen K, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, Lobo A, Martinez-Lage J, Soininen H, Hofman A. (2000). Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology*. 54(11 Suppl 5):S10-5.
- Funayama, M., Hasegawa, K., Kowa, H., Obata, F., Saito, M., Tsuji, S. (2002). A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol*. 51(3): 296-301.
- Gasser, T. (1998). Genetics of Parkinson's disease. *Clin Genet*. 54(4): 259-65.
- Gao, X., Chen, H., Schwarzschild, M.A., Mc Culloch, M.L., Calle, E.E., Thun, M.S., Ascherio, A. (2011). Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. *Neurology*. 76(10): 863-9.
- Gasser, T., Muller-Myhsok, B., Bonifati, V., Bereznaï, B., Calne, D.B., Oehlmann, R., Wszolek, Z. K. (1998). A susceptibility locus for Parkinson's disease maps to chromosome 2p13. *Nat Genet*. 18(3): 262-5.
- Gelb, D., Oliver, E., Gilman, S.J. (1999). Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol*. 56(1): 33-9.
- Gerlach, M., Reichmann, H., Riederer, P. (2007): Die Parkinson-Krankheit 3. Auflage, Springer, Wien.
- Ghosh, S., Wu, M.D., La Ferla, F.M., Kyrkanides, S., Olschowka, J.A., Shaftel, S.S. (2013). Sustained interleukin-1beta overexpression exacerbates tau pathology despite reduced amyloid burden in an Alzheimer's mouse model. *J Neurosci*. 33(11): 5053-64.
- Gilman, S., Koller, M., Black, R.S., Jenkins, L., Griffith, S.G., Fox, N.C., Eisner, L., Kirby, L., Rovira, M.B., Forette, F., Orgogozo, J.M., AN1792(QS-21)-201 Study Team. (2005). Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology*. 64(9): 1553-62.
- Giulian, D. (1999). Microglia and the immune pathology of Alzheimer disease. *Am J Hum Genet*. 1999 Jul;65(1): 13-8.
- Giunta, B., Fernandez, F., Nikolic, W.V., Obregon, D., Rrapo, E., Town, T., Tan, J. (2008). Inflammaging as a prodrome to Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*. 5:51.
- Gitter, B.D., Cox, L.M., May, P.M., Rydel, R.E. (1995). Amyloid beta peptide potentiates cytokine secretion by interleukin-1 beta-activated human astrocytoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 92(23): 10738-41.
- Gold, M., Alderton, C., Zvartau-Hind, M., Egginton, S., Saunders, A.M., Irizarry, M., Craft, S., Landreth, G., Linnamägi, U., Sawchak, S. (2010). Rosiglitazone monotherapy in mild-to-moderate Alzheimer's disease: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 30(2): 131-46.
- Goldman, S.M. (2014). Environmental toxins and Parkinson's disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 54(): 141-64.
- Gomez-Isla, T., West, H.L., Rebeck, G.W., Harr, S.D., Growdon, J.H., Locascio, J.J., Perls, T.T., Lipsitz, L.A., Hyman, B.T. (1996). Clinical and pathological correlates of apolipoprotein E epsilon 4 in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 39(1):62-70.
- Goris, A., Williams-Gray, C.H., Ban, M., Brown, J., Clark, G. R., Foltynie, T., Lewis, S.J., Spillantini, M.G. (2007). Tau and alpha-synuclein in susceptibility to, and dementia in, Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 62(2): 145-53.
- Green, R.C., Schneider, L.S., Amato, D.A., Beelen, A.P., Wilcock, G., Swabb, E.A., Zavitz, K.H.; Tarenflurbil Phase 3 Study Group. (2009). Effect of tarenflurbil on cognitive decline and activities of daily living in patients with mild Alzheimer disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 302(23): 2557-64.
- Griffin, W.S. (2006a). Inflammation and neurodegenerative diseases. *Am J Clin Nutr*. 83(2): 470S-474S.
- Griffin, W.S., Liu, L., Li, Y., Mrak, R., Barger, S.W., (2006b). Interleukin-1 mediates Alzheimer and Lewy body pathologies. *J Neuroinflammation*. 16; 3: 5.

- Griffin, W.S., Sheng, J.G., Mrak, R.E., Roberts, G.W. (1994). Microglial interleukin-1 alpha expression in human head injury: correlations with neuronal and neuritic beta-amyloid precursor protein expression. *Neurosci Lett.* 176(2): 133-6.
- Grimaldi, L.M., Casadei, V.M., Ferri, C. (2000). Association of early-onset Alzheimer's disease with an interleukin-1alpha gene polymorphism. *Ann Neurol.* 47(3): 361-5.
- Gruol, D.L., Nelson T.E. (1997). Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system. *Mol Neurobiol.* 15(3): 307-39.
- Guerreiro, R., Wojtas, A., Bras, J., Carrasquillo, M., Rogaeva, E., Majounie, E., Cruchaga, C., Sassi, C., Kauwe, J.S., Younkin, S., et al. (2013). TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 368: 117–27.
- Hakansson, A., Westberg, L., Buervenich, S., Carmine, A., Holmberg, B., Nilsson, S., Södow, O. (2005a). Interaction of polymorphisms in the genes encoding interleukin-6 and estrogen receptor beta on the susceptibility to Parkinson's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 133B(1): 88-92.
- Hakansson, A., Westberg, L., Nilsson, S. (2005b). Investigation of genes coding for inflammatory components in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 20(5): 569-73.
- Haltenhof, H., Schroter C. (1994). Depression in Parkinson disease. A literature review. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 62(3): 94-101.
- Hanisch, U.K. (2002). Microglia as a source and target of cytokines. *Glia.* 40(2):140-55. Review.
- Hamza, T.H., Zabetian, C.P., Laederach, A., Montimurro, J, Tenesa, A. (2010). Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat Genet.* 42(9): 781-5.
- Hardy, J., Duff, K., Hardy, K.G., Perez-Tur, J., Hutton, M. (1998). Genetic dissection of Alzheimer's disease and related dementias: amyloid and its relationship to tau. *Nat Neurosci.* 1(5): 355-8.
- Hardy, J. (2009). The amyloid hypothesis for Alzheimer's disease: a critical reappraisal. *J Neurochem.* 110(4): 1129-34.
- Harel, O., Zhou, X.H. (2007). Multiple imputation for the comparison of two screening tests in two-phase Alzheimer studies. *Stat Med.* 26(11): 2370-88.
- Harold, D., Abraham, R., Harold, R., Hollingworth, P. (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 41(10): 1088-93.
- Hasegawa, Y., Inagaki, T., Sawada, M., Suzumura, A. (2000). Impaired cytokine production by peripheral blood mononuclear cells and monocytes/macrophages in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 101(3):159-64.
- He, Z., Guo, J.L., McBride, J.D., Narasimhan, S., Kim, H., Changolkar, L., Zhang, B., Gathagan, R.J., Yue, C., Dengler, C., Stieber, A., Nitla, M., Coulter, D.A., Abel, T., Brunden, K.R., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M-Y. (2018). Amyloid-β plaques enhance Alzheimer's brain tau-seeded pathologies by facilitating neuritic plaque tau aggregation. *Nat Med.* 24(1): 29–38.
- Heneka, M.T., Kummer, M.P., Stutz, A., Delekate, A., Schwartz, S., Vieira-Saecker, A., Griep, A., Axt, D., Remus, A., Tzeng, T.C., Gelpi, E., Halle, A., Korte, M., Latz, E., Golenbock, D.T. (2013). NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature.* 493(7434): 674-8.
- Heneka, M.T., Carson, M.J., El Khoury, J. et al. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *Lancet Neurol.* 14(4): 388–405
- Hernan, M.A., Takkouche, B., Caamano- Isorna, F., Gestal-Otero, J.J. (2002). A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 52(3): 276-84.
- Hicks, A.A., Petursson, H., Frigge, M.L., Johannsdottir, H.S., Jonsson, T., Sainz, J., Stefansson, H. (2002). Susceptibility gene for late-onset idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 52(5): 549-55.

- Hirsch, E.C., Hunot, S. (2009). Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *Lancet Neurol.* 8(4): 382-97.
- Hixson, J., Vernier, D. T. (1990). Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res.* 31(3): 545-8.
- Hock, C., Maddalena, A., Raschig, A., Müller-Spahn, F., Eschweiler, G., Hager, K., Heuser, I., Hampel, H., Müller-Thomsen, T., Oertel, W., Wienrich, M., Signorell, A., Gonzalez-Agosti, C., Nitsch, R.M. (2003). Treatment with the selective muscarinic m1 agonist talsaclidine decreases cerebrospinal fluid levels of A beta 42 in patients with Alzheimer's disease. *Amyloid.* 10(1): 1-6.
- Hollingworth, P., Harold, D., Jones, L., Owen, M. J., Williams, J. (2011a). Alzheimer's disease genetics: current knowledge and future challenges. *Int J Geriatr Psychiatry.* 26(8): 793-802.
- Hollingworth, P., Sweet, R., Harold, D., Sims, R. (2011b). Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 43(5): 429-35.
- Hollingworth, P., Sweet, R., Harold, D., Sims, R. (2012). wide association study of Alzheimer's disease with psychotic symptoms. *Mol Psychiatry.* 17(12): 1316-27.
- Holmes, C., Boche, D., Wilkinson, D., Yadegarfar, G., Hopkins, V., Bayer, A., Jones, R.W., Bullock, R., Love, S., Neal, J.W., Zotova, E., Nicoll, J.A. (2008). Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet* 372(9634): 216-23.
- Hoozemans, J.J., Rozemuller, J.M., van Haastert, E.S., Veerhuis, R., Eikelenboom, P. (2008). Cyclooxygenase-1 and -2 in the different stages of Alzheimer's disease pathology. *Curr Pharm Des.* 14(14):1419-27.
- Hopkins, S.J., Rothwell, N.J. (1995). Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci.* 18(2): 83-8. Review.
- Hornykiewicz, O., Kish, S. J. (1987). Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol.* 45: 19-34.
- Horaitis, O., Talbot, C.C. Jr, Phommavong, M., Phillips, K.M., Cotton, R.G. (2007). A database of locus-specific databases. *Nat Genet.* 2007 Apr;39(4):425.
- Houlden, H., Singleton A.B. (2012). The genetics and neuropathology of Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 124(3): 325-38.
- Hua, Y., Zhao, H., Kong, Y., Lu, X. (2012). Meta-analysis of the association between the interleukin-1A -889C/T polymorphism and Alzheimer's disease. *J Neurosci Res.* 90(9): 1681-92.
- Hughes, A.J., Daniel, S.E., Kilford, L., Lees, A.J. (1992). Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 55(3): 181-4.
- Hull, M., Berger, M., Bauer, J., Volk, B. (1996a). Occurrence of interleukin-6 in cortical plaques of Alzheimer's disease patients may precede transformation of diffuse into neuritic plaques. *Ann N Y Acad Sci.* 777: 205-12.
- Hull, M., Fiebich, B.L., Bauer, J., Berger, S.S., Lieb, K., Strauss, S., Volk, B. (1996b). Interleukin-6-associated inflammatory processes in Alzheimer's disease: new therapeutic options. *Neurobiol Aging.* 17(5): 795-800.
- Hull, M., Strauss, S., Bauer, J., Berger, M., Volk, B. (1996c). The participation of interleukin-6, a stress-inducible cytokine, in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res.* 78(1): 37-41.
- Hung, S.Y., Fu, W.M. (2017). Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease. *J Biomed Sci.* 2017; 24: 47.
- Hurtig, H.I., Trojanowski, J.Q., Galvin, J., Ewbank, D., Schmidt, M.L., Lee, V.M. (2000). Alpha-synuclein cortical Lewy bodies correlate with dementia in Parkinson's disease. *Neurology.* 54(10): 1916-21.

- Ibrahim, O.M., Azza, A., Gabre, S.F., Sallam, R., El-Alameey, R.N., Sabry, E.M., Galal, S.M., Tawfik, W. A., Zarouk, R.M., Mosaad, R. (2017). Influence of *Interleukin-6 (174G/C)* Gene Polymorphism on Obesity in Egyptian Children. *Open Access Maced J Med Sci.* 15; 5(7): 831–35.
- in 't Veld, B.A., Ruitenbergh, A., Hofman, A., Launer, L.J., van Duijn, C.M., Stijnen, T., Breteler, M.M., Stricker, B.H. (2001). Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of Alzheimer's disease. *N Eng J Med.* 345(21): 1515-21.
- in 't Veld, B.A., Launer, L.J., Breteler, M.M., Hofman, A., Stricker, B.H. (2002). Pharmacologic agents associated with a preventive effect on Alzheimer's disease: a review of the epidemiologic evidence. *Epidemiol Rev.* 24(2): 248-68.
- Ishihara, K., Hirano, T. (2002). IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 13(4-5): 357-68.
- Jack, C.R. Jr., Knopman, D.S., Jagust, W.J., Shaw, L.M., Aisen, P.S., Weiner, M.W., Petersen, R.C., Trojanowski, J.Q. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol.* 9(1): 119-28.
- Jack, C.R. Jr., Knopman, D.S., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Weiner, M.W., Aisen, P.S., Shaw, L.M., Vemuri, P., Wiste, H.J., Weigand, S.D., Lesnick, T.G., Pankratz, V.S., Donohue, M.C., Trojanowski, J.Q. (2013). Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol.* 12(2):207-16.
- Janelins, M.C., Mastrangelo, M.A., Oddo, S., La Ferla, F.M., Federoff, H.J., Bowers, W.J. (2005). Early correlation of microglial activation with enhanced tumor necrosis factor-alpha and monocyte chemoattractant protein-1 expression specifically within the entorhinal cortex of triple transgenic Alzheimer's disease mice. *J Neuroinflammation.* 2: 23.
- Jellinger, K. (1987). Lisuride in the combination treatment of Parkinson disease. *Wien Med Wochenschr.* 137(7-8): 155-9.
- Jellinger, K. (1989). Trauma as an etiologic agent in Parkinson disease. *J Neural Transm.* 107(1): 1-29.
- Jellinger, K.A. (2000). Cell death mechanisms in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 107(1): 1-29.
- Jellinger, K.A., Stadelmann, C. (2000). Mechanisms of cell death in neurodegenerative disorders. *J Neural Transm Suppl.* 59: 95-114.
- Jellinger, K.A. (2010). Intrathecal levels of IL-6 in Alzheimer's disease. *J Neurol.* 257(1): 142.
- Jenkinson, M.L., Bliss, M.R., Brain, A.T., Scott, D.L. (1989). Rheumatoid arthritis and senile dementia of the Alzheimer's type. *Br J Rheumatol.* 28(1): 86-8.
- Jiang, T., Tan, L., Chen, Q., Tan, M.S., Zhou, J.S., Zhu, X.C., Lu, H., Wang, H.F., Zhang, Y.D., Yu, J.T. A rare coding variant in TREM2 increases risk for Alzheimer's disease in Han Chinese. *Neurobiol Aging.* 2016 Jun;42:217.e1-3.
- Jones, S.A. (2005). Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol.* 175(6):3463-8. Review.
- Kalinderi, K., Bostantjopoulou, S., Fidani, L. (2016). The genetic background of Parkinson's disease: current progress and future prospects. *Acta Neurol Scand.* 134(5): 314-26.
- Kalman, J., Juhasz, A., Boncz, I., Dickens, P., Jardanhazy, T., Laird, G., Rimanoczy, A. (1997). Serum interleukin-6 levels correlate with the severity of dementia in Down syndrome and in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand.* 96(4): 236-40.
- Kammesheidt, A., Boyce, F.M., Cotman, C., Cummings, B., Neve, R.L., Ortegón, M., Spanoyannis, A.F., Vaught, J.L. (1992). Deposition of beta/A4 immunoreactivity and neuronal pathology in transgenic mice expressing the carboxyl-terminal fragment of the Alzheimer amyloid precursor in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 89(22): 10857-61.
- Katsumoto, A., Takeuchi, H., Takahashi, K., Tanaka, F. (2018). Microglia in Alzheimer's Disease: Risk Factors and Inflammation. *Front Neurol.* 9: 978.

- Ketan, C., Xiao, Z., Ben-yan, L. (2012). Cytokine Gene Polymorphisms and Parkinson's Disease: A Meta-Analysis. *Canadian Journal of neurological sciences*. Volume 39, Issue 1, pp. 58-64
- Kiani, Z., Tavakkol-Afshari, J., Hojjat, H., Arab, H.R., Radvar, M., Sadeghizadeh, M., Ebadian, A.R. (2009). Polymorphism of IL-1alpha(-889) Gene and Its Association with Aggressive Periodontitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 8(2):95-8. doi: 08.02/ijaai.9598.
- Kim H.S., Suh Y.H. (2009). Minocycline and neurodegenerative diseases. *Behav Brain Res*. 196(2): 168-79. Review.
- Kitada, T., Asakawa, S., Hattori, N., Matsumine, H., Minushima, S., Yamamura, Y., Yokochi, M. (1998). Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*. 392(6676): 605-8.
- Kitazawa, M., Oddo, S., Green, K.N., La Ferla, F.M., Yamasaki, T.R. (2005). Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 25(39): 8843-53.
- Kitazawa, M., Cheng, D., Tsukamoto, M.R., et al. (2011). Blocking IL-1 signaling rescues cognition, attenuates tau pathology, and restores neuronal β -catenin pathway function in an Alzheimer's disease model. *J Immunol*. 187: 6539-49.
- Klingelhoefer, L., Samuel, M., Chaudhuri, K.R., Ashkan, K. (2014). An update of the impact of deep brain stimulation on non motor symptoms in Parkinson's disease. *J Parkinson Dis*. 4(2): 289-300.
- Koepsell, T. D., Kurland, B.F., Harel, O., Johnson, E.A., Zhou, X.H., Kukull, W.A. (2008). Education, cognitive function, and severity of neuropathology in Alzheimer disease. *Neurology*. 70(19 Pt 2): 1732-9.
- Kornman, K.S., Crane, A., Di Giovine, F.S., Newman, M.G., Pirk, F.W., Wang, H.Y. (1997). The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 24(1): 72-7.
- Korovaitseva, G.I., Bukina, A., Farrer, L.A., Rogae, E.I. (1997). Presenilin polymorphisms in Alzheimer's disease. *Lancet*. 350(9082): 959.
- Kuo, Y.M., Liao, P.C., Lin, C., Wu, C.W., Huang, H.M., Lin, C.C., Chuo, L.J. (2003). Lack of association between interleukin-1alpha polymorphism and Alzheimer disease or vascular dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 17(2): 94-7.
- Kumar et al. (2003). *Basic Pathology 7th Edition*. Elsevier. Amsterdam.
- LaFerla, F.M., Oddo, S. (2005). Alzheimer's disease: Abeta, tau and synaptic dysfunction. *Trends Mol Med*. 11(4): 170-6.
- Lang, Y., Chu, F., Shen, D., Zhang, W., Zheng, C., Zhu, J., Cui, L. (2018). Role of Inflammasomes in Neuroimmune and Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review. *Mediators of Inflammation* Volume 2018, Article ID 1549549, 11
- Langston, J.W. (1998). Epidemiology versus genetics in Parkinson's disease: progress in resolving an age-old debate. *Ann Neurol*. 44(3 Suppl 1): 45-52.
- Langston, J.W. (2017). The MPTP Story. *J Parkinsons Dis*. 7(Suppl 1): 11-9.
- Larson, E.B., Shadlen, M.F., Wang, L., McCormick, W.C., Bowen, J.D., Teri, L., Kukull, W.A. (2004) Survival after initial diagnosis of Alzheimer disease. *Ann Intern Med*. 140(7): 501-9.
- Lautenschlager, N.T., Cupples, L.A., Rao, V.S., Auerbach, S.A., Becker, R., Burke, J., Chui, H., Duara, R., Foley, E.J., Glatt, S.L., Green, R.C., Jones, R., Karlinsky, H., Kukull, W.A., Kurz, A., Larson, E.B., Martelli, K., Sadovnick, A.D., Volicer, L., Waring, S.C., Growdon, J.H., Farrer, L.A. (1996). Risk of dementia among relatives of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE study: What is in store for the oldest old? *Neurology*. 46(3): 641-50.
- Lautier, C., Goldwurm, S., Dürr, A., Giovannone, B., Tsiaras, W.G., Pezzoli, G., Brice, A., Smith, R.J. (2008). Mutations in the GIGYF2 (TNRC15) gene at the PARK11 locus in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet*. 82(4):822-33.

- Le Couteur, D.G., McLean, A.J., Board, P.G., Taylor, M.C., Woodham, B.L. (1999). Pesticides and Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother.* 53(3): 122-30.
- Le, W.D., Xu, P., Appel, S.H., Jankovic, J., Jiang, H., Smith, R.G., Vassilatis, D.K. (2003). Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet.* 33(1): 85-9.
- Lee, J.K., Tran, T., Tansey, M.G. (2009). Neuroinflammation in Parkinson's disease. *J Neuroimmune Pharmacol.* 4(4): 419-22.
- Leibson, C.L., Rocca, W.A., Hanson, V.A., Cha, R., Kokmen, E., O'Brien, P.C., Palumbo, P.J. (1997). Risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population-based cohort study. *Am J Epidemiol.* 145(4): 301-8.
- Leroy, E., Boyer, R., Auburger, G. (1998). The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature.* 395(6701): 451-2.
- Licastro, F., Porcellini, E., Caruso, C., Lio, D., Corder, E.H. (2007). Genetic risk profiles for Alzheimer's disease: integration of APOE genotype and variants that up-regulate inflammation. *Neurobiol Aging.* 28(11): 1637-43.
- Li, X., Li, W., Liu, G., Shen, X., Tang, Y. (2015) Association between cigarette smoking and Parkinson's disease: A meta-analysis. *Arch Gerontol Geriatr.* 61: 510-6.
- Li, J.Y., Englund, E., Holton, J.L., Soulet, D., Hagell, P., Lees, A.J., Lashley, T., Quinn, N.P., Rehncrona, S., Björklund, A., Widner, H., Revesz, T., Lindvall, O., Brundin, P. (2008). Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nat Med.* 14 (5): 501-3.
- Li, Y., Barger, S.W., Griffin, W.S., Liu, L., Mrak, R.E. (2000). S100beta induction of the proinflammatory cytokine interleukin-6 in neurons. *J Neurochem.* 74(1): 143-50.
- Li, Y., Liu, L., Barger, S.W., Griffin, W.S. (2003). Interleukin-1 mediates pathological effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway. *J Neurosci.* 23(5): 1605-11.
- Li, Y., Liu, L., Barger, S.W., Griffin, W.S., Mrak, R.E., Kang, J., Sheng, J.G. (2000). Neuronal-glia interactions mediated by interleukin-1 enhance neuronal acetylcholinesterase activity and mRNA expression. *J Neurosci.* 20(1): 149-55.
- Li, Y. M., Lai, M.T., Xu, M., Huang, Q., DiMuzio-Mower, J., Sardana, M.K., Shi, X.P., Yin, K.C., Shafer, J.A., Gardell, S.J. (2000). Presenilin 1 is linked with gamma-secretase activity in the detergent solubilized state. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97(11): 6138-43.
- Li, Y.M., Xu, M., Castro, J.L., Huang, Q., Lai, M.T. (2000). Photoactivated gamma-secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. *Nature.* 405(6787): 689-94.
- Licastro, F.S., Pedrini, S., Annoni, G., Bonafe, M., Casadei, V., Ferri, C., Govoni, M., Pession, A., Sciacca, F.L., Veglia, F. (2000). Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and alpha-1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer's disease: peripheral inflammation or signals from the brain? *J Neuroimmunol.* 103(1): 97-102.
- Lill, C.M. (2016): Genetics of Parkinson's disease. *Mol Cell Probes* 30(6): 386-96.
- Lindqvist, D., Kaufman, E., Brundin, L., Hall, S., Hansson, O., Surova, Y. (2012). Non-motor symptoms in patients with Parkinson's disease - correlations with inflammatory cytokines in serum. *PLoS One.* 7(10): e47387.
- Liu, L., Li, Y., Barger, S.W., Van Eldik, L.J., Griffin, W.S. (2005). S100B-induced microglial and neuronal IL-1 expression is mediated by cell type-specific transcription factors. *J Neurochem.* 92(3): 546-53.
- Lobo, A., Launer, L.J., Fratiglioni, L., Andersen, K., Di Carlo, A., Breteler, M.M., Copeland, J.R., Dartigues, J.F., Jagger, C., Martinez-Lage, J., Soininen, H., Hofman, A. (2000). Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. Neurology.* 54(11 Suppl 5): 4-9.

- Löffert, D., Karger, S., Berkenkopf, M., Seip, N., Kang, J. (1997). PCR-optimization-primer design. *Qiagen news* Vol. 5(1).
- Loryan, I., Lindqvist, M., Hiratsuka, M., Van der Heiden, I., Ingelman-Sundberg, M., Jacobsson, J., Johansson, I., Van Schaik, R.H. (2012). Influence of sex on propofol metabolism, a pilot study: implications for propofol anesthesia. *Eur J Clin Pharmacol.* 68(4): 397-406.
- Love, S., Saitoh, T., Quijada, S., Cole, G.M., Terry, R.D.. (1988). Alz-50, ubiquitin and tau immunoreactivity of neurofibrillary tangles, Pick bodies and Lewy bodies. *J Neuropathol Exp Neurol.* 47(4):393-405.
- Luterman, J.D., Haroutunian; V., Yemul, S. (2000).Cytokine gene expression as a function of the clinical progression of Alzheimer disease dementia. *Arch Neurol.* 57(8): 1153-60.
- Lynch, T., Farrer, M., Hardy, J., Hutton, M., Lynch, T. (1997). Genetics of Parkinson's disease. *Science.* 278(5341): 1212-3.
- Maik, M.A., Worlitzer, M.M.A., Bunk, E.C., Hemmer, K., Schwamborn, J.C., (2012). Anti-inflammatory treatment induced regenerative oligodendrogenesis in parkinsonian mice. *Stem Cell Research & Therapy*3: 33
- März, P., Cheng, J.G., Gadiant, R.A., Patterson, P.H., Stoyan, T., Otten, U., Rose-John, S. (1998). Sympathetic neurons can produce and respond to interleukin 6. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95(6): 3251-6.
- Mangialasche, F., Solomon, A., Winblad, B., Mecocci, P., Kivipelto, M, (2010). Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol.* 9(7): 702-16.
- Marras, C., Lang, A., van de Warrenburg,B.P., Sue, C.M., Tabrizi, S.J., Bertram, L., Mercimek-Mahmutoglu, S., Ebrahimi-Fakhari, D., Warner, T.T., Durr, A., Assmann, B., Lohmann, K., Kostic, V., Klein, C. (2016). Nomenclature of genetic movement disorders: recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov Disord*31: 436–457
- Marti, M.J., Tolosa, E., Campdelacreu, J. (2003). Clinical overview of the synucleinopathies. *Mov Disord.* 18 Suppl 6: 21-7.
- Martinez, J., Moeller, I., Erdjument-Bromage, H., Luring, B., Tempst, P. (2003). Parkinson's disease-associated alpha-synuclein is a calmodulin substrate. *J Biol Chem.* 278(19): 17379-87.
- Martinez, M., Fernandez-Vivancos, E., De la Fuente, M., Frank, A.; Hernanz, A. (2000). Increased cerebrospinal fluid fas (Apo-1) levels in Alzheimer's disease. Relationship with IL-6 concentrations. *Brain Res.* 869(1-2): 216-9.
- Marx, J. (1998). New gene tied to common form of Alzheimer's. *Science.* 281(5376): 507, 509.
- Masters, C.L., Simms, G., Weinman, N.A., Multhaup, G., McDonald, B.L., Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82(12): 4245-9.
- Mata, I.F., Yearout, D., Alvarez, V., Coto, E., de Mena, L., Ribacoba, R., Lorenzo-Betancor, O., Samaranch, L., Pastor, P., Cervantes, S., Infante, J., Garcia-Gorostiaga, I., Sierra, M., Combarros, O., Snapinn, K.W., Edwards, K.L., Zabetian, C.P.. (2011). Replication of MAPT and SNCA, but not PARK16-18, as susceptibility genes for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 26(5): 819-23.
- Mattila, K.M., Rinne, J.O., Ahonen, J.P., Hurme, M., Lehtimäki, T., Røyttä, M. (2002). Association of an interleukin 1B gene polymorphism (-511) with Parkinson's disease in Finnish patients. *J Med Genet.* 39(6): 400-2.
- Mayeux, R., Stern, Y. (2012). Epidemiology of Alzheimer disease. (2012). *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a006239
- McDonald, W.M., Richard, I.H., De Long, M.R. (2003). Prevalence, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease. *Biol Psychiatry.* 54(3): 363-75.
- McGeer, P.L., McGeer, E., Rogers, J., Sibley, J. (1990). Anti-inflammatory drugs and Alzheimer disease. *Lancet.* 335(8696): 1037.

- McGeer, P.L., McGeer, E.G. (2002a). Innate immunity, local inflammation, and degenerative disease. *Sci Aging Knowledge Environ.* (29): re3.
- McGeer, P.L., McGeer E.G. (2002b). Local neuroinflammation and the progression of Alzheimer's disease. *J Neurovirol.* 8(6): 529-38.
- McGeer, P.L., McGeer E.G. (2002). The possible role of complement activation in Alzheimer disease. *Trends Mol Med.* 8(11): 519-23.
- McGeer, P.L., Yasojima, K., McGeer, E.G. (2002). Association of interleukin-1 beta polymorphisms with idiopathic Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 326(1): 67-9.
- McGeer, P.L., McGeer, E.G. (2008). Glial reactions in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 23(4): 474-83.
- McKhann, G.M., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, M., Price, D., Stadlan, E.M. (1984). 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.* 34(7): 939-44.
- Meissner, W.G. (2012). When does Parkinson's disease begin? From prodromal disease to motor signs. *Rev Neurol (Paris).* 168(11): 809-14.
- Meyer, M.R., Tschanz, J.T., Norton, M.C., Welsh-Bohmer, K.A., Steffens, D.C., Wyse, B.W., Breitner, J.C. (1998). APOE genotype predicts when--not whether--one is predisposed to develop Alzheimer disease. *Nat Genet.* 19(4): 321-2.
- Mitter, S.S., Oriá, R.B., Kvalsund, M.P., Pamplona, P., Joventino, E.S., Mota, R.M., Gonçalves, D.C., Patrick, P.D., Guerrant, R.L., Lima, A.A. (2012): Apolipoprotein E4 influences growth and cognitive responses to micronutrient supplementation in shantytown children from northeast Brazil. *Clinics (Sao Paulo).* 67(1): 11-8.
- Moller, J.C., Depboylu, C., Bandmann, O., Du, Y., Gocke, P., Kölsch, H., Lohmüller, F., Paus, S. (2004). Lack of association between the interleukin-1 alpha (-889) polymorphism and early-onset Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 359(3): 195-7.
- Moore, B.D., Chakrabarty, P., Baine, A.M., Das, P., Dickson, D.W., Golde, T.E., Kukar, T.L., Ladd, T.B., Levites, Y., Moroni, T. (2012). Overlapping profiles of Abeta peptides in the Alzheimer's disease and pathological aging brains. *Alzheimers Res Ther.* 4(3): 18.
- Morris, J.C., Heyman, A., Mohs, R.C., Hughes, J.P., van Belle, G., Fillenbaum, G., Mellits, E.D., Clark, C. (1989). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology.* 39(9): 1159-65.
- Morrone, G., Ciliberto, O., Arcone, R., Content, J., Dente, L., Oliviero, S. (1988). Recombinant interleukin 6 regulates the transcriptional activation of a set of human acute phase genes. *J Biol Chem.* 263(25): 12554-8.
- Moreno-Grau, S., de Rojas, I., Hernández, I., Quintela, I., Montreal, L., Ruiz, A. (2019). Genome-wide association analysis of dementia and its clinical endophenotypes reveal novel loci associated with Alzheimer's disease and three causality networks: The GR@ACE project. *Alzheimers Dement.* 15(10): 1333-47.
- Mortimer, J.A., van Duijn, C.M., Chandra, V., Fratiglioni, L., Graves, A.B., Heyman, A., Jorm, A.F., Kokmen, E., Kondo, K., Rocca, W.A. (1991). Head trauma as a risk factor for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. *Int J Epidemiol.* 20 (suppl. 2):28- 35.
- Mrak, R.E., Griffin, W.S. (1996). Role of Activated Glia and of Glial Cytokines in Alzheimer's Disease: A Review. *EOS.* 16(3-4): 80-4.
- Mrak, R.E., Griffin W.S. (2005a). Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiol Aging.* 26(3): 349-54.
- Mrak, R.E., Griffin, W.S. (2005b). Potential inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 8(4): 369-75.

- Müller, T., Blum-Degen, D., Kuhn, W., Przuntek, H. (1998). Interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid inversely correlate to severity of Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 98(2): 142-4.
- Müller, U., Winter, P., Graeber, M.B. (2013). A presenilin 1 mutation in the first case of Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 12(2): 129-30.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 51 Pt 1: 263-73.
- Nagatsu, T., Mogi, M., Ichinose, H., Togari, A. (2000a). Changes in cytokines and neurotrophins in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 60: 277-90.
- Nagatsu, T., Mogi, M., Ichinose, H., Togari, A. (2000b). Cytokines in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 58: 143-51.
- Naj, A.C., Farrer, L.A., Schellenberg, G.D. et al. (2011). Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 43(5): 436-41.
- Nicoll, J.A., Mrazek, R.E., Esiri, M.M., Graham, D.I., MacGowan, S., Murray, L.S., Stewart, J., Wilcock, G. (2000). Association of interleukin-1 gene polymorphisms with Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 47(3): 365-8.
- Nishimura, M., Mizuta, I., Kuno, S., Mizuta, E., Ohta, M., Yamasaki, S. (2000). Influence of interleukin-1beta gene polymorphisms on age-at-onset of sporadic Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 284(1-2): 73-6.
- Oddo, S., Caccamo, A., Chen, Y., Green, K.N., LaFerla, F.M., Leslie, F.M., Liang, K., Tran, L. (2005). Chronic nicotine administration exacerbates tau pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 102(8): 3046-51.
- Oddo, S., Caccamo, A., Glabe, C.G., Klein, W.L., Lambert, S., Tran, L. (2006). Temporal profile of amyloid-beta (A β) oligomerization in an in vivo model of Alzheimer disease. A link between A β and tau pathology. *J Biol Chem.* 281(3): 1599-604.
- Oertel, W.H., Quinn, N. P. (2006). Parkinson's disease: drug therapy. *Baillieres Clin Neurol.* 6(1): 89-108.
- Oertel, W.H., Deuschl, G., Poewe, W. (2011). Parkinson-Syndrom und andere Bewegungsstörungen. 1. Auflage. Thieme-Verlag. Stuttgart
- Oh, J.W., Van Wagoner, N.J., Rose-John, S., Benveniste, E.N. (1998). Role of IL-6 and the soluble IL-6 receptor in inhibition of VCAM-1 gene expression. *J Immunol.* 1;161(9): 4992-9.
- Olsson, L.M., Nerstedt, A., Johansson, A.C., Lindqvist, A.K. (2012). Copy number variation of the gene NCF1 is associated with rheumatoid arthritis. *Antioxid Redox Signal.* 16(1): 71-8.
- Paisán-Ruiz, C., Jain, S., Evans, E.W., Gilks, W.P., Simón, J., van der Brug, M., López de Munain, A., Aparicio, S., Gil, A.M., Khan, N., Johnson, J., Martinez, J.R., Nicholl, D., Carrera, I.M., Pena, A.S., de Silva, R., Lees, A., Martí-Massó, J.F., Pérez-Tur, J., Wood, N.W., Singleton, A.B. (2004). Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron.* 18;44(4): 595-600.
- Paisán-Ruiz, C., Bhatia, K.P., Li, A., Hernandez, D., Davis, M., Wood, N.W., Hardy, J., Houlden, H., Singleton, A., Schneider, S.A. (2009). Characterization of PLA2G6 as a locus for dystonia-parkinsonism. *Ann Neurol.* 65(1): 19-23.
- Pankratz, N., Nichols, W.C., Conneally, P.M., Foroud, T., Halter, C., Rudolph, A., Shults, C., Uniacke, S.K. (2003). Significant linkage of Parkinson disease to chromosome 2q36-37. *Am J Hum Genet.* 72(4): 1053-7.
- Papp, M.I., Kahn, J.E., Lantos, P.L. (1989). Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration, olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome). *J Neurochem.* 94(1-3): 79-100.
- Parihar, M.S., Hemnani, T. (2004). Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions. *J Clin Neurosci.* 11(5): 456-67.

- Pasinetti G.M., Pompl P.N. (2002). Cyclo-oxygenase inhibitors and Alzheimer's: are we well ADAPTEd? *Lancet Neurol.* 1(7): 403-4.
- Parkinson, J. (1817). *An Essay on the shaking palsy.* Writtingham and Rowland, London.
- Pasinetti, G.M. (2002). From epidemiology to therapeutic trials with anti-inflammatory drugs in Alzheimer's disease: the role of NSAIDs and cyclooxygenase in beta-amyloidosis and clinical dementia. *J Alzheimers Dis.* 4(5): 435-45.
- Perry, V.H., Cunningham, C., Campion, S., Lunnon, K., Wilcockson, C. (2002). Atypical inflammation in the central nervous system in prion disease. *Curr Opin Neurol.* 15(3): 349-54.
- Piaceri, I, Nacmias, B, Sandro Sorbi, S. (2013) Genetics of familial and sporadic Alzheimer's disease. *Frontiers in Bioscience E5*, 167-77.
- Pigullo, S., Di Maria, E., Marchese, R. (2003). Essential tremor is not associated with alpha-synuclein gene haplotypes. *Mov Disord.* 18(7): 823-6.
- Pimentel, C., Batista-Nascimento, L., Rodrigues-Pousada, C., Menezes, R.A. (2012). Oxidative stress in Alzheimer's and Parkinson's diseases: insights from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Oxid Med Cell Longev.* 132146.
- Pimplikar, S.W. (2009). Reassessing the amyloid-cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 41(6): 1261-8.
- Pike, J.C., Cummings, B.J., Cotman, C.W. (1992). Beta-Amyloid induces neuritic dystrophy in vitro: similarities with Alzheimer pathology. *Neuroreport.* 3(9): 769-72.
- Plante-Bordeneuve, V., Taussig, D., Harding, A.E., Marsden, C.D., Thomas, F., Wood, N.W. (1997). Evaluation of four candidate genes encoding proteins of the dopamine pathway in familial and sporadic Parkinson's disease: evidence for association of a DRD2 allele. *Neurology.* 48(6): 1589-93.
- Polymeropoulos, M.H., Lavedan, C., Dehejia, A., Dutra, A., Ide, S.E., Leroy, E., Pike, B., Root, H. (1997). Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science.* 276(5321): 2045-7.
- Post, S.G., Whitehouse, P.J., Geldmacher, D.S. (1997). The clinical introduction of genetic testing for Alzheimer disease. An ethical perspective. *JAMA.* 277(10): 832-6.
- Potter, M., Illert, M., Wenzelburger, R., Deuschel, G., Volkmann, J. (2004). The effect of subthalamic nucleus stimulation on autogenic inhibition in Parkinson disease. *Neurology.* 63(7): 1234-9.
- Powers, K.M., Kay, D.M., Checkoway, H., Factor, S.A., Griffith, A., Higgins, D.S., Leis, B., Martinez, E.D., Montimurro, J.S., Nutt, J.G., Payami, H., Roberts, J.W., Samii, A., Zabetian, C.P. (2008). Combined effects of smoking, coffee, and NSAIDs on Parkinson's disease risk. *Mov Disord.* 23(1): 88-95.
- Pradhan, S., Andreasson, K. (2013). Commentary: Progressive inflammation as a contributing factor to early development of Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 241: 148-55.
- Qi, H., P., Qu, Z.Y., Bi, S., Duan, S.R., Wei, S.Q., Wen, S.R. (2012). IL-6-174 G/C and -572 C/G polymorphisms and risk of Alzheimer's disease. *PLoS One.* 7(6): e37858.
- Rainero, I., Bo, M., Ferrero, M., Valfrè, W., Vaula, G., Pinessi, L. (2004). Association between the interleukin-1alpha gene and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neurobiol Aging.* 25(10):1293-8.
- Ramirez, A., Heimbach, A., Gründemann, J., Hampshire, D., Stiller, B. (2006). Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet.* 38(10): 1184-91.
- Ranasinghe, S., Flanders, M., Cutler, S., Davis, I., Ghebremichael, M., Lindqvist, M., Soghoian, D.Z. (2012). HIV-specific CD4 T cell responses to different viral proteins have discordant associations with viral load and clinical outcome. *Virology.* 86(1): 277-83.
- Ransmayr, G., Wenning, G.K., Dal-Bianco, P., Katzenschlager, R. (2000). Dementia with Lewy bodies. *Nervenarzt.* 71(12): 929-35.

- Rebeck, G.W. (2000). Confirmation of the genetic association of interleukin-1 α with early onset sporadic Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 293(1): 75-7.
- Reines, S.A., Block, G.A., Morris, J.C., Liu, G., Nessly, M.L., Lines, C.R., Norman, B.A., Baranak, C.C.; Rofecoxib Protocol 091 Study Group. (2004). Rofecoxib: no effect on Alzheimer's disease in a 1-year, randomized, blinded, controlled study. *Neurology.* 62(1): 66-71.
- Reitz, C, Cheng, R., Arai, H., Bettens, K., Kimura, R., Lee, J.H., Rogaeva, E., Shibata, N., Sleegers, K., Tan, E.K., Tokuhira, S., Zou, F. (2011). Meta-analysis of the association between variants in SORL1 and Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 68(1): 99-106.
- Richartz E., Batra A., Simon P., Wormstall H., Bartels M., Buchkremer G., Schott K. (2005). Diminished production of proinflammatory cytokines in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 19(4): 184-8.
- Relkin, N.R., Szabo, P., Adamiak, B., Burgut, T., Monthe, C., Lent, R.W., Younkin, S., Younkin, L., Schiff, R., Weksler, M.E. (2009). 18-Month study of intravenous immunoglobulin for treatment of mild Alzheimer disease. *Neurobiol Aging.* 30(11): 1728-36.
- Richartz, E., Batra, A., Simon, P., Wormstall, H., Bartels, M., Buchkremer, G., Schott, K. (2005). Diminished production of proinflammatory cytokines in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 19(4): 184-8.
- Ritz, B., Ascherio, A., Checkoway, H., Marder, K.S., Nelson, L.M., Rocca, W.A., Ross, G.W., Strickland, D., Van Den Eeden, S.K., Gorell, J. (2007). Pooled analysis of tobacco use and risk of Parkinson disease. *Arch Neurol.* 64: 990-7.
- Rocca, W.A., Hofman, A., Brayne, C., Breteler, M.M., Clarke, M., Copeland, J.R., Dartigues, J.F., Engedal, K., Hagnell, O., Heeren, T.J., Jonker, C., Lindesay, J., Lobo, A., Mann, A.H., Mölsä, P.K., Morgan, K., O'Connor, D.W., da Silva Droux, A., Sulkava, R., Kay, D.W.K., Amaducci, L. (1991). Frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: a collaborative study of 1980-1990 prevalence findings. The EURODEM-Prevalence Research Group. *Ann Neurol.* 30: 381-90
- Rockwell, P., Yuan, H., Magnusson, R., Figueiredo-Pereira, M.E.. (2000) Proteasome inhibition in neuronal cells induces a proinflammatory response manifested by upregulation of cyclooxygenase-2, its accumulation as ubiquitin conjugates, and production of the prostaglandin PGE(2). *Arch Biochem Biophys.* 374(2): 325-33.
- Rojo, L.E., Fernandez, J.A., Jimenez, J.M., Maccioni, A.A. (2008). Neuroinflammation: implications for the pathogenesis and molecular diagnosis of Alzheimer's disease. *Arch Med Res.* 39(1): 1-16.
- Rothwell, N.J., Hopkins, S.J. (1995). Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci.* 18(3): 130-6.
- Rubinsztein, D.C., Easton, D.F. (1999). Apolipoprotein E genetic variation and Alzheimer's disease. a meta-analysis. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 10(3): 199-209.
- Sacco, G., Joumier, V., Darmon, N., Dechamps, A., Derrevaux, A., Lee, J.H., Piano, J., Bordone, N., Konig, A., Teboul, B., David, R., Guerin, O., Bremond, F., Robert, P. (2012). Detection of activities of daily living impairment in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment using information and communication technology. *Clin Inter Aging.* 7: 539-49.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science.* 239(4839): 487-91.
- San Luciano, M., Ozelius, L., Bressman, S.B., Lipton, R.B., Raymond, D., Saunders-Pullman, R. (2012). Gender differences in the IL6 -174G>C and ESR2 1730G>A polymorphisms and the risk of Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 506(2): 312-6.
- Satake, W., Nakabayashi, Y., Mizuta, I., Hirota, Y., Ito, C., Kubo, M., Kawaguchi, T., Tsunoda, T., Watanabe, M., Takeda, A., Tomiyama, H., Nakashima, K., Hasegawa, K., Obata, F., Yoshikawa, T., Kawakami, H., Sakoda, S., Yamamoto, M., Hattori, N., Murata, M., Nakamura,

- Y., Toda, T. (2009). Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet.* 41(12): 1303-7.
- Santangelo, G., Vitale, C., Picillo, M., Moccia, M., Cuoco, S., Longo, K., Pezzella, D., di Grazia, A., Erro, R., Pellecchia, M.T., Amboni, M., Trojano, L., Barone, P. (2015). Mild cognitive impairment in newly diagnosed Parkinson's disease: a longitudinal prospective study. *Parkinsonism Relat. Disord.* 21: 1219–26.
- Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Schmechel, D. (1993). Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology.* 43(8): 1467-72.
- Scalzo, P., Kummer, A., Cardoso, F., Teixeira, A.L. (2010). Serum levels of interleukin-6 are elevated in patients with Parkinson's disease and correlate with physical performance. *Neurosci Lett.* 468(1): 56-8.
- Schenk, D., Barbour, R., Dunn, W., Gordon, G., Grajeda, H., Guido, T., Hu, K., Huang, J., Johnson-Wood, K., Khan, K., Kholodenko, D., Lee, M., Liao, Z., Lieberburg, I., Motter, R., Mutter, L., Soriano, F., Shopp, G., Vasquez, N., Vandeventer, C., Walker, S., Wogulis, M., Yednock, T., Games, D., Seubert, P. (1999). Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature.* 400(6740): 173-7.
- Schenk, D.B., Koller, M., Ness, D.K., Griffith, S.G., Grundman, M., Zago, W., Soto, J., Atiee, G., Ostrowitzki, S., Kinney, G.G. (2017). First-in-human assessment of PRX002, an anti- α -synuclein monoclonal antibody, in healthy volunteers. *Mov Disord.* 32(2): 211-18.
- Scotland, P.B., Heath, J.L., Conway, A.E., Porter, N.B., Armstrong, M.B., Walker, J.A., Klebig, M.L., Lavau, C.P., Wechsler, D.S. (2012). The PICALM protein plays a key role in iron homeostasis and cell proliferation. *PLoS One.* 7(8). e44252
- Scott, W.K., Saunders, A.M., Gaskell, P.C. (1997). Apolipoprotein E epsilon2 does not increase risk of early-onset sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 42(3): 376-8.
- Scott, W.K., Yamaoka, L.H., Gaskell, P.C., Locke, P.A., Rosi, B.L. (1997). No association or linkage between an intronic polymorphism of presenilin-1 and sporadic or late-onset familial Alzheimer disease. *Genet Epidemiol.* 14(3): 307-15.
- Selkoe, D.J., Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med.* 8(6): 595–608.
- Seshadri, S., Fitzpatrick, L., Boada, M., De Stefano, A.L., Gudnason, V., Ikram, M. (2010). Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *JAMA.* 303(18): 1832-40.
- Shapira, A.H. (1999). Science, medicine, and the future: Parkinson's disease. *BMJ* 318(7179): 311-4.
- Sheng, J.G., Boop, F.A., Griffin, W.S., Mrak, R.E. (1994). Increased neuronal beta-amyloid precursor protein expression in human temporal lobe epilepsy: association with interleukin-1 alpha immunoreactivity. *J Neurochem.* 63(5): 1872-9.
- Sheng, J.G., Mrak, R.E., Griffin, W.S., Nishimura, T. (1994). S100 beta protein expression in Alzheimer disease: potential role in the pathogenesis of neuritic plaques. *J Neurosci Res.* 39(4): 398-404.
- Shi, C., Li, F., Yang, J., Zhang, S., Mao, C., Wang, H., Shi, M., Liu, Y., Song, B., Xu, Y. (2016). DNAJC6 mutations are not common causes of early onset Parkinson's disease in Chinese Han population. *Neurosci Lett.* 2016 Nov 10;634: 60-2.
- Shirodaria, S., Smith, J., McKay, I.J., Kennett, C.N., Hughes, F.J. (2000). Polymorphisms in the IL-1 α gene are correlated with levels of interleukin-1alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *J Dent Res.* 79(11): 1864-8.
- Shulman, J.M., De Jager, P.L. (2009). Evidence for a common pathway linking neurodegenerative diseases. *Nat Genet.* 41(12): 1261-2.
- Simón-Sánchez, J., Schulte, C., Bras, J.M., et al. (2009). Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet.* 41(12): 1308-12.

- Sims, R., Dwyer, S., Abraham, R., Chapman, J., Gerrish, A., Harold, D., Hollingworth, P., Ivanov, D., Jones, N. (2011). No evidence that extended tracts of homozygosity are associated with Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 156B(7): 764-71.
- Singleton, A.B., Farrer, M., Johnson, J., Singleton, A., Hague, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Peuralinna, T., Dutra, A., Nussbaum, R., Lincoln, S., Crawley, A., Hanson, M., Maraganore, D., Adler, C., Cookson, M.R., Muenter, M., Baptista, M., Miller, D., Blancato, J., Hardy, J., Gwinn-Hardy, K. (2003). alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science.* 302(5646): 841.
- Soares, H.D., Potter, W.Z., Dean, R.A., Immermann, F.W., Kuhn, M., Pickering, E., Shera, D.M. (2012). Plasma biomarkers associated with the apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 69(10): 1310-7.
- Soghomonian, J.J., Laprade, N. (1997). Glutamate decarboxylase (GAD67 and GAD65) gene expression is increased in a subpopulation of neurons in the putamen of Parkinsonian monkeys. *Synapse.* 27(2): 122-32.
- Sperling, R.A., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Bennett, D.A., Craft, S., Fagan, A.M. et al. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 7(3): 280-92.
- Stadelmann, K., Bruck, W., Bancher, C., Jellinger, K., Lassmann, H. (1998). Alzheimer disease: DNA fragmentation indicates increased neuronal vulnerability, but not apoptosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 57(5): 456-64.
- Stamouli, E.C., Politis, A.M. (2016). Pro-inflammatory cytokines in Alzheimer's disease. *Psychiatriki.* ;27(4): 264-75.
- Stanley, L.C., Mrak, R., Griffin, W.S., Marshak, D.R., Nelson, S.J., Perrot, L.J., Woody, R.C., Zhang, S.(2000). Glial cytokines as neuropathogenic factors in HIV infection: pathogenic similarities to Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 53(3): 231-8.
- Strachan, T., Read, A.P.(2010). *Human Molecular Genetics.* Garland Science/Taylor & Francis Group. New York. 4th Edition
- Strauss, K.M., Martins, L.M., Berg, D., Kautzmann, S., Marx, F.P., Plun-Favreau, H. (2005). Loss of function mutations in the gene encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 14(15): 2099-111.
- Streit, W.J. (2002). Microglia as neuroprotective, immunocompetent cells of the CNS. *Glia.* 40(2): 133-9.
- Strittmatter, W.J., Saunders, A.M., Schmechel, D. (1993). Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 90(5): 1977-81.
- Taguchi, H., Planque, S., Nishiyama, Y., Szabo, P., Weksler, M.E., Friedland, R.P., Paul, S. (2008). Catalytic antibodies to amyloid beta peptide in defense against Alzheimer disease. *Autoimmun Rev.* 7(5): 391-7.
- Tayeb, H.O., Murray, E.D., Price, B.H., Tarazi, F.I. (2013). Bapineuzumab and solanezumab for Alzheimer's disease: is the 'amyloid cascade hypothesis' still alive? *Expert Opin Biol Ther.* 13(7): 1075-84.
- Tan, Z.S., Seshadri, S. (2010). Inflammation in the Alzheimer's disease cascade: culprit or innocent bystander? *Alzheimers Res Ther.* 2(2): 6.
- Tanner, C. M., Ben-Shlomo, Y. (1999a). Epidemiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol.* 80: 153-9.
- Tanner, C.M., Ottman, R., Chan, P., Ellenberg, J., Goldman, S.M., Langston, J., Mayeux, R. (1999b). Parkinson disease in twins: an etiologic study. *JAMA.* 281(4): 341-6.
- Taussig, D., Plante-Bordeneuve, V. (1997). Atypical familial parkinsonian syndromes. Parkinson diseases or specific entities? *Presse Med Paris.* 26(6): 290-6.

- Thal, L.J. (2006). Prevention of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 20(3 Suppl 2): 97-9.
- Thambisetty, M., An, Y., Kinsey, A., Koka, D., Saleem, M., Thambisetty, M. (2012). Plasma clusterin concentration is associated with longitudinal brain atrophy in mild cognitive impairment. *Neuroimage.* 59(1): 212-7.
- Thambisetty, M., Beason-Held, L.L., An, Y., Kraut, M., Nalls, M. (2013). Alzheimer risk variant CLU and brain function during aging. *Biol Psychiatry.* 73(5): 399-405.
- Thomas, B., Beal, M.F. (2007). Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 16(Spec No 2): R183–R194.
- Thomson, A.W., Lotze, M.T. (2003). *The Cytokine Handbook.* Elsevier Ltd. Oxford.
- Thoren, H., Schaller, B., Lindqvist, C., Suominen, A.L. (2012). Occurrence and severity of concomitant injuries in other areas than the face in children with mandibular and midfacial fractures. *J Oral Maxillofac Surg.* 70(1): 92-6.
- Tolwani, R.J., Jakowec, Green, S., Petzinger, G.M., Waggle, K. (1999). Experimental models of Parkinson's disease: insights from many models. *Lab Anim Sci.* 49(4): 363-71.
- Town, T., Nikolic, V., Tan, J. (2005). The microglial "activation" continuum: from innate to adaptive responses. *J Neuroinflammation.* 31;2: 24.
- Tsakanikas, D., Shah, K., Flores, C., Assuras, S., Relkin, N.R. (2008). Effects of uninterrupted intravenous immunoglobulin treatment of AD for nine months. *Alzheimer Dement.* 4 (Suppl. 2):776 P4-351
- Tufekci, K.U., Meuwissen, R., Genc, K., Genc, S. (2012). Inflammation in Parkinson's disease. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 88: 69-132.
- Tzai, T.S., Shiau, A.L., Liu, L.L., Wu, C.L. (2000). Immunization with TGF-beta antisense oligonucleotide-modified autologous tumor vaccine enhances the antitumor immunity of MBT-2 tumor-bearing mice through upregulation of MHC class I and Fas expressions. *Anticancer Res.* 20(3A): 1557-62.
- Uryu, K., Giasson, B.I., Longhi, L., Martinez, D., Murray, I., Conte, V., Nakamura, M., Saatman, K. (2003). Age-dependent synuclein pathology following traumatic brain injury in mice. *Exp Neurol.* 184(1): 214-24.
- Valente, E.M., Bentivoglio, A.R., Dixon, P., Ferraris, H., Frontali, M., Ialongo, T. (2001). Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet.* 68(4): 895-900.
- Valente, E.M., Salvi, S., Ialongo, T., Marongiu, R., Elia, A.E., Caputo, V., Romito, L., Albanese, A., Dallapiccola, B., Bentivoglio, A.R. (2004) PINK1 mutations are associated with sporadic early-onset parkinsonism. *Ann Neurol.* 56(3): 336-41.
- Valkanova, V., Ebmeier, K.P., Allan, C.L. (2013). CRP, IL-6 and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Affect Disord.* 150(3): 736-44.
- Vitek, M.P., Brown, C.M., Colton, C.A. (2009). APOE genotype-specific differences in the innate immune response. *Neurobiol Aging.* 30(9): 1350-60.
- Vlad, S.C., Miller, D.R., Kowall, N.W., Felson, D.T. (2008). Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology.* 70(19): 1672-7.
- Vom Berg, J., Prokop, S., Cabezas, I., Kälin, R.E., Mair, F., Miller, K.R., Obst, J., Wegner, A. (2012). Inhibition of IL-12/IL-23 signaling reduces Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline. *Nat Med.* 18(12): 1812-9.
- Vural, P., Degirmencioglu, S., Parildar-Karpuzoglu, H. (2009). The combinations of TNFalpha-308 and IL-6 -174 or IL-10 -1082 genes polymorphisms suggest an association with susceptibility to sporadic late-onset Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand.* 120(6): 396-401.
- Wahner, A.D., Kinsinger, J.S., Bronstein, J.M., Ritz, B. (2007). Inflammatory cytokine gene polymorphisms and increased risk of Parkinson disease. *Arch Neurol.* 64(6): 836-40.
- Wang, W.Y., Tan, M.S., Yu, J.T., Tan, L. (2015). Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. *Ann Transl Med.* 3(10): 136.

- Watson, M.B., Richter, F., Effros, R.B., Gabby, L., Lee, S.K., Masliah, E., Wu, J. (2012). Regionally-specific microglial activation in young mice over-expressing human wildtype alpha-synuclein. *Exp Neurol.* 237(2): 318-34.
- Welsh, K.A., Butters, N., Mohs, R.C., Beekly, D., Edland, S., Fillenbaum, G., Heyman, A. (1994). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part V. A normative study of the neuropsychological battery. *Neurology.* 44(4): 609-14.
- Weyerer, S., Schäufele, M., Hendlmeier, I. (2005). A comparison of special and traditional inpatient care of people with dementia. *Z Gerontol Geriatr.* 38(2): 85-94.
- WHO, Dilling, H., Mombour, W. (2008): Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F), Klinisch-diagnostische Leitlinien. 6. Aufl. Bern, Huber.
- Williams-Gray, C.H., Mason, S.L., Evans, J.R., Foltynie, T., Brayne, C., Robbins, T.W., Barker, R.A. (2013) The CamPaIGN study of Parkinson's disease: 10-year outlook in an incident population-based cohort. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 84: 1258–64.
- Wilcock, G.K., Gauthier, S., Frisoni, G.B., Jia, J., Hardlund, J.H., Moebius, H.J., Bentham, P., Kook, K.A., Schelter, B.O., Wischik, D.J., Davis, C.S., Staff, R.T., Vuksanovic, V., Ahearn, T., Bracoud, L., Shamsi, K., Marek, K., Seibyl, J., Riedel, G., Storey, J.M.D., Harrington, C.R., Wischik, C.M. (2018). Potential of Low Dose Leuco-Methylthionium Bis(Hydromethanesulphonate) (LMTM) Monotherapy for Treatment of Mild Alzheimer's Disease: Cohort Analysis as Modified Primary Outcome in a Phase III Clinical Trial. *J Alzheimers Dis.* 61(1): 435-57.
- Wimo, A., Jönsson, L., Gustavsson, A., McDaid, D., Ersek, K., Georges, J., Gulácsi, L., Karpati, K., Kenigsberg, P., Valtonen, H. (2001). The economic impact of dementia in Europe in 2008-cost estimates from the Eurocode project. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2011 Aug;26(8): 825-32.
- Wirh's, O., Multhaup, G., Bayer, T.A. (2004). A modified β -amyloid hypothesis: intraneuronal accumulation of the β -amyloid peptide – the first step of a fatal cascade. *J Neurochem.* 91, 513-20
- Wischik, C.M., Harrington, C.R., Storey, J.M. (2014). Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol.* 88(4): 529-39.
- Wood, H. (2017). Parkinson disease: Caffeine and nicotine do not provide symptomatic relief in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol.* 13(12): 707.
- Wu, Y.R., Chen, C.M., Hwang, J.C., Chen, S.T., Feng, I.H., Hsu, H.C., Liu, C.N., Liu, Y.T., Lai, Y.Y., Huang, H.J., Lee-Chen, G.J. (2007). Interleukin-1 alpha polymorphism has influence on late-onset sporadic Parkinson's disease in Taiwan. *J Neurol Transm.* 114(9): 1173-7.
- Yamada, K., Kono, K., Fukatsu, T., Iguchi, A., Nakashima, N., Umegaki, H. (1995). Decreased interleukin-6 level in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. *Neurosci Lett.* 186(2-3): 219-21.
- Yamaguchi, H., Hirai, S., Shoji, M., Harigaya, Y., Okamoto, Y., Nakazato, Y. (1989). Alzheimer type dementia: diffuse type of senile plaques demonstrated by beta protein immunostaining. *Prog Clin Biol Res.* 317: 467-74.
- Yasuda, M., Takamatsu, J., D'Souza, I., Crowther, R.A., Kawamata, T., Hasegawa, M., Hasegawa, H., Spillantini, M.G., Tanimukai, S., Poorkaj, P., Varani, L., Varani, G., Iwatsubo, T., Goedert, M., Schellenberg, D.G., Tanaka, C. (2000). A novel mutation at position +12 in the intron following exon 10 of the tau gene in familial frontotemporal dementia (FTD-Kumamoto). *Ann Neurol.* 47(4): 422-9.
- Zemke, D., Majid, A. (2004). The potential of minocycline for neuroprotection in human neurologic disease. *Clin Neuropharmacol.* 27(6): 293-6.
- Zhao, L. CD33 in Alzheimer's Disease - Biology, Pathogenesis, and Therapeutics: A Mini-Review. (2019) *Gerontology.* 2019;65(4):323-31
- Zhou, Y.T., Yang, J.F., Zhang, Y.L., Wang, X.Y., Chan, P. (2008). Protective role of interleukin-1 alpha gene polymorphism in Chinese Han population with sporadic Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 445(1): 23-5.

- Zimprich, A., Biskup, S., Leitner, P., Lichtner, P., Farrer, M., Lincoln, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Uitti, R.J., Calne, D.B., Stoessl, A.J., Pfeiffer, R.F., Patenge, N., Carbajal, I.C., Vieregge, P., Asmus, F., Müller-Mysok, B., Dickson, D.W., Meitinger, T., Strom, T.M., Wszolek, Z.K., Gasser, T. (2004). Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron*. 44(4):601-7.
- Zimprich, A., Benet-Pagès, A., Struhal, W., Graf, E., Strom, T.M. et al. (2011). A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset Parkinson disease. *Am J Hum Genet*. 2011 Jul 15;89(1): 168-75.
- Zotova, E., Bharambe, V., Cheaveau, M., Morgan, W., Holmes, C., Harris, S., Neal, J.W., Love, S., Nicoll, J.A., Boche, D. (2013). Inflammatory components in human Alzheimer's disease and after active amyloid- β 42 immunization. *Brain* 136(Pt.9): 2677-96.

Eigene Publikationen

- [1] Du, Y., Dodel, R.C., Eastwood, B.J., Bales, K.R., Gao, F., **Lohmüller, F.**, Müller, U., Kurz, A., Zimmer, R., Evans, R.M., Hake, A., Gasser, T., Oertel, W.H., Griffin, W.S., Paul, S.M., Farlow, M.R.(2000). Association of an interleukin 1 alpha polymorphism with Alzheimer's disease. *Neurology.*; 55(4):480-3.
- [2] Dodel, R.C., **Lohmüller, F.**, Du, Y., Eastwood, B., Gocke, P., Oertel, W.H., Gasser, T. (2001). A polymorphism in the intronic region of the IL-1alpha gene and the risk for Parkinson's disease. *Neurology.* 56(7):982-3.
- [3] Depboylu, C., **Lohmüller, F.**, Gocke, P., Du, Y., Zimmer, R., Gasser, T., Klockgether, T., Dodel, R.C. An interleukin-6 promoter variant is not associated with an increased risk for Alzheimer's disease. (2004) *Dement Geriatr Cogn Disord.* 17(3):170-3.
- [4] Möller JC, Depboylu C, Kölsch H, **Lohmüller F**, Bandmann O, Gocke P, Du Y, Paus S, Wüllner U, Gasser T, Oertel WH, Klockgether T, Dodel RC. (2004). Lack of association between the interleukin-1 alpha (-889) polymorphism and early-onset Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 359(3):195-7.
- [5] Depboylu C, **Lohmüller F**, Du Y, Riemenschneider M, Kurz A, Gasser T, Müller U, Dodel RC. Alpha2-macroglobulin, lipoprotein receptor-related protein and lipoprotein receptor-associated protein and the genetic risk for developing Alzheimer's disease. (2006) *Neurosci Lett.* 400(3):187-90.

Poster

Lohmüller, F., Dodel, R.C., Du, Y., Gocke, P., Oertel, W.H., Gasser, T. A Polymorphism in the intronic region of the IL-1 α gene and the risk for Parkinsons disease. 2. Deutscher Parkinson Kongress Bochum 2001, Ruhr-Universität Bochum.

Lohmüller, F., Gocke, P., Jacobsen, M., Schweer, D., Höft, C., Hemmer, B., Oertel, W.H., Dodel, R.C. Ein Polymorphismus im Promoter des IL-1 α Genes und das Risiko an Multipler Sklerose zu erkranken. 74. Kongress Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN) Aachen, 19.-23.09.2001.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen/Herren

in Marburg:

Arnold, Aumüller, Barth, Basler, Baum, Bertalanffy, Bien, Daut, Fruhstorfer, Gemsa, Gotzen , Gressner, Griss, Gröner, Grzeschik, Happle, Hasilik, Hilgermann, Hoffmann, Hofmann, Joseph, Kälble, Kern, Kircher, Klenk, Klose, Koolmann, Lang, Lennartz, Lorenz, Maisch, Männl, Moosdorf, Müller, Oertel, Radsak, Remschmidt, Rothmund, Schäfer, Schachtschabel, Seitz, Slenczka, Steiniger, Sturm, Voland, Vogt, Walter, Wagner, Weihe, Westermann, von Wichert.

In Bad Emstal:

Prof. Dr. Franz

In Berlin:

Dr. Kielisch

Danksagung

Ganz herzlich danke ich meinem Betreuer, Herrn Prof. Dr. med. R. Dodel, der mir mit großem Enthusiasmus und Optimismus bei der Themenstellung und Durchführung dieser wissenschaftlichen Arbeit zur Seite stand. Seine ausgezeichnete Betreuung und seine kontinuierliche Motivation waren eine große Hilfe und weckten mein Interesse für das faszinierende Gebiet der Neurogenetik.

Zu großem Dank bin ich auch Herrn Prof. Dr.med. Dr.h.c. W.H. Oertel verpflichtet. Als Direktor der Klinik für Neurologie hat er die Voraussetzungen und Bedingungen geschaffen, die die Erstellung dieser Dissertation erst möglich machten. Herrn Prof. Dr.med. Michael Franz möchte ich besonders für seine Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit danken.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des neurobiologischen Labors der Klinik für Neurologie Marburg, insbesondere bei Frau Christine Höft und Frau Annette Hehenkamp für ihre geduldigen Anleitungen und Unterstützung bei den Labor- und Auswertetechniken.

Meiner Familie und insbesondere meiner Frau danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung und beim Schreiben dieser Arbeit.