

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Unterschiede im peripheren zellulären Immunsystem dementieller Erkrankungen

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Enrico Michler

aus Dresden

Magdeburg 2018

Bibliographische Beschreibung:

Michler, Enrico:

Unterschiede im peripheren zellulären Immunsystem dementieller Erkrankungen.

- 2018. - 86 Bl., 9 Abb., 8 Tab., 4 Anl.

Kurzreferat

Eine krankhaft veränderte Immunantwort des Menschen, welche in Entzündungsreaktionen mündet, könnte zumindest teilweise verantwortlich für die Pathologie hinter dementiellen Erkrankungen sein. Um Veränderungen im peripheren Immunsystem der häufigsten Demenzformen zu analysieren, wurden in dieser explorativen Arbeit angeborene und erworbene Leukozytenpopulationen im Vollblut per Durchflusszytometrie analysiert. Proben von 60 Patienten mit Alzheimer-Demenz, 20 mit vaskulärer Demenz und 12 mit frontotemporaler Demenz wurden zum Diagnosezeitpunkt mit den Proben von 24 gleichaltrigen, neuropsychiatrisch gesunden Probanden verglichen. Die Populationen der Monozyten und natürlichen Killerzellen waren bei Patienten mit vaskulärer Demenz deutlich kleiner als bei Kontrollprobanden, was bei Alzheimer- bzw. frontotemporaler Demenz nicht beobachtet wurde. B- und T-Zellzahlen waren ebenso bei vaskulärer Demenz vermindert. Das Verteilungsverhältnis von naiven und Gedächtniszellen der T-Zellreihe zeigte bei Alzheimer-Demenz-Patienten signifikante Abweichungen zu Gesunden. Korrelationsanalysen wiesen Beziehungen zwischen veränderten Immunzellpopulationen und Gruppen-Merkmalen wie Patientenalter, Mini-Mental-State-Test und Q-Albumin als Marker für die Integrität der Blut-Liquor-Schranke nach. Zusammenfassend waren bei Alzheimer-, vaskulärer und frontotemporaler Demenz Abweichungen in der Komposition peripherer Leukozytenpopulationen detektierbar. Jede dieser Krankheitsformen wies dabei ein differentes Verteilungsmuster der Immunzellen auf, welches hinweisend auf die zugrundeliegende Pathogenese der jeweiligen Erkrankung sein könnte.

Schlüsselwörter

Alzheimer-Demenz, vaskuläre Demenz, frontotemporale Demenz, Neuroinflammation, Immunseneszenz, Blut-Liquor-Schranke, Monozyten, NK-Zellen, B-Lymphozyten, T-Lymphozyten

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einführung	7
1.1 Theoretische Grundlagen	7
1.1.1 Das angeborene Immunsystem	7
1.1.2 Das adaptive Immunsystem	8
1.1.3 Das alternde Immunsystem	11
1.1.4 Das Immunsystem dementer Patienten	12
1.2 Demenzformen	13
1.2.1 Demenz im Allgemeinen	13
1.2.2 Demenz bei Alzheimer-Krankheit	14
1.2.3 Vaskuläre Demenz	18
1.2.4 Frontotemporale Demenz	20
1.3 Ziele der Arbeit	22
2 Material	23
2.1 Allgemein verwendete Materialien	23
2.1.1 Laborgeräte	23
2.1.2 Verbrauchsmaterialien	23
2.2 Material für die Fluoreszenzfärbung	24
2.2.1 Reagenzien	24
2.2.2 Pufferansetzungen	24
2.2.3 Leukozyten-Antikörper	25
2.2.4 Panel-Zusammenstellung	26
2.3 Software	26
2.4 Patienten und Probanden	27
3 Methoden	29
3.1 Allgemeines Procedere	29
3.2 Färbeprotokoll für Durchflusszytometrie von EDTA-Blut (extrazellulär)	29
3.3 Färbeprotokoll für Durchflusszytometrie von EDTA-Blut (intrazellulär)	29
3.4 Durchflusszytometrische Messung	30
3.5 Datenanalyse per Durchflusszytometrie	31
3.6 Diagnostische Liquorpunktion	32
3.7 Statistische Auswertungen	32

4	Ergebnisse	33
4.1	Studienkohorte.....	33
4.2	Untersuchungsparameter.....	34
4.3	Veränderte leukozytäre Verteilungsmuster des adaptiven Immunsystems.....	35
4.4	Populationsverschiebungen im angeborenen Immunsystem.....	37
4.5	Unterschiede in der Expression von CD25, CD69 und HLA-DR.....	37
4.5.1	Verteilungsmuster aktivierter T-Lymphozyten.....	38
4.5.2	Verteilungsmuster aktivierter B-Lymphozyten bzw. Monozyten.....	38
4.6	Demenz-assoziierte proportionale Verschiebungen von naiven und T-Gedächtniszellen.....	40
4.7	Regulatorische T-Zellen in verschiedenen Demenz-Formen.....	44
4.8	Korrelationsanalysen.....	45
5	Diskussion	46
5.1	Allgemeine Betrachtungen.....	46
5.2	Auswertung und Interpretation der Ergebnisse.....	46
5.2.1	Veränderungen im peripheren erworbenen Immunsystem.....	46
5.2.2	Mögliche Ursachen von Populationsverschiebungen.....	47
5.2.3	Veränderungen im peripheren angeborenen Immunsystem.....	51
5.2.4	Betrachtung von T-Lymphozyten-Subpopulationen.....	52
5.3	Limitationen der Studie und Ausblick.....	55
6	Zusammenfassung	57
7	Literaturverzeichnis	58
8	Anlagen	73
8.1	Tabellen.....	73
8.2	Gatingbeispiele.....	77
8.2.1	Gatingbeispiel für Panel 1.....	77
8.2.2	Gatingbeispiel für Panel 2.....	79
8.2.3	Gatingbeispiel für Panel 3.....	81
9	Danksagungen	83
10	Liste der Veröffentlichungen bzw. Co-Autorenschaften	84
11	Ehrenerklärung	85
12	Darstellung des Bildungsweges	86

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Gatingstrategien von Dot-Plots einer Durchflusszytometrie	S. 31
Abbildung 2	Populationsanteile CD3+/CD19+/CD4+/CD8+ Leukozyten	S. 36
Abbildung 3	Populationsanteile CD14+/CD56+ Leukozyten	S. 37
Abbildung 4a	Populationsanteile CD25+ T-Lymphozyten	S. 38
Abbildung 4b	Populationsanteile HLA-DR+ B-/T-Lymphozyten/ Monozyten	S. 39
Abbildung 5a	Populationsanteile naiver T-Lymphozyten	S. 40
Abbildung 5b	Dot-Plot-Gruppenvergleich naiver CD8+ T-Lymphozyten	S. 41
Abbildung 5c	Populationsanteile Effektor-/zentraler T-Gedächtniszellen	S. 42
Abbildung 5d	Populationsanteile Effektor-T-Lymphozyten	S. 43

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Panel-Zusammenstellung mit jew. Leukozyten-Antikörpern	S. 26
Tabelle 2	Demographische Angaben sowie MMST und Q-Albumin	S. 34
Tabelle 3a	Leukozytenpopulationen des adaptiven Immunsystems	S. 73
Tabelle 3b	Leukozytenpopulationen des angeborenen Immunsystems/NKT	S. 73
Tabelle 3c	T-Lymphozyten-Subpopulationen im Gruppenvergleich	S. 74
Tabelle 3d	Regulatorische T-Lymphozyten im Gruppenvergleich	S. 74
Tabelle 4a	Spearman-Korrelationsanalyse (QAib/MMST/Alter mit Gruppe)	S. 75
Tabelle 4b	Spearman-Korrelationsanalyse (QAib/MMST/Alter mit Geschl.)	S. 76

Abkürzungsverzeichnis

A β	Amyloid- β
AchEI	Acetylcholinesterase-Inhibitor
AD	Alzheimer-Demenz
ANCOVA	Analysis Of Covariance
APC	Antigen Presenting Cell
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid Precursor Protein
BCR	B-Zell-Rezeptor
BLS	Blut-Liquor-Schranke
B-Lymphozyt	Bone marrow-derived-Lymphozyt
BRSD	Behavior Rating Scale for Dementia
CCR	C-C Chemokin Rezeptor
CD	Cluster of Differentiation
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
cMRT	craniale Magnetresonanztomographie
CR	Complement Rezeptor
CSF	Cerebrospinal Fluid
CT	Computertomographie
CTL	Cytotoxic T-Cell
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting
FoxP3	Forkhead Box Protein 3
FTD	Frontotemporale Demenz
fvFTD	frontale Verlaufsform der Frontotemporalen Demenz
g	Einheit der Beschleunigung (als Vielfaches der Fallbeschleunigung)
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
GLUT	Glukosetransporter
HLA	Human Leukocyte Antigen
HLA-DR	Human Leukocyte Antigen – antigen D Related
ICD	International Statistical Classification of Diseases
IFN	Interferon
IL	Interleukin
IPEX	Syndromkomplex aus Immundefizienz, Polyendokrinopathie, Enteropathie und X-chromosomalem Erbgang
iTreg	induzierte T-Regulator-Zelle
LCK	Lymphocyte-specific protein-tyrosin kinase

MCI	Mild Cognitive Impairment
MEOX	Mesenchyme Homeobox
MHC	Major Histocompatibility Complex
M.I.N.I.	Mini-International Neuropsychiatric Interview
MMST	Mini-Mental-State-Test
NFT	Neurofibrillar Tangles
NINCDS-ADRDA	National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke bzw. Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
NINDS-AIREN	Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences
NK-Zelle	natürliche Killerzelle
NKT-Zelle	natürliche Killer-T-Zelle
NMDA-RA	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor-Antagonist
nTreg	natürliche T-Regulator-Zelle
PG	Prostaglandin
PNFA	Primär-Progressive Nichtflüssige Aphasie
PRGN	Progranulin
ROS	Reactive Oxygen Species
SD	Semantische Demenz
SVE	Subkortikale Vaskuläre Enzephalopathie
TCR	T-Zell-Rezeptor
Th-Zelle	Thymus-derived-Helfer-Zelle
TIA	Transitorische Ischämische Attacke
TNF	Tumor Nekrose Faktor
T-Lymphozyt	Thymus-derived-Lymphozyt
Treg	T-Regulator-Zelle
VD	Vaskuläre Demenz
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einführung

1.1 Theoretische Grundlagen

1.1.1 Das angeborene Immunsystem

Die Aufgabe des menschlichen Immunsystems besteht in der Abwehr von den Körper schädigenden Mikroorganismen bzw. infektiösen Stoffpartikeln. Zu diesen sog. Pathogenen zählen Bakterien, Viren, Pilze und Parasiten. Als Antigen wird hingegen jede Substanz bezeichnet, die eine Immunantwort hervorruft [1]. Die frühzeitige Verteidigung gegenüber dem Organismus fremden und schädlichen Stoffen übernimmt das angeborene Immunsystem. Von humoralen angeborenen Verteidigungsmechanismen, wie dem Komplementsystem, sind zelluläre angeborene Komponenten abzugrenzen: Monozyten, Makrophagen, Granulozyten und dendritische Zellen unterscheiden mittels Oberflächenrezeptoren Pathogenmoleküle von körpereigenen Zellmolekülen, phagozytieren und eliminieren diese [2].

Anhand von Zellreihen-spezifischen Oberflächenantigenen, genannt Cluster of Differentiation (CD)-Immunkomplex, können diese und andere Immunzellen voneinander unterschieden werden.

Vertreter des angeborenen Immunsystems im peripheren Blut sind vornehmlich Granulozyten, Monozyten, aktivierte Monozyten und natürliche Killerzellen, zwischen denen differenziert werden kann.

Monozyten exprimieren das CD14-Marker-Antigen und sind damit als solche identifizierbar. Jene Zellen zirkulieren frei im Blut und migrieren im Falle einer Invasion von Fremdorganismen schnell zur Infektionsstelle [1]. Diese Migration wird von Chemokinen gesteuert – Proteine, die als Botenstoffe von alarmierten Immunzellen sezerniert werden und zur Gruppe der Zytokine gehören. Zytokine sind heterogene Proteine, die wesentlich für Differenzierung, Aktivierung und Koordination aller Immunzellen sind.

Zur Identifizierung aktivierter Monozyten ist ein weiterer Marker notwendig - das HLA-DR-Molekül. Die Expression von HLA-DR gilt als Aktivierungsmarker nicht nur für Monozyten [3], sondern auch T-Zellen. Dies ist durch seine späte Hochregulierungszeit von 48 bis 60 Stunden begründet; somit wird dieses Oberflächenantigen eher als Marker adaptiver Immunprozesse gesehen [4]. Das Molekül selbst ist ein Oberflächenantigen der HLA (Human Leukocyte Antigen) - Klasse II. Es gehört zum HLA-System, welches die Bezeichnung für den humanen Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) darstellt. Dieses System repräsentiert eine Gruppe von Genen, die beim Menschen auf Chromosom 6 lokalisiert sind und eine wichtige Rolle beim Kodieren von Antigen präsentierenden Proteinen spielen [2]. Als HLA-Klasse II-Antigen wird HLA-DR normalerweise nur auf Antigen präsentierenden Zellen (APCs) exprimiert, um

körperfremde Peptidfragmente CD4-positiven Lymphozyten (s. 1.1.2.) erkennbar zu machen [5]. Zu diesen APCs zählen dendritische Zellen, Makrophagen und B-Lymphozyten [6].

Eine weitere Gruppe angeborener Immunzellen sind natürliche Killerzellen (NK-Zellen). 5 bis 15 Prozent aller mononukleären Zellen im Blut und in der Milz sind NK-Zellen, welche sich durch die Präsenz von CD56 und die Abwesenheit von CD3 charakterisieren lassen [1,7]. Natürliche Killerzellen fallen morphologisch auf als Lymphozyten mit angeborener Fähigkeit, v.a. intrazelluläre Viren und Bakterien zu bekämpfen [1]. Jedoch weisen wenige T-Lymphozyten, welche Vertreter des adaptiven Immunsystems sind, ebenfalls den NK-Zellmarker CD56 auf ihrer Oberfläche auf. Diese Zellen heißen natürliche Killer-T-Zellen (NKT-Zellen) und haben dank ihrer mannigfaltigen Funktionen wie Zytokinproduktion und Erkennung unterschiedlicher Antigene über den gleichen T-Zell-Rezeptor (TCR) eine Position zwischen angeborenem und adaptivem Immunsystem inne [8].

1.1.2 Das adaptive Immunsystem

Eine verzögerte, doch ungleich gezieltere Immunantwort gibt das adaptive Immunsystem auf Pathogene. Definiert durch hochspezifische klonale Antigenrezeptoren gegen Millionen potentieller Bedrohungen und die Entwicklung eines immunologischen Gedächtnisses ist das adaptive Immunsystem bei nicht ausreichender angeborener Immunantwort gefordert. Repräsentanten dieses Systems sind CD19+ B (bone marrow-derived)- und CD3+ T (thymus-derived)-Lymphozyten, welche anhand weiterer Immunzellmarker nach Subpopulationen mit jeweils unterschiedlichen Funktionen unterteilt werden können.

So können naive Zellen, Gedächtnis- und Regulator-Zellen der B- und T-Lymphozyten-Reihe sowie Zellen beider Reihen in unterschiedlichen Aktivierungsstadien im peripheren Blut unterschieden werden. Nachfolgend wird näher auf diese zellulären Subtypen eingegangen.

Zur Detektion von B-Lymphozyten wird das CD19-Antigen verwendet. CD19 ist neben CD45R derjenige Oberflächenmarker, welcher in der gesamten B-Zell-Linie am frühesten bestimmt werden kann. Er wird bereits ab dem frühen Pro-B-Zellstadium exprimiert und kann dadurch für die Identifizierung von ebendiesen Zellen im Knochenmark bis hin zu B-Gedächtniszellen im Blut – jeweils im Zusammenhang mit anderen charakteristischen Oberflächenmarkern – verwendet werden [2]. CD19 trägt zur Aktivierung von B-Lymphozyten bei. Als Corezeptor bildet es mit dem Komplementrezeptor 2 (CR2; auch CD21 genannt) und CD81 einen Komplex, welcher der Signalmodulation, Signalinterpretation und Feinregulierung der B-Zell-Rezeptor-Antwort (BCR) bei Antigenkontakt dient [9]. Im Allgemeinen proliferieren aktivierte B-Zellen zu Antikörper-produzierenden Plasmazellen oder B-Gedächtniszellen.

Zur Markierung von T-Lymphozyten wird das CD3-Antigen genutzt. Das CD3-Proteinkonglomerat ermöglicht die Aktivierung der T-Zellen bei Antigenkontakt. Außerdem ist es für die Oberflächenexprimierung der Antigen-bindenden Komponente des T-Zell-Rezeptors verantwortlich [2]. CD3 ist selbst ein wichtiger Teil des T-Zell-Rezeptor-Komplexes und wird dementsprechend nur auf der Oberfläche von T-Lymphozyten und natürlichen Killer-T-Zellen (siehe 1.1.1.) gefunden. Aufgrund dieser Exklusivität des Vorkommens wird CD3 als Leitmarker für T-Zellen gesehen [5].

CD3+ T-Lymphozyten werden in CD4+ T-Helferzellen und CD8+ T-Zellen unterteilt, wobei T-Helferzellen zwei Drittel aller peripheren T-Lymphozyten ausmachen [2]. Innerhalb der CD4+ T-Zellreihe kann zwischen Th1-Zellen und Th2-Zellen unterschieden werden. Th1-Zellen können bspw. Makrophagen stimulieren, während Th2-Zellen eher B-Lymphozyten zum sog. Isotypen-Switching veranlassen. Beide Zellreihen unterstützen so die Verzahnung von angeborenem und adaptivem Immunsystem [1]. Th1- und Th2-Zellen exprimieren das Glykoprotein CD4. Es bindet mit seinen Domänen 1 und 2 an MHC Klasse II-Moleküle, welche auf Antigen präsentierenden Zellen gefunden werden [2,10]. Über Domäne 3 und 4 kann CD4 zudem eine Verbindung zum T-Zell-Rezeptor herstellen. Es bestärkt damit die Erkennung des Liganden und die Interaktion zwischen dem TCR und MHC II [5,11]. Mit seinem zytoplasmatischen Anteil bindet es die Tyrosinkinase p56(LCK) [Lymphocyte-specific protein-tyrosin kinase], was wahrscheinlich der Signalverstärkung der TCR-Aktivierung dient [12]. Das CD4-Molekül ist also mit seinen vielfältigen Interaktionen für die Entwicklung von T-Helferzellen und die frühe T-Zell-Aktivierung unabdingbar [11].

CD8+ T-Zellen exprimieren das Glykoprotein CD8, einen Corezeptor für die Erkennung von MHC-Molekülen auf Zelloberflächen durch den TCR. Allerdings bindet CD8 restriktiv an MHC-Klasse I-Peptidkomplexe, welche prinzipiell auf allen kernhaltigen Körperzellen vorhanden sind [1]. CD8-positive zytotoxische T-Zellen (CTLs) können dadurch v.a. virale Infektionen direkt durch zelluläre Abtötung bekämpfen, da MHC I-Moleküle Peptide aus zytoplasmatischer Degradierung, wie virale Proteinfragmente, präsentieren. Der CD8-Rezeptor ist dementsprechend u.a. ein Marker für zytotoxische T-Zellen.

CD4+ und CD8+ T-Zellen verändern sich morphologisch und funktionell im Lauf ihrer Lebensspanne und gemäß den Erfordernissen der jeweiligen immunologischen Lage des Organismus. Neben naiven und effektorischen T-Zellen werden zentrale und effektorische T-Gedächtniszellen sowie Regulator-T-Zellen beschrieben, die jeweils charakteristische Oberflächenantigene ausbilden.

Naive B- und T-Zellen sowie zentrale T-Gedächtniszellen exprimieren den C-C Chemokin Rezeptor 7, kurz CCR7 [13]. Dieser stellt das Homing und die Migration von naiven T-Zellen

in die Lymphknoten zum regelrechten Priming sicher [14]. Jedoch hat CCR7 viele weitere Funktionen, die unter anderem die Unterstützung des Überlebens naiver T-Zellen und der Funktion regulatorischer T-Zellen (s.u.) sowie die Mobilisierung von folliculären B-Zellen zur Interaktion mit T-Helferzellen umfassen [13]. Demzufolge erscheint CCR7 im Zusammenspiel mit seinen Liganden als ein unbedingt notwendiger Dirigent adaptiver Immunantworten, der die Bewegung von Leukozyten zwischen Lymphknoten und Entzündungsherd in beide Richtungen steuert [15].

Die zwei Isoformen CD45RA und CD45RO der Tyrosinphosphatase CD45 lassen eine genauere Klassifizierung der genannten Subpopulationen zu. Während CD45RA von den meisten naiven T-Zellen exprimiert wird, ist CD45RO hauptsächlich auf Effektor- und Gedächtnis-T-Zellen zu finden [16]. Letztere Zellen sind für das immunologische Gedächtnis des Menschen verantwortlich und können mithilfe des oben genannten Oberflächenmarkers CCR7 und CD27 typisiert werden [17]. Zentrale T-Gedächtniszellen sind langlebige Gedächtniszellen, die dendritische Zellen aktivieren oder zu CCR7-Effektor-Zellen transformieren. Effektor-T-Gedächtniszellen hingegen behalten trotz ihrer Langlebigkeit ihr effektorisches Potential. Typische Effektor-T-Zellen lysieren von Erregern befallene Zellen und produzieren Interferon γ (IFN- γ) – ein Zytokin zur Aktivierung von Makrophagen [18].

Als Marker für T-Zell-Aktivierung werden neben HLA-DR auch CD25 und CD69 genutzt.

CD25, die Alpha-Kette des Interleukin-2-Rezeptors (IL-2R), wird vornehmlich von naiven und Effektor-T-Zellen (CD4+ bzw. CD8+) während deren Aktivierung synthetisiert. Die Verwendbarkeit als Aktivierungsmarker [5] resultiert aus dessen Funktion: Auf ruhenden T-Zellen formieren eine Beta (CD122)- und Gamma (CD132)-Kette den niedrig affinen IL-2R $\beta\gamma_c$ -Komplex. Werden naive T-Zellen durch Antigen- und Costimulatorkontakt aktiviert, komplettiert die IL2 α -Kette den daraufhin hochaffinen IL-2 $\alpha\beta\gamma_c$ -Rezeptor, der auf geringste IL2-Konzentrationen anspricht [2]. Interleukin-2 ist ein Wachstums-, Entwicklungs- und Überlebenssignal für T-Lymphozyten. Die selbständige Produktion durch (v.a. CD4 positive) T-Zellen und Erkennung von IL-2 über den IL-2-Rezeptor ermöglicht das Herstellen und Aufrechterhalten einer zellulären Immunantwort [1].

Der zur Typ II C-Lektin-Superfamilie gehörende Membranrezeptor CD69 wird als früher Aktivierungsmarker für Leukozyten und speziell T-Lymphozyten angesehen [19]. Die Expressierung von CD69 scheint eine immunregulatorische Rolle zu spielen, da auch regulatorische T-Zellen unter gewissen Umständen CD69 exprimieren, was auf eine mögliche wichtige Rolle in der Differenzierungskontrolle dieser Zellen hinweist [20].

Um schließlich auch regulatorische T-Zellen verlässlich detektieren zu können, ist als intrazellulärer Immunmarker das Forkhead Box Protein 3 (FoxP3) bekannt. Es findet als

bislang genauester Marker für CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Regulator-T-Zellen Verwendung [21]. Diese sind in zwei Untergruppen gliederbar: natürliche regulatorische T-Zellen (nTregs) werden im Thymus gebildet, entsprechen 10 bis 15 Prozent aller CD4 T-Lymphozyten im Blutkreislauf und sind hochaffin für körpereigene (Selbst-) Antigene [2]. Adaptive oder induzierte regulatorische T-Zellen (iTregs) hingegen entwickeln sich in der Peripherie aus naiven CD4 T-Lymphozyten bei Antigen-Stimulation [22]. Tregs tragen meist hohe Konzentrationen von CD25 auf ihrer Oberfläche. Sie exprimieren den hochaffinen IL-2R $\alpha\beta\gamma_c$ im Gegensatz zu den oben genannten T-Zellen konstitutiv, d.h. nicht nur bei Exposition von Antigenen. Unterscheidbar von anderen T-Zellklassen sind natürliche Tregs durch Vorhandensein von CD4, CD25 und FoxP3 [23]. Tregs kontrollieren als relativ langlebige Zellen Immunantworten in suppressiver Weise und sind für die Bewahrung des Organismus vor Autoimmunkrankheiten und Allergien unerlässlich [24].

1.1.3 Das alternde Immunsystem

Gleichsam wie der Mensch sich kontinuierlich mit voranschreitender Lebenszeit phänotypisch sichtbar verändert, so unterliegt auch dessen Immunsystem einem Alterungsprozess. Mit zunehmendem Alter nimmt die Immunkompetenz des adaptiven Immunsystems ab, während das angeborene Immunsystem eine größtenteils unveränderte oder sogar erhöhte Aktivität zeigt [25,26]. Diese „Immunseneszenz“ getaufte Entwicklung führt zu einer erhöhten Anfälligkeit Älterer gegenüber Infektionserkrankungen, welche durch die vorliegende geringere zellvermittelte Immunantwort auf Impfungen im Alter noch verstärkt wird [27,28].

Mit der Rückbildung des Thymus, dem Entwicklungsort der T-Lymphozyten, geht eine proportionale Verminderung der naiven CD4⁺ T-Zellen und eine Vermehrung von CD4⁺ T-Gedächtniszellen einher [29]. In noch stärkerer Ausprägung werden verminderte Subpopulationen von naiven CD8⁺ T-Zellen und vermehrte Zahlen spät differenzierter CD8⁺ T-Zellen beobachtet [30]. Die B-Zell-Reihe erscheint ebenfalls beeinträchtigt. Reduzierte Antikörper-Immunantworten und mangelnde B-Zell-Quantität und -Qualität im Alter beeinträchtigen die Gesundheit älterer Menschen [31–34].

Scheinbar unvereinbar zum progressiven Verlust adaptiver Immunkompetenzen verhalten sich Zellen des angeborenen Immunsystems – vornehmlich Monozyten bzw. Makrophagen, die proinflammatorisch aktiv sind und eine unterschwellige chronische Entzündungsreaktion aufrechterhalten. Die chronische Entzündungsreaktion resultiert wahrscheinlich aus dem, mit den vielen Lebensjahren kontinuierlich erlebten, Antigen-Stress [35]. Chronisch geringfügig erhöhte proinflammatorische Zytokinspiegel wie von TNF- α oder IL-6 können Risikofaktoren für die Entwicklung altersabhängiger Erkrankungen wie Atherosklerose, Tumoren und auch der Alzheimer-Demenz sein [36], worauf später noch weiter eingegangen wird. Jenes Konzept

des „Inflammaging“ steht der „Immunseneszenz“ jedoch nicht gegensätzlich gegenüber. Vielmehr könnte die beständige inflammatorische Aktivität eine Notwendigkeit für das Weiterbestehen des adaptiven Immunsystems darstellen [37].

Auch das zentrale Nervensystem (ZNS) könnte durch die mit dem Alter steigende Durchlässigkeit der Blut-Hirn- bzw. Blut-Liquor-Schranke (BLS) für Leukozyten, insbesondere während inflammatorischer Aktivitäten, beeinträchtigt werden [38]. Beide Schranken sorgen für die Trennung des Blut- und Hirnmilieus, kontrollieren den Austausch von Zellen und Molekülen und halten somit das besondere immunologische Privileg des zentralen Nervensystem aufrecht [39]. Bei der so verstärkt ermöglichten Infiltration peripherer Immunzellen in das Gehirn konnten neuroprotektive Effekte [40], aber auch die Inhibition schützender Interventionen durch periphere T-Zellen [41] beobachtet werden.

1.1.4 Das Immunsystem dementer Patienten

Chronische inflammatorische Prozesse stehen mit den häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen, darunter die Alzheimer-, vaskuläre und frontotemporale Demenz, in Verbindung. Dieser Prozess der Neuroinflammation geht mit einer verstärkten Aktivierung von sog. Mikroglia einher [42,43]. Mikroglia-Zellen fungieren als phagozytischer und Zytokinproduzierender Teil der angeborenen Abwehr im zentralen Nervensystem [44,45]. Jene Mikroglia im Gehirn von Morbus-Alzheimer-Patienten wird u.a. durch APP (Amyloid Precursor Protein) aktiviert, lagert sich an Amyloid- β -Plaques an und produziert inflammatorische Zytokine [46,47]. Jene zentrale Immunantwort kann aufgrund der Mikroglia-Zelleigenschaften und der Ausschüttung verschiedenartiger Zytokine und trophischer Faktoren sowohl eine schützende als auch eine pathologische Rolle einnehmen [47–49].

Verschiedene Hinweise deuten auf eine verstärkte periphere Immunantwort dementer Patienten hin. Periphere T-Zellen wurden vermehrt bei Alzheimer-Demenz-Patienten im Hirnparenchym festgestellt [50]. Monozyten peripheren Ursprungs bzw. Makrophagen sind in der Lage, Amyloid- β zu phagozytieren [51]. Infolge einer Störung der Blut-Liquor-Schranke gelangen diese Zellen vermehrt zu A β -Plaques im Gehirn, was einerseits zur effektiven Elimination der Plaques führen kann [52]. Andererseits könnte die Phagozytose von löslichem A β die Umwandlung desselben in eine pathologische Form verursachen, was in Neurotoxizität und Gewebedegeneration resultieren kann [53].

Die Blut-Liquor-Schranke kann ebenfalls bei vaskulär bedingten Demenzen in ihrer Funktion beeinträchtigt werden. Entzündungszellen wie neutrophile Granulozyten, T-Zellen und Makrophagen werden bspw. nach einem Schlaganfall in großer Zahl zur Stelle des Ereignisses rekrutiert [54]. Sie induzieren gemeinsam mit der residenten Mikroglia eine Entzündung, die u.a. durch Exprimierung von Zytokinen zum Gewebeuntergang führt [55].

1.2 Demenzformen

1.2.1 Demenz im Allgemeinen

Epidemiologie

Demenzerkrankungen entwickeln sich in Deutschland und auf der ganzen Welt zu einer immer größer werdenden gesellschaftlichen Herausforderung. In Deutschland leiden Schätzungen zufolge 1,5 Millionen Menschen an den verschiedenen Formen der Demenz [56]. Etwa 300000 Neuerkrankungen pro Jahr mit steigender Tendenz lassen diese Zahl bis 2020 auf voraussichtlich 1,8 Millionen ansteigen. Bis zum Jahr 2050 geht man von einer Verdopplung der aktuellen Anzahl auf 3 Millionen Erkrankte aus [57]. Weltweit müssen rund 44 Millionen Menschen mit einer dementiellen Erkrankung leben. Doch könnte sich diese Summe laut Statistiken bis 2030 verdoppeln und bis 2050 sogar verdreifachen [58].

Die Prävalenz der Demenz steigt drastisch mit dem Alter der Bevölkerung. Bei 60- bis 64-Jährigen liegt sie bei 0,6% und steigt bei 90- bis 94-Jährigen auf bis zu 41,0% [59]. Frauen sind indes häufiger als Männer betroffen: sie stellen rund 70% des Krankenbestandes [56]. Letzteres kann vornehmlich durch die generell höhere Lebenserwartung weiblicher Personen begründet werden.

Definition und Symptomatik

Das ICD-10 (Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme) definiert Demenz als Syndrom infolge einer meist chronisch verlaufenden oder fortschreitenden Erkrankung des Gehirns, bei der viele höhere kortikale Funktionen gestört sind [60]. Dazu zählen Gedächtnis, Denken, Orientierung, Auffassung, Rechnen, Lernfähigkeit, Sprache und Urteilsvermögen. Das Bewusstsein ist dabei nicht getrübt. Begleitend treten Veränderungen der emotionalen Kontrolle, des Sozialverhaltens oder der Motivation auf. Zur Diagnosestellung einer Demenz müssen die Symptome seit mindestens 6 Monaten vorliegen.

Diagnostik

Als wichtigstes diagnostisches Verfahren ist die genaue Eigen-, Fremd-, Familien-, Sozial-, Medikamenten- und vegetative Anamnese zu werten [61]. Weiterhin ist neben der körperlichen, internistischen und neurologischen Untersuchung der psychopathologische Befund wegweisend. Dieser dient insbesondere zum Ausschluss von Differentialdiagnosen wie Delir, Depression und Negativsymptomatik bei Schizophrenie [61]. Als einfach durchzuführende kognitive Kurztests sind z.B. der Mini-Mental-State-Test (MMST) oder der DemTect geeignet [62,63]. Mithilfe des MMST kann außerdem eine orientierende Einteilung

des Schweregrads einer (Alzheimer-) Demenz vorgenommen werden [64]. Von 30 möglichen Punkten geben etwa 18 bis 26 Punkte eine leichte Demenz an, während 10 bis 17 Punkte für eine mittelgradige und 0 bis 9 Punkte für eine schwere Demenz sprechen (gemäß Novartis-Klassifikation). Für die tiefer gehende neuropsychologische Diagnostik ist jedoch ein ausführliches Testverfahren wie die CERAD (Consortium to establish a Registry for Alzheimer's Disease)-Testbatterie bei Verdacht auf Alzheimer-Demenz [65] angezeigt. Auch mit Demenz in Verbindung stehende Verhaltensänderungen oder Beeinträchtigungen der Alltagsbewältigung sollten mit standardisierten Skalen erkannt werden [66]. Dazu zählt beispielsweise die CERAD Behavior Rating Scale for Dementia (CERAD-BRSD).

Außerdem können mittels laborchemischer Untersuchungen Differentialdiagnosen, wie eine Hypothyreose, von einer Demenz abgegrenzt werden. Die Liquordiagnostik dient zum einen dem Ausschluss inflammatorischer Hirnerkrankungen wie Virusenzephalitiden oder Neuroborreliose, zum anderen der Diagnoseunterstützung von neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Demenz [61]. Untersucht werden sollen das Liquorgrundprofil sowie Neurodegenerationsmarker, welche hinweisend auf die Alzheimer-Krankheit sein können. Diese werden im Abschnitt „Demenz bei Alzheimer-Krankheit“ näher betrachtet. Die strukturelle zerebrale Bildgebung hilft bei der Erkennung möglicherweise behandelbarer Erkrankungen, die keinen degenerativen Ursprung haben, wie z.B. Tumoren, subdurale Hämatome oder ein Normaldruckhydrozephalus [67]. Eine cMRT (kraniale Magnetresonanztomographie) kann außerdem einen Beitrag zur Differentialdiagnose zwischen frontotemporaler Demenz (FTD) und Alzheimer-Demenz leisten [68]. Um eine vaskuläre Demenz von der Alzheimer-Krankheit unterscheiden zu können, ist eine cMRT im Verbund mit anderen Informationen wie Anamnese, Dopplersonographie etc. ein wesentliches diagnostisches Instrument [69].

1.2.2 Demenz bei Alzheimer-Krankheit

Epidemiologie

Die Alzheimer-Krankheit ist die am häufigsten auftretende Demenzerkrankung. Ungefähr zwei Drittel aller in Deutschland an Demenz erkrankten Menschen leiden an Morbus Alzheimer [57]. Laut Hochrechnungen könnte im Jahr 2050 einer von 85 Menschen weltweit Alzheimer haben, was einer globalen Epidemie gleich käme [70].

Definition

Das ICD-10 beschreibt die Alzheimer-Demenz (AD) als primär degenerative zerebrale Krankheit mit unbekannter Ätiologie und charakteristischen neuropathologischen und neurochemischen Merkmalen – mit schleichendem Beginn und einer langsamen, doch

stetigen Progredienz über einen jahrelangen Zeitraum [60]. Es unterscheidet einen Typ 1 mit spätem Beginn ab dem 65. Lebensjahr und einen Typ 2 mit frühem Beginn, d.h. vor dem 65. Lebensjahr. Typ 1 zeigt eine langsame Progredienz und Gedächtnisstörungen als hauptsächliche Beeinträchtigung, während Typ 2 relativ schnelle Verschlechterungen und vielfältigere Störungen der kortikalen Funktionen aufweist. Jedoch kann derzeit keine sichere Unterscheidung beider Typen vorgenommen werden [61]. Auch eine gemischte Form der Demenz wird genannt, was das Vorliegen einer Demenz mit Alzheimer- und vaskulären Komponenten beschreibt.

Symptomatik

Das häufigste Zeichen im frühen Krankheitsstadium ist eine schleichend zunehmende Vergesslichkeit mit fortschreitendem intellektuellen Abbau im Verlauf [71]. Depressive Gemütszustände können anfangs die Erkennung der Erkrankung erschweren. Weiterhin weisen Patienten mit fortschreitendem Morbus Alzheimer mannigfaltige neuropsychologische Symptome wie Agnosie und Sprachstörungen auf. Nicht kognitive Störungen wie Unruhe, Wahn und Halluzinationen sind ebenfalls zu beobachten. Im Stadium der schweren AD kann es schließlich zu Bettlägerigkeit bei höchster Beeinträchtigung kognitiver und motorischer Funktionen kommen [71].

Diagnostik

Es existieren klinische Diagnosekriterien nach NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke bzw. Alzheimer's Disease and Related Disorders Association), welche die Differenzierung zwischen wahrscheinlicher und möglicher AD erlaubt [72]. Für die Diagnose einer wahrscheinlichen AD muss der Nachweis einer Demenz durch klinische Untersuchung und neuropsychologische Tests erbracht worden sein. Es müssen in mindestens zwei kognitiven Bereichen Defizite zu erkennen sein; gemeinsam mit einer progredienten Störung des Gedächtnisses und anderer kognitiver Funktionen. Neben dem Ausschluss anderer ursächlicher System- oder Hirnerkrankungen dürfen keine Bewusstseinsstörungen vorliegen. Des Weiteren gibt es eine Reihe unterstützender Befunde für diese Diagnose wie die Beeinträchtigung von Aktivitäten im Alltag oder eine positive Familienanamnese. Die klinische Diagnose der Alzheimer-Krankheit hat eine Genauigkeit von über 90% [73]. Nach Ausschluss von internistischen oder infektiösen Ursachen durch Blutlabordiagnostik und zerebrale Bildgebung erfolgt zur ätiologischen Differenzierung zwischen den Demenzformen eine erweiterte Diagnostik. Für die Alzheimer-Demenz spricht eine hippocampale und temporoparietale Atrophie im Magnetresonanztomogramm [71]. Mittels diagnostischer Liquorpunktion können im Liquor sog. Neurodegenerationsmarker bestimmt werden. Es sind momentan drei Proteine in der cerebrospinalen Flüssigkeit (CSF)

bekannt, die als Biomarker für die Alzheimer-Krankheit fungieren: die Gesamtmenge an Tau-Protein (t-tau), welche das Ausmaß der axonalen Degeneration zeigt; die Menge an phosphoryliertem Tau, die sog. neurofibrilläre Bündel (NFTs) bilden (p-tau); und Amyloid β 1-42 ($A\beta$ 1-42), welches lösliche Oligomere und extrazelluläre Plaques bildet und bei Demenz vom Alzheimer-Typ vermindert im Liquor auftritt [74]. Da die Konzentration des $A\beta$ 1-42 von der Gesamtkonzentration aller $A\beta$ -Isoformen abhängig ist, wird zusätzlich der Quotient aus $A\beta$ 1-42 und $A\beta$ 1-40, was die zahlenmäßig größte Fraktion der $A\beta$ -Isoformen ausmacht, bestimmt. Dieser fällt bei Morbus Alzheimer nochmals geringer aus als bei der alleinigen Messung von $A\beta$ 1-42 [75] und erhöht somit Sensitivität und Spezifität der Methode. Mithilfe von bestimmten Grenzwerten kann so der Verdacht auf eine Erkrankung erhärtet werden.

Vollkommene Gewissheit über das Vorliegen der Krankheit kann auch heutzutage nur post mortem per histopathologischer Hirnuntersuchung erzielt werden.

Risikofaktoren

Das fortschreitende Alter stellt den wichtigsten Risikofaktor dar. Bedeutender Risikofaktor ist zudem das Epsilon-4-Allel des Apolipoprotein E (ApoE)-Gens auf Chromosom 19. Das ApoE-Gen ist assoziiert mit einem erhöhten Lebenszeitrisko für Alzheimer-Demenz, wenn es in der Epsilon-4-Form vorliegt [76]. Nicht empfohlen wird jedoch die isolierte ApoE-Genotyp-Bestimmung, was mit einer mangelnden Sensitivität und Spezifität begründet wird [61]. Andere bekannte Faktoren sind die oben genannte positive Familienanamnese, das weibliche Geschlecht, eine vorausgegangene Depression, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie und vaskuläre Faktoren wie arterielle Hypertonie [77,78]. Selten sind Genmutationen im Amyloid Precursor Protein-, Presenilin1- oder Presenilin2-Gen für Früherkrankungen verantwortlich [79]. Menschen mit leichter kognitiver Störung (Mild Cognitive Impairment, MCI) und Gedächtnisproblemen entwickeln eher eine AD als Menschen ohne MCI [80]. Die MCI bezeichnet laut Mayo-Kriterien eine verminderte Gedächtnisleistung, welche jedoch aufgrund der geringeren Ausprägung und fehlenden Alltagsbeeinträchtigung nicht als Demenz zu diagnostizieren ist [81,82].

Ätiopathogenese

Obwohl die Alzheimer-Krankheit seit mehr als 100 Jahren bekannt ist, sind die zugrunde liegenden komplexen Pathomechanismen noch immer nicht gänzlich erforscht. Es wird heute von einer multifaktoriellen Störung gesprochen, die von mehreren Hypothesen zu erklären versucht wird. Die charakteristischen pathologischen Kennzeichen bestehen in einer regional abgegrenzten neuronalen Dysfunktion bzw. einem Untergang von Neuronen, der Anhäufung extraneuronaler seniler Amyloid- β 42-Plaques und intrazellulärer neurofibrillärer Bündel aus

hyperphosphorylierten Tau-Proteinen [83]. Die Krankheit ist weiterhin durch eine kortikale und hippocampale Atrophie, oxidativen Stress und Inflammationsprozesse geprägt [84].

Die A β -Hypothese ist die bekannteste Theorie zur Krankheitsentstehung. Ihr zufolge führt die pathologische Spaltung des Amyloid Precursor Proteins (APP) durch β - und γ -Sekretasen zu Disbalancen zwischen Produktion und Abräumung von Amyloid β -Peptiden [85]. Diese aggregieren letztendlich zu unlöslichen A β 42-Plaques [86]. Diese senilen Plaques verursachen laut einigen Studien oxidativen Stress, Tau-Protein-Hyperphosphorylation und toxische Effekte bezüglich Synapsen sowie Mitochondrien [83,87]. Die in Alzheimer-Gehirnen prominente neuronale und vaskuläre Degeneration könnte ebenfalls eine Folge der A β 42-Überladung sein [88]. Zudem scheinen die senilen Plaques Mikroglia zu aktivieren, was zur Produktion proinflammatorischer Zytokine führt, die wiederum Astrozyten-Neuronen-Komplexe in der Nähe vermehrt A β 42-Oligomere herstellen lassen – was zu einem circulus vitiosus führen könnte [89]. Die physiologische Funktion des APP und A β ist allerdings noch weitgehend unbekannt, was einige Fragen offenlässt [86].

Das genannte Tau-Protein kommt in Axonen von Neuronen vor und ist für den korrekten Zusammenbau und die Stabilität von Mikrotubuli verantwortlich [84]. Daher spielt es im axonalen Transport eine tragende Rolle [90]. Findet eine post-translationale Hyperphosphorylierung des Proteins statt, verringert sich dessen Affinität zu Mikrotubuli. Ein gestörter axonaler Transport und zytoskelettale Instabilität sind die Folgen [91]. Tau-Oligomere bilden sich und formieren intraneuronale fibrilläre Bündel, die möglicherweise neurotoxisch wirken – eines der pathologischen Kennzeichen der Tauopathie Alzheimer-Demenz [91].

Eine weitere ätiologische Hypothese stellt das mittlerweile prinzipiell anerkannte Konzept der Neuroinflammation dar. Der Begriff Neuroinflammation bezeichnet einen gegen infektiöse Bedrohungen und Schädigungen gerichteten Abwehrmechanismus des zentralen Nervensystems [92]. Dieser eigentlich positive Vorgang steht im Verdacht, sich bei neurodegenerativen Störungen, speziell bei Morbus Alzheimer, gegen das Selbst zu richten und zum fortschreitenden Verfall neuronaler Strukturen beizutragen [93]. Wie bereits angesprochen werden vermehrt aktivierte Mikroglia und Astrozyten in Gegenwart von A β 42-Plaques gefunden. Aktivierte Mikroglia und Astrozyten sezernieren eine Vielzahl an entzündungsfördernden Zytokinen (TNF- α , IL-1 β und IL-6), Chemokinen, Prostaglandinen und reaktive Sauerstoffspezies (ROS), was die neuronale Degeneration vorantreiben könnte [94]. Es wird berichtet, dass TNF- α , IL-1 β und IL-17A die Blut-Liquor-Schranke schädigen können [95]. Auch A β 42 scheint diese wichtige immunologische und zelluläre Barriere beeinträchtigen zu können [96]. Dies wurde ebenfalls für Makrophagen beobachtet, die Hippocampus-nahe Blut-Liquor-Schranken-Bereiche von Alzheimer-Patienten infiltrierten [97]. Die Beteiligung des in dieser Studie untersuchten peripheren Immunsystems könnte nicht zuletzt durch eine

„undichte“ Blut-Liquor-Schranke zustande kommen; ermöglicht diese doch ein Eindringen peripherer Immunzellen in Neuronen-nahe Gebiete. In mehreren Studien wurden bei bestehender AD veränderte Verteilungen von Zellen sowohl des angeborenen als auch des erworbenen Immunsystems im Blut nachgewiesen [26,98–100]. Weiterhin ist jedoch unklar, ob Neuroinflammation Ursache oder Konsequenz neurodegenerativer Erkrankungen, wie der Alzheimer-Demenz, ist.

Therapie

Die Therapie der Alzheimer-Demenz beinhaltet pharmakologische und psychosoziale Komponenten im Rahmen eines Gesamtbehandlungskonzeptes [61]. Da die Krankheitsverläufe recht unterschiedlich ausfallen können, sollte die therapeutische Intervention individuell und Schweregrad-abhängig erfolgen [61]. In Deutschland sind derzeit vier Medikamente zugelassen: die Acetylcholinesterase-Hemmer (AChEI) Donepezil, Galantamin und Rivastigmin sowie der N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor-Antagonist (NMDA-RA) Memantin [64,101].

Es ist jedoch anzumerken, dass alle vier zugelassenen Medikamente nur der symptomatischen Behandlung dienen können. Eine ursächliche Therapie ist nach wie vor nicht möglich. Es wird an vielfältigen Ansätzen geforscht, die beispielsweise A β , die Tau-Protein-Phosphorylierung oder oxidativen Stress anvisieren oder gar eine Neurogenese bzw. epigenetische Modifikationen zum Ziel haben [102].

1.2.3 Vaskuläre Demenz

Epidemiologie

Die Diagnose vaskuläre Demenz wird nach der Demenz vom Alzheimer-Typ am häufigsten gestellt [103]. Während rund 60 Prozent aller Demenzen dem Alzheimer-Typ zuzuordnen sind, wies ein nicht gerade geringer Anteil von 15 bis 34 Prozent an post mortem untersuchten Demenzfällen in den USA vaskuläre Schädigungsmuster auf – ob mit oder ohne Alzheimer-Pathologien assoziiert [104].

Definition und Ätiopathogenese

Demenzen als Folge makro- und mikrovaskulär bedingter zerebraler Schädigungen werden in der ICD-10 unter dem Oberbegriff „vaskuläre Demenzen“ (VD) zusammengefasst. Die vaskuläre Demenz an sich wird beschrieben als Ergebnis einer Hirninfarzierung im höheren Alter bei Vorliegen vaskulärer Erkrankungen, zu denen auch die arterielle Hypertonie gehört. Dabei kann der Beginn durchaus akut sein. Häufige Gründe für eine rasche Entwicklung vaskulärer Demenzen sind Insulte aufgrund zerebrovaskulärer Thrombosen, Embolien oder

Blutungen [61]. Weitere Unterteilungen der VD sind die Multiinfarkt-Demenz infolge mehrfacher transientser ischämischer Attacken (TIA), die subkortikale vaskuläre Demenz oder Enzephalopathie (SVE) mit Hypoperfusion des Marklagers und sonstige vaskuläre Demenzen.

Symptomatik

Je nach Bereich des Insults und Schädigungsausmaß sind auch die Symptome variabel ausgeprägt. Defizitäre exekutive und aufmerksamkeitsbezogene Funktionen, Wesensänderung (v.a. bei SVE) und Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses sind häufig vorkommende Symptome [105]. Der Verlauf kann ebenfalls individuell verschieden sein und stark fluktuieren. Es sind Phasen mit zeitweiser Besserung und ohne Fortschreiten der Erkrankung möglich [61]. Oft treten erst im Verlauf Gedächtnisstörungen sowie fokale neuropsychologische Ausfälle auf [71].

Diagnostik

Bestimmend für eine VD sind nach den NINDS-AIREN (Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences)-Kriterien [106] das Auftreten von Demenz mit Alltagseinschränkung, verbunden mit dem Nachweis einer zerebrovaskulären Erkrankung im CT oder cMRT. Dabei ist die kausale Verknüpfung beider Vorgänge für die VD, bspw. durch plötzliche kognitive Verschlechterung oder Demenzbeginn bis zu 3 Monaten nach Schlaganfall, definierend. Für die korrekte Klassifizierung kommt dem Zusammenspiel zwischen ausführlicher (Fremd-) Anamnese, klinischen Informationen und Bildgebung eine zentrale Bedeutung zu [71].

Risikofaktoren

Als Risikofaktoren für vaskuläre Demenzen kommen besonders kardiovaskuläre Erkrankungen in Betracht. Nach einem Schlaganfall verdoppelt sich das Risiko, eine Demenz zu entwickeln [107]. Systemischer Bluthochdruck kann u.a. zu solch einem Ereignis führen und ist ebenfalls als wichtiger Risikofaktor für VD bekannt [108]. Diabetes mellitus Typ 2 kann mikro- und makrovaskuläre Schäden verursachen, was mit einem 1,5- bis 2,5fach erhöhtem Demenzrisiko einhergeht [109]. Neben dem metabolischen Syndrom, Alkoholmissbrauch und anderen Faktoren spielt auch das fortgeschrittene Alter eine Rolle.

Therapie

Die Behandlung einer vaskulären Demenz besteht einerseits in der Sekundärprophylaxe, um Verschlechterungen durch nachfolgende Re-Insulte bzw. progrediente SVE Einhalt zu gebieten [105]. Speziell die vaskulären Risikofaktoren sind zu behandeln. Neurorehabilitatorische Maßnahmen nach Schlaganfall sind außerdem indiziert. Andererseits

gibt es – wie bei allen Demenzen – keine ursächliche Therapie. Ebenso fehlt eine zugelassene symptomatische Therapie der VD. Eine Begleittherapie, bestehend aus psychosozialen Interventionen, ist wie bei anderen Demenzformen wesentlicher Bestandteil der ganzheitlichen und leitliniengerechten Versorgung.

1.2.4 Frontotemporale Demenz

Epidemiologie

Die auch Pick-Krankheit genannte frontotemporale Demenz (FTD) betrifft vornehmlich jüngere Menschen im Alter von 40 bis 60 Jahren. Damit kommt sie bezüglich Inzidenz und Prävalenz in diesem Alterssegment dem Morbus Alzheimer nahe, obwohl sie insgesamt seltener als Alzheimer-, vaskuläre und Lewy-Körper-Demenz ist [110,111].

Definition

Bei der frontotemporalen Demenz handelt es sich um eine präsenile degenerative Hirnerkrankung. Dabei ist insbesondere der Lobus frontalis betroffen, wodurch es zu Persönlichkeitsstörungen und emotionalen Veränderungen mit folgendem dementiellen Abbauprozess kommt [71].

Symptomatik

Hauptmerkmal der FTD ist eine langsam fortschreitende Wesens- und Persönlichkeitsänderung, gemeinsam mit dem Verlust sozialer Kompetenzen [61]. Je nach Unterart der Erkrankung sind Sprache, Gedächtnis und Verhalten zunächst verschieden stark betroffen. Gemäß den klinisch-diagnostischen Konsensuskriterien [112] werden die frontale bzw. frontotemporale Verlaufsform (fvFTD), die primär-progressive (nichtflüssige Aphasie) (PNFA) und die semantische Demenz (SD) unterschieden.

Die frontale Verlaufsform als häufigste Manifestation ist durch eine Persönlichkeitsänderung geprägt. Sie offenbart sich durch auffälliges Verhalten in der Öffentlichkeit (sog. „Witzelsucht“) oder Apathie mit stark reduzierten sozialen Interaktionen [111]. Vermindertes empathisches Vermögen und Sprachdefizite, wie Perseverationen, Echolalie oder Stummheit sind weitere Merkmale [113].

Diagnostik

Für die klinische Diagnose einer wahrscheinlichen frontotemporalen Demenz ist neben der sorgfältigen Differenzierung aller auftretenden Symptome die zerebrale Bildgebung, speziell das MRT, entscheidend. Die frontale Hirnatrophie ist je nach FTD-Subtyp unterschiedlich: z.B. ist bei fvFTD-Patienten der frontale Cortex meist uni- oder bilateral umfassend betroffen, während Patienten mit semantischer Demenz oft beidseitige Atrophien der Temporallappen aufweisen [111].

Risikofaktoren

Risikofaktoren für frontotemporale Demenzen sind eine positive Familienanamnese und möglicherweise Schädel-Hirn-Traumata [114]. Berücksichtigt man die enorme Spanne des Erkrankungsalters von 20 bis 85 Jahren [115], dann erscheinen genetische Defekte als eine von vielen möglichen Ursachen als sehr plausibel. Ein Großteil dieser familiär bedingten frontotemporalen Demenzen wird mit ubiquitinierten immunoreaktiven Einschlüssen im Zytoplasma oder dem Zellkern assoziiert [111], wobei die meisten Patienten eine ursächliche Progranulin (PRGN)-Genmutation tragen [116].

Therapie

Die Therapie der frontotemporalen Demenz ist auf ihre Symptome beschränkt - und selbst für die Behandlung dieser kann keine spezifische Empfehlung ausgesprochen werden [61]. Alle in Frage kommenden medikamentösen Interventionen, wie eine Neurotransmitter-Modifizierung, sind dementsprechend off-label. Häufig vorliegende Antriebsstörungen werden oftmals als Depression verkannt und folglich Therapieversuche mit Antidepressiva wie Sertralin eingeleitet. Grundsätzlich sind jedoch psychosoziale Behandlungen, bspw. kognitives Training, körperliche Aktivität oder Ergotherapie und die Schulung Angehöriger zentraler Teil der Behandlung.

1.3 Ziele der Arbeit

Vor dem Hintergrund einer wachsenden Zahl an Hinweisen für die Beteiligung des Immunsystems an der Pathogenese von Demenzen verfolgt diese Arbeit das Ziel, Veränderungen des zellulären Immunsystems im Blut von Demenz-Patienten nachzuvollziehen und aufzuzeigen. Dieser Ansatz stützt sich auf die Hypothese einer funktionsveränderten Blut-Liquor-Schranke, welche die Kommunikation von Immunzellen zwischen dem sonst geschützten Liquorraum und dem peripheren Blut ermöglicht und so infektiöses intrazerebrales Geschehen auch außerhalb dieses Raumes erfassbar macht. Doch interagieren auch im gesunden Gehirn speziell T-Lymphozyten mit dem zentralen Nervensystem – und dies anscheinend auf eine unterstützende Weise, welche neuroprotektiv und sogar Gedächtnis- und generell funktionsfördernd wirken soll [117]. Im Hinblick auf das einerseits „prokognitive“ und andererseits womöglich krankheitsfördernde Wesen von Lymphozyten und anderen Immunzellen werden in der vorliegenden Arbeit mit explorativem Charakter verschiedene leukozytäre Zelltypen des angeborenen und adaptiven Immunsystems in jeweils verschiedenen Entwicklungs- und Aktivierungsstadien zahlenmäßig untersucht.

Es soll die Möglichkeit geprüft werden, mittels einer unkomplizierten Blutabnahme krankheitsabhängige Immunprofile zu erstellen und damit ggf. eine Demenz einfacher als bisher zu eruieren. Zudem gibt es zur Zeit kaum Studien, die gezielt das periphere zelluläre Immunsystem von anderen Demenz-Formen als der Alzheimer-Demenz thematisieren. Dies betrifft insbesondere die vaskuläre und frontotemporale Demenz. Es wurde deshalb der Frage nachgegangen, ob und inwiefern sich Subpopulationen peripherer Immunzellen zum Diagnosezeitpunkt der betrachteten Demenzen von denen gesunder, gleichaltriger Menschen unterscheiden. Zusätzlich sollten weitere, möglicherweise beeinflussende Faktoren, wie Alter der Probanden, Geschlecht, MMST und Q-Albumin für die Überprüfung der Blut-Liquor-Schranken-Integrität ermittelt werden.

2 Material

2.1 Allgemein verwendete Materialien

2.1.1 Laborgeräte

Pipetten	Eppendorf, Hamburg
Reagenzglasschüttler	VWR International, Radnor, USA
Zentrifugen	EBA 20, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen
Durchflusszytometer	Becton Dickinson LSR Fortessa Cell Analyzer, BD Biosciences, USA

2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Verschlussfolie	Parafilm M, Bemis Flexible Packaging, Neenah, USA
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Blutentnahmeset	BD Safety-Lok, Becton Dickinson, Heidelberg
Blutentnahmeröhrchen	BD Vacutainer, Becton Dickinson, Heidelberg
FACS-Röhrchen (Rundboden, 5 ml)	Falcon, Corning Incorporated, Corning, USA
Zentrifugenröhrchen (Spitzboden, 15 ml und 50 ml)	Cellstar, Greiner Bio-One, Frickenhausen

2.2 Material für die Fluoreszenzfärbung

2.2.1 Reagenzien

Erythrozytenlyselösung	BD FACS Lysing Solution, BD Biosciences, Heidelberg
FoxP3 Färbepuffer-Set (Fix/Perm Verdünnungsmittel, Fix/Perm Konzentrat, Perm Konzentrat, 10-fach)	eBioscience, Frankfurt/Main
Albumin (aus Rinderserum)	Sigma-Aldrich, Buchs, Schweiz
Phosphate Buffered Saline (PBS) Dulbecco	Biochrom, Berlin

2.2.2 Pufferansetzungen

Erythrozytenlysepuffer (10 ml):

1 ml Erythrozytenlyselösung

9 ml Aqua dest.

FoxP3 Fixierungs-/Permeabilisierungspuffer (100 µl):

25 µl Fix/Perm Konzentrat

75 µl Fix/Perm Verdünnungsmittel

FoxP3 Permeabilisierungspuffer (1ml):

100 µl Perm Konzentrat, 10-fach

900 µl Aqua dest.

FACS-Puffer:

0,05 g Albumin (aus Rinderserum)

50 ml PBS Dulbecco

2.2.3 Leukozyten-Antikörper

Bezeichnung	Hersteller	Katalognummer	Zellklon	Panel	Menge pro Färbung
FITC Mouse-Anti-Human HLA-DR	BD Pharmingen, Heidelberg	555811	G46-6	1	0,5 µl
PE Mouse-Anti-Human CD3	BD Pharmingen, Heidelberg	555340	UCHT1	1	0,5 µl
Anti-Human CD14 APC-eFluor 780	eBioscience, Frankfurt/Main	47-0149-42	61D3	1	0,5 µl
Anti-Human CD19 eFluor 450	eBioscience, Frankfurt/Main	48-0198-42	SJ25C1	1	0,8 µl
Anti-Human CD56 APC	eBioscience, Frankfurt/Main	17-0567-42	CMSSB	1	0,8 µl
Anti-Human CD69 PE-Cy7	eBioscience, Frankfurt/Main	25-0699-42	FN50	1	0,8 µl
Anti-Human/NHP CD25 PE	eBioscience, Frankfurt/Main	12-0257-42	CD25-4E3	2	0,2 µl
Anti-Human FoxP3 APC	eBioscience, Frankfurt/Main	17-4776-42	PCH101	2	0,8 µl
Anti-Human CD197(CCR7) PE	eBioscience, Frankfurt/Main	12-1979-42	3D12	3	0,8 µl
Anti-Human CD45RA APC	eBioscience, Frankfurt/Main	17-0458-42	HI100	3	0,8 µl
Anti-Human CD45RO FITC	eBioscience, Frankfurt/Main	11-0457-42	UCHL1	3	0,8 µl
Anti-Human CD4 eFluor 450	eBioscience, Frankfurt/Main	48-0047-42	SK3	2,3	0,5 µl
Anti-Human CD8a PE-Cy7	eBioscience, Frankfurt/Main	25-0087-42	SK1	2,3	0,5 µl

Rat IgG2a κ Iso Control PE	eBioscience, Frankfurt/Main	12-4321-41	eBR2a	1,2,3	0,5 μ l
Rat IgG2a κ Iso Control APC	eBioscience, Frankfurt/Main	17-4321-41	eBR2a	1,2,3	0,5 μ l
Mouse IgG1 κ Iso Control APC-eFluor 780	eBioscience, Frankfurt/Main	47-4714-80	P3.6.2.8.1	1	0,5 μ l

2.2.4 Panel-Zusammenstellung

Tabelle 1: Panel-Zusammenstellung mit jew. Leukozyten-Antikörpern

Panel	Leukozyten-Antikörper
1	HLA-DR, CD3, CD14, CD19, CD56, CD69
2	CD4, CD8, CD25, FoxP3
3	CD4, CD8, CD45RA, CD45R0,CCR7

Aufgeführt sind die jeweilig in Panel 1 bis 3 verwendeten Leukozyten-Antikörper. Die Aufteilung erfolgte zur Minimierung der Überlappung von Licht-Emissionsspektren und damit zur Verbesserung der Detektionsgenauigkeit bei 3-Laser-Durchflusszytometer-Setup.

2.3 Software

FACS-Software	BD FACS DIVA Software Version 6.1.3, Firmware Version 1.9 (BDLSRII), BD Biosciences, USA
Statistik-Software	R Version 3.4.1 – Single Candle (2017-06-30)
Literaturverwaltung	Citavi Version 5.2.0.8, Swiss Academic Software GmbH, Schweiz

2.4 Patienten und Probanden

Die Studie erfolgte unter der Achtung geltenden Rechts, der Deklaration von Helsinki und der lokalen Ethikkommission (Ethikantragsnummer 30/13). 60 Alzheimer-Demenz-Patienten (34 weiblich, 26 männlich, Durchschnittsalter 79,9 Jahre), 20 vaskuläre Demenz-Patienten (15 weiblich, 5 männlich, Durchschnittsalter 78,4 Jahre) und 12 frontotemporale Demenz-Patienten (6 weiblich, 6 männlich, Durchschnittsalter 76,8 Jahre) wurde jeweils 10 ml Blut entnommen. 24 gesunde Probanden (17 weiblich, 7 männlich, Durchschnittsalter 69,8 Jahre), welche nicht an psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen litten, dienten als Kontrollen. Ihnen wurde ebenfalls 10 ml Blut entnommen. Alle demographischen Daten können Tabelle 2 (siehe unter 4.1.) entnommen werden. Ein Großteil des gewonnenen Blutes wurde dabei zu Routine-Laboruntersuchungen im Rahmen der Demenz-, Differential- und Ausschlussdiagnostik verwendet, während nur etwa 150 µl Blut für die eigentliche immunologische Färbung aufgewandt wurde (siehe unten).

Eine Einverständniserklärung seitens Patienten und Probanden war zwingende Voraussetzung zur Teilnahme. Allen Personen wurde die anonymisierte wissenschaftliche Verwendung des Probenmaterials schriftlich sowie mündlich erläutert. Hiernach erfolgte die schriftliche Zustimmung durch die Teilnehmer bzw. deren gesetzliche Vertreter.

Zu den Einschlusskriterien zählten das Alter der Patienten bzw. Probanden von 46 bis 93 Jahren und die oben genannten Diagnosen nebst vorliegender schriftlicher Einwilligung.

Ausschlusskriterien bestanden im Vorliegen immunologischer, infektiöser und traumatischer Begleiterkrankungen sowie terminaler Erkrankungen, welche etwaige Einflüsse auf das Gehirn haben. Tumorleiden wurden anamnestisch und durch ein Routinelabor ebenso ausgeschlossen wie schwere Leber-, Nieren-, Herz- oder Lungenerkrankungen. Zudem wurde sichergestellt, dass im Vorfeld der Untersuchung und zum Abnahmezeitpunkt keinerlei Behandlung der Patienten mit Antidementiva oder immunsuppressiven bzw. -modulierenden Substanzen wie bspw. Cortison erfolgte. Bei Nichteinwilligung in das Geschehen erfolgte ebenso ein Ausschluss.

Die Diagnose der jeweiligen Leiden und die damit einhergehende Gruppeneinteilung erfolgte gemäß den klinischen Diagnosekriterien nach NINCDS-ADRDA für AD-Patienten, nach NINDS-AIREN-Kriterien für VD-Patienten bzw. nach klinisch-diagnostischen Konsensuskriterien (nach Neary et. al 1998) der frontotemporalen Demenz für FTD-Patienten.

Alle Demenzpatienten wurden im Rahmen der Diagnosestellung und des Ausschlusses etwaiger Differentialdiagnosen neuropsychologischen Testungen einschließlich dem Mini-Mental-State-Test unterzogen. Außerdem wurde bei fast allen Patienten eine Magnetresonanztomographie des Schädels (cMRT) durchgeführt. Zusätzlich wurde Blut für Routinelabor (inklusive Differentialblutbild, CRP, Glukose, Blutfette, Leberenzyme und Schilddrüsenhormone) abgenommen. Eine Liquorpunktion wurde ebenfalls unter Beachtung von etwaigen Kontraindikationen durchgeführt. Bei Kontrollprobanden wurde weiterhin ein M.I.N.I.-Test (Mini-International Neuropsychiatric Interview, [118]) zum Ausschluss von psychiatrischen Erkrankungen erhoben.

3 Methoden

3.1 Allgemeines Procedere

Bei allen Probanden wurde unter Einhaltung eines möglichst ähnlichen Zeitfensters, meist zwischen 7 und 8 Uhr, eine Blutentnahme durchgeführt. Dies geschah einerseits für die Bestimmung der Laborparameter im Rahmen eines Routinelabors und andererseits für die immunzytologische Aufarbeitung, welche sofort nach Entnahme des Blutes begann. Außerdem wurde zeitnah eine Liquorpunktion von etwa 15 ml zur Differential- und Ausschlussdiagnostik (u.a. Berechnung des A β 1-42/1-40 Quotienten) bzw. zur Bestimmung des Q-Albumin-Quotienten vorgenommen (siehe Abschnitt 3.6.). Die Liquorproben zur Routinediagnostik wurden direkt nach Gewinnung ungekühlt in Polypropylenröhrchen dem Institut für Klinische Chemie und dem Liquorlabor der hiesigen neurologischen Klinik zur sofortigen Diagnostik überstellt.

3.2 Färbeprotokoll für Durchflusszytometrie von EDTA-Blut (extrazellulär)

Zur immunologischen extrazellulären Färbung wurden je 50 μ l EDTA-Vollblut in 1 FACS-Röhrchen pro Panel 1 und 3 pipettiert (Zusammenstellung der Panel siehe Abs. 2.2.4.). Hierauf erfolgte jeweils die sorgfältige Hinzugabe von definierten Antikörpermengen, welche unter Abschnitt 2.2.3. aufgeführt sind. Nach vorsichtigem, kurzzeitigem Vortexen inkubierten die FACS-Röhrchen in einem geeigneten Transportsystem für 15 Minuten bei Raumtemperatur (20 °C) in einer Dunkelkammer. Danach wurden je 450 μ l Erythrozytenlysepuffer hinzu pipettiert. Alle Pufferansetzungen sind unter 2.2.2. einzusehen. Auf weiteres vorsichtiges und kurzes Vortexen folgte eine 30-minütige Inkubationszeit bei Raumtemperatur in der Dunkelkammer.

3.3 Färbeprotokoll für Durchflusszytometrie von EDTA-Blut (intrazellulär)

Zunächst wurde die extrazelluläre immunologische Färbung für CD4, CD8 und CD25 gemäß dem extrazellulären Färbeprotokoll für Panel 1 und 3 durchgeführt. Weil mit Panel 2 jedoch der Transkriptionsfaktor FoxP3 untersucht werden sollte, schloss sich eine intrazelluläre Färbung an.

Nach der Erythrozytenlyse und 30-minütiger Inkubationszeit wurde das jeweilige FACS-Röhrchen bei 500 g für 5 Minuten zentrifugiert (gewaschen). Der Überstand wurde verworfen. Die Zentrifugation wurde nach Zugabe von 1 ml FACS-Puffer mit gleichen Parametern wiederholt und der Überstand erneut entfernt. Auf das verbliebene Zellpellet wurden 100 μ l FoxP3 Fixierungs-/Permeabilisierungspuffer pipettiert. Eine Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur in der dunklen Kammer schloss sich an. Nach zweimaligem Waschen der Probe mit je 1 ml FoxP3 Permeabilisierungspuffer pro Röhrchen erfolgte die Aufnahme

des FoxP3-Antikörpers in 100 µl FoxP3 Permeabilisierungspuffer, welcher sogleich auf die Zellprobe pipettiert wurde. Einer weiteren 30-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur im Dunklen folgend wurde die Probe zweimalig mit je 1 ml FACS-Puffer gewaschen, bevor pro Röhrchen 300 µl FACS-Puffer zugefügt wurde.

3.4 Durchflusszytometrische Messung

Alle Röhrchen wurden mit Parafilm verschlossen und, in einem Transportsystem untergebracht, unverzüglich nach Abschluss des Färbeprozesses in das Institut für Molekulare und Klinische Immunologie transportiert. Die Messungen am FACS wurden unmittelbar durchgeführt, um eine mögliche Beeinträchtigung der Proben auszuschließen. Auf eine ausreichende Spülung des Gerätes vor und nach den Messungen wurde genau geachtet, um Verunreinigungen durch jeweils vorhergehende Experimente zu vermeiden. Die Zytometerkonfiguration sowie die Laser- und Spannungsparameter-Einstellungen wurden von Dr. rer. nat. Robert Hartig, dem Leiter der Sektion „Mehrdimensionale Mikroskopie und zelluläre Diagnostik“ des „Zentrums für zelluläre Bildgebung und innovative Krankheitsmodelle“ im Institut für Molekulare und Klinische Immunologie Magdeburg vorgenommen. Die Spannungsparameter sind für die jeweiligen Panels spezifisch und wurden, wie die globalen Laser- und Zytometerkonfigurationen, während des gesamten Messzeitraums nicht verändert. Zur Etablierung jener Zytometerkonfigurationen diente die Kalibrierung mithilfe von Negativ- und Isotypenkontrollen, welche unter Abschnitt 2.2.3. aufgeführt werden. Für den Gating-Prozess sowie die Erhebung der zytometrischen Daten wurde das Programm FACS DIVA 6.1.3 verwendet (siehe unten).

3.5 Datenanalyse per Durchflusszytometrie

Nach Akquisition einer Probe wurde anhand der Streuung des Lichts das erste Gating nach Größe (Forward Scatter) und Granularität (Side Scatter) der Zellen vorgenommen. Dieser Schritt diente zur Diskriminierung von Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten (siehe Abb. 1 linkes Bild). Je nach untersuchtem Panel wurden in einem weiteren Schritt die einzelnen fluoreszenzmarkierten Zellpopulationen nach Fluoreszenzintensität gegeneinander aufgetragen und nach dem Gatingprozess die prozentualen Anteile an der Gesamtpopulation errechnet (siehe Abb. 1). Aufgrund der hohen Zahl zu detektierender Zellpopulationen und der unterschiedlichen Probenpräparierung für extra- bzw. intrazelluläre Immunmarker wurden insgesamt 3 Immunpanel pro Proband erstellt (siehe auch 2.2.3. bzw. 3.). Beispiele für Gatingstrategien dieser Panels finden sich in den Anlagen (Abschnitt 8.2.).

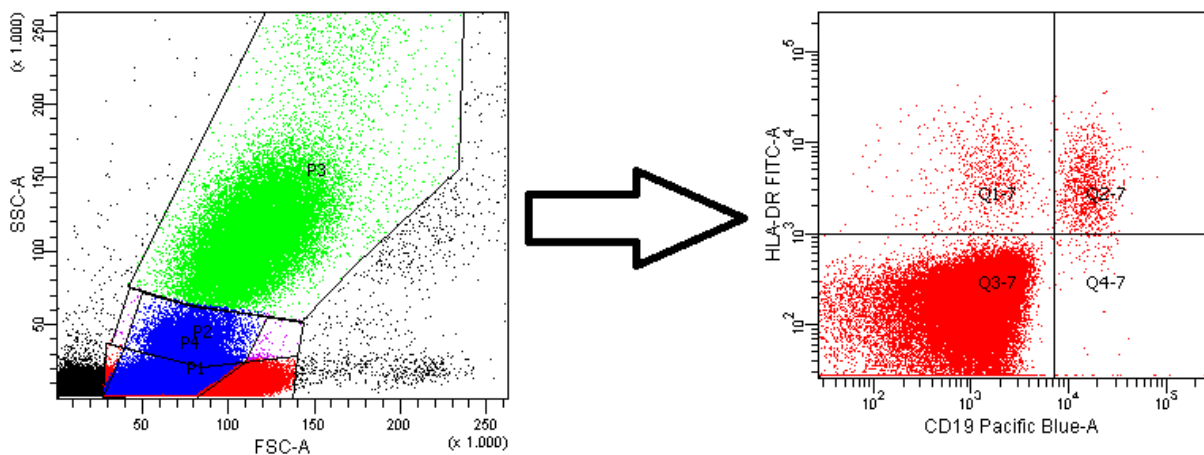


Abbildung 1: Gatingstrategien von Dot-Plots einer Durchflusszytometrie am Beispiel von Panel 1. Linkes Bild: Mittels Forward Scatter (FSC) auf der X-Achse sowie Side Scatter (SSC) auf der Y-Achse können noch „ungefärbte“ Leukozyten nach Größe und Granularität geordnet werden. Während Lymphozyten als eher kleine und wenig granulierte Zellen im Bild links unten imponieren (Feld P1), sind Granulozyten als große und stark granulierte Zellen eher im mittleren und rechts oberen Abschnitt zu finden (Feld P3). Monozyten (Feld P4) nehmen eine Zwischenposition ein. Rechtes Bild: Nach Gating der jeweiligen Zellpopulation (hier Lymphozyten) wurden mit HLA-DR und CD19-Antikörpern markierte Lymphozyten gegeneinander aufgetragen. Je nach Ausprägung der Fluoreszenzmarkierung sind verschiedene Subpopulationen zu unterscheiden. Im rechten oberen Quadranten (Q2-7) fluoreszieren die Zellen intensiv; sie sind somit HLA-DR und CD19 positiv. Im linken oberen Quadranten (Q1-7) zeigen sich nur HLA-DR-positive Lymphozyten, während im rechten unteren Sektor (Q4-7) nur CD19-angefärbte Zellen vorhanden sind. Im linken unteren Quadranten ist dagegen keine Zelle für einen der beiden Marker positiv.

3.6 Diagnostische Liquorpunktion

Aufgrund des Leber-exklusiven Produktionsortes von Albumin ist die Bestimmung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion über die Quotientenbildung von Liquor-Albumin, welches allein per Transsudation in den Liquor gelangen kann, und Serum-Albumin, möglich. Da im Rahmen des normalen Alterungsprozesses die Schrankenfunktion generell abnimmt, wurden altersabhängige Referenzwerte für diesen Liquor/Serum-Albumin-Quotienten (Q-Albumin genannt) zur Auswertung herangezogen. Allen Patienten wurde somit Liquor (CSF) per lumbaler Liquorpunktion abgenommen, um mittels der Bestimmung des Q-Albumins mögliche Schrankenstörungen zu detektieren [119].

3.7 Statistische Auswertungen

Die ermittelten Daten wurden zunächst mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung geprüft (Ergebnisse des Shapiro-Wilk-Tests nicht abgebildet). Da bei einem Großteil der Ergebnisse die Nullhypothese einer Normalverteilung verworfen werden musste, wurden die Gruppen mittels des Kruskal-Wallis-Tests (H-Test), einem nicht-parametrischen Test bei unabhängigen Stichproben, auf signifikante Unterschiede getestet. Zum nachfolgenden, paarweisen Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den jeweiligen Patientengruppen wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test) verwendet, welcher post-hoc mittels Bonferroni-Methode korrigiert wurde. Korrelationsanalysen wurden mithilfe der Spearman-Korrelation erstellt. Als Rechen- und Grafikprogramm diente R Version 3.4.1.

Ein p-Wert unter 0,05 wurde als signifikant (*) angesehen. P-Werte unter 0,01 wurden als sehr signifikant (**) und Werte unter 0,001 als hoch signifikant (***) eingestuft. Ein p-Wert zwischen 0,05 und 0,1 wurde als statistischer Trend aufgefasst.

4 Ergebnisse

4.1 Studienkohorte

Vollblut-Proben von 60 Alzheimer-, 20 vaskuläre und 12 frontotemporale Demenz-Patienten sowie von 24 Kontrollprobanden (siehe Tabelle 2) wurden untersucht. Von den 60 Alzheimer-Demenz-Patienten waren 34 weiblichen und 26 männlichen Geschlechts. Die Gruppe der vaskulären Demenz-Patienten bestand aus 15 weiblichen und 5 männlichen Patienten. 6 weibliche und 6 männliche Patientinnen und Patienten bildeten die Gruppe der frontotemporalen Demenz-Patienten. Von den Teilnehmern der Kontrollgruppe zählten 17 zum weiblichen und 7 zum männlichen Geschlecht. Die Patienten der AD-Gruppe waren im Mittel 79,9 Jahre alt, während das Alter der VD-Patienten 78,4 Jahre und der FTD-Patienten 76,8 Jahre betrug. Das mittlere Alter unterschied sich zwischen den Demenz-Gruppen nicht signifikant voneinander (bspw. $p = 1,000$ zwischen AD und VD). Das mittlere Alter der Kontrollprobanden belief sich auf 69,8 Jahre und war damit signifikant jünger als das Alzheimer- und vaskuläre Demenz-Erkrankten ($p < 0,001$ bzw. $p = 0,007$). Die Gruppe der Kontrollprobanden erreichte bei der Mini-Mental-State-Testung einen Mittelwert von 28,6. AD-Gruppen-Teilnehmer erzielten im Mittel 17,4; VD-Gruppenmitglieder 19,8 und FTD-Gruppenteilnehmer 19,9 Punkte. Die Ergebnisse unterschieden sich zwischen den Patientengruppen nicht signifikant (bspw. $p = 0,705$ zwischen AD und VD). Der Albumin-Blut/Liquor-Quotient betrug bei Alzheimer-Patienten 8,8; bei Patienten mit vaskulärer Demenz 15,3 und bei Patienten mit frontotemporaler Demenz 9,9. Statistisch signifikant niedriger fiel das Q-Albumin bei AD-Patienten im Vergleich zu VD-Patienten aus ($p = 0,047$). Q-Albumin wurde bei Kontrollprobanden nicht bestimmt, da eine Liquorpunktion bei diesen Teilnehmern nicht indiziert war.

Tabelle 2: Demographische Angaben sowie MMST und Q-Albumin

	Alter [Jahre]	Geschlecht	MMST	Q-Albumin
Kontrolle (n=24)	69,79 ± 12,42	m: 7 / w: 17	28,57 ± 2,25	-
AD (n=60)	79,88 ± 7,16	m: 26 / w: 34	17,36 ± 6,57	8,830 ± 4,370
VD (n=20)	78,35 ± 7,28	m: 5 / w: 15	19,80 ± 5,56	15,27 ± 19,88
FTD (n=12)	76,83 ± 6,22	m: 6 / w: 6	19,92 ± 8,05	9,867 ± 6,774
Statistik	ANOVA	Fisher exact	ANOVA	ANOVA
Test Wert	F = 8,287	-	F = 19,517	F = 3,045
p-Wert	<0,001***	0,312	<0,001***	0,053
AD-K	<0,001***	1,000	<0,001***	-
VD-K	0,007**	1,000	<0,001***	-
FTD-K	0,121	1,000	<0,001***	-
VD-AD	1,000	1,000	0,705	0,047*

Demographische Angaben, Mini-Mental-State-Test-Ergebnis (MMST) und Albumin-Blut/Liquor-Quotient (Q-Albumin) der Probanden in der Gegenüberstellung und im statistischen Vergleich (Einzelgruppenvergleiche post-hoc jeweils Bonferroni-korrigiert).

4.2 Untersuchungsparameter

Zum Zeitpunkt der Diagnose wurde peripheres, venöses Blut von dementen Patienten auf unterschiedliche prozentuale Verteilungen von peripheren Leukozyten-Subpopulationen untersucht. Die errechneten Mediane wurden jeweils mit denen einer Kontrollgruppe gesunder Probanden verglichen und statistisch ausgewertet.

Tabelle 3 (s. Anlagen, Abschnitt 8.1) zeigt, nach Leukozyten-Subpopulationen und Probanden-Gruppen aufgeteilt, die Ergebnisse der Studie. Die untersuchten Immunzellen werden anhand ihrer spezifischen Oberflächenmarker angegeben. Der Median entspricht dem prozentualen Anteil der jeweiligen Population an der Leukozyten-Gesamtheit. Neben dem unteren und oberen Quantil (0,25-Quantil bzw. 0,75-Quantil) wird außerdem der p-Wert angegeben. Dieser bezieht sich immer auf den jeweiligen Vergleich von AD-, VD- oder FTD-Gruppe mit der Kontrollgruppe.

In den folgenden Abschnitten wird näher auf die einzelnen Ergebnisse eingegangen.

4.3 Veränderte leukozytäre Verteilungsmuster des adaptiven Immunsystems

Hauptsächlich zeigte die Gruppe der Lymphozyten zahlenmäßige Veränderungen (s. Tab. 3a).

So betrug der prozentuale Anteil an CD3+ T-Zellen der Kontrollgruppe im Median 31,10%, wie in Abbildung 2 ersichtlich. Dieser Wert betrug bei AD-Patienten 28,85% ($p = 0,489$), bei VD-Patienten 14,30% ($p = 0,016$) sowie bei FTD-Patienten 20,45% ($p = 0,120$). Dies spricht insbesondere bei VD-Patienten für eine signifikante Verminderung der peripheren T-Lymphozytenzahl.

Unterteilt man T-Zellen in die zwei großen Subpopulationen der CD4+ T-Helfer- und CD8+ T-Killerzellen, so werden auch bei diesen numerische Unterschiede wahrgenommen (siehe Abb. 2). CD4+ T-Zellen machten bei Kontrollprobanden 22,10% der Leukozyten aus. Bei Alzheimer-Demenz-Patienten verringerte sich der Anteil auf 16,70% ($p = 0,175$), bei vaskuläre Demenz-Patienten deutlich auf 9,15% ($p = 0,008$) und bei Patienten mit frontotemporaler Demenz auf 11,90% ($p = 0,276$). Ein bei VD- und FTD-Patienten ähnliches, jedoch nicht so deutliches Muster galt für CD8+ T-Lymphozyten: betrug der prozentuale Anteil an der Leukozyten-Gesamtzahl in der Kontrollgruppe 11,40%, so sank der Wert in der VD-Gruppe auf 4,20% ($p = 0,056$) bzw. 8,35% ($p = 0,356$) in der FTD-Gruppe. In der AD-Gruppe blieb der Anteil nahezu konstant bei 12,00% ($p = 1,000$).

Die prozentuale Häufigkeit der CD19+ B-Lymphozyten fiel in der VD-Gruppe signifikant: von 3,80% der Kontrollgruppe auf 1,65% ($p = 0,005$). Nur geringfügige Verminderungen zeigten sich in der AD-Gruppe auf 3,15% ($P = 0,222$) bzw. 1,85% ($p = 0,118$) in der FTD-Gruppe.

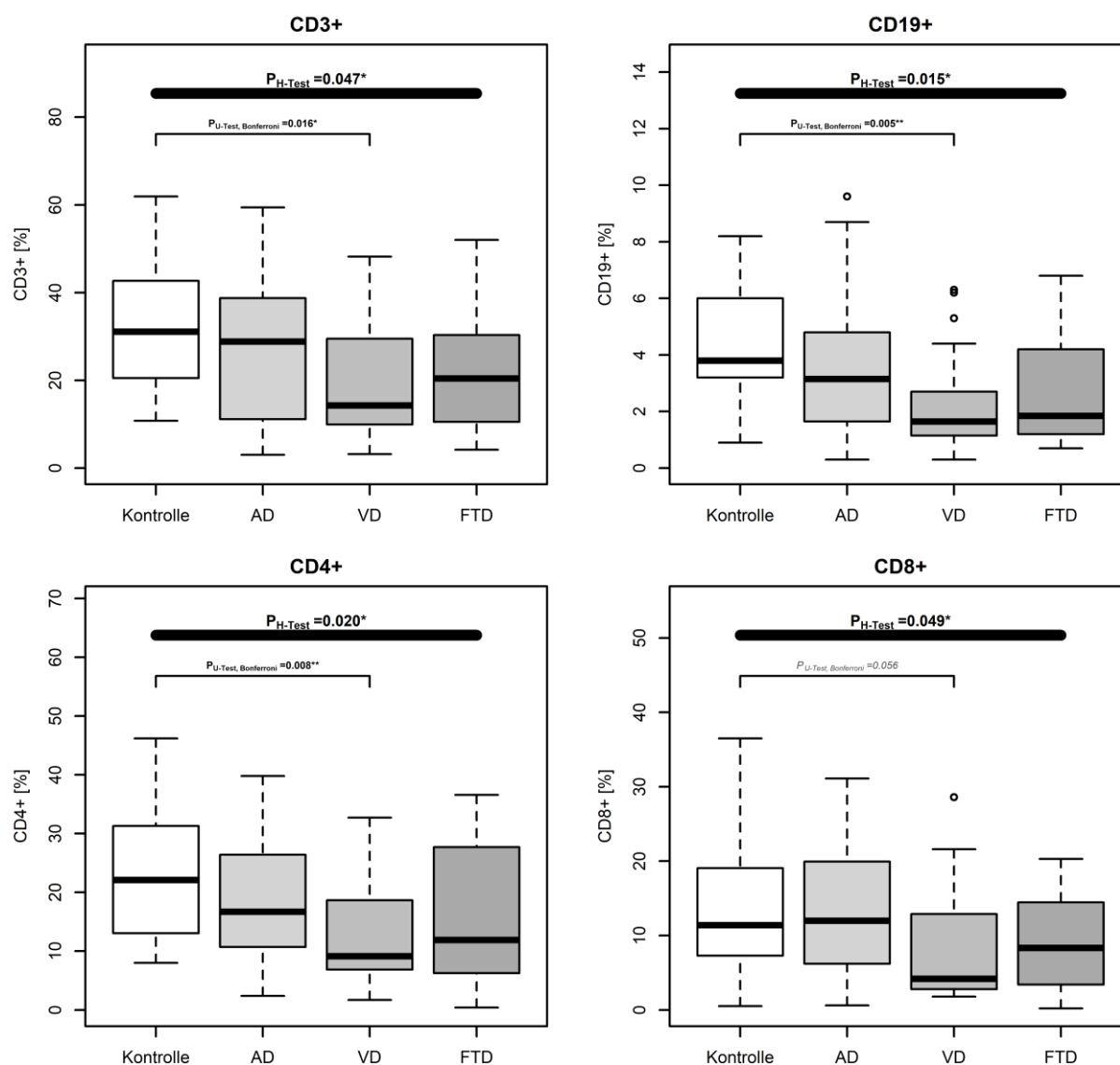


Abbildung 2: Box-Plot-Darstellung des prozentualen Anteils von T-Lymphozyten (CD3+) und B-Lymphozyten (CD19+) an der Leukozytenpopulation im Blut von Patienten mit Alzheimer (AD)-, vaskulärer (VD)- oder frontotemporaler (FTD) Demenz im Vergleich zu einer Kontrollgruppe gesunder Probanden (obere Reihe). T-Lymphozyten lassen sich zusätzlich in CD4+ (Helfer-) und CD8+ (Killer-) T-Zellen unterteilen (untere Reihe). VD-Patienten zeigten eine klar verminderte Anzahl an T- und B-Zellen. Bei an Alzheimer-Demenz Erkrankten fand sich eine gering verminderte B-Zell-Population sowie eine ähnliche Entwicklung bei CD4+ T-Lymphozyten. FTD-Patienten zeigten ebenfalls niedrigere CD3+ und CD19+ Lymphozyten- bzw. T-Helfer-Zellzahlen ohne statistische Signifikanz. [Whisker bis 1,5x IQR]

4.4 Populationsverschiebungen im angeborenen Immunsystem

Neben dem adaptiven Immunsystem wurden auch Veränderungen im angeborenen Teil der humanen Immunabwehr registriert (s. Tab. 3b; Abb. 3): erschien das Verteilungsmuster der CD14+ Monozyten von Kontroll-, AD- und FTD-Gruppe unverändert (Kontrollgruppe: 73,40%, AD-Gruppe: 71,55% [$p = 1,000$], FTD-Gruppe: 73,95% [$p = 1,000$]), so zeigte sich bei vaskuläre Demenz-Patienten eine signifikante Reduktion auf 59,80% ($p = 0,020$). Der Anteil CD56+ natürlicher Killerzellen war ebenfalls mit 3,50% ($p = 0,012$) innerhalb der VD-Gruppe signifikant vermindert (Kontrollgruppe: 6,50%, AD-Gruppe: 6,00% [$p=1,000$], FTD-Gruppe: 5,60% [$p=1,000$]). Auf die Population der aktivierten Monozyten wird in Abschnitt 4.5.2 eingegangen.

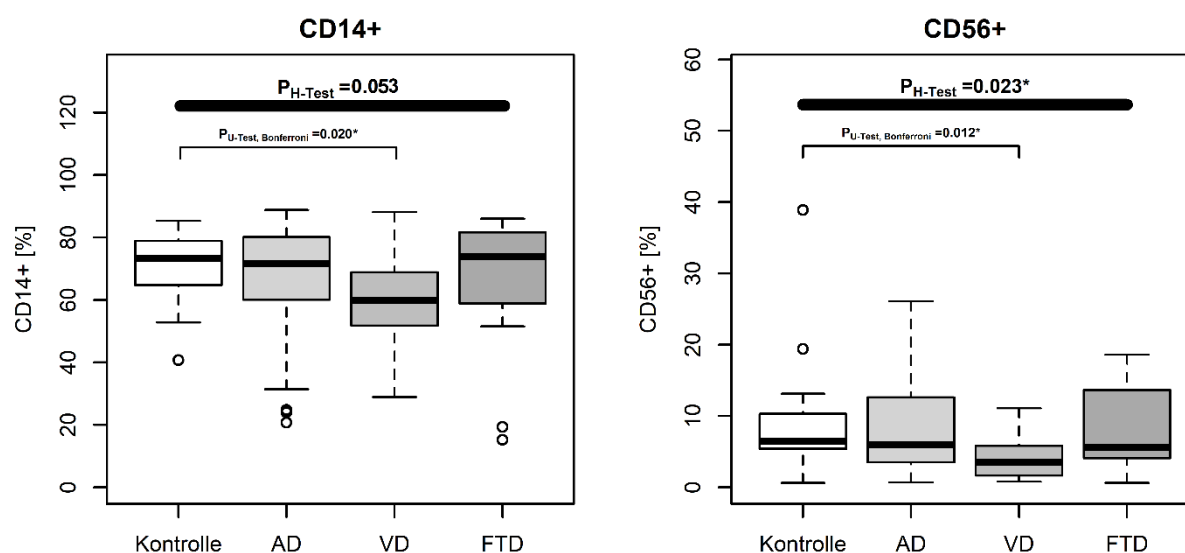


Abbildung 3: Anteil von Monozyten (CD14+) und natürlichen Killerzellen (CD56+) an der Leukozytenpopulation im Blut von Kontrollprobanden und Demenzpatienten. Sowohl Monozyten als auch NK-Zellen kamen im peripheren Blut der Patientengruppe mit vaskulärer Demenz signifikant vermindert vor.

4.5 Unterschiede in der Expression von CD25, CD69 und HLA-DR

Die Marker CD25, CD69 und HLA-DR dienen als Indikator für verschiedene Aktivierungsstadien von Leukozyten, in diesem Fall Monozyten, T- und B- Lymphozyten. Die Expression derselben kann in den folgenden Unterpunkten sowie den Abbildungen 4a, b und Tabelle 3a, b nachvollzogen werden.

4.5.1 Verteilungsmuster aktivierter T-Lymphozyten

Zwischen den untersuchten Gruppen wurden bezüglich der CD25+CD4+ T-Lymphozyten keine signifikanten Unterschiede festgestellt (Kontrollgruppe: 38,85%, AD-Gruppe: 38,65% [p = 1,000], VD-Gruppe: 33,35% [p = 0,953], FTD-Gruppe: 49,80% [p = 1,000]). Siehe auch Abbildung 4a. Jedoch war der Anteil an CD25+CD8+ T-Zellen bei Patienten mit vaskulärer Demenz mit 3,80% tendentiell niedriger als bei der Kontrollgruppe mit 8,30% (p = 0,066). Bei Patienten mit Alzheimer-Demenz (7,40%, p = 1,000) und frontotemporaler Demenz (4,40%, p = 1,000) blieb dieser Anteil unverändert.

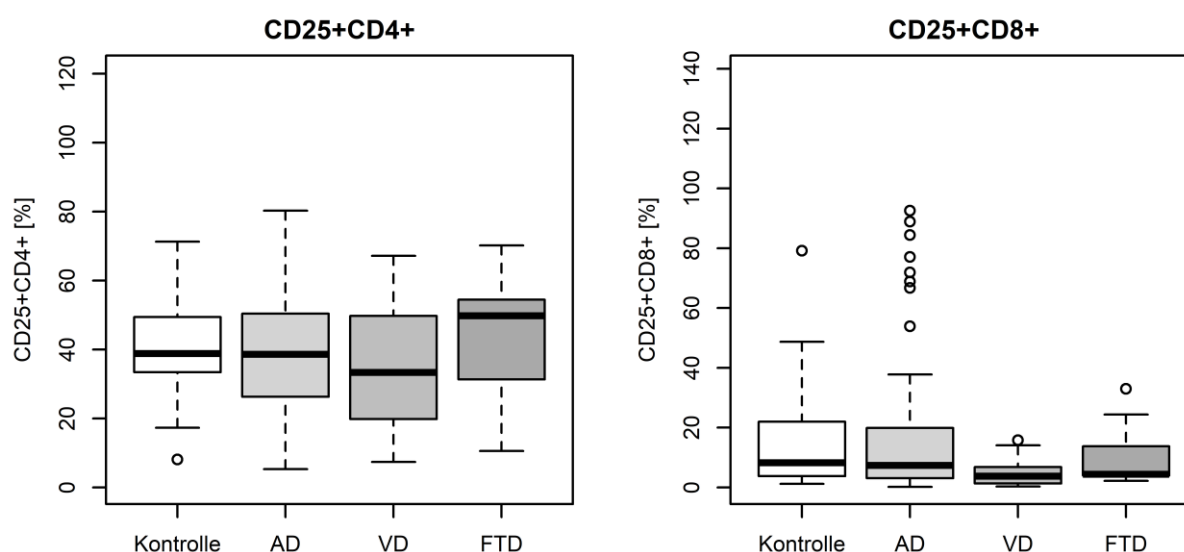


Abbildung 4a: T-Lymphozyten der CD4+ und CD8+ Reihen, welche den Aktivierungs- und Überlebensmarker CD25 exprimieren, im relativen Gruppen-Vergleich. Der Anteil von CD25+CD8+ T-Zellen (rechtes Bild) war bei Patienten mit vaskulärer Demenz statistisch tendentiell erniedrigt.

4.5.2 Verteilungsmuster aktivierter B-Lymphozyten bzw. Monozyten

Innerhalb der CD19+ B-Zell-Population konnte keine veränderte Expression des frühen Aktivierungsmarkers CD69 bei allen getesteten Gruppen beobachtet werden (VD-Gruppe: 1,60% [p = 0,188] im Vergleich zur Kontrollgruppe: 3,66%, AD-Gruppe: 2,08% [p = 1,000], FTD-Gruppe: 2,74% [p = 1,000]). CD69-positive T-Lymphozyten wurden in den getesteten Demenz-Gruppen ebenso in unveränderter Größenordnung nachgewiesen (Kontrollgruppe: 4,17%, AD-Gruppe: 3,49% [p = 1,000], VD-Gruppe: 3,39% [p = 0,909], FTD-Gruppe 3,89% [p = 1,000]). Diese Daten sind nicht graphisch abgebildet.

B-Lymphozyten aller untersuchten Gruppen wiesen eine niedrigere HLA-DR-Expression im Vergleich zu jenen der Kontrollgruppe auf (Abb. 4b, links unten), wobei sich die Reduktion bei VD-Patienten am stärksten präsentierte (Kontrollgruppe: 3,70%, AD-Gruppe: 2,95% [p = 0,125], VD-Gruppe: 1,60% [p = 0,003], FTD-Gruppe: 1,70% [p = 0,071]).

Keine signifikante Veränderung wurde hinsichtlich der Expression von HLA-DR durch CD3+ T-Lymphozyten registriert (Abb. 4b, oben). Bildeten durchschnittlich 3,78% der T-Zellen von Kontrollprobanden HLA-DR an ihrer Oberfläche aus, so sank dieser Anteil bei Patienten mit vaskulärer bzw. frontotemporaler Demenz geringfügig auf 2,92% ($p = 1,000$) bzw. 3,59% ($p = 1,000$). Bei Alzheimer-Demenz-Patienten wurde ein marginaler Anstieg auf 4,22% ($p = 0,794$) festgestellt.

CD14+ Monozyten exprimierten HLA-DR in der Kontrollgruppe zu 82,45% (Tab. 3b und Abb. 4b, rechts unten). Während dieser Prozentanteil mit 70,42% in der AD-Gruppe ($p = 0,944$) und 65,63% in der FTD-Gruppe ($p = 0,561$) kaum reduziert erschien, war bei Patienten mit vaskulärer Demenz eine deutlichere, tendentiell signifikante Absenkung auf 61,35% zu beobachten ($p = 0,059$).

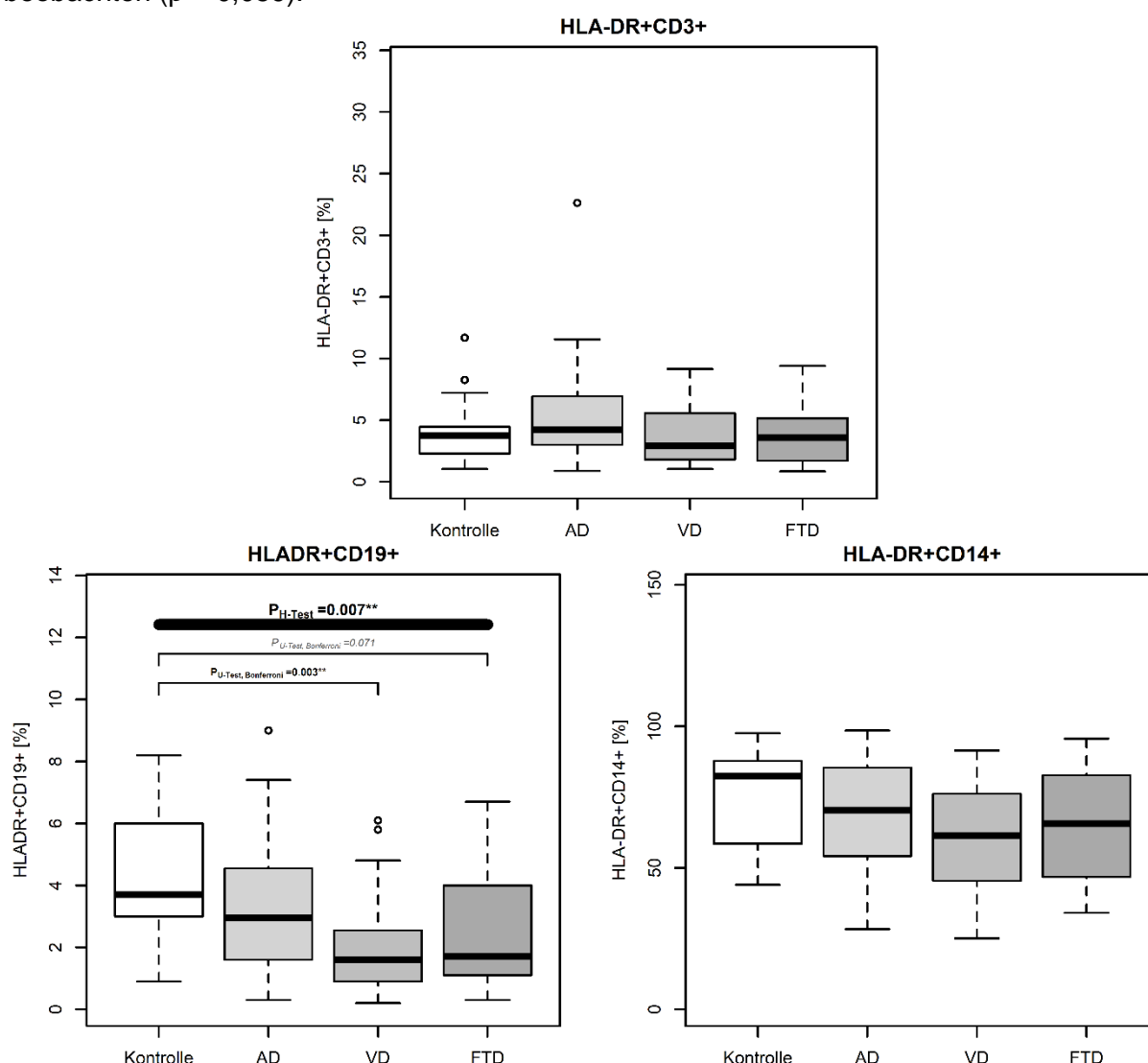


Abbildung 4b: Anteil der HLA-DR-exprimierenden B-Lymphozyten (CD19+) an der Gesamtheit der Leukozyten (links unten) sowie Anteile der HLA-DR positiven T-Lymphozyten (CD3+, oben) und Monozyten (CD14+, rechts unten) an der jeweiligen Subtypen-Gesamtheit. Monozyten von VD-Patienten wiesen eine tendentiell niedrigere HLA-DR-Ausbildung im Vergleich zu jenen der Kontrollgruppe auf ($p = 0,059$).

4.6 Demenz-assoziierte proportionale Verschiebungen von naiven und T-Gedächtniszellen

Anhand der Ausbildung von Isoformen des CD45-Antigens können T-Lymphozyten in Stadium und Funktion unterschieden werden (siehe auch Abs. 1.1.2): CD45RA⁺ T-Zellen sind im Wesentlichen naiver oder effektorischer Natur, während CD45RO⁺ T-Lymphozyten Gedächtniszellen sind. Eine genauere Einteilung gelingt über den Chemokin-Rezeptor CCR7, der für Migrationsprozesse der Lymphozyten in Richtung sekundärer lymphatischer Organe benötigt wird. Dies betrifft naive T-Zellen (CD45RA⁺CD45RO⁻CCR7⁺) und zentrale T-Gedächtniszellen (CD45RA⁻CD45RO⁺CCR7⁺). Kein CCR7-Antigen besitzen Effektor-Zellen (CD45RA⁺CD45RO⁻CCR7⁻) und Effektor-T-Gedächtniszellen (CD45RA⁻CD45RO⁺CCR7⁻).

Wie Abbildung 5a zu entnehmen ist, wurde im peripheren Blut gesunder Probanden zu 2,40% naive CD4⁺ und zu 5,20% naive CD8⁺ T-Lymphozyten nachgewiesen. Insbesondere bei Alzheimer-Demenz-Patienten wurden Veränderungen dieser relativen Zahlen festgestellt (s.a. Tab. 3c). Naive CD4⁺ Zellen fielen auf 2,20% bei AD-Patienten ($p = 0,952$), 1,75% bei VD-Patienten ($p = 0,743$) bzw. imponierten unverändert mit 2,60% ($p = 1,000$) bei FTD-Patienten. Eine signifikante Reduktion der naiven CD8⁺ T-Zellzahl auf 2,10% wurde in der AD-Gruppe beobachtet ($p = 0,003$). Die Zahlen der VD-Gruppe zeigten Ähnlichkeiten zur Entwicklung der oben genannten naiven CD4⁺ T-Zellzahlen (VD-Gruppe: 3,60% [$p = 0,566$]). Keine Änderungen wurden für naive CD8⁺ T-Zellen von FTD-Patienten registriert (FTD-Gruppe: 6,40% [$p = 1,000$]). Abbildung 5b illustriert beispielhaft die naive CD8⁺ Zellpopulation im Gruppenvergleich anhand von FACS-Dot-Plots.

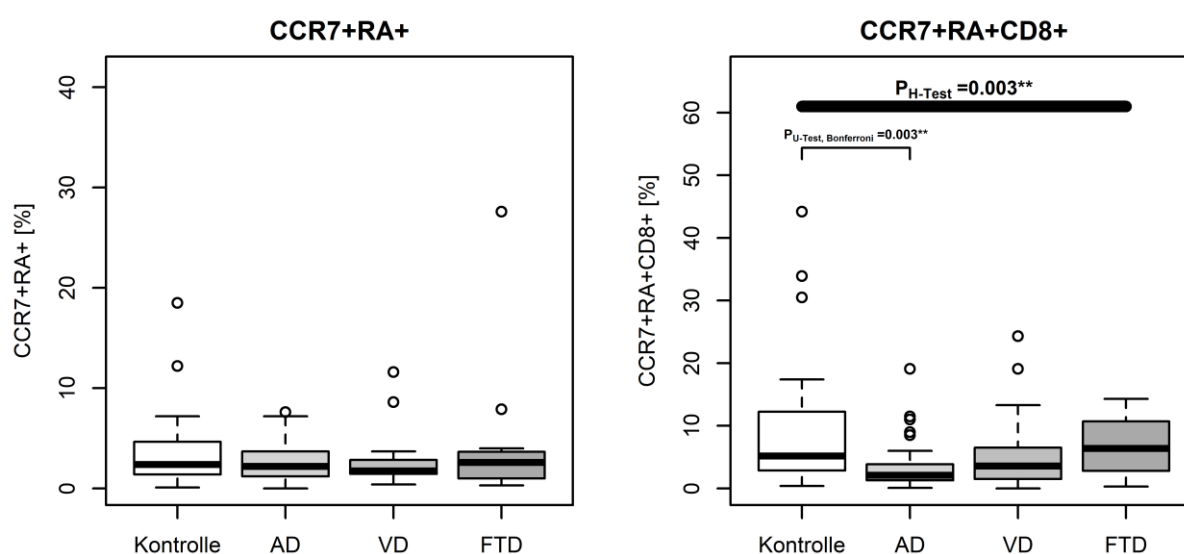


Abbildung 5a: Naive T-Zellen im prozentualen Gruppen-Vergleich. Eine signifikante Reduktion der naiven CD8⁺ T-Zellzahl wurde in der AD-Gruppe beobachtet (rechtes Bild).

Das mittlere Verhältnis von naiven zu Gedächtniszellen der CD4+ T-Zellreihe betrug bei Kontrollpatienten 0,80. Dieser Wert verringerte sich bei AD-Patienten auf 0,43 ($p = 0,041$), während keine nennenswerten Veränderungen bei FTD-oder VD-Patienten registriert wurden. Das Verhältnis von naiven zu Gedächtniszellen der CD8+ T-Zellpopulation blieb bei allen untersuchten Demenzformen ähnlich zur Kontrollgruppe.

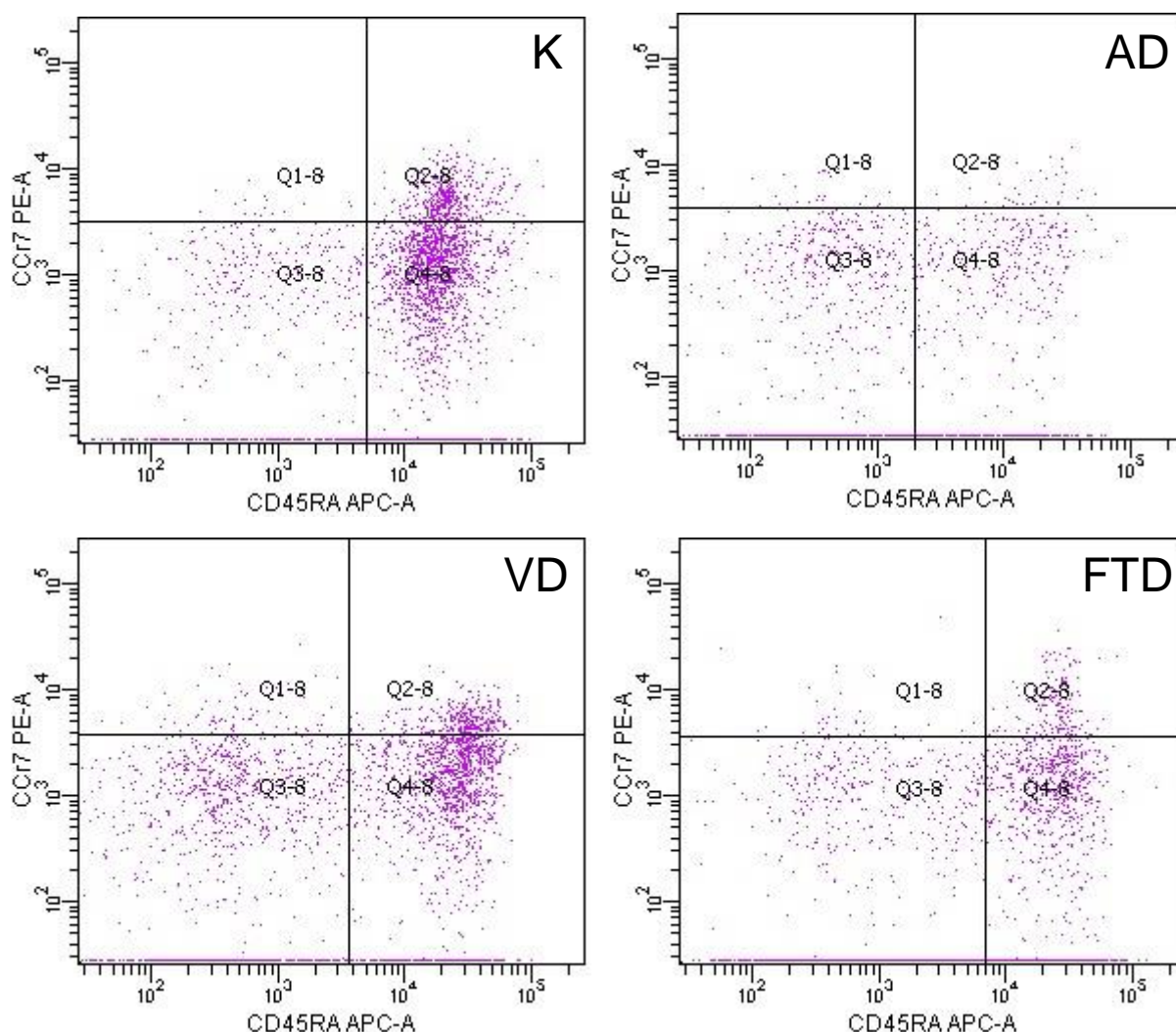


Abbildung 5b: Vergleichende Dot-Plots von CD8+ Lymphozyten, welche per Expression von CCR7 bzw. CD45RA in ihrer Subspezifität unterteilt werden können. Quadrant Q2-8 visualisiert jeweils den Anteil naiver, d.h. CCR7+CD45RA+CD8+ T-Lymphozyten, an der Gesamtheit. Im Beispiel zeigt sich bei einem Kontrollprobanden (linkes oberes Bild) ein Anteil von 13,8%. Bei einem Alzheimer-Demenz-Patienten (rechtes oberes Bild) beträgt dieser hingegen nur 2,6%; eine signifikante Reduktion. Die gleiche Zellreihe umfasst am Beispiel eines vaskulären Demenz-Patienten (links unten) 9,6% und bei einem Patienten mit frontotemporaler Demenz 6,0% (rechts unten).

Bei Alzheimer Demenz-Patienten wurde ein kleiner Anstieg von CD4+ Effektor-T-Gedächtniszellen gesehen (54,85%), vergleicht man mit der Kontrollgruppe (45,50%, $p = 0,114$) - siehe Abbildung 5c, Bild a. Die Gruppe der vaskulären bzw. frontotemporalen Demenz zeigte diesbezüglich keine Unterschiede zur Bezugsgruppe (49,55% [$p = 1,000$] bzw. 52,35% [$p = 1,000$]).

Letzteres trifft ebenso für CD8+ Effektor-T-Gedächtniszellen zu (Kontrolle: 22,05%, AD-Gruppe: 21,20% [$p = 1,000$], VD-Gruppe: 20,50% [$p = 1,000$], FTD-Gruppe: 16,35% [$p = 1,000$]).

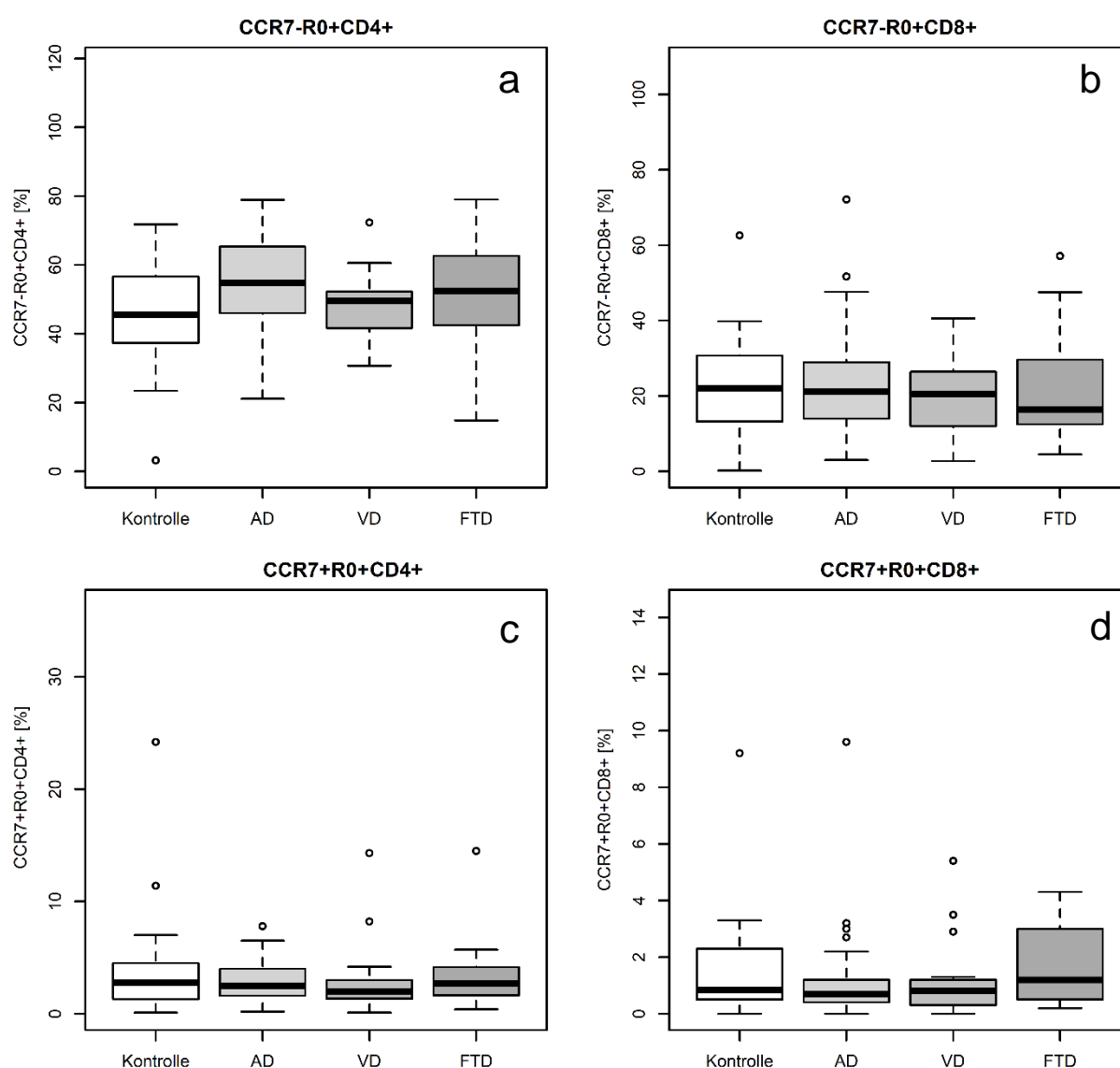


Abbildung 5c: Effektor-T-Gedächtniszellen (Bilder a,b) und zentrale T-Gedächtniszellen (Bilder c,d) der CD4+ und CD8+ T-Zell-Klassen. Bei Alzheimer Demenz-Patienten wurde ein geringer, nicht-signifikanter Anstieg von CD4+ Effektor-T-Gedächtniszellen gesehen (Bild a).

CD8+ zentrale T-Gedächtniszellen (Abb. 5c, Bild d) imponierten mit 0,70% innerhalb der AD-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 0,85% kaum verändert ($p = 0,421$). Ähnlich verhielt sich auch die VD-Gruppe mit 0,80% ($p = 1,000$). Im Blut der frontotemporale Demenz-Gruppe kam es zu einem geringen Anstieg des Wertes (1,20%, $p = 0,745$). CD4+ zentrale T-Gedächtniszellen waren in allen Gruppen kaum prozentual verschieden (Kontrolle: 2,80%, AD-Gruppe: 2,50% [$p = 1,000$], VD-Gruppe: 2,00% [0,932], FTD-Gruppe: 2,70% [$p = 1,000$]).

Betrachtet man die Population der CD4+ Effektor-T-Zellen (Abb. 5d) bei AD-Patienten, zeigte sich ein geringer Abfall der relativen Zellzahl auf 24,70%, im Gegensatz zu 36,20% der Kontrollpopulation ($p = 0,115$). Zellen der FTD-Gruppe waren nicht betroffen (30,60%, $p = 0,821$); jene der VD-Gruppe ebenso nicht (30,50%, $p = 1,000$).

Auf Seiten der CD8+ Effektor-T-Zellen war das umgekehrte Phänomen zu beobachten: der prozentuale Wert nahm bei Alzheimer Demenz-Patienten im Rahmen eines statistischen Trends, bei vaskuläre Demenz-Patienten weniger deutlich zu (Kontrolle: 32,20%, AD-Gruppe: 48,70% [$p = 0,077$], VD-Gruppe: 42,70% [$p = 0,257$]). Statistisch am geringsten zeigte sich der Effekt bei FTD-Patienten (50,95%, $p = 0,745$).

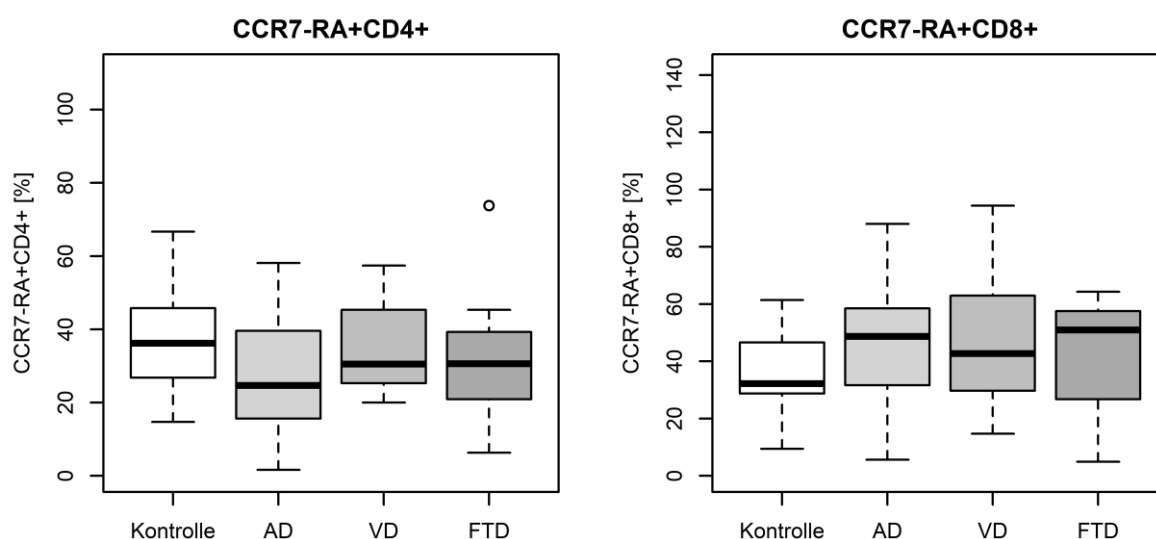


Abbildung 5d: CD4+ und CD8+ Effektor-T-Lymphozyten im relativen Vergleich zwischen Kontroll- und Demenzgruppen. Die Population der CD4+ Effektor-T-Zellen bei AD-Patienten imponierte etwas dezimiert. Umgekehrt verzeichneten CD8+ effektorische T-Zellen von AD-Patienten einen tendentiell signifikanten Anstieg.

4.7 Regulatorische T-Zellen in verschiedenen Demenz-Formen

Der Immunmarker FoxP3 wird zur Detektion von regulatorischen CD4+ oder CD8+ T-Zellen verwendet. Prozentuale Unterschiede dieser Leukozyten-Subklasse zwischen Kontrollprobanden und den getesteten Gruppen ließen sich nicht feststellen (Tab. 3d). CD4 positive Regulator-T-Zellen wurden zu 1,85% im Blut von Kontrollprobanden; zu 2,10% bei AD-Patienten ($p = 1,000$); zu 2,40% bei VD-Patienten ($p = 1,000$) und zu 2,35% bei FTD-Patienten ($p = 1,000$), anteilig am leukozytären Gesamtbild, konstant gesehen. Früh aktivierte regulatorische Zellen derselben Reihe machten 5,80% bei Kontrollen aus. Bei AD-, VD- und FTD-Patienten verringerte sich dieser Anteil allenfalls leicht auf 4,40% ($p = 1,000$), 5,30% ($p = 1,000$) und 4,20% ($p = 1,000$).

Mit 0,45% regulatorischen CD8+ T-Lymphozyten bei den Kontrollen, 0,30% bei den VD-Patienten ($p = 1,000$) sowie 0,40% bei den FTD-Patienten ($p = 1,000$) ähnelten sich die Verteilungsmuster dieser Subpopulation stark. Alzheimer-Demenz-Erkrankte zeigten einen ebenso unveränderten Wert von 0,45% ($p = 1,000$). Bei früh aktivierten FoxP3+CD8+ T-Zellen zeigte sich mit 4,50% bei AD-Patienten ($p = 1,000$), 4,85% bei VD-Patienten ($p = 1,000$) bzw. 4,25% bei FTD-Patienten ($p = 1,000$) eine geringe Verminderung in Bezug auf den Kontrollwert mit 5,60% ohne entsprechenden statistischen Effekt.

4.8 Korrelationsanalysen

Um mögliche Zusammenhänge zwischen Variablen wie Patientenalter, MMST und Q-Albumin und den ermittelten Veränderungen der Leukozytenverteilung bei Demenzerkrankungen bestimmen zu können, wurden Spearman-Korrelationstests durchgeführt:

Während bei AD-Patienten die meisten regressiven Populationsveränderungen mit dem zunehmenden Alter korrelierten, bestanden bei FTD-Patienten vornehmlich positive Korrelationen mit Q-Albumin. Nur wenige Assoziationen imponierten zwischen manchen T-Zell-Subpopulationen bei vaskulärer Demenz und MMST-Wertungen bzw. Alter (Tab. 4a).

Weiterhin wurde der Einfluss des Geschlechts der Probanden auf die Korrelation zwischen Zellgruppenverteilung und Q-Albumin, MMST bzw. Alter überprüft:

Subpopulationen männlicher Probanden wiesen einige wenige, meist positive Korrelationen zu Q-Albumin auf. Alterierende Zellpopulationen der NK-Zellreihe und der B- und T-Lymphozytenreihe zeigten allerdings bei weiblichen Probanden deutliche positive Korrelationen zu MMST-Werten und negative Korrelationen zum Alter (Tab. 4b).

5 Diskussion

5.1 Allgemeine Betrachtungen

Das physiologische Gleichgewicht zwischen und innerhalb aller Immun-Komponenten verschiebt sich im Lauf des Lebens. Infolge des „Immunseneszenz“ getauften immunologischen Alterungsprozesses verkleinern sich die Populationen naiver Immunzellen, während spät differenzierte Leukozyten einen immer größeren Teil der Infektabwehr ausmachen. Gleichzeitig verschlechtert sich die Antikörper-Qualität, welche von B-Lymphozyten in zunehmend geringerer Zahl produziert werden. Weiterhin scheinen Monozyten und Makrophagen bei sonst gesunden, alten Menschen eine unterschwellige, chronische Entzündungsreaktion aufrecht zu erhalten. Das sog. „Inflammaging“ und die parallel verlaufende Immunseneszenz weisen auf gravierende Veränderungen des Immunsystems im Alter hin.

Diese Entwicklungen wurden auch bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie den Demenzen, untersucht. Insbesondere die Alzheimer-Demenz wurde in zahlreichen Studien auf veränderte zelluläre Immunparameter im Rahmen einer Neuroinflammation beforscht [47,120]. Die Ergebnisse bisheriger Forschungsarbeiten deuten auf eine Beteiligung des Immunsystems an der dementiellen Pathogenese hin. Jedoch sind jene Ergebnisse bislang sehr inhomogen und lassen keinen Rückschluss auf die zugrundeliegende Art der Demenz zu.

In dieser explorativen Arbeit wurde daher mittels einer kaum invasiven Methode ein möglichst breites Spektrum der peripheren Immunabwehr verschiedener Demenzformen abgebildet. Vollblut von Patienten mit Alzheimer-, vaskulärer bzw. frontotemporaler Demenz wurde in Hinblick auf sich unterscheidende Verteilungen von Leukozyten der angeborenen und erworbenen Immunabwehr untersucht und mit den entsprechenden Blutproben einer Kontrollgruppe verglichen. Dabei zeigte sich bei jeder Demenzform ein differentes Verteilungsmuster in jeweils unterschiedlich starken Ausprägungen.

5.2 Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

5.2.1 Veränderungen im peripheren erworbenen Immunsystem

Das periphere erworbene Immunsystem von Alzheimer-Demenz-Patienten wurde in den letzten Jahren häufig untersucht. Jedoch fielen die Ergebnisse bislang ungleichmäßig aus. Es wurden sowohl unveränderte als auch reduzierte CD3+ T-Zell- und CD19+ B-Zell-Prozentzahlen ermittelt [98,121]. Populationsgrößen von CD8+ T-Zellen bei Alzheimer-Demenz wurden gegenüber derer von Kontrollgruppen als unverändert beschrieben, während CD4+ T-Lymphozyten prozentual ebenso häufig wie bei Kontrollen [121] oder häufiger als

diese vorkamen [122]. Die Verteilung von CD3+, CD4+ und CD8+ T-Zellen in der vorliegenden Studie entspricht den Ergebnissen Speciales *et al.*, welche keine Unterschiede in absoluter und relativer Zellzahl im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten [121]. Konträr zur Arbeit von Lombardi *et al.*, welche bei Alzheimer-Demenz geringere B-Zell-Populationen beschrieb [122], blieb die relative Populationsgröße dieser Zellreihe in der aktuellen Studie nicht signifikant verändert. Allerdings imponierten einzelne größengeminderte Subgruppen der B-Lymphozyten (s. Abs. 5.2.4.), was somit Hinweise auf eine Beteiligung der B-Zell-Population am Krankheitsgeschehen einer Alzheimer-Demenz geben kann und damit die Studie von Lombardi *et al.* nicht prinzipiell konterkariert.

Eine umfassende und deutliche Reduktion von CD3+, CD4+ und CD8+ T-Zellen und CD19+ B-Zellen wurde indes bei Patienten mit vaskulärer Demenz gefunden. Diese Form der Demenz ist häufig mit Schlaganfällen assoziiert, welche infolge einer entzündlichen Reaktion Gehirnläsionen verursachen können. Jene Beobachtungen kontrastieren sich klar von Ergebnissen Lombardis *et al.*, die keinen Unterschied zur Kontrollgruppe offenbarten [122], was eine größere Beeinträchtigung des zellulären Immunsystems bei der vaskulären Demenz vermuten lässt als bisher angenommen.

Eher konstante Prozentzahlen von CD3+ T- und CD19+ B-Lymphozyten sowie CD4+ T-Lymphozyten bei frontotemporaler Demenz weisen darauf hin, dass jene Zellpopulationen mit geringerer Wahrscheinlichkeit an der zugrundeliegenden Pathologie dieser Demenzform beteiligt sind – was jedoch aufgrund aktuell fehlender funktioneller Zelluntersuchungen nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

5.2.2 Mögliche Ursachen von Populationsverschiebungen

Grundlegend für sinkende Fraktionszahlen insbesondere bei Alzheimer- und vaskulärer Demenz können eine Reihe von Faktoren sein, die synergistisch Immunzellgefüge und Immunantworten nachhaltig schädigen und so zum Teil die Pathogenese dementieller Erkrankungen im Folgenden zu erklären versuchen können.

Die Ausbildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) führt zu schweren Zelldestruktionen. Der vaskuläre oxidative Stress, hervorgerufen durch jene Oxidantien und zerebrale Hypoperfusion, trägt zur Pathologie nicht nur der vaskulären Demenz, sondern auch der Alzheimer-Demenz bei [123]. Neben dem vaskulären oxidativen Stress wurde auch für Amyloid- β , Tau-Proteine und das ApoE4 eine abträgliche Wirkung auf den mitochondrialen Stoffwechsel gezeigt, der wiederum zur Produktion von ROS beiträgt [124–127]. Dennoch ist weiterhin unbekannt, ob reaktive Sauerstoffspezies Ursache oder Wirkung einer vermehrten Amyloid- β -Akkumulation sind [128]. ROS sind außerdem in der Lage, stimulierend auf die

Produktion von Chemokinen und proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1, IL-6 und TNF- α einzuwirken. Dies mündet in der Aktivierung von Mikroglia, die wiederum reaktive Sauerstoffspezies generieren und den Teufelskreis damit schließen [129]. Bei Demenzen wie der vaskulären und der Alzheimer-Demenz wurde über erhöhte proinflammatorische Zytokinwerte, wie z.B. von IL-1, IL-6 und Alpha-1-Antichymotrypsin, berichtet [130–132]. Dabei können IL-1 und TNF- α apoptotisch auf Zellen wirken [133–135] und somit die registrierte Reduktion von T- und B-Zellen dementiell Erkrankter vorantreiben.

Ein verringertes Potential zur Makroautophagie könnte als weiterer Mechanismus eine veränderte Zusammensetzung der CD8+ T-Zellpopulation auslösen. Als Konsequenz der inflammatorisch ausgelösten Immunantworten bei Alzheimer- und vaskulärer Demenz werden T-Zellen aktiviert. Diese führen daraufhin physiologischerweise autophagozytotische Prozesse in größerem Ausmaß durch, was sich allerdings bei den genannten Demenzformen negativ auf die Zellzahl auswirken könnte [136]. Jene Vermutung gründet sich auf der Beobachtung, dass die Fähigkeit von Lymphozyten zur Autophagie generell in späten Entwicklungsstadien und im Alter signifikant abnimmt [137]. (Makro-)Autophagie ist ein Prozess zur Aufrechterhaltung der Homöostase innerhalb einer Zelle, wobei unter hohem Energieverbrauch ein Recycling von Zellstrukturen und -organellen stattfindet und somit ein Überleben dieser Zelle auch unter widrigen Bedingungen gewährleistet werden kann. Dieser Vorgang wird ebenfalls in CD8+CD28+ T-Zellen durch Antigen-vermittelte Aktivierung induziert, was Arnold *et al.* kürzlich belegen konnten [136]. CD8+CD28+ T-Zellen werden entsprechend ihrer Aufgabe auch zytotoxische CD8+ T-Zellen genannt, welche eher im jüngeren Alter vorkommen. Das Ausmaß der Autophagie konnte in jener Studie mittels zusätzlicher Gabe von Rapamycin, einem mTOR (mammalian target of rapamycin)-Antagonisten, welcher regulierend in die Immunzell-regulierende Protein-Homöostase eingreift [139], bei dieser Zellpopulation noch gesteigert werden. Im Gegensatz dazu konnte bei CD8+CD28- T-Zellen keine Autophagie induziert werden, weder mit noch ohne Rapamycin. CD8+CD28- T-Zellen besitzen eher regulatorische Eigenschaften und werden vornehmlich im höheren Alter und bei CMV-Infektionen detektiert [138]. Zudem konnten Studien Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen dieser Subpopulation und Atherosklerose [141] sowie dem Voranschreiten der Alzheimer-Demenz [143] aufzeigen. Das kaum vorhandene Potential zur Makroautophagie und damit der nur geringen Ermöglichung des Überlebens dieser Immunzellen könnte zu den bei Alzheimer- und vaskulärer Demenz beobachteten Populationsverschiebungen von CD8+ T-Zellen bzw. ihren Untergruppen führen.

Autoimmunität und Neurodegeneration könnten im Zusammenspiel an der Pathogenese von Demenzen beteiligt sein. Der Zusammenhang zwischen beiden Prozessen wurde kürzlich im

Rahmen einer genetisch-epidemiologischen Studie belegt: Yokoyama *et al.* wiesen 8 Einzel-Nukleotid-Polymorphismen nach, welche sowohl bei autoimmunen Krankheiten, wie Morbus Crohn und Rheumatoide Arthritis, als auch bei Alzheimer-Demenz vorlagen [140]. Eine ganze Reihe von Autoantikörpern wurden bislang mit AD in Verbindung gebracht. Dazu zählen u.a. Antikörper gegen das S100B-Protein sowie GFAP (saures Gliafaserprotein), welche in Verbindung mit einer Erhöhung der Blut-Liquor-Schranken-Durchlässigkeit gebracht werden und so die Migration von peripheren Leukozyten in das ZNS ermöglichen [142].

Neurotoxizität durch chronisch proinflammatorische Immunprozesse mit Beteiligung des peripheren Immunsystems kann pathophysiologisch mit einer gestörten Barrierefunktion der Blut-Liquor-Schranke verbunden sein. Diese These wird durch mehrere Forschungsarbeiten unterstützt, welche bei Alzheimer- und vaskulärer Demenz eine erhöhte Schrankenpermeabilität nachwiesen [144–146]. Andere Autoren konnten jedoch bei Alzheimer-Demenz-Patienten keine BLS-Störung belegen [147,148]. Auch für Demenzen vaskulärer Genese fand eine Forschungsgruppe nur bei Multi-Infarkt-Patienten ein erhöhtes Q-Albumin [147].

Die in dieser Arbeit ermittelten Daten sprechen für eine leichte bis mittlere Blut-Liquor-Schrankenstörung bei allen untersuchten Demenz-Gruppen, wobei der Albumin-Liquor/Serum-Quotient bei Patienten mit vaskulärer Demenz die stärkste pathologische Ausprägung zeigte. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Demenzgruppen wurde jedoch nicht festgestellt. Aufgrund fehlender Indikation für die Durchführung einer möglicherweise komplikationsbehafteten Liquorpunktion bei gesunden Patienten der Kontrollgruppe steht kein diesbezüglicher Vergleich zur Verfügung.

Die Funktion der Blut-Liquor-Schranke wird in neurodegenerativen Erkrankungen auf vielgestaltige Weise beeinträchtigt. Dazu gehören mikrovaskuläre Veränderungen wie die verringerte Mesenchym Homeobox 2 (MEOX2)-Gen-Expression, die eine Dichtereduktion von Hirnkapillaren zur Folge hat [149] und gemeinsam mit anderen Rezeptorstörungen einen verminderten zerebralen Blutfluss begünstigt [150]. Der Transport von Glukose in das Gehirn wird durch eine Reduktion von Glukosetransporter 1 (GLUT1)-Proteinen der BLS entschieden beeinträchtigt [151,152]. So kann eine zerebrale Nährstoffmangelsituation entstehen, welche der auch im Alter so wichtigen Neuroplastizität im Weg stünde. Eine mangelnde Abräumung von Neurotoxinen, insbesondere von Amyloid- β -42-Oligomeren, wird außerdem beschrieben und wird neben anderen Faktoren begründet durch die reduzierte Ausbildung von den Schrankenrezeptoren LRP-1 (low-density lipoprotein receptor-related protein-1) und Pgp (P-Glycoprotein) [146]. Letztendlich können diese Veränderungen zur Akkumulation von Amyloid- β bei Alzheimer-Demenz beitragen und bei frontotemporaler und vaskulärer Demenz zu A β -unabhängigen neurotoxischen Ereignissen führen.

Umgekehrt begünstigt die Störung der BLS-Integrität auch den nach peripher gerichteten Transport von reaktiven Sauerstoff-Spezies und anderen entzündungsfördernden Stoffen aus dem zentralen Nervensystem hinaus. In beiden Kompartimenten findet somit ein reger Austausch von Triggersubstanzen und bspw. aktivierten T-Zellen statt, der in einer Art Teufelskreis das Entzündungsgeschehen um Mikroglia herum befeuern kann.

Besonders betroffen von Zellreduktionen gegenüber dem von gleichalten, gesunden Probanden zeigte sich das B-Zell-Kompartiment in den Ergebnissen aller überprüften Demenzformen, insbesondere der vaskulären und der frontotemporalen Demenz. Forcierte Apoptose durch ROS scheint ein Teilgrund für diese Entwicklung zu sein [153]. Hierbei waren HLA-DR+ B-Lymphozyten besonders stark betroffen. B-Zellen exprimieren HLA-DR konstitutiv und sind dadurch zur Antigen-Präsentation befähigt – eine Eigenschaft, die je nach Aktivierungszustand eine Induktion von inflammatorischen Immunantworten, aber andererseits auch von Selbst-Toleranz, ermöglicht [154]. Da im Lauf der Entwicklung einer B-Zelle die Ausprägung von HLA-DR auf ihrer Oberfläche geringer wird, sind womöglich eher naive Zellen vom Schwund bei dementiellen Syndromen betroffen. Weiterhin nimmt die HLA-DR-Dichte auf B-Lymphozyten bei physisch verletzten Patienten ab, die eine Sepsis entwickeln [155]. Hier könnte die systemische Inflammation, analog zum möglichen Geschehen bei Demenzen, eine Reduktion solcher B-Lymphozyten verursachen. Ähnliche Beobachtungen wurden bei HIV-Patienten gemacht [156].

Bakterielle, virale und Pilzinfektionen stellen eine große Bedrohung für den alternden Organismus dar. Bei steigender genereller Anfälligkeit für schwere Infektionserkrankungen im Alter kann auch im nicht-akuten, primär asymptomatischen Fall die Blut-Liquor-Schranke durch solche Erreger Schaden nehmen. Gemäß Lovheim *et al.* verdoppelt sich annähernd das Risiko für die Entwicklung einer Alzheimer-Demenz bei einer reaktivierten Herpes simplex-Infektion [157,158]. Mehrere bakterielle Krankheitserreger stehen ebenfalls im Verdacht, neurodegenerative Prozesse auszulösen. Infrage kommen Bakterien oraler Natur, wie *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* [159] oder mehrere Subspezies von Treponemen [160]. Pilzinfektionen mit *Candida glabrata* oraler Herkunft wurden außerdem bei einigen Alzheimer-Demenz-Patienten beschrieben [161]. Auch Bakterien, welche nicht Teil des oralen Milieus sind, werden mit Demenzen assoziiert. Zu nennen sind *Chlamydomyces pneumoniae* [162], *Treponema pallidum* [163] und Borrelien – wobei die Beteiligung letzterer kontrovers diskutiert wird [164,165]. Auch wenn bei der Probandenauswahl das Vorhandensein einer Infektion zum Studienausschluss führte, ist ein früher stattgehabter Kontakt mit einigen genannten Erregern kaum auszuschließen und somit in den Kreis der Risikofaktoren aufzunehmen. Nicht zuletzt könnte dieser Kontakt die Zusammensetzung des Immunsystems in großem Maß verändert haben.

5.2.3 Veränderungen im peripheren angeborenen Immunsystem

Das periphere angeborene Immunsystem von Patienten mit vaskulärer Demenz wies drastische Veränderungen auf. Die Populationen von CD14+ Monozyten und auch HLA-DR+CD14+ Monozyten erschienen deutlich dezimiert. Das Monozyten-Makrophagen-System bildet eine erste Verteidigungsfront in der Pathogen-Abwehr. Es verbindet durch Antigen-Präsentation das angeborene und erworbene Immunsystem und reguliert mittels HLA-DR-Expression die Antwort des adaptiven Systems. Der Verlust von Monozyten und speziell HLA-DR+CD14+ Zellen könnte zu einer erhöhten Anfälligkeit für bakterielle und virale Infektionen führen [166]. Dies kann z.T. damit begründet werden, dass der CD14-Rezeptor an Lipoteichonsäure gram-positiver Bakterien bindet, was zur Erkennung einer großen Bandbreite mikrobieller Erreger beiträgt [1,2,167,168]. Weiterhin sind jene Zellen an der Reparatur und Regeneration von kranialen Blutgefäßen und der Blut-Liquor-Schranke beteiligt [169,170]. Ein Fehlen von Monozyten bei Patienten mit vaskulärer Demenz könnte damit die Erkrankung negativ beeinflussen. Erschwerend kommt der beobachtete Verlust von natürlichen Killerzellen hinzu. CD56+ NK-Zellen erfüllen die Rolle einer frühen Abwehr von intrazellulären Pathogenen, welche dementsprechend bei VD-Patienten abgeschwächt sein könnte. Frühere Arbeiten zeigten hinsichtlich der CD56- und HLA-DR-Expression bei vaskulärer Demenz keine Unterschiede zur Kontrolle auf [122]. Die nun präsentierten Daten deuten jedoch auf eine weitreichende Störung des angeborenen Immunsystems bei vaskulären Demenzen hin.

Entsprechend anderen Studien wurden bei Alzheimer-Demenz-Patienten keine Abweichungen in der Expression von CD14, HLA-DR oder CD56 in der Peripherie festgestellt [121,122,171]. Im zentralen Nervensystem von Alzheimer-Patienten beschrieben Styren *et al.* hingegen HLA-DR-Immunoreaktivität in Form von HLA-DR-positiven reaktiven Mikroglia [172]. Dies kann Hinweise auf eine zentral ablaufende Immunantwort trotz peripher unverändertem Aktivierungsmuster von Leukozyten geben. Zudem könnte selbst die altersentsprechende Verteilung von natürlichen Killerzellen kritische Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf haben. Denn CD56+ Zellen besitzen die Fähigkeit zur Zerstörung aktivierter T-Zellen und zur Beschränkung von antiviralen T-Zell-Immunantworten mittels Manipulation von Antigen präsentierenden Zellen (APCs) [173]. Zusätzlich sind sie in der Lage zur IFN- γ -Produktion, was die T-Zell-Entwicklung einschränken kann [174]. Im Zusammenspiel mit den zuvor genannten Faktoren vermag dies zur Aktivitätsminderung von naiven CD8+ T-Zellen führen, welche zahlenmäßig bei Alzheimer-Demenz ohnehin vermindert erschienen (siehe weiter unten). Andere Studien zum Thema sind indes inhomogener Natur: so wurden NK-Zellen beim Auslösen einer inflammatorischen T-Zell-Antwort durch Freisetzen von IFN- γ in der akuten Phase einer Alzheimer-Demenz beobachtet [175]. Auch von einer erhöhten Anfälligkeit

gegenüber Apoptose-Mechanismen wurde berichtet [176]. Weiterhin wurden erhöhte [177] und verminderte [178] NK-Zell-Aktivitäten im Rahmen der Erkrankung beschrieben. Generell scheinen auch natürliche Killerzellen im Zusammenhang mit pathologischen Prozessen der Alzheimer-Demenz zu stehen.

Bei keiner der untersuchten Demenzformen wurde eine signifikante Änderung des prozentualen NKT-Zellanteils an peripheren Leukozyten beobachtet. In der Literatur finden sich kaum Aussagen über die Entwicklung dieser Population bei Demenzen. Bezüglich bestimmten Allergien, Tumorerkrankungen und Autoimmunerkrankheiten wird allerdings über eine mögliche regulatorische Rolle von NKT-Zellen diskutiert [179].

In Bezug auf die Gruppe der frontotemporalen Demenz zeigten neuere Daten von Santos *et al.* eine statistisch signifikant verringerte HLA-DR-Expression von CD14+ Zellen [180]. Dies konnte in der aktuellen Arbeit nicht bestätigt werden. Somit kann die These Santos' einer vollkommen anderen Immunsituation bei FTD im Vergleich zu AD nicht bekräftigt werden.

Seit kurzem werden in der Literatur CD14+CD56+ Monozyten beschrieben [181]. Diese kleine Subpopulation kommt in geringen Mengen im Blut gesunder Individuen vor [181] und wurde in höheren Mengen bei Morbus Crohn-Patienten festgestellt [182]. Patienten mit rheumatoider Arthritis wiesen in einer Studie einen höheren Anteil an CD14+CD56+ Monozyten auf als gesunde Probanden [183]. Diese Monozyten produzierten vermehrt proinflammatorische Zytokine. Weiterhin wurde für das Vorkommen dieser Subpopulation eine positive Altersabhängigkeit festgestellt, was möglicherweise hinweisend auf Immunseneszenz sein könnte [183]. CD14+CD56+ Monozyten wurden in der aktuellen Arbeit nicht beleuchtet. Dennoch ist künftig eine tiefergehende Untersuchung dieser Zellgruppe, gerade in Hinblick auf dementielle Entwicklungen im Alter, angezeigt.

5.2.4 Betrachtung von T-Lymphozyten-Subpopulationen

Für aktivierte T-Lymphozyten ist die Präsentation von CD25 ein wichtiges Überlebenssignal. Andererseits kann besagte Alpha-Kette des IL-2-Rezeptors auch für den Aktivierungs-induzierten Zell-Tod (AICD) eine entscheidende Rolle übernehmen. Dieser Vorgang könnte zu der beobachteten tendenziellen Reduktion der aktivierten CD8+ T-Zellen (CD25+CD8+) bei vaskulärer Demenz führen, wobei andere Studiengruppen keine Abweichungen bei dieser Demenzform zu den Kontrollen feststellen konnten [122]. Bei Alzheimer-Demenz-Patienten wurde mehrfach von erhöhter Häufigkeit von CD25+CD4+ T-Zellen als Folge möglicher chronischer Stimulation durch potentiell krankheitsförderndes Plasma-Amyloid- β berichtet [184–187]. Diese Beobachtung korreliert nicht mit den aktuellen Ergebnissen der Alzheimer-

und frontotemporale Demenz-Gruppe, die sich auf Niveaus ähnlich den Kontrollwerten bewegten.

CD69+ T-Lymphozyten imponierten bei keiner Patientengruppe signifikant unterschiedlich zur Kontrollgruppe. Ältere *in vitro* durchgeführte Studien schrieben CD69 eine proinflammatorische Rolle zu, führt doch dieses Molekül auf T-Lymphozyten bspw. in Umgebung von Phorbolestern zu Ca^{2+} -Einstrom, IL-2-Produktion und damit T-Zell-Proliferation [188,189]. Neuere Ergebnisse zeigten bei einer Untergruppe von regulatorischen T-Zellen (CD4+FoxP3-TGF β +CD69+CD25^{var}) sehr starke immunoregulatorische Effekte einer CD69-Expression, welche wahrscheinlich durch TGF β und IL-10 hervorgerufen werden [190]. Auch natürliche und induzierbare Tregs exprimieren unter gewissen Umständen CD69, was auf eine mögliche wichtige Rolle in der Differenzierungskontrolle dieser Zellen hinweist [20]. Erst vor kürzerer Zeit konnte durch die erstmalige Identifizierung eines natürlichen Liganden für CD69, nämlich Galectin-1 auf dendritischen Zellen, solch eine weitaus komplexere und eher regulatorische Aufgabe des Rezeptors verifiziert werden: CD69 im Verbund mit Galectin-1 moduliert die Th17-Zelldifferenzierung, was in einer potentiellen Herabminderung proinflammatorischer Prozesse resultiert [191]. Der Aktivierungsrezeptor reguliert außerdem das Signalmolekül Sphingosin-1-phosphat herab. Dies inhibiert die ständig ablaufende Migration von Effektor-T-Lymphozyten [192] und dendritischen Zellen [193], was regulierend auf Immunprozesse wirkt. Im Hinblick auf allergische und autoimmune pathologische Prozesse scheint sich allerdings das Wirkmuster von CD69 wieder in Richtung entzündungsfördernder Prozesse zu verschieben. So steigt z.B. die Anzahl CD69-positiver Lymphozyten durch Allergenexposition in der asthmatischen Lunge [194]. Auch an Multiple Sklerose erkrankte Patienten mit aktiven Hirnläsionen zeigten erhöhte sehr früh aktivierte T-Lymphozyten im Liquor und im Blut [195]. Vermehrt auftretende CD69+ Monozyten im Blut konnten zudem bei Alzheimer-Demenz [196] und bei mit AIDS-assoziiertes Alzheimer-Demenz beobachtet werden, was vielleicht Rückschlüsse über hirnorganische pathologische Vorgänge zulässt [197].

Eindrücklicher zeigten sich in der Gruppe der Demenz vom Alzheimer-Typ verkleinerte Fraktionen der naiven CD8+ T-Zellen (CCR7+RA+) und CD4+ Effektor-T-Zellen im späten Stadium (CCR7-RA+) nebst einem prozentualen Anstieg der CD8+ Effektor-T-Zellen im späten Stadium (CCR7-RA+). In der Literatur lässt sich eine verschobene Lymphozyten-Verteilung bei Alzheimer-Demenzen von naiven hin zu aktivierten und Gedächtniszellen nachvollziehen [198–201]. Die jetzt ermittelten Daten unterstützen diese Ansicht. Die chronische Stimulation des Immunsystems durch erhöhte periphere Amyloid- β -Konzentrationen und darauffolgende Differenzierung der Lymphozyten zu Effektorzellen und Effektor-Gedächtniszellen wäre eine mögliche Erklärung des Phänomens. Eine Verringerung

naiver T-Zellen könnte außerdem einen direkten, negativen Effekt auf das zentrale Nervensystem haben. Denn dem Chemokinrezeptor CCR7 wird selbst eine Beteiligung in der Überwachung und Homöostase der Lymphozytenwanderung und –aktivität im ZNS zugeschrieben [202]. Eine entsprechende Entwicklung ist bei vaskulärer und frontotemporaler Demenz nicht auszumachen, da hier das womöglich ausschlaggebende Antigen zur Störung des Verhältnisses zwischen undifferenzierten und Gedächtniszellen bislang nicht bekannt ist.

Bei gesunden Kontrollprobanden wurden in der vorliegenden Studie, im Gegensatz zu Alzheimer-Demenz-Patienten, entsprechend etwas niedrigere CD4+ Effektor-T-Gedächtniszellzahlen gemessen. Diese Ergebnisse gehen in abgeschwächter Form einher mit einer Studie Serre-Mirandas *et al.*, nach der ein signifikanter Zusammenhang zwischen niedrigen CD4+ Effektor-T-Gedächtniszellzahlen, hohen Zahlen naiver B-Zellen und CD8+T-Zellen, und einer besseren kognitiven Leistung gesunder Senioren besteht [203].

Aktivierte FoxP3- T-Zellen und FoxP3+ T-Regulator-Zellen präsentieren das CD25-Antigen auf ihrer Oberfläche. Das Aufrechterhalten immunologischer Toleranz und die Kontrolle von akuten und chronischen Infektionen zählt zu den Aufgaben regulatorischer T-Lymphozyten.

Speziell CD4+CD25+FoxP3+ Tregs kontrollieren als relativ langlebige Zellen Immunantworten in suppressiver Weise und sind für die Bewahrung des Organismus vor Autoimmunkrankheiten und Allergien unerlässlich [24]. Funktionelle Einschränkungen von T-Regulator-Zellen werden mit Autoimmunerkrankungen wie systemischer Lupus erythematodes [204] oder Diabetes mellitus Typ 1 [205] in Verbindung gebracht. Mit der Reduzierung regulatorischer CD4+CD25+ Zellen bei Tieren konnte allerdings auch eine effektive Immunantwort auf Tumoren induziert werden, was zur Eradikation von Tumoren und sogar zu Tumormunität führte [206]. Altersabhängige Veränderungen der Treg-Funktionalität werden aktuell kontrovers diskutiert [207]. FoxP3 reguliert die Entwicklung und Funktion dieser Zellen und leistet damit einen Beitrag zur Aufrechterhaltung der Selbsttoleranz [208]. Diese wichtige Einflussnahme auf das Immunsystem ist bspw. beim IPEX-Syndrom (Akronym für Immundefizienz, Polyendokrinopathie, Enteropathie und X-chromosomale Vererbung) durch FoxP3-Genmutation derart beeinträchtigt, dass eine starke Autoimmunität und ein früher Tod resultiert [209]. Allerdings ist die genaue Art und Weise der Einflussnahme von FoxP3 auf die regulatorische T-Zell-Entwicklung noch nicht bekannt [210].

Die T-Regulator-Subpopulation von Alzheimer-Demenz-Patienten wurde bisher, auf Anzahl und Aktivität bezogen, als gleichbleibend, verkleinert oder vergrößert erklärt [99,184,198]. Die aktuelle Studie zeigt unveränderte Populationen von FoxP3+ regulatorischen T-Zellen in jeder getesteten Gruppe. Die stark differierende Datenlage kann in ihrer Gesamtheit dennoch auf ein gestörtes Immunsystem hindeuten, was funktionelle Untersuchungen untermauern:

Sarasella *et al.* wiesen bei Patienten mit leichter kognitiver Störung eine stärkere Immunsuppression durch regulatorische T-Zellen nach als bei Alzheimer-Demenz-Patienten, obwohl relative und absolute Zahlen nicht divergierten [211]. Die Menge an produzierten Antikörpern gegen den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor war in einer anderen Studie bei Alzheimer-, vaskulärer, frontotemporaler und Lewy-Körper-Demenz-Patienten jeweils stark erhöht, was zur Beeinträchtigung des zentralen Lernens und des Gedächtnisses führen könnte [212,213]. Dies könnte ebenfalls auf eine mangelhafte Immunkontrolle durch T-Regulator-Zellen hinweisen.

5.3 Limitationen der Studie und Ausblick

Generell fällt bei bisherigen Studien zur Populationsgröße von Immunzellen dementer Patienten eine eher inhomogene Datenlage auf. Als Ursache für diese Inkongruenzen kommt u.a. eine jeweils andersartige Zellpräparation in Betracht. Weitere Gründe für divergierende Studienergebnisse sind die Verwendung unterschiedlicher Antikörper zur Klassifikation von Leukozyten-Unterarten und ein individuelles Altersspektrum der Patienten und Kontrollprobanden. Messdifferenzen der Fluoreszenzspektrometrie, wie die Menge an akquirierten Events, Laser-Einstellungen und Gating-Präferenzen unterscheiden sich in nahezu jeder bislang durchgeführten Arbeit. Die Einführung neuer Technologien und Durchflusszytometrie-Systeme mit mehr als 2 Lasern erhöht die Zahl gleichzeitig erfassbarer Fluoreszenzmarker und erfordert zugleich eine immer bessere Differenzierung zwischen den jeweiligen emittierten Wellenlängen. In dieser explorativen Studie wurden bspw. pro Panel mehrere 100000 Events aufgezeichnet, um eine möglichst hohe Messgenauigkeit zu erreichen. Zusätzlich differierten die bisher ermittelten Ergebnisse durch Faktoren wie Tageszeitpunkt der Probenentnahme, Bildungsstand und Anzahl der Probanden sowie etwaige Vorerkrankungen. Hier ist zukünftig eine Standardisierung der Methodik nach genauen, einheitlichen Vorgaben vonnöten, um das hohe Potential des Prinzips einer einfachen Blutentnahme zur Demenzdiagnostik auszuschöpfen. Außerdem müssen künftige Kohorten in möglichst zahlreichen Eigenschaften homogenisiert und per longitudinalem Studienansatz begleitet werden, um den Krankheitsfortschritt auch immunologisch nachvollziehen zu können.

Die gleichzeitige Erhebung multipler möglicher Biomarker zur Klassifizierung von Demenzen ist ein Ansatz, welcher künftig noch stärker ausgebaut werden muss. Mithilfe der Erforschung weiterer Zielstrukturen von peripheren Leukozyten und der Einbeziehung weiterer Immunmarker, wie Zytokine, Chemokine und co-stimulatorische Moleküle, kann die Trennschärfe zwischen den Erkrankungen erhöht werden. Hierfür ist u.a. die Durchflusszytometrie gut geeignet, da (geräteabhängig) bis zu 20 verschiedene Antikörpermarkierte Moleküle parallel erfasst werden können. In zukünftigen Studien wird die Vollblut-

Färbung und FACS-basierte Zellpopulations-Messung daher weiter intensiviert. Dazu zählen z.B. die Messung der Expression von co-stimulatorischen Molekülen, wie CD28, CD152 und CD287 auf CD4+ bzw. CD8+ T-Zellen von Demenzpatienten im Vergleich zu Gesunden.

Ein weiteres Beispiel für vielversprechende Multi-Array-Diagnostik wurde kürzlich von Ray *et al.* veröffentlicht: mittels Molekulardiagnostik eines 18 Signalproteine umfassenden Plasma-Arrays wurde eine Alzheimer-Diagnosegenauigkeit von fast 90% erreicht [214]. Die Mehrheit dieser untersuchten Proteine vermittelten dabei Immunantworten, was auf pathologische Dysregulationen im molekularbiologischen Bereich hinweist. Nicht zuletzt an diesem Beispiel zeigt sich die bislang starke Studien-Asymmetrie zugunsten der Alzheimer-Demenz-Forschung. Weniger häufige Demenzen, wie vaskuläre, frontotemporale und Lewy-Körper-Demenz, sind in Zukunft stärker in den Fokus zu rücken. Die geringe Zahl der untersuchten frontotemporalen Demenz-Patienten in der vorliegenden Arbeit unterstreicht diesen Anspruch und stellt ebenfalls einen möglichen limitierenden Faktor dar.

Hinsichtlich der Entstehung der Alzheimer-Demenz wurde vor wenigen Jahren die Hypothese der dynamischen Biomarker aufgestellt, welche in einer, womöglich Jahrzehnte andauernden, präklinischen Phase bereits pathologisch verändert sein könnten [215]. Ähnlich dynamisch könnte sich das immunologische Blutprofil verhalten. Diese Frage sollte für alle untersuchten Demenzformen in weiteren Studien vertieft werden.

6 Zusammenfassung

Demenzkrankungen nehmen weltweit an Häufigkeit zu. Die nachweisliche Beteiligung des Immunsystems an Entstehung und Fortschritt verschiedener Demenzen führt zur Eruiierung neuer Wege in der bislang aufwändigen multimodalen Diagnostik lebender Patienten. In der vorliegenden explorativen Arbeit wurden Leukozyten aus dem peripheren Blut von Demenzpatienten mit dem Ziel untersucht, Unterschiede im immunzytologischen Verteilungsmuster zu finden. Dafür wurde venöses Vollblut von 60 Patienten mit Alzheimer-Demenz (AD), 20 mit vaskulärer Demenz (VD) und 12 mit frontotemporaler Demenz (FTD) zum Diagnosezeitpunkt per Durchflusszytometrie analysiert und prozentuale Distributionsmuster von Leukozyten-Subpopulationen mit den Ergebnissen von 24 Kontrollprobanden verglichen. Die Funktion der Blut-Liquor-Schranke (BLS) wurde mit dem Albumin-Blut/Liquor-Quotienten bestimmt. Diese zeigte sich mit 8,8 bei AD-Patienten bzw. 9,9 bei FTD-Patienten geringgradig beeinträchtigt, während bei VD-Patienten mit 15,3 eine mittelgradige Schrankenstörung ermittelt wurde. Das periphere zelluläre Immunsystem von VD-Patienten wies die meisten Unterschiede zu den Kontrollen auf: Monozyten, natürliche Killerzellen, B- und T-Lymphozyten kamen signifikant vermindert vor. Ebenfalls fielen verminderte CD25+CD8+ T-Zell-Populationen auf. Unterschiedliche Subpopulationsgrößen von naiven, effektorischen und Gedächtnis-T-Zellen zeigten sich hingegen fast ausschließlich bei AD-Patienten: gesunkene Zahlen naiver CD8+ T-Lymphozyten (2,10% vs. 5,20%, $p = 0,003$) und erhöhte Anteile von CD8+ Effektor-T-Gedächtniszellen (48,70% vs. 32,20%, $p = 0,077$) ließen sich hier nachweisen. FTD-Patienten verzeichneten geringere B-Lymphozyten-Zahlen bei sonst unverändertem Immunzellstatus. Zusammenfassend ist das periphere zelluläre Immunsystem bei Demenzen in Teilen verändert und beeinträchtigt. Die Ergebnisse zeigen ein für jede untersuchte Demenzform differentes Immunzell-Verteilungsmuster, welches indirekt auf die jeweils unterschiedliche Pathogenese der Erkrankungen hinweisend sein könnte. Grundlegend für eine Beteiligung des peripheren Immunsystems an neurotoxischen Prozessen könnte eine Funktionsstörung der BLS sein, welche bei allen Demenz-Gruppen ermittelt wurde. Autoantikörper gegen die BLS, mikrovaskuläre Veränderungen und ROS-Genese könnten diese Funktionsstörung verursachen, was eine gesteigerte Neurotoxizität zur Folge hätte. Die Ursachen für den Untergang von Leukozytenpopulationen sind vielfältig und können forcierte Apoptose durch ROS, beeinträchtigte Makroautophagie, frühere Infektionserkrankungen sowie chronisch inflammatorische Ereignisse bei Inflammaging und Immunseneszenz umfassen. Longitudinale Studiendesigns mit parallelen funktionellen Untersuchungen unter standardisierten Bedingungen könnten die teils kontroverse Datenlage vereinheitlichen, das Verständnis für die einzelnen Demenzpathologien fördern und therapeutische Konsequenzen schaffen.

7 Literaturverzeichnis

- 1 *Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S.* Cellular and molecular immunology; 2014; 20–83
- 2 *Murphy K, Travers P, Walport M, Janeway C.* Janeway's immunobiology. New York: Garland Science; 2012; 77–106
- 3 *Seidler S, Zimmermann HW, Bartneck M et al.* Age-dependent alterations of monocyte subsets and monocyte-related chemokine pathways in healthy adults. BMC immunology 2010; 11: 30
- 4 *Rea I, McNerlan S, Alexander H.* CD69, CD25, and HLA-DR activation antigen expression on CD3+ lymphocytes and relationship to serum TNF- α , IFN- γ , and sIL-2R levels in aging. Experimental Gerontology 1999; 34(1): 79–93
- 5 *Rink L, Haase H, Kruse A.* Immunologie für Einsteiger. Heidelberg: Spektrum, Akad. Verl; 2012; 48–58
- 6 *Hagemann O.* Laborlexikon (ISSN 1860-966X): "HLA-Typisierung"; 2004. <http://www.laborlexikon.de/Lexikon/Infotrame/h/HLA-Typisierung.htm>
- 7 *Robertson MJ, Ritz J.* Biology and clinical relevance of human natural killer cells. Blood 1990; 76(12): 2421–2438
- 8 *Robertson FC, Berzofsky JA, Terabe M.* NKT cell networks in the regulation of tumor immunity. Frontiers in immunology 2014; 5: 543
- 9 *Poe JC, Hasegawa M, Tedder TF.* CD19, CD21, and CD22: multifaceted response regulators of B lymphocyte signal transduction. International reviews of immunology 2001; 20(6): 739–762
- 10 *Vignali DA, Doyle C, Kinch MS et al.* Interactions of CD4 with MHC class II molecules, T cell receptors and p56lck. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences 1993; 342(1299): 13–24
- 11 *Krummel MF, Sjaastad MD, Wülfing C, Davis MM.* Differential clustering of CD4 and CD3zeta during T cell recognition. Science (New York, N.Y.) 2000; 289(5483): 1349–1352
- 12 *Zeitlmann L, Sirim P, Kremmer E, Kolanus W.* Cloning of ACP33 as a novel intracellular ligand of CD4. The Journal of biological chemistry 2001; 276(12): 9123–9132
- 13 *Noor S, Wilson EH.* Role of C-C chemokine receptor type 7 and its ligands during neuroinflammation. Journal of neuroinflammation 2012; 9: 77
- 14 *Förster R, Davalos-Misslitz AC, Rot A.* CCR7 and its ligands: balancing immunity and tolerance. Nature reviews. Immunology 2008; 8(5): 362–371
- 15 *Ebert LM, Schaerli P, Moser B.* Chemokine-mediated control of T cell traffic in lymphoid and peripheral tissues. Molecular immunology 2005; 42(7): 799–809
- 16 *Clement LT.* Isoforms of the CD45 common leukocyte antigen family: markers for human T-cell differentiation. Journal of clinical immunology 1992; 12(1): 1–10

- 17 *Saule P, Trauet J, Dutriez V et al.* Accumulation of memory T cells from childhood to old age: central and effector memory cells in CD4(+) versus effector memory and terminally differentiated memory cells in CD8(+) compartment. *Mechanisms of Ageing and Development* 2006; 127(3): 274–281
- 18 *Belz GT, Kallies A.* Effector and memory CD8+ T cell differentiation: toward a molecular understanding of fate determination. *Current opinion in immunology* 2010; 22(3): 279–285
- 19 *Ziegler SF, Ramsdell F, Alderson MR.* The activation antigen CD69. *Stem cells* (Dayton, Ohio) 1994; 12(5): 456–465
- 20 *González-Amaro R, Cortés JR, Sánchez-Madrid F, Martín P.* Is CD69 an effective brake to control inflammatory diseases? *Trends in molecular medicine* 2013; 19(10): 625–632
- 21 *Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY.* Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nature immunology* 2003; 4(4): 330–336
- 22 *Chatenoud L.* Natural and induced T CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) 2011; 677: 3–13
- 23 *Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R et al.* Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunological reviews* 2006; 212: 8–27
- 24 *Hsieh C-S, Liang Y, Tzgnik AJ et al.* Recognition of the peripheral self by naturally arising CD25+ CD4+ T cell receptors. *Immunity* 2004; 21(2): 267–277
- 25 *Franceschi C, Cossarizza A.* Introduction: The Reshaping of the Immune System with Age. *Int Rev Immunol* 1995; 12(1): 1–4
- 26 *Martorana A, Bulati M, Buffa S et al.* Immunosenescence, inflammation and Alzheimer's disease. *Longev Healthspan* 2012; 1: 8
- 27 *Blomberg BB, Frasca D.* Quantity, not quality, of antibody response decreased in the elderly. *The Journal of clinical investigation* 2011; 121(8): 2981–2983
- 28 *Lang PO, Govind S, Bokum AT et al.* Immune senescence and vaccination in the elderly. *Current topics in medicinal chemistry* 2013; 13(20): 2541–2550
- 29 *Nikolich-Zugich J.* T cell aging: naive but not young. *The Journal of experimental medicine* 2005; 201(6): 837–840
- 30 *Koch S, Larbi A, Derhovanessian E et al.* Multiparameter flow cytometric analysis of CD4 and CD8 T cell subsets in young and old people. *Immunity & ageing I & A* 2008; 5: 6
- 31 *Gibson KL, Wu Y-C, Barnett Y et al.* B-cell diversity decreases in old age and is correlated with poor health status. *Aging cell* 2009; 8(1): 18–25
- 32 *Frasca D, Riley RL, Blomberg BB.* Humoral immune response and B-cell functions including immunoglobulin class switch are downregulated in aged mice and humans. *Seminars in immunology* 2005; 17(5): 378–384

- 33 *Listi F, Candore G, Modica MA et al.* A study of serum immunoglobulin levels in elderly persons that provides new insights into B cell immunosenescence. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006; 1089: 487–495
- 34 *Buffa S, Bulati M, Pellicanò M et al.* B cell immunosenescence: different features of naive and memory B cells in elderly. *Biogerontology* 2011; 12(5): 473–483
- 35 *Martinis M de, Franceschi C, Monti D, Ginaldi L.* Inflamm-aging and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity. *FEBS letters* 2005; 579(10): 2035–2039
- 36 *Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H.* Inflammatory mediators in the elderly. *Experimental Gerontology* 2004; 39(5): 687–699
- 37 *Fulop T, Dupuis G, Baehl S et al.* From inflamm-aging to immune-paralysis: a slippery slope during aging for immune-adaptation. *Biogerontology* 2015
- 38 *Gemechu JM, Bentivoglio M.* T Cell Recruitment in the Brain during Normal Aging. *Frontiers in cellular neuroscience* 2012; 6: 38
- 39 *Engelhardt B, Sorokin L.* The blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Seminars in immunopathology* 2009; 31(4): 497–511
- 40 *Schwartz M, Shechter R.* Protective autoimmunity functions by intracranial immunosurveillance to support the mind: The missing link between health and disease. *Molecular psychiatry* 2010; 15(4): 342–354
- 41 *Carson MJ, Thrash JC, Walter B.* The cellular response in neuroinflammation: The role of leukocytes, microglia and astrocytes in neuronal death and survival. *Clinical neuroscience research* 2006; 6(5): 237–245
- 42 *McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG.* Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology* 1988; 38(8): 1285–1291
- 43 *Liscić RM.* Frontotemporal dementias: update on recent developments in molecular genetics and neuropathology. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 2009; 60(1): 117–122
- 44 *Sierra A, Encinas JM, Deudero JJP et al.* Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell stem cell* 2010; 7(4): 483–495
- 45 *Fetler L, Amigorena S.* Neuroscience. Brain under surveillance: the microglia patrol. *Science (New York, N.Y.)* 2005; 309(5733): 392–393
- 46 *Barger SW, Harmon AD.* Microglial activation by Alzheimer amyloid precursor protein and modulation by apolipoprotein E. *Nature* 1997; 388(6645): 878–881
- 47 *Akiyama H, Barger S, Barnum S et al.* Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 2000; 21(3): 383–421
- 48 *Wyss-Coray T, Mucke L.* Inflammation in neurodegenerative disease--a double-edged sword. *Neuron* 2002; 35(3): 419–432

- 49 *Liu B, Hong J-S.* Role of microglia in inflammation-mediated neurodegenerative diseases: mechanisms and strategies for therapeutic intervention. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2003; 304(1): 1–7
- 50 *Togo T, Akiyama H, Iseki E et al.* Occurrence of T cells in the brain of Alzheimer's disease and other neurological diseases. *Journal of Neuroimmunology* 2002; 124(1-2): 83–92
- 51 *Malm T, Koistinaho M, Muona A et al.* The role and therapeutic potential of monocytic cells in Alzheimer's disease. *Glia* 2010; 58(8): 889–900
- 52 *Simard AR, Soulet D, Gowing G et al.* Bone marrow-derived microglia play a critical role in restricting senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Neuron* 2006; 49(4): 489–502
- 53 *Sheedy FJ, Grebe A, Rayner KJ et al.* CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. *Nature immunology* 2013; 14(8): 812–820
- 54 *Jin R, Yang G, Li G.* Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *Journal of leukocyte biology* 2010; 87(5): 779–789
- 55 *Tobin MK, Bonds JA, Minshall RD et al.* Neurogenesis and inflammation after ischemic stroke: what is known and where we go from here. *Journal of cerebral blood flow and metabolism official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2014; 34(10): 1573–1584
- 56 *Bickel H.* Das Wichtigste - 1 Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen; 2014. https://www.deutsche-alzheimer.de/fileadmin/alz/pdf/factsheets/infoblatt1_haeufigkeit_demenzerkrankungen_dalzg.pdf)
- 57 *Bundesministerium für Familie, Senioren, Frauen und Jugend.* Demenz: Lebensqualität verbessern und Pflegende unterstützen; 2013. <http://www.bmfsfj.de/BMFSFJ/Aeltere-Menschen/demenz,did=126696.html>)
- 58 *Prince M, Albanese E, Guerchet M, Prina M.* World Alzheimer Report 2014: Dementia and Risk Reduction. An analysis of protective and modifiable factors; 2014
- 59 *Alzheimer Europe.* Prevalence of dementia in Europe; 2009. <http://www.alzheimer-europe.org/Research/European-Collaboration-on-Dementia/Prevalence-of-dementia/Prevalence-of-dementia-in-Europe>)
- 60 *Graubner B.* ICD-10-GM 2014: Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag; 2014
- 61 *DGPPN, DGN.* Demenz: Diagnose- und Behandlungsleitlinie. Heidelberg: Springer; 2010
- 62 *Mitchell AJ.* A meta-analysis of the accuracy of the mini-mental state examination in the detection of dementia and mild cognitive impairment. *Journal of Psychiatric Research* 2009; 43(4): 411–431

- 63 *Kalbe E, Kessler J, Calabrese P et al.* DemTect: a new, sensitive cognitive screening test to support the diagnosis of mild cognitive impairment and early dementia. *International journal of geriatric psychiatry* 2004; 19(2): 136–143
- 64 *National Collaborating Centre for Mental Health (UK).* Dementia: A NICE-SCIE guideline on supporting people with dementia and their carers in health and social care. Leicester, London: British Psychological Society; Royal College of Psychiatrists; 2007
- 65 *Morris JC, Heyman A, Mohs RC et al.* The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1989; 39(9): 1159–1165
- 66 *Nagaendran K, Chen, L H Christopher, Chong MS et al.* Ministry of health clinical practice guidelines: dementia. *Singapore medical journal* 2013; 54(5): 293
- 67 *Gifford DR, Holloway RG, Vickrey BG.* Systematic review of clinical prediction rules for neuroimaging in the evaluation of dementia. *Archives of internal medicine* 2000; 160(18): 2855–2862
- 68 *Krueger CE, Dean DL, Rosen HJ et al.* Longitudinal rates of lobar atrophy in frontotemporal dementia, semantic dementia, and Alzheimer's disease. *Alzheimer disease and associated disorders* 2010; 24(1): 43–48
- 69 *Mathias JL, Burke J.* Cognitive functioning in Alzheimer's and vascular dementia: a meta-analysis. *Neuropsychology* 2009; 23(4): 411–423
- 70 *Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM.* Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia the journal of the Alzheimer's Association* 2007; 3(3): 186–191
- 71 *Laux G, Deister A, Braun-Scharm H, Möller H-J.* *Psychiatrie und Psychotherapie: 241 Tabellen.* Stuttgart: Thieme; 2009
- 72 *McKhann G, Drachman D, Folstein M et al.* Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34(7): 939
- 73 *Burns A, Byrne EJ, Maurer K.* Alzheimer's disease. *The Lancet* 2002; 360(9327): 163–165
- 74 *Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H.* Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nature reviews. Neurology* 2010; 6(3): 131–144
- 75 *Portelius E, Zetterberg H, Gobom J et al.* Targeted proteomics in Alzheimer's disease: focus on amyloid-beta. *Expert review of proteomics* 2008; 5(2): 225–237
- 76 *Bertram L, Tanzi RE.* Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nature reviews. Neuroscience* 2008; 9(10): 768–778
- 77 *Anand R, Gill KD, Mahdi AA.* Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology* 2014; 76 Pt A: 27–50
- 78 *Kivipelto M.* Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ* 2001; 322(7300): 1447–1451

- 79 *Bekris LM, Yu C-E, Bird TD, Tsuang DW.* Genetics of Alzheimer disease. *Journal of geriatric psychiatry and neurology* 2010; 23(4): 213–227
- 80 *Alzheimer's Association.* Alzheimer's Association Report: 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia the journal of the Alzheimer's Association* 2014; 10(2): 92
- 81 *Petersen RC, Smith GE, Waring SC et al.* Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of neurology* 1999; 56(3): 303–308
- 82 *Petersen RC, Doody R, Kurz A et al.* Current concepts in mild cognitive impairment. *Archives of neurology* 2001; 58(12): 1985–1992
- 83 *Kumar A, Dogra S.* Neuropathology and therapeutic management of Alzheimer's disease - An update. *Drugs Fut* 2008; 33(5): 433
- 84 *Humpel C, Hochstrasser T.* Cerebrospinal fluid and blood biomarkers in Alzheimer's disease. *World J Psychiatry* 2011; 1(1): 8–18
- 85 *Salomone S, Caraci F, Leggio GM et al.* New pharmacological strategies for treatment of Alzheimer's disease: focus on disease modifying drugs. *British journal of clinical pharmacology* 2012; 73(4): 504–517
- 86 *Hardy J.* The amyloid hypothesis for Alzheimer's disease: a critical reappraisal. *Journal of neurochemistry* 2009; 110(4): 1129–1134
- 87 *Kurz A, Perneczky R.* Novel insights for the treatment of Alzheimer's disease. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 2011; 35(2): 373–379
- 88 *Roth AD, Ramírez G, Alarcón R, Bernhardt R von.* Oligodendrocytes damage in Alzheimer's disease: beta amyloid toxicity and inflammation. *Biological research* 2005; 38(4): 381–387
- 89 *Dal Prà I, Chiarini A, Gui L et al.* Do astrocytes collaborate with neurons in spreading the "infectious" $\alpha\beta$ and Tau drivers of Alzheimer's disease? *The Neuroscientist a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* 2015; 21(1): 9–29
- 90 *Buée L, Bussièrre T, Buée-Scherrer V et al.* Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain research. Brain research reviews* 2000; 33(1): 95–130
- 91 *Meraz-Ríos MA, Lira-De León, Karla I, Campos-Peña V et al.* Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry* 2010; 112(6): 1353–1367
- 92 *Spencer, Jeremy P E, Vafeiadou K, Williams RJ, Vauzour D.* Neuroinflammation: modulation by flavonoids and mechanisms of action. *Molecular aspects of medicine* 2012; 33(1): 83–97
- 93 *McGeer EG, McGeer PL.* Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2003; 27(5): 741–749
- 94 *Meraz-Ríos MA, Toral-Rios D, Franco-Bocanegra D et al.* Inflammatory process in Alzheimer's Disease. *Frontiers in integrative neuroscience* 2013; 7: 59

- 95 *Steinman L.* Inflammatory cytokines at the summits of pathological signal cascades in brain diseases. *Science signaling* 2013; 6(258): pe3
- 96 *Burgmans S, van de Haar, Harm J, Verhey, Frans R J, Backes WH.* Amyloid- β interacts with blood-brain barrier function in dementia: a systematic review. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2013; 35(4): 859–873
- 97 *Fiala M, Liu QN, Sayre J et al.* Cyclooxygenase-2-positive macrophages infiltrate the Alzheimer's disease brain and damage the blood-brain barrier. *European journal of clinical investigation* 2002; 32(5): 360–371
- 98 *Richartz-Salzbunger E, BATRA A, STRANSKY E et al.* Altered lymphocyte distribution in Alzheimer's disease. *Journal of Psychiatric Research* 2007; 41(1-2): 174–178
- 99 *Larbi A, Pawelec G, Witkowski JM et al.* Dramatic shifts in circulating CD4 but not CD8 T cell subsets in mild Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2009; 17(1): 91–103
- 100 *Lueg G, Gross CC, Lohmann H et al.* Clinical relevance of specific T-cell activation in the blood and cerebrospinal fluid of patients with mild Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 2014
- 101 *Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG).* Cholinesterasehemmer bei Alzheimer Demenz: Abschlussbericht A05-19A (Version 1.0, Stand: 7.2.2007). Köln; 2007
- 102 *Kumar A, Singh A, Ekavali.* A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacological reports PR* 2015; 67(2): 195–203
- 103 *Sun J-H, Tan L, Wang H-F et al.* Genetics of Vascular Dementia: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2015
- 104 *Leblanc GG, Meschia JF, Stuss DT, Hachinski V.* Genetics of vascular cognitive impairment: the opportunity and the challenges. *Stroke; a journal of cerebral circulation* 2006; 37(1): 248–255
- 105 *Diener H-C.* Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Stuttgart, New York, NY: Thieme; 2012
- 106 *Román GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T et al.* Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology* 1993; 43(2): 250–260
- 107 *Leys D, Hénon H, Mackowiak-Cordoliani M-A, Pasquier F.* Poststroke dementia. *The Lancet. Neurology* 2005; 4(11): 752–759
- 108 *Nagai M, Hoshida S, Kario K.* Hypertension and dementia. *American journal of hypertension* 2010; 23(2): 116–124
- 109 *Strachan, Mark W J, Reynolds RM, Marioni RE, Price JF.* Cognitive function, dementia and type 2 diabetes mellitus in the elderly. *Nature reviews. Endocrinology* 2011; 7(2): 108–114
- 110 *Warren JD, Rohrer JD, Rossor MN.* Clinical review. Frontotemporal dementia. *BMJ (Clinical research ed.)* 2013; 347: f4827

- 111 *Kirshner HS*. Frontotemporal dementia and primary progressive aphasia, a review. *Neuropsychiatric disease and treatment* 2014; 10: 1045–1055
- 112 *Neary D, Snowden JS, Gustafson L et al*. Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* 1998; 51(6): 1546–1554
- 113 *Snowden J, Neary D, Mann D*. Frontotemporal lobar degeneration: clinical and pathological relationships. *Acta neuropathologica* 2007; 114(1): 31–38
- 114 *Rosso SM, Landweer E-J, Houterman M et al*. Medical and environmental risk factors for sporadic frontotemporal dementia: a retrospective case-control study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2003; 74(11): 1574–1576
- 115 *Diehl-Schmid J*. Das Wichtigste 11 - Die Frontotemporale Demenz; 2013. https://www.deutsche-alzheimer.de/fileadmin/alz/pdf/factsheets/infoblatt11_frontotemporale_demenz.pdf
- 116 *Cruts M, Gijselinck I, van der Zee, Julie et al*. Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21. *Nature* 2006; 442(7105): 920–924
- 117 *Kipnis J, Gadani S, Derecki NC*. Pro-cognitive properties of T cells. *Nature reviews. Immunology* 2012; 12(9): 663–669
- 118 *Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH et al*. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *The Journal of clinical psychiatry* 1998; 59 Suppl 20: 22-33;quiz 34-57
- 119 *Tibbling G, Link H, Ohman S*. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. I. Establishment of reference values. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 1977; 37(5): 385–390
- 120 *Busse S, Steiner J, Glorius S et al*. VGF expression by T lymphocytes in patients with Alzheimer's disease. *Oncotarget* 2015; 6(17): 14843–14851
- 121 *Speciale L, Calabrese E, Saresella M et al*. Lymphocyte subset patterns and cytokine production in Alzheimer's disease patients. *Neurobiology of Aging* 2007; 28(8): 1163–1169
- 122 *Lombardi VR, García M, Rey L, Cacabelos R*. Characterization of cytokine production, screening of lymphocyte subset patterns and in vitro apoptosis in healthy and Alzheimer's Disease (AD) individuals. *Journal of Neuroimmunology* 1999; 97(1-2): 163–171
- 123 *Liu H, Zhang J*. Cerebral hypoperfusion and cognitive impairment: the pathogenic role of vascular oxidative stress. *The International journal of neuroscience* 2012; 122(9): 494–499
- 124 *Lasagna-Reeves CA, Castillo-Carranza DL, Sengupta U et al*. Tau oligomers impair memory and induce synaptic and mitochondrial dysfunction in wild-type mice. *Molecular neurodegeneration* 2011; 6: 39
- 125 *Lauderback CM, Kanski J, Hackett JM et al*. Apolipoprotein E modulates Alzheimer's A β (1–42)-induced oxidative damage to synaptosomes in an allele-specific manner. *Brain Research* 2002; 924(1): 90–97

- 126 *Butterfield D, Drake J, Pocernich C, Castegna A.* Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: Central role for amyloid β -peptide. *Trends in molecular medicine* 2001; 7(12): 548–554
- 127 *Liu Z, Li T, Li P et al.* The Ambiguous Relationship of Oxidative Stress, Tau Hyperphosphorylation, and Autophagy Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2015; 2015: 352723
- 128 *Luque-Contreras D, Carvajal K, Toral-Rios D et al.* Oxidative stress and metabolic syndrome: cause or consequence of Alzheimer's disease? *Oxidative medicine and cellular longevity* 2014; 2014: 497802
- 129 *Sochocka M, Koutsouraki E, Gasiorowski K, Leszek J.* Vascular Oxidative Stress and Mitochondrial Failure in the Pathobiology of Alzheimer's Disease: A New Approach to Therapy. *CNSNDDT* 2013; 12(6): 870–881
- 130 *Bermejo P, Martin-Aragon S, Benedi J et al.* Differences of peripheral inflammatory markers between mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Immunology letters* 2008; 117(2): 198–202
- 131 *Licastro F, Pedrini S, Caputo L et al.* Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and α -1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer's disease: Peripheral inflammation or signals from the brain? *Journal of Neuroimmunology* 2000; 103(1): 97–102
- 132 *Angelopoulos P, Agouridaki H, Vaiopoulos H et al.* Cytokines in Alzheimer's disease and vascular dementia. *The International journal of neuroscience* 2008; 118(12): 1659–1672
- 133 *Brenner D, Blaser H, Mak TW.* Regulation of tumour necrosis factor signalling: live or let die. *Nature reviews. Immunology* 2015; 15(6): 362–374
- 134 *Narayanan KB, Park HH.* Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain-mediated cellular signaling pathways. *Apoptosis an international journal on programmed cell death* 2015; 20(2): 196–209
- 135 *Vaux DL, Korsmeyer SJ.* Cell Death in Development. *Cell* 1999; 96(2): 245–254
- 136 *Arnold CR, Pritz T, Brunner S et al.* T cell receptor-mediated activation is a potent inducer of macroautophagy in human CD8(+)CD28(+) T cells but not in CD8(+)CD28(-) T cells. *Experimental Gerontology* 2014; 54: 75–83
- 137 *Gelino S, Hansen M.* Autophagy - An Emerging Anti-Aging Mechanism. *Journal of clinical & experimental pathology* 2012; Suppl 4
- 138 *Brunner S, Herndler-Brandstetter D, Weinberger B, Grubeck-Loebenstein B.* Persistent viral infections and immune aging. *Ageing research reviews* 2011; 10(3): 362–369
- 139 *Caccamo A, Majumder S, Richardson A et al.* Molecular interplay between mammalian target of rapamycin (mTOR), amyloid-beta, and Tau: effects on cognitive impairments. *The Journal of biological chemistry* 2010; 285(17): 13107–13120

- 140 *Yokoyama JS, Wang Y, Schork AJ et al.* Association Between Genetic Traits for Immune-Mediated Diseases and Alzheimer Disease. *JAMA neurology* 2016; 73(6): 691–697
- 141 *Dumitriu IE, Araguás ET, Baboonian C, Kaski JC.* CD4+ CD28 null T cells in coronary artery disease: when helpers become killers. *Cardiovascular research* 2009; 81(1): 11–19
- 142 *Gruden MA, Davidova TB, Malisauskas M et al.* Differential neuroimmune markers to the onset of Alzheimer's disease neurodegeneration and dementia: autoantibodies to Abeta((25-35)) oligomers, S100b and neurotransmitters. *Journal of Neuroimmunology* 2007; 186(1-2): 181–192
- 143 *Lurain NS, Hanson BA, Martinson J et al.* Virological and immunological characteristics of human cytomegalovirus infection associated with Alzheimer disease. *The Journal of infectious diseases* 2013; 208(4): 564–572
- 144 *WADA H.* Blood-Brain Barrier Permeability of the Demented Elderly as Studied by Cerebrospinal Fluid-Serum Albumin Ratio. *Intern. Med.* 1998; 37(6): 509–513
- 145 *Elovaara I, Icen A, Palo J, Erkinjuntti T.* CSF in Alzheimer's disease. *Journal of the neurological sciences* 1985; 70(1): 73–80
- 146 *Erickson MA, Banks WA.* Blood-brain barrier dysfunction as a cause and consequence of Alzheimer's disease. *Journal of cerebral blood flow and metabolism official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2013; 33(10): 1500–1513
- 147 *Mecocci P, Parnetti L, Reboldi GP et al.* Blood-brain-barrier in a geriatric population: Barrier function in degenerative and vascular dementias. *Acta Neurologica Scandinavica* 1991; 84(3): 210–213
- 148 *Kay AD, May C, Papadopoulos NM et al.* CSF and serum concentrations of albumin and IgG in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 1987; 8(1): 21–25
- 149 *Wu Z, Guo H, Chow N et al.* Role of the MEOX2 homeobox gene in neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. *Nature medicine* 2005; 11(9): 959–965
- 150 *Bailey TL, Rivara CB, Rocher AB, Hof PR.* The nature and effects of cortical microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Neurological research* 2004; 26(5): 573–578
- 151 *Vivo DC de, Trifiletti RR, Jacobson RI et al.* Defective glucose transport across the blood-brain barrier as a cause of persistent hypoglycorrhachia, seizures, and developmental delay. *The New England journal of medicine* 1991; 325(10): 703–709
- 152 *Harik SI.* Changes in the glucose transporter of brain capillaries. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 1992; 70 Suppl: S113-7
- 153 *Tohyama Y, Takano T, Yamamura H.* B Cell Responses to Oxidative Stress. *CPD* 2004; 10(8): 835–839
- 154 *Rodriguez-Pinto D, Moreno J.* B cells can prime naive CD4+ T cells in vivo in the absence of other professional antigen-presenting cells in a CD154-CD40-dependent manner. *European journal of immunology* 2005; 35(4): 1097–1105

- 155 *Ditschkowski M, Kreuzfelder E, Majetschak M et al.* Reduced B cell HLA-DR expression and natural killer cell counts in patients prone to sepsis after injury. *The European journal of surgery = Acta chirurgica* 1999; 165(12): 1129–1133
- 156 *Ginaldi L, Martinis M de, D'Ostilio A et al.* Changes in antigen expression on B lymphocytes during HIV infection. *Pathobiology journal of immunopathology, molecular and cellular biology* 1998; 66(1): 17–23
- 157 *Lovheim H, Gilthorpe J, Adolfsson R et al.* Reactivated herpes simplex infection increases the risk of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia the journal of the Alzheimer's Association* 2015; 11(6): 593–599
- 158 *Lovheim H, Gilthorpe J, Johansson A et al.* Herpes simplex infection and the risk of Alzheimer's disease: A nested case-control study. *Alzheimer's & dementia the journal of the Alzheimer's Association* 2015; 11(6): 587–592
- 159 *Sparks Stein P, Steffen MJ, Smith C et al.* Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia the journal of the Alzheimer's Association* 2012; 8(3): 196–203
- 160 *Riviere GR, Riviere KH, Smith KS.* Molecular and immunological evidence of oral *Treponema* in the human brain and their association with Alzheimer's disease. *Oral microbiology and immunology* 2002; 17(2): 113–118
- 161 *Alonso R, Pisa D, Marina AI et al.* Fungal infection in patients with Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2014; 41(1): 301–311
- 162 *Maheshwari P, Eslick GD.* Bacterial infection and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2015; 43(3): 957–966
- 163 *Miklossy J.* Chronic inflammation and amyloidogenesis in Alzheimer's disease -- role of Spirochetes. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2008; 13(4): 381–391
- 164 *Miklossy J, Khalili K, Gern L et al.* *Borrelia burgdorferi* persists in the brain in chronic lyme neuroborreliosis and may be associated with Alzheimer disease. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2004; 6(6): 639-49; discussion 673-81
- 165 *Pappolla MA, Omar R, Saran B et al.* Concurrent neuroborreliosis and Alzheimer's disease: analysis of the evidence. *Human pathology* 1989; 20(8): 753–757
- 166 *Strandberg TE, Pitkala KH, Linnavuori KH, Tilvis RS.* Impact of viral and bacterial burden on cognitive impairment in elderly persons with cardiovascular diseases. *Stroke; a journal of cerebral circulation* 2003; 34(9): 2126–2131
- 167 *Jack RS.* CD14 in the Inflammatory Response: S. Karger AG; 1999
- 168 *Ranoa, Diana Rose E, Kelley SL, Tapping RI.* Human lipopolysaccharide-binding protein (LBP) and CD14 independently deliver triacylated lipoproteins to Toll-like receptor 1 (TLR1) and TLR2 and enhance formation of the ternary signaling complex. *The Journal of biological chemistry* 2013; 288(14): 9729–9741
- 169 *Glod J, Kobiler D, Noel M et al.* Monocytes form a vascular barrier and participate in vessel repair after brain injury. *Blood* 2006; 107(3): 940–946

- 170 *van Zonneveld AJ, Boer HC de, van der Veer EP, Rabelink TJ.* Inflammation, vascular injury and repair in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2010; 69 Suppl 1: i57-60
- 171 *Busse S, Steiner J, Alter J et al.* Expression of HLA-DR, CD80, and CD86 in Healthy Aging and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2015; 47(1): 177–184
- 172 *Styren SD, Civin W, Rogers J.* Molecular, cellular, and pathologic characterization of HLA-DR immunoreactivity in normal elderly and Alzheimer's disease brain. *Experimental Neurology* 1990; 110(1): 93–104
- 173 *Su HC, Nguyen KB, Salazar-Mather TP et al.* NK cell functions restrain T cell responses during viral infections. *European journal of immunology* 2001; 31(10): 3048–3055
- 174 *Rose V de, Cappello P, Sorbello V et al.* IFN-gamma inhibits the proliferation of allergen-activated T lymphocytes from atopic, asthmatic patients by inducing Fas/FasL-mediated apoptosis. *Journal of leukocyte biology* 2004; 76(2): 423–432
- 175 *Motta M, Imbesi R, Di Rosa M et al.* Altered plasma cytokine levels in Alzheimer's disease: correlation with the disease progression. *Immunology letters* 2007; 114(1): 46–51
- 176 *Schindowski K, Peters J, Gorriz C et al.* Apoptosis of CD4+ T and natural killer cells in Alzheimer's disease. *Pharmacopsychiatry* 2006; 39(6): 220–228
- 177 *Solerte SB, Cravello L, Ferrari E, Fioravanti M.* Overproduction of IFN-gamma and TNF-alpha from natural killer (NK) cells is associated with abnormal NK reactivity and cognitive derangement in Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000; 917: 331–340
- 178 *Araga S, Kagimoto H, Funamoto K, Takahashi K.* Reduced natural killer cell activity in patients with dementia of the Alzheimer type. *Acta Neurologica Scandinavica* 1991; 84(3): 259–263
- 179 *Berzins SP, Ritchie DS.* Natural killer T cells: drivers or passengers in preventing human disease? *Nature reviews. Immunology* 2014; 14(9): 640–646
- 180 *Santos RR, Torres KC, Lima GS et al.* Reduced frequency of T lymphocytes expressing CTLA-4 in frontotemporal dementia compared to Alzheimer's disease. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 2014; 48: 1–5
- 181 *Sconocchia G, Keyvanfar K, El Ouriaghli F et al.* Phenotype and function of a CD56+ peripheral blood monocyte. *Leukemia* 2005; 19(1): 69–76
- 182 *Grip O, Bredberg A, Lindgren S, Henriksson G.* Increased subpopulations of CD16(+) and CD56(+) blood monocytes in patients with active Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases* 2007; 13(5): 566–572
- 183 *Krasselt M, Baerwald C, Wagner U, Rossol M.* CD56+ monocytes have a dysregulated cytokine response to lipopolysaccharide and accumulate in rheumatoid arthritis and immunosenescence. *Arthritis research & therapy* 2013; 15(5): R139
- 184 *Pellicanò M, Larbi A, Goldeck D et al.* Immune profiling of Alzheimer patients. *Journal of Neuroimmunology* 2012; 242(1-2): 52–59

- 185 *Ciccocioppo F, Lanuti P, Marchisio M et al.* Expression and phosphorylation of protein kinase C isoforms in Abeta(1-42) activated T lymphocytes from Alzheimers disease. *International journal of immunopathology and pharmacology* 2008; 21(1): 23–33
- 186 *Miscia S, Ciccocioppo F, Lanuti P et al.* Abeta(1-42) stimulated T cells express P-PKC-delta and P-PKC-zeta in Alzheimer disease. *Neurobiology of Aging* 2009; 30(3): 394–406
- 187 *Mayeux R, Honig LS, Tang M-X et al.* Plasma Abeta40 and Abeta42 and Alzheimer's disease: relation to age, mortality, and risk. *Neurology* 2003; 61(9): 1185–1190
- 188 *Cebrián M, Yagüe E, Rincón M et al.* Triggering of T cell proliferation through AIM, an activation inducer molecule expressed on activated human lymphocytes. *The Journal of experimental medicine* 1988; 168(5): 1621–1637
- 189 *Testi R, Phillips JH, Lanier LL.* T cell activation via Leu-23 (CD69). *Journal of immunology (Baltimore, Md. 1950)* 1989; 143(4): 1123–1128
- 190 *Gandhi R, Farez MF, Wang Y et al.* Cutting edge: human latency-associated peptide+ T cells: a novel regulatory T cell subset. *Journal of immunology (Baltimore, Md. 1950)* 2010; 184(9): 4620–4624
- 191 *de la Fuente, Hortensia, Cruz-Adalia A, Martinez Del Hoyo, Gloria et al.* The leukocyte activation receptor CD69 controls T cell differentiation through its interaction with galectin-1. *Molecular and cellular biology* 2014; 34(13): 2479–2487
- 192 *Shiow LR, Rosen DB, Brdicková N et al.* CD69 acts downstream of interferon-alpha/beta to inhibit S1P1 and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nature* 2006; 440(7083): 540–544
- 193 *Lamana A, Martin P, de la Fuente, Hortensia et al.* CD69 modulates sphingosine-1-phosphate-induced migration of skin dendritic cells. *The Journal of investigative dermatology* 2011; 131(7): 1503–1512
- 194 *Thunberg S, Gafvelin G, Nord M et al.* Allergen provocation increases TH2-cytokines and FOXP3 expression in the asthmatic lung. *Allergy* 2010; 65(3): 311–318
- 195 *Perrella O, Carrieri PB, Mercato R de, Buscaino GA.* Markers of activated T lymphocytes and T cell receptor gamma/delta+ in patients with multiple sclerosis. *European neurology* 1993; 33(2): 152–155
- 196 *Kusdra L, Rempel H, Yaffe K, Pulliam L.* Elevation of CD69+ monocyte/macrophages in patients with Alzheimer's disease. *Immunobiology* 2000; 202(1): 26–33
- 197 *Kusdra L, McGuire D, Pulliam L.* Changes in monocyte/macrophage neurotoxicity in the era of HAART: implications for HIV-associated dementia. *AIDS (London, England)* 2002; 16(1): 31–38
- 198 *Saresella M, Calabrese E, Marventano I et al.* Increased activity of Th-17 and Th-9 lymphocytes and a skewing of the post-thymic differentiation pathway are seen in Alzheimer's disease. *Brain, behavior, and immunity* 2011; 25(3): 539–547
- 199 *Tan J, Town T, Abdullah L et al.* CD45 isoform alteration in CD4+ T cells as a potential diagnostic marker of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology* 2002; 132(1-2): 164–172

- 200 *Togo T, Akiyama H, Iseki E et al.* Occurrence of T cells in the brain of Alzheimer's disease and other neurological diseases. *Journal of Neuroimmunology* 2002; 124(1-2): 83–92
- 201 *Shalit F, Sredni B, Brodie C et al.* T Lymphocyte Subpopulations and Activation Markers Correlate with Severity of Alzheimer's Disease. *Clinical immunology and immunopathology* 1995; 75(3): 246–250
- 202 *Engelhardt B.* Molecular mechanisms involved in T cell migration across the blood-brain barrier. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria 1996)* 2006; 113(4): 477–485
- 203 *Serre-Miranda C, Roque S, Santos NC et al.* Effector memory CD4(+) T cells are associated with cognitive performance in a senior population. *Neurology® neuroimmunology & neuroinflammation* 2015; 2(1): e54
- 204 *Barreto M, Ferreira RC, Lourenço L et al.* Low frequency of CD4+CD25+ Treg in SLE patients: a heritable trait associated with CTLA4 and TGFbeta gene variants. *BMC immunology* 2009; 10: 5
- 205 *Ferraro A, Socci C, Stabilini A et al.* Expansion of Th17 cells and functional defects in T regulatory cells are key features of the pancreatic lymph nodes in patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 2011; 60(11): 2903–2913
- 206 *Wang HY, Wang R-F.* Regulatory T cells and cancer. *Current opinion in immunology* 2007; 19(2): 217–223
- 207 *Jagger A, Shimojima Y, Goronzy JJ, Weyand CM.* Regulatory T cells and the immune aging process: a mini-review. *Gerontology* 2014; 60(2): 130–137
- 208 *Sakaguchi S.* Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nature immunology* 2005; 6(4): 345–352
- 209 *Bennett CL, Christie J, Ramsdell F et al.* The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nature genetics* 2001; 27(1): 20–21
- 210 *Passerini L, Santoni de Sio, Francesca Romana, Roncarolo MG, Bacchetta R.* Forkhead box P3: the peacekeeper of the immune system. *International reviews of immunology* 2014; 33(2): 129–145
- 211 *Saresella M, Calabrese E, Marventano I et al.* PD1 negative and PD1 positive CD4+ T regulatory cells in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease JAD* 2010; 21(3): 927–938
- 212 *Busse S, Brix B, Kunschmann R et al.* N-methyl-d-aspartate glutamate receptor (NMDA-R) antibodies in mild cognitive impairment and dementias. *Neuroscience research* 2014; 85: 58–64
- 213 *Busse S, Busse M, Brix B et al.* Seroprevalence of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor (NMDA-R) autoantibodies in aging subjects without neuropsychiatric disorders and in dementia patients. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 2014; 264(6): 545–550

- 214 *Ray S, Britschgi M, Herbert C et al.* Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nature medicine* 2007; 13(11): 1359–1362
- 215 *Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA et al.* 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. *Alzheimer's & dementia the journal of the Alzheimer's Association* 2011; 7(3): 280–292

8 Anlagen

8.1 Tabellen

Tabelle 3

a: Leukozytenpopulationen des adaptiven Immunsystems

	Kontrollgruppe median (q1;q3)	AD		VD		FTD		Kruskal-Wallis-Test	
		median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	chi ²	p
CD3+	31,10 (20,50;42,70)	28,85 (11,28;37,88)	0,489	14,30 (10,18;27,70)	0,016*	20,45 (11,12;30,18)	0,120	7,938	0,047*
CD4+	22,10 (13,05;31,30)	16,70 (10,70;26,40)	0,175	9,15 (7,13;18,48)	0,008**	11,90 (7,58;27,60)	0,276	9,855	0,020*
CD8+	11,40 (7,45;18,93)	12,00 (6,20;19,95)	1,000	4,20 (2,85;11,90)	0,056	8,35 (3,55;14,38)	0,356	7,871	0,049*
CD19+	3,80 (3,20;6,00)	3,15 (1,67;4,80)	0,222	1,65 (1,17;2,65)	0,005**	1,85 (1,35;3,95)	0,118	10,474	0,015*
CD25+CD4+	38,85 (33,45;49,33)	38,65 (26,38;50,25)	1,000	33,35 (23,37;49,12)	0,953	49,80 (32,07;53,92)	1,000	2,449	0,484
CD25+CD8+	8,30 (3,87;21,30)	7,40 (3,10;19,90)	1,000	3,80 (1,35;6,57)	0,066	4,40 (4,00;13,75)	1,000	6,082	0,108
HLA-DR+CD3+	3,78 (2,30;4,45)	4,22 (3,01;6,79)	0,794	2,92 (1,86;5,40)	1,000	3,59 (1,73;5,08)	1,000	3,947	0,267
CD69+CD3+	4,17 (2,58;7,65)	3,49 (2,21;5,21)	1,000	3,39 (1,92;4,85)	0,909	3,89 (2,17;5,72)	1,000	1,590	0,662
HLA-DR+CD19+	3,70 (3,00;6,00)	2,95 (1,60;4,53)	0,125	1,60 (0,90;2,52)	0,003**	1,70 (1,25;3,70)	0,071	12,111	0,007*
CD69+CD19+	3,66 (0,00;5,00)	2,08 (0,00;4,17)	1,000	1,60 (0,00;3,71)	0,188	2,74 (0,00;4,45)	1,000	3,680	0,298

Prozentuale Verteilung der Leukozyten des adaptiven Immunsystems: T-Lymphozyten (CD3+), CD4+ T-Lymphozyten, CD8+ T-Lymphozyten, B-Lymphozyten (CD19+). Außerdem Verteilung von T- und B-Lymphozyten in unterschiedlichen Aktivierungsstadien (CD25+, CD69+, HLA-DR+). Vergleich der Kontrollgruppe mit den Gruppen: Alzheimer-Demenz (AD), vaskuläre Demenz (VD), frontotemporale Demenz (FTD) per Bonferroni-korrigierten U-Test (p). Rechts: H-Test-Ergebnisse.

b: Leukozytenpopulationen des angeborenen Immunsystems/NKT

	Kontrollgruppe median (q1;q3)	AD		VD		FTD		Kruskal-Wallis-Test	
		median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	chi ²	p
CD14+	73,40 (64,70;78,90)	71,55 (60,42;79,50)	1,000	59,80 (51,88;67,92)	0,020*	73,95 (62,60;81,53)	1,000	7,683	0,053
CD56+	6,50 (5,40;10,30)	6,00 (3,50;12,50)	1,000	3,50 (1,67;5,60)	0,012*	5,60 (4,30;13,03)	1,000	9,534	0,023*
CD56+CD3+	1,00 (0,50;2,10)	1,15 (0,40;2,40)	1,000	0,60 (0,20;1,02)	0,559	0,75 (0,27;2,75)	1,000	2,130	0,546
HLA-DR+CD14+	82,45 (58,50;87,77)	70,42 (54,66;84,77)	0,944	61,35 (47,08;75,24)	0,059	65,63 (48,80;80,88)	0,561	5,235	0,155

Prozentuale Verteilung von Monozyten (CD14+), natürlichen Killerzellen (CD56+), natürlichen Killer-T-Zellen (CD56+CD3+) und aktivierten Monozyten (HLA-DR+CD14+).

Tabelle 3

c: T-Lymphozyten-Subpopulationen im Gruppenvergleich

	Kontrollgruppe median (q1;q3)	AD		VD		FTD		Kruskal-Wallis-Test	
		median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	chi ²	p
CCR7+RA+CD4+	2,40 (1,40;4,47)	2,20 (1,20;3,70)	0,952	1,75 (1,48;2,73)	0,743	2,60 (1,05;3,47)	1,000	1,481	0,687
CCR7+R0+CD4+	2,80 (1,30;4,50)	2,50 (1,60;4,00)	1,000	2,00 (1,37;2,95)	0,932	2,70 (1,73;3,62)	1,000	1,593	0,661
CCR7-RA+CD4+	36,20 (26,80;45,80)	24,70 (15,60;39,60)	0,115	30,50 (25,65;45,15)	1,000	30,60 (22,75;38,10)	0,821	6,546	0,088
CCR7-R0+CD4+	45,50 (37,40;56,47)	54,85 (46,02;65,07)	0,114	49,55 (42,02;52,15)	1,000	52,35 (43,73;60,27)	1,000	6,120	0,106
CCR7+RA+CD8+	5,20 (2,85;12,25)	2,10 (1,30;3,85)	0,003**	3,60 (1,50;6,50)	0,566	6,40 (2,85;10,30)	1,000	13,830	0,003*
CCR7+R0+CD8+	0,85 (0,50;2,30)	0,70 (0,40;1,20)	0,421	0,80 (0,30;1,20)	1,000	1,20 (0,55;2,90)	1,000	4,176	0,243
CCR7-RA+CD8+	32,20 (28,70;46,55)	48,70 (32,15;58,15)	0,077	42,70 (29,70;62,95)	0,257	50,95 (30,05;57,15)	0,745	5,383	0,146
CCR7-R0+CD8+	22,05 (13,90;30,35)	21,20 (13,95;28,90)	1,000	20,50 (12,00;26,45)	1,000	16,35 (13,72;29,25)	1,000	0,345	0,951

Naive T-Zellen (CCR7+RA+) und zentrale T-Gedächtniszellen (CCR7+R0+) bzw. Effektorzellen (CCR7-RA+) und Effektor-T-Gedächtniszellen (CCR7-R0+) der CD4+ bzw. CD8+ T-Zell-Reihen im prozentualen Vergleich der Kontroll- und Demenzgruppen.

d: Regulatorische T-Lymphozyten im Gruppenvergleich

	Kontrollgruppe median (q1;q3)	AD		VD		FTD		Kruskal-Wallis-Test	
		median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	median (q1;q3)	p	chi ²	p
CD4+FoxP3+	1,85 (1,28;3,10)	2,10 (1,30;2,85)	1,000	2,40 (1,65;3,35)	1,000	2,35 (1,30;3,65)	1,000	0,680	0,878
CD4+CD25+FoxP3+	5,80 (2,17;8,55)	4,40 (2,35;7,55)	1,000	5,30 (2,63;7,08)	1,000	4,20 (2,53;5,82)	1,000	0,808	0,847
CD8+FoxP3+	0,45 (0,20;0,90)	0,45 (0,10;0,78)	1,000	0,30 (0,20;1,05)	1,000	0,40 (0,30;0,80)	1,000	0,081	0,994
CD8+CD25+FoxP3+	5,60 (2,17;8,45)	4,50 (2,35;7,50)	1,000	4,85 (2,72;6,30)	1,000	4,25 (2,53;6,32)	1,000	0,528	0,913

Prozentuale Verteilung regulatorischer T-Lymphozyten der CD4+ und CD8+ Zell-Linien bzw. aktivierter regulatorischer CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten (CD25+).

Tabelle 4

a: Spearman-Korrelationsanalyse (QAlb/MMST/Alter mit Gruppe)

Parameter	Patientengruppe	Zellpopulation	Korrelation	p
Q Albumin	AD	HLA-DR+CD3+	-0.3411	0.0153
		CCR7+RA+CD8+	-0.2926	0.0271
	FTD	CCR7-RO+CD4+	0.8461	0.0005
		CCR7-RO+CD8+	0.6364	0.0261
		CCR7-RA+CD8+	-0.6154	0.0332
		CD4+CD25+Foxp3+	0.6014	0.0386
CD8+CD25+Foxp3+	0.6014	0.0386		
MMST	AD	CD4+Foxp3+	-0.4210	0.0011
	VD	CD4+	0.5946	0.0151
		CCR+RA+CD8+	0.5778	0.0120
		CCR7-RA+CD4+	0.5538	0.0139
	FTD	CD4+CD25+	-0.6270	0.0291
Alter	AD	CD3+	-0.3284	0.0174
		HLA-DR+CD3+	-0.3879	0.0045
		CD19+	-0.3640	0.0080
		HLA-DR+CD19+	-0.3579	0.0091
		CD14+	-0.3222	0.0199
		CD8+	-0.3085	0.0175
		CD8+CD25+	-0.2609	0.0460
	CD4+	-0.3084	0.0175	
	VD	CD69+	0.4757	0.0340
		CD4+Foxp3+	-0.5159	0.0410

Aufführung statistisch signifikanter Ergebnisse von Korrelationsanalysen nach Spearman zwischen Q-Albumin, MMST und Alter sowie AD, VD, FTD und Kontrollen.

Tabelle 4

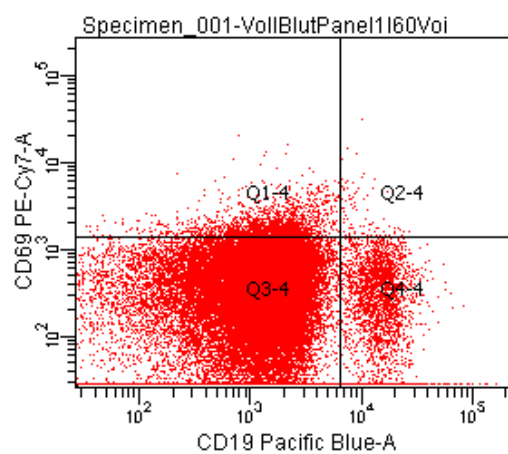
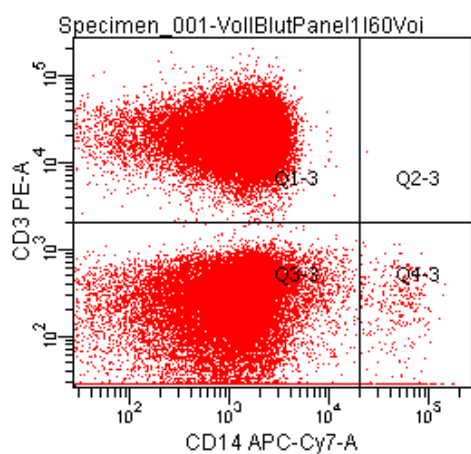
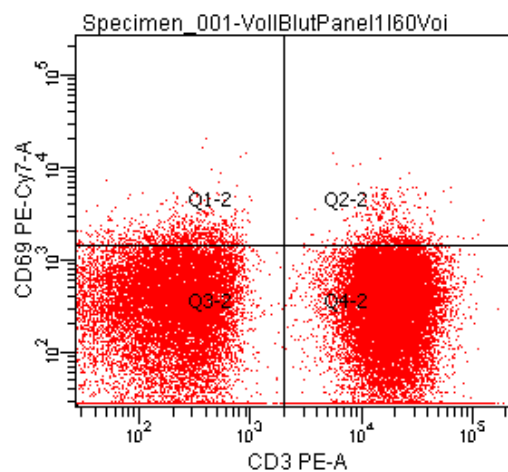
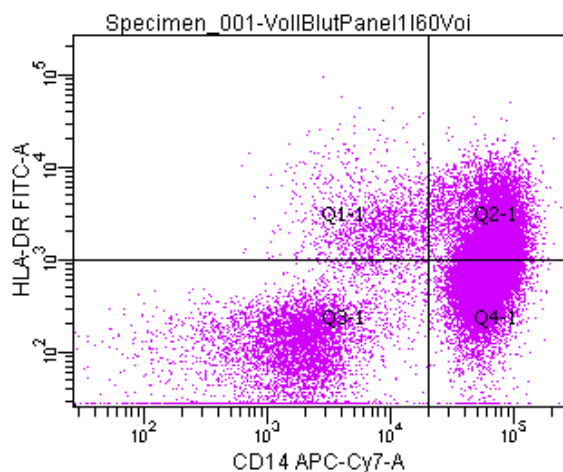
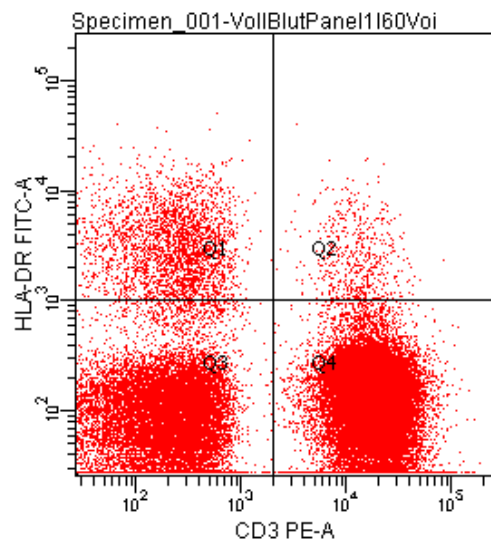
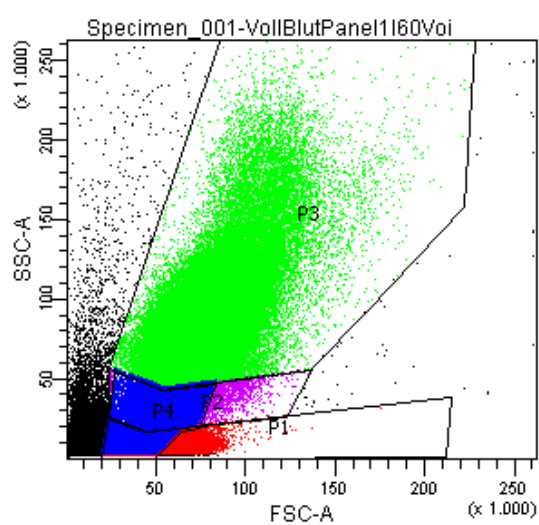
b: Spearman-Korrelationsanalyse (QAlb/MMST/Alter mit Geschl.)

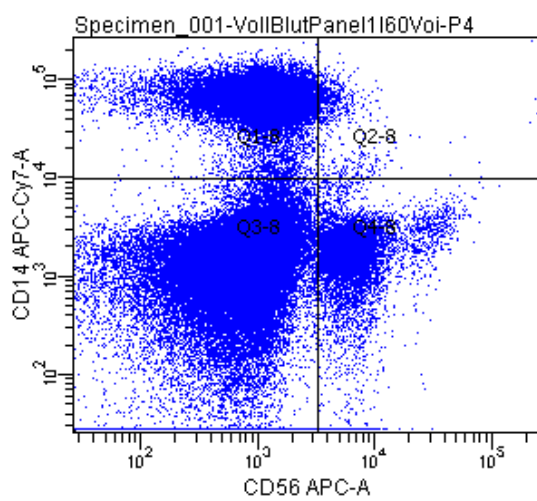
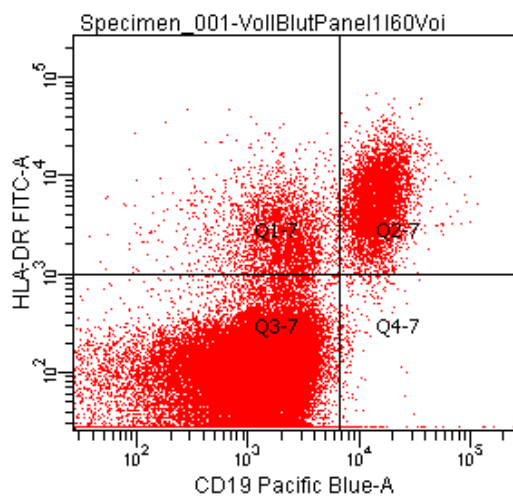
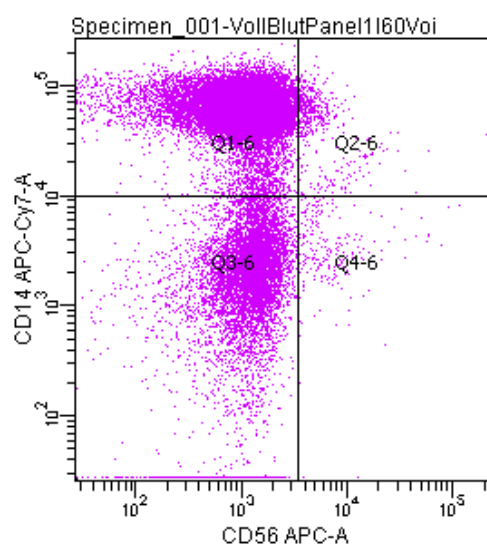
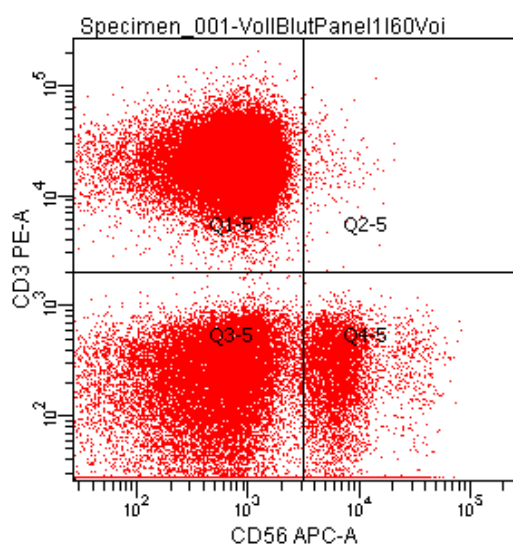
Parameter	Geschlecht	Zellpopulation	Korrelation	p
Q Albumin	weiblich	CCR7-RA+CD8+	0.2846	0.0452
	männlich	CD69+CD19+ CCR7-RA+CD8+	0.3511 -0.4369	0.0452 0.0077
MMST	weiblich	CD3+	0.2757	0.0287
		CD19+	0.2603	0.0394
		HLA-DR+CD19+	0.2808	0.0258
		CD56+	0.2607	0.0391
		CD4+	0.3567	0.0026
		CCR7+RA+CD8+	0.3987	0.0008
		CCR7-RA+CD8+	-0.2507	0.0392
	männlich	HLA-DR+CD3+	-0.3766	0.0198
Alter	weiblich	CD19+	-0.3382	0.0058
		HLA-DR+CD19+	-0.3262	0.0080
		CD3+	-0.2537	0.0414
		CD69+CD19+	-0.2465	0.0477
		CCR7+RA+CD8+	-0.4770	0.0000
		CD4+	-0.4425	0.0001
		CCR7-RA+CD4+	-0.2826	0.0169

Darstellung statistisch signifikanter Ergebnisse von Korrelationsanalysen nach Spearman zwischen Q-Albumin, MMST und Alter sowie Geschlecht der Probanden.

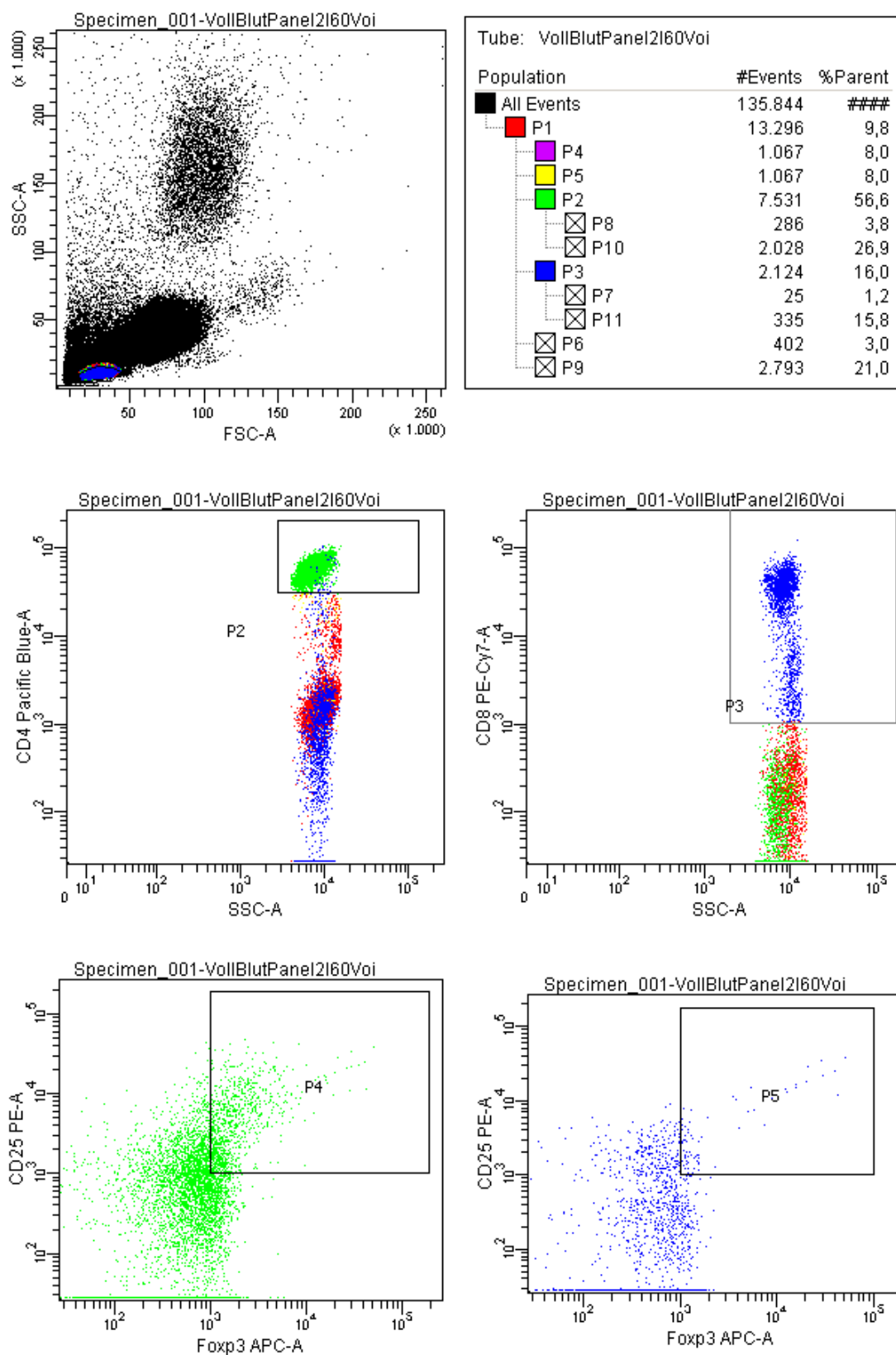
8.2 Gatingbeispiele

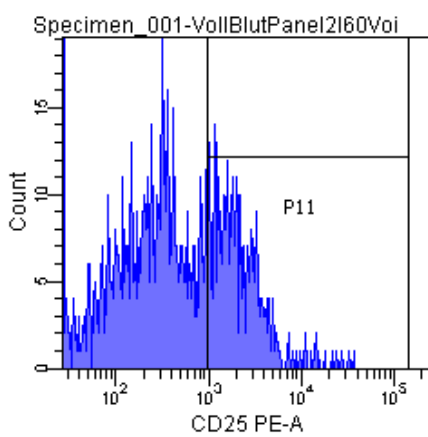
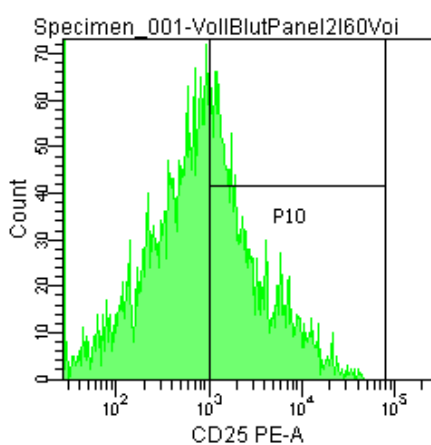
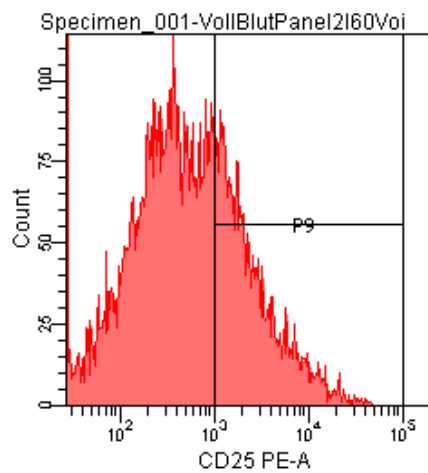
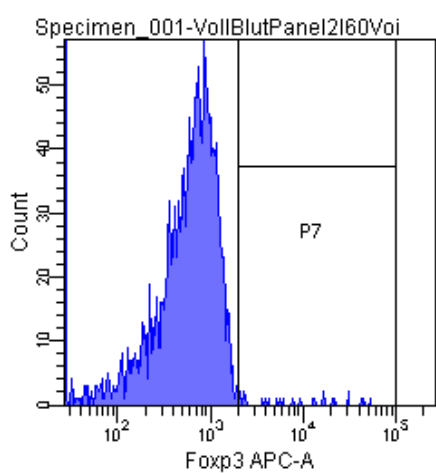
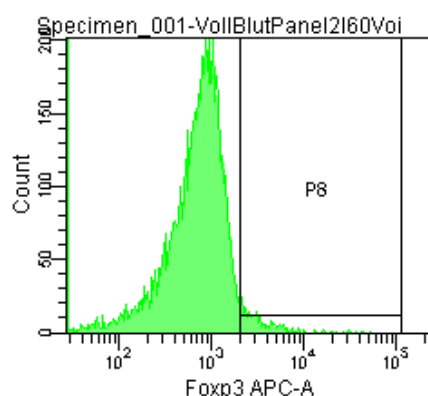
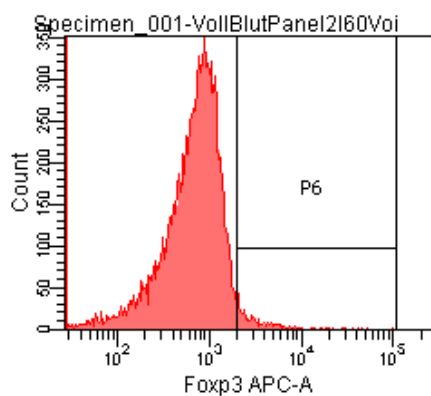
8.2.1 Gatingbeispiel für Panel 1



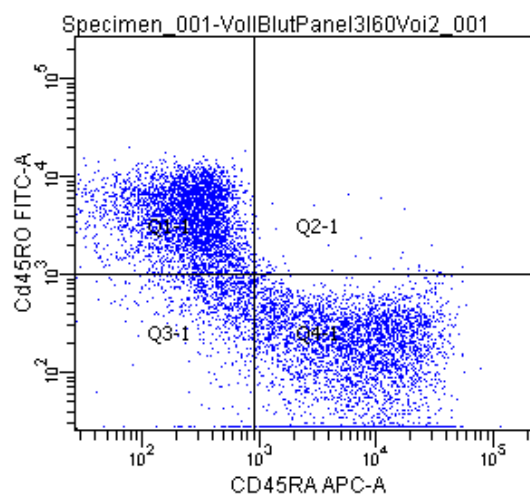
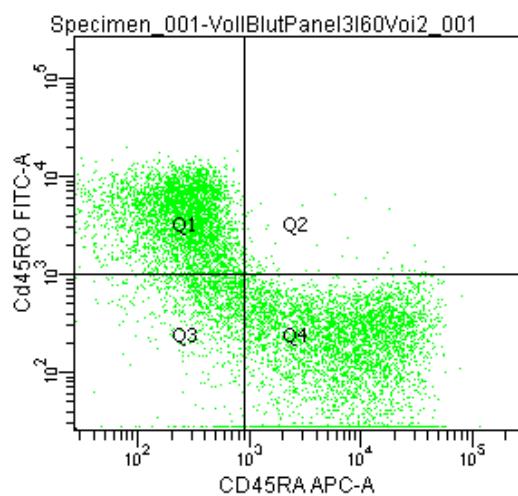
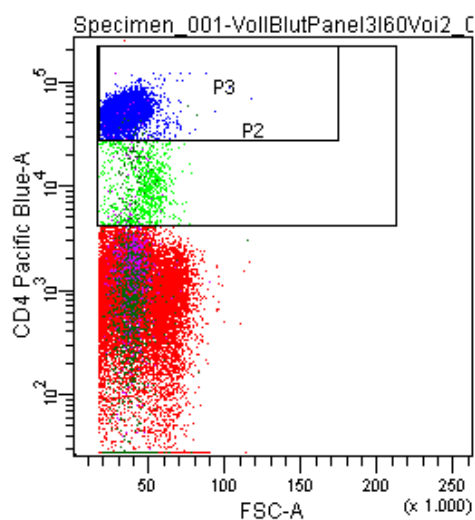
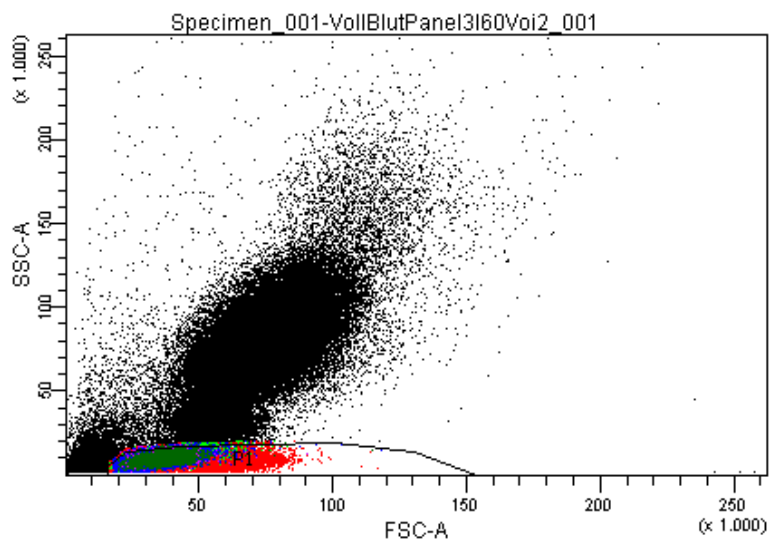


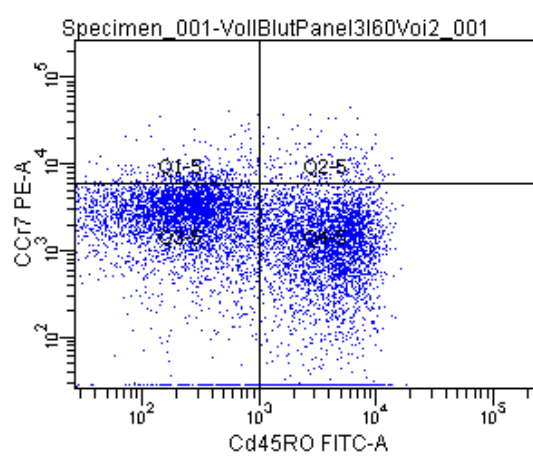
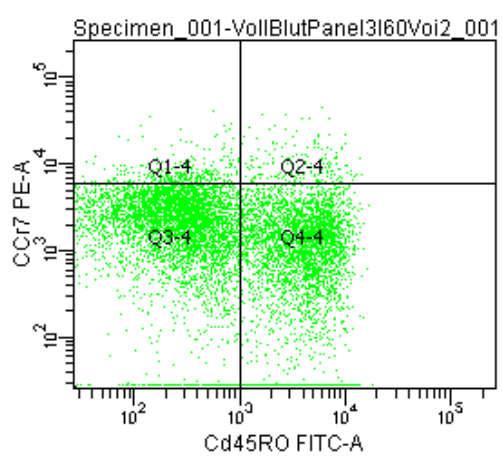
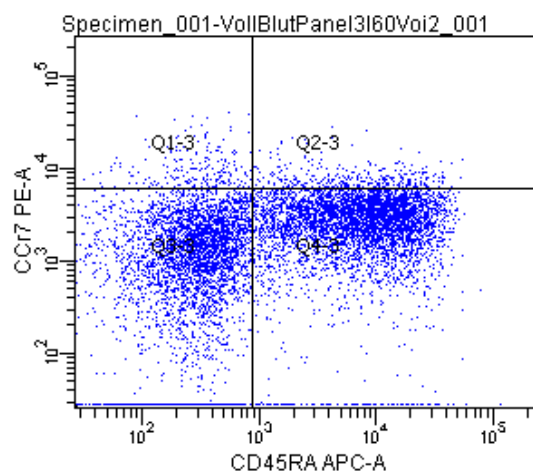
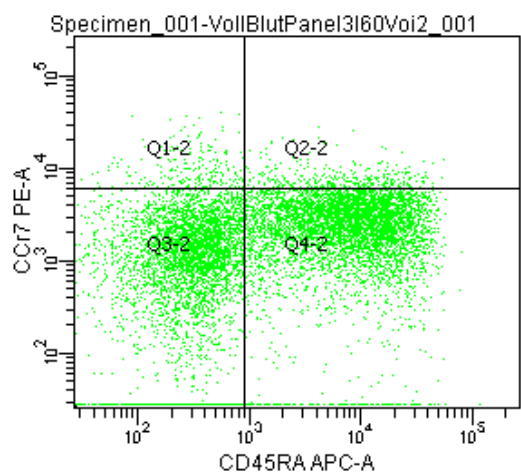
8.2.2 Gatingbeispiel für Panel 2





8.2.3 Gatingbeispiel für Panel 3





9 Danksagungen

Ein großes Dankeschön gilt zuallererst meinem Doktorvater PD Dr. med. Stefan Busse für die Ermöglichung der Dissertation und den konsequenten Rückhalt von der Konzeption bis zur Abgabe der Arbeit.

Frau Dr. Mandy Busse danke ich vielmals für ihre unschätzbare Hilfe bei allen immunologischen Fragestellungen und die Widmung ihrer allzu knappen Zeit dem Projekt.

Den beiden Laborfeen Bjanca Jerzykiewic und Kathrin Paelchen danke ich für die Unterstützung bei der Vollblutpräparation, die stetige Motivation und gute Laune an langen Labortagen.

Ein besonderer Dank ist Herrn Dr. Roland Hartig gewidmet, der mir sein kostbares FACS und ein stets offenes Ohr für Fragen zu Technik, Messung und Wartung lieh und die umfangreiche Datenerhebung erst möglich machte.

Herrn Henrik Dobrowolny möchte ich für die signifikante Hilfestellung in statistischen Fragen danken.

Meiner Freundin Lisa danke ich für den unerschütterlichen Glauben und die wahren Worte zu den richtigen Zeiten.

Meinem eifrigen Korrekturleser Gregor möchte ich für jedes einzelne Satzzeichen danken.

Abschließend bedanke ich mich bei meinen Eltern, meiner Schwester und meinen Großeltern für die jahrelange Unterstützung, ohne die ich diesen Weg nicht hätte gehen können.

10 Liste der Veröffentlichungen bzw. Co-Autorenschaften

- 1 *Busse M, Michler E, von Hoff, Franz et al. Alterations in the Peripheral Immune System in Dementia. Journal of Alzheimer's disease 2017; 58(4): 1303–1313*

11 Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Unterschiede im peripheren zellulären Immunsystem dementieller Erkrankungen

in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Magdeburg

mit Unterstützung durch PD Dr. med. Stefan Busse

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 03.03.2018

12 Darstellung des Bildungsweges

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.