



Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums rechts der Isar der  
Technischen Universität München

Interaktion vaskulärer Parameter mit der Alzheimer-Pathologie

Claudia Muggenthaler

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität  
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Jürgen Schlegel

Prüfende der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Timo Grimmer
2. apl. Prof. Dr. Tareq Ibrahim

Die Dissertation wurde am 11.06.2019 bei der Technischen Universität München eingereicht  
und durch die Fakultät für Medizin am 08.10.2019 angenommen.

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern,  
Anna Elisabeth und Alexander Muggenthaler, mit großem Dank für die  
unermüdliche Motivation, die konstruktiven Gespräche und die stetige  
Begleitung.

# **Inhaltsverzeichnis**

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>Anmerkung .....</b>	<b>7</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1 Zusammenhang zwischen Amyloidablagerung und Pulswellenverhalten zerebraler Arterien .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2 Diagnosestellung bei Alzheimer-Krankheit .....</b>	<b>10</b>
Transkranielle Dopplersonographie als diagnostisches Instrument bei Alzheimer-Krankheit.....	12
Retinale Gefäßanalyse als Diagnostikum bei Alzheimer-Krankheit.....	13
<b>1.3 Ziele dieser Dissertation .....</b>	<b>14</b>
<b>2. Methodik .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Probanden.....</b>	<b>15</b>
Einschlusskriterien .....	16
Allgemeine Ausschlusskriterien.....	16
Spezielle Ausschlusskriterien.....	17
Neuropsychologische Testung und Biomarker zur Einteilung der Gruppen.....	17
<b>2.2 Dopplersonographie.....</b>	<b>19</b>
<b>2.3 Retinale Gefäßanalyse .....</b>	<b>21</b>
Statische retinale Gefäßanalyse.....	21
Dynamische retinale Gefäßanalyse mittels Flackerlicht.....	22
<b>2.4 Statistische Analysen.....</b>	<b>24</b>
Statistische Analysen der transkraniellen Dopplersonographie.....	25
Statistische Analysen der retinalen Gefäßanalyse.....	26
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 Ergebnisse der transkraniellen Dopplersonographie .....</b>	<b>28</b>

Demographische Daten .....	28
Resistance-Index und Pulsatilitäts-Index.....	33
ROC-Kurven für RI und PI ACM.....	36
Korrelation zwischen CDR-SOB und RI bzw. PI.....	40
<b>3.2 Ergebnisse der retinalen Gefäßanalyse .....</b>	<b>41</b>
Demographische Daten .....	41
Ergebnisse der statischen Gefäßanalyse .....	47
Ergebnisse der dynamischen Gefäßanalyse .....	48
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>60</b>
<b>4.1 Diskussion der Ergebnisse der Dopplersonographie.....</b>	<b>60</b>
Diskussion von RI und PI.....	60
Diskussion der ROC-Analysen.....	62
Diskussion der Korrelationsanalysen zwischen CDR-SOB und RI bzw. PI .....	62
Stärken und Schwächen der transkraniellen Dopplersonographie.....	63
<b>4.2 Diskussion der Ergebnisse der retinalen Gefäßanalyse.....</b>	<b>64</b>
Diskussion der statischen retinalen Gefäßanalyse.....	64
Diskussion der dynamischen retinalen Gefäßanalyse .....	66
Stärken und Schwächen der retinalen Gefäßanalyse.....	69
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>72</b>
<b>6. Danksagung.....</b>	<b>74</b>
<b>Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>76</b>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>77</b>

## **Abkürzungsverzeichnis**

A $\beta$ :	$\beta$ -Amyloid-Protein
A $\beta$ 42:	$\beta$ -Amyloid-Protein 1-42
AD:	Alzheimer-Krankheit (engl.: Alzheimer's Disease)
ADD:	Demenz bei Alzheimer-Krankheit (engl.: Dementia due to Alzheimer's disease)
APP:	Amyloid Vorläufer-Protein (engl.: amyloid precursor protein)
AVR:	Arteriöläre-venöläre Ratio
AUC:	Fläche unter der Kurve (engl.: area under the curve)
CERAD-NAB:	Neuropsychologische Testbatterie (engl.: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease – neuropsychological assessment battery)
CRAE:	Zentral-retinales arteriöläres Äquivalent (engl.: Central Retinal Arteriolar Equivalent)
CRVE:	Zentral-retinales venöläres Äquivalent (engl.: Central Retinal Venular Equivalent)
CSF:	Liquor cerebrospinalis (engl.: cerebrospinal fluid)
DVA:	Dynamische retinale Gefäßanalyse (engl.: Dynamic Vessel Analysis)
ECD:	Extrakranielle Dopplersonographie (engl.: extracranial Doppler)
FDG:	<sup>18</sup> F-2 Fluor-2-desoxy-D-Glucose
FLAIR:	Liquorsuppressionssequenz (engl.: fluid-attenuated inversion recovery)
HC:	Gesunde Kontrollgruppe (engl.: healthy controls)
ISF:	Interstitielle Flüssigkeit

---

## Abkürzungsverzeichnis

---

MCI:	Leichte kognitive Störung (engl.: mild cognitive impairment)
MFV:	Mittlere Strömungsgeschwindigkeit (engl.: mean flow velocity)
MMST:	Mini-Mental Status Test
MRT:	Magnetresonanztomographie
PET:	Positronenemissionstomographie
PiB:	Pittsburgh Compound B
PI:	Pulsatilitäts-Index nach Gosling und King
RI:	Widerstands-Index nach Planiol und Pourcelot (engl.: Resistance-Index)
RVA:	Retinale Gefäßanalyse
SVA:	Statische retinale Gefäßanalyse (engl.: Static Vessel Analysis)
SVD:	Erkrankung der kleinen Gefäße (engl.: small vessel disease)
TCD:	Transkranielle Dopplersonographie (engl.: transcranial Doppler)
$V_{diast}$ :	Diastolische maximale Strömungsgeschwindigkeit
$V_{syst}$ :	Systolische maximale Strömungsgeschwindigkeit
WMA:	Weltärztebund (engl.: World Medical Association)

## **Anmerkung**

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in folgenden Aufsätzen vorab publiziert:

Für „Transcranial Doppler ultrasound - a promising non-invasive biomarker for the diagnosis of Alzheimer's disease“ von Ortner, M., Grimmer, T., Muggenthaler, C. et al. befindet sich die Publikation in Vorbereitung (Stand 27.04.2019).

Kotliar, K., Hauser, C., Ortner, M., Muggenthaler, C., Diehl-Schmid, J., Angermann, S., . . . Grimmer, T. (2017). Altered neurovascular coupling as measured by optical imaging: a biomarker for Alzheimer's disease. *Sci Rep*, 7(1), 12906 wurde am 10. Oktober 2017 durch Scientific Reports veröffentlicht.

# **1. Einleitung**

## **1.1 Zusammenhang zwischen Amyloidablagerung und Pulswellenverhalten zerebraler Arterien**

Die Anhäufung von  $\beta$ -Amyloid stellt bei der Alzheimer-Krankheit einen wesentlichen Teil des Pathomechanismus dar. Im physiologischen Zellstoffwechsel neuronaler Zellen fällt  $\beta$ -Amyloid ( $A\beta$ ) bei enzymatischen Spaltungsprozessen aus dem Vorgänger-Protein APP (amyloid precursor protein) an. Bei der Alzheimer-Krankheit haben nach der Amyloid-Hypothese von Hardy und Allsop (1991) fehlerhafte Abbaumechanismen und ein gestörter Abtransport des  $\beta$ -Amyloids eine erhöhte Konzentration des Peptids und dessen Ablagerung als Plaques in den Wänden kleiner zerebraler Arterien zur Folge. Darüber hinaus kommt es zu einer Hyperphosphorylierung von  $\tau$ -Proteinen bzw. deren Ablagerung als  $\tau$ -Fibrillen in Neuronen. Am Ende dieser Vorgänge steht der neuronale Zelluntergang, der durch aktivierte Mikrogliazellen, Astrozyten, vermehrte Expression proinflammatorischer Zytokine und Komplementfaktoren und damit verbundenem oxidativen Stress vermittelt wird (Salminen et al., 2009; Villegas-Llerena et al., 2016).

Bei nur 1 – 5 % der an Alzheimer erkrankten Patienten finden sich genetische Mutationen beispielsweise im APP-Gen auf Chromosom 21 oder in den Präsenilin-Genen. Die Mutationen führen zur Überproduktion von  $\beta$ -Amyloid sowie Plaque-Bildung und häufig zu einem frühen Einsetzen der Erkrankung mit Beginn vor dem 65. Lebensjahr (Hardy & Selkoe, 2002; Reitz & Mayeux, 2014).

Bei der sporadischen Form der Alzheimer-Krankheit, die häufig mit einem späten Erkrankungsalter nach dem 65. Lebensjahr einhergeht, scheint ein insuffizienter Abbau und Abtransport des  $A\beta$ s ausschlaggebend zu sein (Weller et al.,



2002). Der Abtransport des A $\beta$ s erfolgt physiologischerweise in der interstitiellen Flüssigkeit (ISF) durch perivaskuläre Drainage entlang intrazerebraler Arterien. Aus Tierversuchen ist abzuleiten, dass die ISF auf unterschiedliche Weise drainiert wird. Die ISF der weißen Substanz fließt direkt in den Liquor cerebrospinalis (CSF), während die ISF der grauen Substanz entlang dem Perivaskulärraum arterieller Hirngefäße, retrograd zum Blutfluss, abfließt und erst an den zervikalen Lymphknoten Anschluss an das periphere Lymphsystem bekommt (Carare et al., 2008; Weller, 1998; Zhang et al., 1992). Die Fortbewegung der Teilchen erfolgt im Perivaskulärraum passiv durch die Pulsatilität der Arterien. Dabei fördert ein starker pulsierender Blutfluss die Drainage, wohingegen zunehmende Wandsteifigkeit und dadurch verminderte Pulswellenausbreitung im perivaskulären Raum den Abtransport behindert (Schley et al., 2006). Eine erhöhte Wandsteifigkeit tritt im gealterten Gehirn, aber auch bei zerebrovaskulären Erkrankungen sowie bei der Alzheimer-Krankheit (AD) auf (Grinberg & Thal, 2010; Weller et al., 2002). Bei Untersuchungen von Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit (ADD) mit funktioneller Magnetresonanztomographie (MRT) mit BOLD-Kontrast (Blood Oxygenation Level Dependent signals; vom Sauerstoffgehalt der Erythrozyten abhängiges Bildsignal) konnte eine verminderte Reaktivität der zerebralen Gefäße bestätigt werden. Die hämodynamische Reaktion bei ADD-Patienten war im Vergleich zu Gesunden vermindert und verzögert (Rombouts et al., 2005).

Das Auftreten der Alzheimer-Krankheit ist mit dem Auftreten einer degenerativen Veränderung in der Wand zerebraler Gefäße vergesellschaftet, genannt small vessel disease (engl. SVD) (Mimenza-Alvarado et al., 2018; Thal et al., 2012). Die SVD umfasst Atherosklerose sowie Lipohyalinosis in der Gefäßwand kleiner Gefäße (Grinberg & Thal, 2010). Diese Veränderungen könnten zu einer erhöhten Wandsteifigkeit und dadurch zu verminderter Drainage führen,

wodurch die Akkumulation von  $\beta$ -Amyloid als Plaques und das Fortschreiten der Alzheimer-Krankheit verstärkt würde (Thal, 2009). Diese Hypothese wird davon untermauert, dass ADD-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (HC) zwar eine ähnlich hohe  $A\beta$ -Produktion aufweisen, die Beseitigung des  $A\beta$ -Peptids jedoch vermindert ist (Mawuenyega et al., 2010). Ergebnisse der MRT stützen außerdem die Hypothese, dass eine SVD und dadurch verminderte perivaskuläre Drainage die Ursache für insuffizienten Abtransport von  $\beta$ -Amyloid darstellen. Im FLAIR-MRT gemessene Hyperintensitäten der weißen Substanz, welche die SVD im Gehirn der Alzheimer-Patienten widerspiegeln, stellen einen Prädiktor der intrazerebralen Amyloid-Ablagerungen dar. Ihr Ausmaß zum Beginn der Untersuchung korrelierte mit der zunehmenden Ausdehnung der Ablagerungen über einen Zeitraum von zwei Jahren (Grimmer et al., 2012). Die arterioläre-venoläre Ratio (AVR), ein Parameter der statischen retinalen Gefäßanalyse, stellt einen Marker für vaskuläre Dysfunktion dar (Ikram et al., 2013). Um den Einfluss einer SVD auf unsere Messergebnisse zu quantifizieren, wurde die AVR bestimmt.

Perikapilläre  $\beta$ -Amyloid-Ablagerungen scheinen im Krankheitsverlauf der AD eine frühe Form der  $A\beta$ -Ansammlung darzustellen (Attems et al., 2010; Weller et al., 2002). Die Erhebung einer erhöhten Wandsteifigkeit kleiner, zerebraler und retinaler, Gefäße könnte einen frühzeitigen Marker für verminderten perivaskulären Abtransport des  $A\beta$ s darstellen.

## **1.2 Diagnosestellung bei Alzheimer-Krankheit**

Die Diagnose der Demenz bei Alzheimer-Krankheit gelingt bisher überwiegend anhand klinischer Kriterien und post-mortem durchgeführter Autopsie (Braak & Braak, 1991; McKhann et al., 2011; Thal et al., 2002). Es konnten sich zusätzlich zwei Gruppen von Biomarkern etablieren, die die in Kapitel 1.1 besproche-

nen histopathologischen Prozesse der  $\beta$ -Amyloid- und  $\tau$ -Fibrillen-Ablagerung widerspiegeln.

Die Einteilung beinhaltet einerseits Biomarker der A $\beta$ -Pathologie (McKhann et al., 2011).

Dazu gehören:

1. Verminderte Konzentration an A $\beta$ -42 im CSF;
2. Aufnahme des Amyloid-Radiopharmakons Pittsburgh Compound B (PiB) in der Positronenemissionstomographie (PET).

Andererseits handelt es sich um Biomarker der Neurodegeneration. Dazu zählen nach McKhann et al. (2011):

1. Erhöhte Konzentration an  $\tau$ -Proteinen im Liquor cerebrospinalis (CSF);
2. Detektion umschriebener Bereiche im Gehirn, die eine verminderte Aufnahme von  $^{18}\text{F}$  2-Fluor-2-desoxy-D-Glucose (FDG) in der Positronenemissionstomographie (PET) aufweisen;
3. Atrophie der Gehirnnareale in der Magnetresonanztomographie (MRT).

In der klinischen Routine erfolgt die Diagnosestellung der Demenz bei Alzheimer-Krankheit bisher anhand etablierter klinischer Kriterien unter Zuhilfenahme von neuropsychologischen Testungen und struktureller Bildgebung des Gehirns, wie z.B. der MRT. Zusätzlich können die Biomarker nach McKhann et al. (2011) eingesetzt werden, um die Pathologie bei Verdacht auf Alzheimer-Krankheit zu bestätigen. Die bildgebenden Verfahren sind im klinischen Alltag allerdings aufwändig und kostenintensiv. Diagnostische Tests, die, kostengünstig, nicht-invasiv, ohne Strahlenbelastung und flächendeckend verfügbar sind, werden dringend gesucht.

## **Transkraniale Dopplersonographie als diagnostisches Instrument bei Alzheimer-Krankheit**

Eine Untersuchung mittels transkraniellem Doppler-Ultraschall (TCD) ist schnell und kostengünstig durchführbar. Die Eignung als Diagnoseinstrument der Alzheimer-Krankheit wird derzeit in verschiedenen Studien geprüft und gründet sich auf folgenden Hypothesen: Die Ablagerung von  $\beta$ -Amyloid in den perivaskulären Räumen zerebraler Gefäße, degenerative Erkrankungen wie Atherosklerose oder zerebrale Amyloid-Angiopathie (Roher et al., 2006; Weller et al., 1998) könnten zu einer erhöhten Wandsteifigkeit zerebraler Arterien führen. In verschiedenen klinischen Studien wurden TCD-Untersuchungen bei ADD-Patienten durchgeführt, im Rahmen derer erhöhte Werte für den Widerstandsindex (RI) nach Planiol et al. (1973) und den Pulsatilitätsindex (PI) nach Gosling und King (1974) gemessen wurden (Claassen et al., 2009; Roher et al., 2011). Dabei handelt es sich um Parameter der transkraniellen Dopplersonographie, die zur quantitativen Beurteilung des Strömungsverhaltens des Blutes verwendet werden und Rückschlüsse auf eine Stenose des untersuchten Gefäßes zulassen (Gosling & King, 1974; Pourcelot, 1975) (vgl. 2.2 Dopplersonographie).

In der vorliegenden Studie wurden Patienten mit der klinischen Diagnose ADD, eine Patientengruppe mit leichten kognitiven Einschränkungen (MCI) sowie gesunde Kontrollprobanden (HC) getestet. Bei der MCI-Gruppe handelt es sich um eine ätiologisch heterogene Patientengruppe im fortgeschrittenen Lebensalter, die in ihren kognitiven Leistungen im Vergleich zu gesunden Kontrollen im gleichen Alters- und Bildungsniveau signifikant eingeschränkt waren. Dazu zählen vor allem Leistungen im Bereich Gedächtnis, Aufmerksamkeit und Denkvermögen. Eine wesentliche Beeinträchtigung im Alltag liegt jedoch noch nicht vor. Die MCI kann ein Risikosyndrom einer Demenz darstellen.

Für die drei Gruppen wurden der Widerstandsindex nach Planiol et al. (1973) und Pourcelot (1975) sowie der Pulsatilitätsindex nach Gosling und King (1974) in der transkraniellen Dopplersonographie bestimmt.

### **Retinale Gefäßanalyse als Diagnostikum bei Alzheimer-Krankheit**

Das Auge weist viele neurale und vaskuläre Ähnlichkeiten zum Gehirn auf, die auf einen gemeinsamen embryonalen Ursprung zurückzuführen sind. Pathologische Veränderungen der zerebralen Gefäße betreffen auch die retinalen Blutgefäße. Dadurch bietet sich eine optimale Möglichkeit, Einblick in zerebrale Gefäßpathologien zu erlangen. Die Untersuchung des Auges als Biomarker der Alzheimer-Krankheit bietet einige Vorteile: sie ist in-vivo durchführbar, kostengünstig und nicht invasiv (Lim et al., 2016; Patton et al., 2005).

Durch statische retinale Gefäßanalyse erhobene Parameter wurden in der Vergangenheit als Biomarker für zerebrovaskuläre Pathologien untersucht (Cooper et al., 2006; Patton et al., 2005; Wong et al., 2001). Beispielsweise sind mikrovaskuläre Veränderungen wie Atherosklerose mit verminderter arteriolären-venolärer Ratio (AVR) assoziiert. Charakteristika einer verminderten AVR sind verschmälerte retinale Arteriolen und/oder erweiterte retinale Venolen in der statischen retinalen Gefäßanalyse (Ikram et al., 2013). Die AVR stellt damit einen Marker für Atherosklerose dar. Sie ist als möglicher Störfaktor in den statistischen Analysen zu sehen und wurde zusätzlich gemessen.

Die dynamische Gefäßanalyse (Dynamic Vessel Analysis; DVA) basiert auf einer Videoaufnahme der Retina und misst die retinale vaskuläre Dilatation als Reizantwort auf Flackerlichtstimulation. In bisherigen Studien konnte für systemische oder okuläre Erkrankungen mit vaskulärer Beteiligung eine verminderte und verlangsamte Reaktionsfähigkeit und vor allem ein eingeschränktes Dilatationsvermögen arterieller und venöser Gefäße gezeigt werden. Beispiele hierfür sind arterielle Hypertonie (Nagel et al., 2004), Diabetes mellitus

(Nguyen et al., 2009), Adipositas (K. E. Kotliar et al., 2011), Glaukom (Garhofer et al., 2004) bzw. altersbedingte Makuladegeneration (Lanzl et al., 2011). Im Rahmen der Alzheimer-Pathologie sind perivaskuläre Transportmechanismen gestört (Weller et al., 2002). Die Gefäßbeweglichkeit könnte durch die damit verbundene Ablagerung des Amyloids vermindert sein (vgl. 1.1 Zusammenhang zwischen Amyloidablagerung und Pulswellenverhalten zerebraler Arterien). Es ist zu erwarten, dass bei der Alzheimer-Krankheit das Dilatationsvermögen retinaler Gefäße in der dynamischen retinalen Gefäßanalyse vermindert und verzögert ist.

### **1.3 Ziele dieser Dissertation**

In der vorliegenden Dissertationsschrift sollen folgende Hypothesen untersucht werden:

1. Patienten, die sich im frühen bis mittleren Stadium der Demenz bei Alzheimer-Krankheit befinden, könnten im Vergleich zu HC eine erhöhte Gefäßsteifigkeit der Hirngefäße aufweisen. Ein Maß dafür stellen die Parameter PI und RI der transkranialen Dopplersonographie dar. Es soll evaluiert werden, ob RI und PI bei den Gruppen MCI und ADD im Vergleich zu HC erhöht sind.
2. Pathologische Prozesse der Alzheimer-Krankheit könnten sich an retinalen Gefäßen durch die embryonale Verwandtschaft der retinalen und zerebralen Blutgefäße in der retinalen Gefäßanalyse zeigen. Die retinalen Gefäße könnten auf Reizung mit Flackerlicht bei ADD- bzw. MCI-Patienten im Vergleich zu HC verändert reagieren. Dies testeten wir hauptsächlich anhand zweier Gefäßparameter, der maximalen Gefäßdilatation und der Reaktionszeit der Gefäße auf Flackerlichtstimulation. Es soll geprüft werden, ob die Reaktionsfähigkeit der Gefäße vermindert und verzögert ist.

## **2. Methodik**

Das Studienprotokoll wurde vor Beginn der Untersuchungen von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München geprüft und angenommen. Alle Patienten wurden vor der Untersuchung ausführlich über den Ablauf der Studie informiert und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme und Durchführung. Die Grundsätze der WMA Deklaration von Helsinki (6. Revision) wurden beachtet.

### **2.1 Probanden**

Es wurden drei Gruppen von Probanden rekrutiert.

1. Die gesunden Kontrollpersonen (HC) waren vor allem Angehörige der Patienten aus dem Zentrum für Kognitive Störungen der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München. Außerdem nahmen auch Freiwillige teil, die mündlich angeworben wurden.
2. Bei den Patienten mit leichter kognitiver Störung (MCI), sowie
3. bei den Patienten mit leicht- bis mittelgradiger Alzheimer-Demenz (ADD) handelte es sich um ambulante Patienten der oben genannten Einrichtung.

Die Patienten der Gruppen MCI und ADD wurden durch Selbst-Einweisung oder Überweisung durch den Hausarzt, Neurologen oder Psychiater im Zentrum für kognitive Störungen zur diagnostischen Abklärung vorstellig.

Die Testung beinhaltete ein Patientengespräch sowie eine orientierende körperliche Untersuchung. Zusätzlich wurden eine neurologische, psychiatrische sowie neuropsychologische Prüfung durchgeführt.

Die Gruppe der MCI unterteilten wir weiter in zwei Untergruppen, um signifi-

kante Unterschiede in Prä-Demenzstadien zu evaluieren:

- a) MCI-AD: Patienten mit leichter kognitiver Störung mit einem mittleren bis hohen Risiko einer zugrundeliegenden Alzheimer-Krankheit;
- b) MCI-nonAD: Patienten mit leichter kognitiven Störung mit einem geringen Risiko einer zugrundeliegenden Alzheimer-Krankheit.

Das Risiko einer Alzheimer-Krankheit im Stadium der leichten kognitiven Störung wurde nach Albert et al. (2011) eingeschätzt (s. Neuropsychologische Testung und Biomarker zur Einteilung der Gruppen).

### **Einschlusskriterien**

1. Schriftliches Einverständnis zur Durchführung der studienspezifischen Maßnahmen nach umfassender Aufklärung;
2. Eindeutige Zuordnung anhand CDR, MMST und CERAD-NAB-Auswertung zu einer der drei Gruppen HC, MCI, ADD beziehungsweise Klassifikation der Untergruppen MCI-AD oder MCI-nonAD anhand zusätzlicher Biomarker.

### **Allgemeine Ausschlusskriterien**

1. Unfähigkeit, das schriftliche Einverständnis zu den studienspezifischen Untersuchungen zu geben;
2. Schwere Herzrhythmusstörungen wie Vorhofflimmern;
3. Vorliegen einer vaskulären Demenz, ermittelt nach den Kriterien der National Institute of Neurological Disorders and Stroke - Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences (NINDS-AIREN) (Roman et al., 1993);
4. Andere neurologische oder psychiatrische Störungen wie Morbus Parkinson, Normaldruckhydrozephalus, schwere Depression oder progressive supranukleäre Blickparese;



5. Andere Ursachen kognitiver Störungen wie sedierende Psychopharmaka (z.B. trizyklische Antidepressiva, niedrig-potente Antipsychotika), Substanzmissbrauch (z.B. Alkohol) oder Pathologien in Bluttests (z.B. Nieren- oder Leberinsuffizienz, Hypothyreose, Vitamin B12- oder Folsäuremangel).

## **Spezielle Ausschlusskriterien**

### **Transkranielle Dopplersonographie**

1. Hämodynamisch relevante extrakranielle Stenose in der extrakraniellen Doppler-Sonographie;
2. Unzureichendes Knochenfenster im transkraniellen Ultraschall;
3. Bedeutende Auffälligkeiten im cMRT wie Hirninfarkte, ausgeprägte Leukenzephalopathie, intracerebrale Aneurysmata oder arteriovenöse Malformationen.

### **Retinale Gefäßanalyse**

1. Bekannte Unverträglichkeit von Tropicamid;
2. Bestehendes Glaukom;
3. Ausgeprägte Katarakt;
4. Bekannte Epilepsie;
5. Vollständige Erblindung.

## **Neuropsychologische Testung und Biomarker zur Einteilung der Gruppen**

### **Neuropsychologische Testung**

Die Testung beinhaltet den Mini-Mental-Status Test (MMST) (Folstein et al., 1975) und die Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease Neuropsychological Assessment Battery (CERAD-NAB) (Morris et al., 1989).

Der Schweregrad der kognitiven Störung wurde anhand der Clinical Dementia Rating Scale (CDR), sowie zur genaueren Einteilung anhand des CDR sum of boxes (Summe der Einzelwert, CDR-SOB) ermittelt. Dabei werden in den Bereichen Gedächtnis, Orientierung, Urteilsvermögen und Problemlösen, Leben in der Gemeinschaft, Haushalt und Hobbies sowie Körperpflege anhand einer standardisierten Befragung mit dem Patienten und dessen Angehörigen Informationen zur kognitiven und funktionalen Leistungsfähigkeit des Betroffenen erhoben und bewertet. Der allgemeine CDR-Wert (globaler CDR) kann die Zahlen 0; 0,5; 1; 2 oder 3 annehmen, wobei „0“ für keine Demenz, „0,5“ für fragliche Demenz, „1“ für leichtgradige Demenz, „2“ für mittelgradige Demenz und „3“ für schwergradige Demenz steht. Der CDR-SOB errechnet sich aus der Summe der vergebenen Punkte in den einzelnen Domänen und ermöglicht eine feinere Differenzierung (Morris, 1993).

### **Biomarker**

Die Biomarker der Alzheimer-Krankheit sind bei der Diagnosestellung von MCI nach Albert et al. (2011) und von ADD nach McKhann et al. (2011) entweder der Neurodegeneration (Atrophie in der MRT, erhöhte Konzentration an  $\tau$ -Proteinen im CSF oder verminderte Aufnahme von 18-FDG in der PET) oder der Amyloid-Pathologie (verminderte Konzentration von A $\beta$ 42 im CSF oder gesteigerte Aufnahme des Amyloid-Radiopharmakons PiB in der PET) zuzuordnen.

Die Unterteilung in die MCI-Subgruppen MCI-AD und MCI-nonAD erfolgte nach Kriterien von Albert et al. (2011): Probanden, bei denen mindestens ein Biomarker der Amyloid-Pathologie oder, bei Nicht-Vorliegen eines Amyloid Markers, ein Marker der Neurodegeneration auf die Alzheimer-Krankheit hindeutete, wurden in die Gruppe MCI-AD eingeteilt.

Zur Evaluation von Auffälligkeiten, die auf eine  $\beta$ -Amyloid-Pathologie oder Neurodegeneration im Rahmen der AD hindeuten, wurden vorhandene Daten aus

kranieller Magnetresonanztomographie (cMRT), Positronenemissionstomographie (PET), und A $\beta$ 42- sowie  $\tau$ -Bestimmung im Liquor cerebrospinalis genutzt. Die cMRT und die dabei durchgeführte Hippocampusvolumetrie misst die Atrophie im Bereich des Hippocampus und ist als Marker der Neurodegeneration zu sehen.

### **Einteilung der Gruppen**

1. Die HC-Gruppe wies normale Ergebnisse in der CERAD-NAB sowie eine Gesamtwertung von „0“ im globalen CDR auf.
2. Die MCI-Gruppe wies auffällige Ergebnisse in der CERAD-NAB sowie einen globalen CDR-Wert von „0,5“ auf und wurde nach den oben genannten Kriterien weiter in MCI-AD beziehungsweise MCI-nonAD eingeteilt.
3. Die ADD-Gruppe wies auffällige Ergebnisse in der CERAD-NAB sowie einen globalen CDR-Wert von „1“ oder höher auf.

## **2.2 Dopplersonographie**

Die Dopplersonographie wurde mit einem ACUSON S2000™ Ultrasound System von Siemens Medical Solutions USA Inc., Mountain View, CA, USA durchgeführt und dabei ein 9L4-Schallkopf für die extrakranielle Dopplersonographie (ECD) sowie ein 4V1c-Schallkopf für die transkraniale Dopplersonographie (TCD) verwendet.

Die ECD wurde zum Ausschluss extrakranieller Stenosen verwendet. Mittels der TCD wurden maximale systolische ( $V_{\text{sys}}$ ), maximale diastolische ( $V_{\text{diast}}$ ) und mittlere Strömungsgeschwindigkeit (MFV) der proximalen rechten und linken Arteria cerebri media gemessen und daraus die Parameter Widerstandsindex nach Planiol et al. (1973); Pourcelot (1975) und Pulsatilitätsindex nach Gosling und King (1974) berechnet. In einer vorausgehenden Studie von Roher et al. (2011) wurden signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen HC und ADD

für die MFV der A. cerebri media beider Seiten gefunden, weshalb auch hier die A. cerebri media als Lokalisation für die Messungen verwendet wurde.

Bei der Messung wurde aus zwei unabhängigen, aufeinanderfolgenden Messungen jeweils der Durchschnittswert berechnet und dieser für alle weiteren Berechnungen verwendet. Es wurde der Resistance-Index (RI) nach Planiol et al. (1973) und Pourcelot (1975) berechnet, der sich wie folgt zusammensetzt:

$$RI = \frac{V_{syst} - V_{diast}}{V_{syst}}$$

Steigt der Durchblutungswiderstand im Gehirn an, so wird damit der RI größer. Als Normwert wurde 0,55 – 0,75 definiert. Werte größer als 0,75 wurden als Zeichen einer insuffizienten Blutversorgung gesehen, die z.B. durch eine Stenose verursacht sein können. Poststenotisch vermindert sich der Index. (Klumb, 2004; Planiol et al., 1973; Pourcelot, 1975).

Der Pulsatilitätsindex (PI) nach Gosling und King (1974) berechnet sich wie folgt:

$$PI = \frac{V_{syst} - V_{diast}}{MFV}$$

Der Index vermindert sich poststenotisch und kann als Hinweis auf eine proximale Stenose dienen. Als Normwerte wurden abhängig vom Gefäßabschnitt unterschiedliche Werte vergeben, die zwischen 2-6 für die Femoralarterien und 8-26 für die distalen Beinarterien liegen (Gosling & King, 1974; Klumb, 2004).

## 2.3 Retinale Gefäßanalyse

Das dominante Auge wurde im Vorfeld mit dem ABC-Test nach Miles (1929, 1930) bestimmt, welches anschließend untersucht wurde. Zwanzig Minuten vor der Untersuchung wurde ein Tropfen Tropicamid (Mydriatikum Stulln UD, Pharma Stulln GmbH, Deutschland) in das dominante Auge appliziert, um eine Mydriasis zu bewirken. Zuerst wurde die statische und anschließend die dynamische Gefäßanalyse durchgeführt. Die Probanden waren angehalten, während der Zeit der Untersuchung weder zu essen noch zu rauchen und sich nicht zu bewegen.

### Statische retinale Gefäßanalyse

Für die Untersuchung wurde der Static Vessel Analyzer (IMEDOS Systems Ltd., Jena, Deutschland) und die Infrarot-Funduskamera Topcon TRC-NW200 (Topcon, Japan) verwendet, um retinale 30° Farbfotographien eines jeden Teilnehmers zu erstellen. Dabei wurde die Papille des dominanten Auges zentriert. Die Aufnahmen wurden mit *Visualis* und *VesselMap* Software (IMEDOS Systems Ltd., Jena, Deutschland) ausgewertet.

Die Durchmesser der retinalen Arteriolen und Venolen wurden nach Ikram et al. (2013) gemessen. Mittels der Parr-Hubbard-Formel nach Hubbard et al. (1999) wurden die Parameter zentrales retinales arterioläres bzw. venoläres Äquivalent (CRAE bzw. CRVE) als Schätzungen der retinalen zentral-arteriellen bzw. -venolären Durchmesser bestimmt. Außerdem wurde die arterioläre-venoläre Ratio berechnet:

$$AVR = \frac{CRAE}{CRVE}$$

Einheit des CRAE und CRVE war MU (Messeinheit, engl. measuring unit), wobei im Gullstrand's normal eye model 1 MU 1  $\mu\text{m}$  entspricht (Seifertl & Vilser, 2002).

### **Dynamische retinale Gefäßanalyse mittels Flackerlicht**

Die Gefäßreaktion der retinalen Arterien und Venen auf Stimulation mit Flackerlicht wurde mit dem Dynamic Vessel Analyzer (DVAlight, IMEDOS Systems Ltd., Jena, Deutschland) untersucht. Es wurde ein Standard-Messprotokoll über 350 Sekunden verwendet (Garhofer et al., 2010; K. E. Kotliar et al., 2011; Lanzl et al., 2011), das aufeinanderfolgende, 20 Sekunden dauernde Phasen einer monochromatischen Flackerlichtstimulation mit 530-600 nm und 12,5 Hz beinhaltete. Die Gefäßanalyse wird üblicherweise an den oberen temporalen retinalen Arteriolen und Venolen durchgeführt. Es wird ein bis zwei Papillendurchmesser vom Rand des Sehnervenkopfes entfernt gemessen.

Die Parameter der dynamischen retinalen Gefäßanalyse (DVA; engl.: Dynamic Vessel Analysis) wurden mit einer Tabellenkalkulation (Excel, Microsoft Windows), unabhängig von kommerzieller DVA-Software, ausgewertet (K. E. Kotliar et al., 2011; Lanzl et al., 2011). Der absolute Durchmesser der arteriölen bzw. venösen Gefäßsegmente wurde jeweils als Median, während 30 Sekunden unmittelbar vor der ersten Flackerlichtstimulation, berechnet. Er wurde in MU (Messeinheit, engl. measuring unit) bestimmt (Gullstrand's normal eye model: 1 MU entspricht 1  $\mu\text{m}$ ) (Seifertl & Vilser, 2002).

Aufgrund der in Hubbard et al. (1999) beschriebenen intra- und interindividuellen Unterschiede in den Gefäßdurchmessern wurde der mittlere Gefäßdurchmesser vor jeder Flackerlichtstimulation als Grundniveau mit 100 % definiert. Die nachfolgenden Änderungen der Gefäßdurchmesser wurden als Prozent dieses individuellen Grundniveaus berechnet (Garhofer et al., 2010).

Während jeder der drei Flackerlichtstimulationen wurden drei Kurven aus folgenden Werten errechnet: 30 Sekunden vor Flackerlichtreizung, 20 Sekunden während der Flackerlichtstimulation und 80 Sekunden nach der Messung. Die gemessenen Werte aus zwei unabhängigen Durchläufen wurden zu einer Kurve gemittelt. Für jeden Probanden wurde dieser gemittelte Zeitverlauf als relative Änderung im Gefäßdurchmesser mittels fortlaufendem Median (4 Sekunden Rahmen, 4 s frame) und zugehöriger Verzögerung (back shift) geglättet (K. E. Kotliar et al., 2011; Lanzl et al., 2011).

Die Angaben beziehen sich, falls nicht explizit erwähnt, auf arterioläre sowie venoläre Messungen. Für jeden Probanden wurden folgende Parameter erhoben:

1. Mittlere maximale Dilatation als Reizantwort auf die Flackerlichtstimulation in Prozent des Grundniveaus. Berechnung als absolutes Maximum der Kurve.
2. Dauer der maximalen Gefäßdilataion in Sekunden. Der Beginn der Flackerlichtstimulation wurde als 0 s festgesetzt.
3. Fläche unter der Kurve (AUC) nach Ende der Flackerlichtstimulation in Prozent \* Sekunden. Berechnung zwischen 10 bis 40 s nach Ende der Reizung. Für Werte unterhalb der 100 % -Linie wurde die AUC negativ.
4. Mittlere maximale Konstriktion bzw. Durchmesserreduktion nach Beendigung der Flackerlichtstimulation in Prozent des Grundniveaus. Berechnung als absolutes Minimum der Kurve. Für Kurven unterhalb der 100 % -Linie waren die Werte negativ.
5. Dauer der maximalen Gefäßkonstriktion in Sekunden. Der Beginn der Flackerlichtstimulation wurde als 0 s festgesetzt.
6. Ausmaß der arteriolären Reaktion in Prozent des Grundniveaus. Berechnung als Differenz aus mittlerer maximaler Dilatation und Konstriktion.

7. Fläche unter der Kurve (AUC) der Gefäßreaktion lange Zeit nach Beendigung der Flackerlichtstimulation als Prozent \* Sekunden. Berechnung zwischen 70 bis 100 Sekunden nach Flackerlichtende.

Um die zeitliche Veränderung der Flackerkurven zu charakterisieren, wurden zusätzlich zwei weitere Parameter berechnet:

1. Zeit bis 30 % der maximalen Gefäßdilatation erreicht ist. Berechnung am ansteigenden Teil der Kurve, der Beginn der Flackerlichtstimulation wurde als 0 s festgesetzt.
2. Zeit bis zum graphischen „Schwerpunkt“ der AUC unter der Flackerlichtkurve oberhalb des Grundniveaus zwischen Beginn der Stimulation und der ersten Überschneidung mit dem Grundniveau nach der maximalen Dilatation.

Repräsentative mittlere Zeitverläufe der medianen Gefäßdurchmesseränderungen der jeweiligen Gruppe sind in Abbildung 6 dargestellt. Der mediane Zeitverlauf zeigt das dynamische Verhalten der Gefäßdurchmesser einer Gruppe. Es ist jedoch zu beachten, dass manche der erwähnten statistischen Parameter aufgrund ihrer Berechnung keinem exakten Wert in der Darstellung zuzuordnen sind.

## **2.4 Statistische Analysen**

Die statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM, Armonk, USA) berechnet. Die Analyse der dynamischen retinalen Gefäßanalyse erfolgte mit Primer of Biostatistics v.4.03, Glantz (1999). Der zweiseitige Signifikanzwert  $p$  wurde für alle Kalkulationen auf  $< 0,05$  festgesetzt.



### **Statistische Analysen der transkraniellen Dopplersonographie**

Nominal skalierte Variablen wurden zwischen den Gruppen mit dem Chi-Quadrat-Test verglichen, metrisch skalierte Variablen hingegen mit dem Mann-Whitney-U-Test.

ADD-Patienten könnten im Vergleich zu HC eine erhöhte Wandsteifigkeit zerebraler Arterien aufweisen, was zu einem veränderten Strömungsverhalten führen würde. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde ein nicht-parametrischer Test, der Mann-Whitney-U-Test, verwendet. Es sollten Unterschiede bei den Parametern RI und PI zwischen den Gruppen HC und ADD aufgezeigt werden. Außerdem wurden RI- und PI-Werte der MCI-Gruppe als Ganzes beziehungsweise der Untergruppen MCI-AD und MCI-nonAD jeweils miteinander und auch mit den Werten der Gruppen HC und ADD verglichen.

Zusätzlich wurden Grenzwertoptimierungskurven (receiver operating characteristic (ROC) curves) erstellt und die besten Trennwerte für die jeweils rechte bzw. linke Arteria cerebri media im Vergleich zwischen HC und ADD berechnet. Die ROC-Berechnungen dienen der Feststellung, welche diagnostische Aussagekraft durch den untersuchten Parameter zu erwarten ist. Durch das Auftragen der Sensitivität gegen 1 - Spezifität auf y- bzw. x-Achse eines Diagramms entsteht eine ROC-Kurve. Die Fläche unterhalb der Kurve (area under the curve, ROC AUC) dient der Prüfung des diagnostischen Potentials eines Tests. Die ROC AUC mit dem Wert 1,0 unterscheidet Patienten von gesunden Kontrollen mit vollständiger Treffsicherheit; das Ergebnis 0,5 zeigt, dass die Aussagekraft des Tests ähnlich einem Münzwurf ist.

Die ROC-Analysen für gebündelte Daten (engl. ROC analysis for clustered data) wurden verwendet, um die Güte des diagnostischen Tests zur Unterscheidung von MCI und ADD anhand der RI- und PI-Messungen der A. cerebri media rechts

bzw. links zu prüfen. Hierfür wurden rechts und links gemessener RI bzw. PI gemeinsam betrachtet.

Zwischen den Variablen CDR SOB und RI bzw. PI wurden Korrelationsanalysen nach Spearman für das gesamte Kollektiv, ebenso wie für die Gruppen HC, MCI-AD und ADD, durchgeführt. Letztere Analysen dienten dem Zweck, einen möglichen Zusammenhang zwischen der Ausprägung der klinischen Symptome der Alzheimer-Krankheit über das Alzheimer-Spektrum hinweg mit den RI bzw. PI zu objektivieren.

### **Statistische Analysen der retinalen Gefäßanalyse**

Die Verteilung der nominal skalierten Variablen wurde mit absoluter bzw. relativer Häufigkeit dargestellt und die Gruppenvergleiche mittels Chi-Quadrat-Test berechnet.

Die nicht-normal verteilten, metrisch skalierten Variablen wurden mit Median und Interquartilsabstand (IQR = 1. bis 3. Quartil) angegeben. Die zugehörigen Gruppenvergleiche wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

Zwei der Hauptparameter, Ausmaß und Verzögerung der Gefäßreaktion, wurden zusätzlich nach der Holm-Bonferroni-Methode korrigiert, um die Alphafehler-Kumulierung zu umgehen. Die dazu verwendeten Parameter waren *mittlere maximale Dilatation als Reizantwort auf Flackerlichtstimulation* und *Zeit bis Erreichen von 30% der maximalen Dilatation*. Die Vergleiche der anderen Parameter wurden nur explorativ betrachtet und nicht korrigiert, um Tendenzen beim Reaktionsverhalten der Gefäße zwischen den Gruppen besser darzustellen zu können.

Die Korrelationsanalyse nach Spearman wurde zur Beurteilung von Zusammenhängen zwischen biometrischen und retinalen Gefäßparametern durchgeführt.

Weiterhin wurden ebenfalls Grenzwertoptimierungskurven (ROC) berechnet, um die diagnostische Güte der Parameter zu beurteilen.

## **3. Ergebnisse**

### **3.1 Ergebnisse der transkraniellen Dopplersonographie**

#### **Demographische Daten**

Die Charakteristika der Patienten aus HC und ADD finden sich in Tabelle 1, die der Patienten aus MCI in Tabelle 2a und 2b. Es wurden von 60 eingeschlossenen Patienten 42 untersucht, davon 14 in der Gruppe HC und 12 in der Gruppe ADD, sowie 16 Patienten in der Gruppe MCI. Die MCI-Gruppe ließ sich weiter in MCI-nonAD und MCI-AD einteilen. Die Untergruppen umfassten jeweils 8 Patienten. 18 Patienten konnten aufgrund eines insuffizienten Knochenfensters nicht untersucht werden.

Alle Gruppen unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich Alter und Geschlecht. In den Parametern MMST Z-Werte, CERAD-Testbatterie und CDR global sowie CDR-SOB waren die Patienten der Gruppe ADD signifikant schlechter als Teilnehmer der Gruppe HC. Außerdem schnitten bei selbigen Parametern die Patienten mit MCI signifikant schlechter ab als Patienten der Gruppe HC, aber gleichzeitig auch signifikant besser als Patienten mit ADD.

Ergebnisse

Tabelle 1 - Demographische und klinische Daten für HC- und ADD-Stichproben der transkraniellen Dopplersonographie

<b>Variable absolute (relative) Häufigkeit</b>	<b>HC</b>	<b>ADD</b>	<b>p-Wert</b>
Anzahl	14	12	
Geschlecht (männlich : weiblich)	6 : 8 (42,9 % : 57,1 %)	6 : 6 (50,0 % : 50,0 %)	0,716
Koffein (ja : nein)	14 : 0 (100,0 % : 0,0 %)	9 : 3 (75,0 % : 25,0 %)	0,047
Nikotin (ja : nein)	1 : 13 (7,1 % : 92,9 %)	1 : 11 (8,3 % : 91,7 %)	0,910
<b>Variable Mittelwert ± SD (Spannweite)</b>			
Alter bei Messung (in Jahren)	65,4 ± 7,85 (54,0 - 78,0)	71,3 ± 9,49 (54,0 - 84,0)	0,076
Z-Wert MMST	-0,2 ± 1,09 (-2,4 - 1,2)	-9,9 ± 7,08 (-21,9 - -1,6)	< 0,001
CERAD-NAB Summenwert	85,8 ± 8,60 (68,0 - 97,0)	47,8 ± 14,43 (25,0 - 79,0)	< 0,001
CDR global	0,0 ± 0,00 (0,0 - 0,0)	1,3 ± 0,45 (1,0 - 2,0)	< 0,001
CDR-SOB	0,0 ± 0,00 (0,0 - 0,0)	6,1 ± 2,84 (3,5 - 14,0)	< 0,001
Wachdauer vor Untersuchung (in Stunden)	6,4 ± 1,05 (4,8 - 8,0)	6,4 ± 1,06 (4,5 - 8,0)	0,940
Schlafdauer vorherige Nacht (in Stunden)	7,9 ± 0,82 (6,8 - 10,0)	8,7 ± 1,11 (6,5 - 10,0)	0,041
<b>Variable Median; Mittelwert ± SD (Spannweite)</b>			
Mittlerer RI ACM rechts	0,559 0,56 ± 0,059 (0,482 - 0,673)	0,614 0,61 ± 0,066 (0,496 - 0,703)	0,027
Mittlerer RI ACM links	0,540 0,56 ± 0,064 (0,489 - 0,735)	0,589 0,61 ± 0,049 (0,551 - 0,700)	0,020
Mittlerer PI ACM rechts	0,763 0,79 ± 0,135 (0,613 - 1,033)	0,880 0,90 ± 0,213 (0,629 - 1,320)	0,126
Mittlerer PI ACM links	0,763 0,82 ± 0,192 (0,586 - 1,301)	0,870 0,93 ± 0,190 (0,735 - 1,353)	0,034

Legende zu Tabelle 1:

Die p-Werte wurden für nominal skalierte Variablen mit dem Chi-Quadrat-Test und für metrisch skalierte Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

HC: gesunde Kontrollen, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, SD: Standardabweichung, MMST: Mini-Mental Status Test, CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease - Neuropsychological Assessment Battery, CDR-SOB: Clinical dementia rating Skala - Summe der Einzelwerte (sum of boxes), RI: Resistance Index (Widerstands-Index), PI: Pulsatilitäts-Index, ACM: Arteria cerebri media

Ergebnisse

Tabelle 2a - Demographische und klinische Daten der MCI-Stichprobe der transkraniellen Doppelsonographie

<b>Variable absolute (relative) Häufigkeit</b>	<b>MCI gesamt</b>	<b>MCI-nonAD</b>	<b>MCI-AD</b>
Anzahl	16	8	8
Geschlecht (männlich : weiblich)	11 : 5 (68,8 % : 31,3 %)	7 : 1 (87,5 % : 12,5 %)	4 : 4 (50,0 % : 50,0 %)
Koffein (ja : nein)	12 : 4 (75,0 % : 25,0 %)	6 : 2 (75,0 % : 25,0 %)	6 : 2 (75,0 % : 25,0 %)
Nikotin (ja : nein)	4 : 12 (25,0 % : 75,0 %)	3 : 5 (37,5 % : 62,5 %)	1 : 7 (12,5 % : 87,5 %)
<b>Variable Mittelwert ± SD (Spannweite)</b>			
Alter bei Untersuchung (in Jahren)	66,1 ± 10,24 (45,0 - 82,0)	66,0 ± 11,40 (45,0 - 82,0)	66,3 ± 9,74 (51,0 - 77,0)
Z-Wert MMST	-1,7 ± 1,90 (-5,8 - 1,0)	-0,5 ± 0,83 (-1,8 - 1,0)	-2,9 ± 1,94 (-5,8 - -0,1)
CERAD-NAB Summenwert	70,6 ± 10,71 (47,0 - 86,0)	72,0 ± 12,69 (47,0 - 86,0)	69,3 ± 8,97 (55,0 - 80,0)
CDR global	0,5 ± 0,00 (0,5 - 0,5)	0,5 ± 0,00 (0,5 - 0,5)	0,5 ± 0,00 (0,5 - 0,5)
CDR-SOB	2,2 ± 1,20 (0,5 - 4,0)	1,6 ± 0,95 (0,5 - 2,5)	2,8 ± 1,16 (0,5 - 4,0)
Wachdauer vor Untersuchung (in Stunden)	6,8 ± 1,57 (5,0 - 10,5)	7,7 ± 1,76 (5,3 - 10,5)	6,1 ± 0,95 (5,0 - 7,5)
Schlafdauer vorherige Nacht (in Stunden)	7,8 ± 1,60 (4,8 - 10,0)	7,4 ± 1,88 (4,8 - 9,5)	8,3 ± 1,29 (6,5 - 10,0)
<b>Variable Median; Mittelwert ± SD (Spannweite)</b>			
Mittlerer RI ACM rechts	0,583 0,57 ± 0,078 (0,377 - 0,738)	0,562 0,55 ± 0,081 (0,377 - 0,654)	0,595 0,60 ± 0,073 (0,497 - 0,738)
Mittlerer RI ACM links	0,588 0,57 ± 0,085 (0,377 - 0,696)	0,582 0,56 ± 0,082 (0,386 - 0,657)	0,617 0,59 ± 0,091 (0,447 - 0,696)
Mittlerer PI ACM rechts	0,830 0,85 ± 0,212 (0,430 - 1,317)	0,780 0,80 ± 0,210 (0,430 - 1,152)	0,867 0,89 ± 0,218 (0,589 - 1,317)
Mittlerer PI ACM links	0,831 0,82 ± 0,201 (0,468 - 1,062)	0,789 0,79 ± 0,192 (0,468 - 1,049)	0,899 0,85 ± 0,218 (0,506 - 1,062)

Tabelle 2b - p-Werte der Gruppenvergleiche der demographischen und klinischen Daten der MCI-Stichprobe der transkranialen Dopplersonographie

Variable	p-Wert MCI gesamt vs. HC	p-Wert MCI gesamt vs. ADD	p-Wert MCI-nonAD vs. HC	p-Wert MCI-nonAD vs. MCI-AD	p-Wert MCI-nonAD vs. ADD	p-Wert MCI-AD vs. HC	p-Wert MCI-AD vs. ADD
Geschlecht (männlich : weiblich)	0,153	0,315	0,040	0,106	0,085	0,746	1,000
Koffein (ja : nein)	0,044	1,000	0,050	1,000	1,000	0,050	1,000
Nikotin (ja : nein)	0,190	0,254	0,076	0,248	0,110	0,674	0,761
Alter bei Untersuchung (in Jahren)	0,697	0,174	0,714	0,959	0,305	0,815	0,208
Z-Wert MMST	0,008	< 0,001	0,330	0,007	< 0,001	< 0,001	0,016
CERAD-NAB Summenwert	< 0,001	< 0,001	0,006	0,645	0,004	0,001	0,003
CDR global	< 0,001	< 0,001	< 0,001	1,000	< 0,001	< 0,001	< 0,001
CDR-SOB	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,038	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Wachdauer vor Untersuchung (in Stunden)	0,652	0,614	0,110	0,054	0,100	0,482	0,521
Schlafdauer vorherige Nacht (in Stunden)	0,715	0,167	0,856	0,463	0,142	0,441	0,427
Mittlerer RI ACM rechts	0,167	0,186	0,434	0,253	0,172	0,083	0,312
Mittlerer RI ACM links	0,266	0,162	0,349	0,253	0,135	0,207	0,500
Mittlerer PI ACM rechts	0,224	0,366	0,408	0,253	0,237	0,165	0,455
Mittlerer PI ACM links	0,406	0,199	0,500	0,361	0,153	0,323	0,367

Legende zu Tabelle 2a und 2b:

Die p-Werte wurden für nominal skalierte Variablen mit dem Chi-Quadrat-Test und für metrisch skalierte Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

HC: gesunde Kontrollen, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, MCI: leichte kognitive Beeinträchtigung, MCI-nonAD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit negativen Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, MCI-AD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit positiven Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, SD: Standardabweichung, MMST: Mini-Mental Status Test, CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease – Neuropsych-



chological Assessment Battery, CDR-SOB: Clinical dementia rating Skala – Summe der Einzelwerte (sum of boxes), RI: Resistance Index (Widerstands-Index), PI: Pulsatilitäts-Index, ACM: Arteria cerebri media

### **Resistance-Index und Pulsatilitäts-Index**

Die p-Werte der nachstehenden Beschreibung sind Tabelle 1 (HC, ADD) bzw. Tabelle 2b (MCI, MCI-nonAD und MCI-AD) zu entnehmen.

#### **Unterschiede zwischen HC und ADD**

Die Parameter mittlerer RI ACM rechts bzw. links und der mittlere PI ACM links wiesen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen HC und ADD auf. Dabei waren die Werte bei ADD-Patienten größer als bei HC-Teilnehmern. Der Unterschied bei PI ACM rechts wurde nicht signifikant.

#### **Unterschiede zwischen MCI und HC bzw. ADD**

Die PI- und RI-Werte der ACM links sowie rechts der Gesamtheit der MCI-Patienten verteilten sich zwischen den Ergebnissen der Gruppen HC und ADD, wiesen aber keinen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zu beiden Gruppen auf (vgl. Abbildung 1 und Tabelle 2). Jedoch lagen die Mittelwerte der Gruppe MCI-nonAD näher bei den Mittelwerten der Gruppe HC; gleichermaßen zeigten die Mittelwerte der Gruppe MCI-AD eine Tendenz in Richtung der Mittelwerte der Gruppe ADD, was auch in Abbildung 2 ersichtlich wird.

Abbildung 1 - RI und PI der A. cerebri media für HC, MCI gesamt und ADD

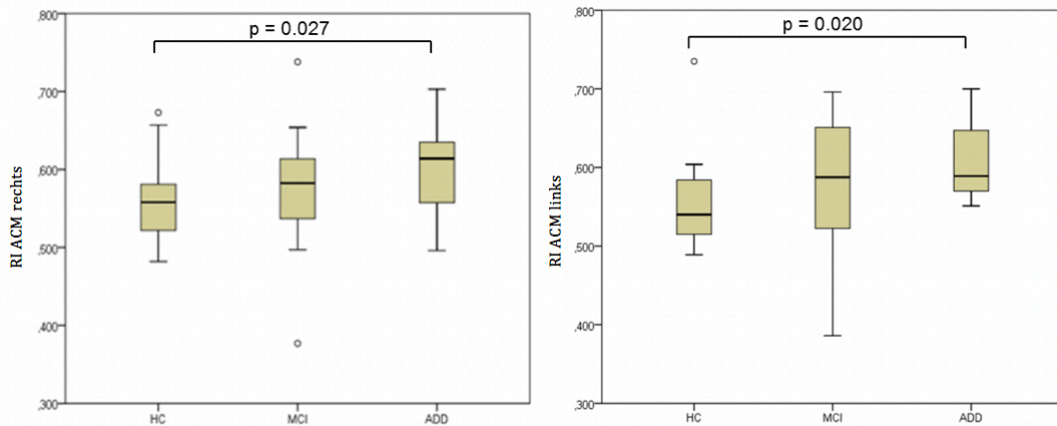


Abb. 1a: Resistance-Index A. cerebri media rechts

Abb. 1b: Resistance-Index A. cerebri media links

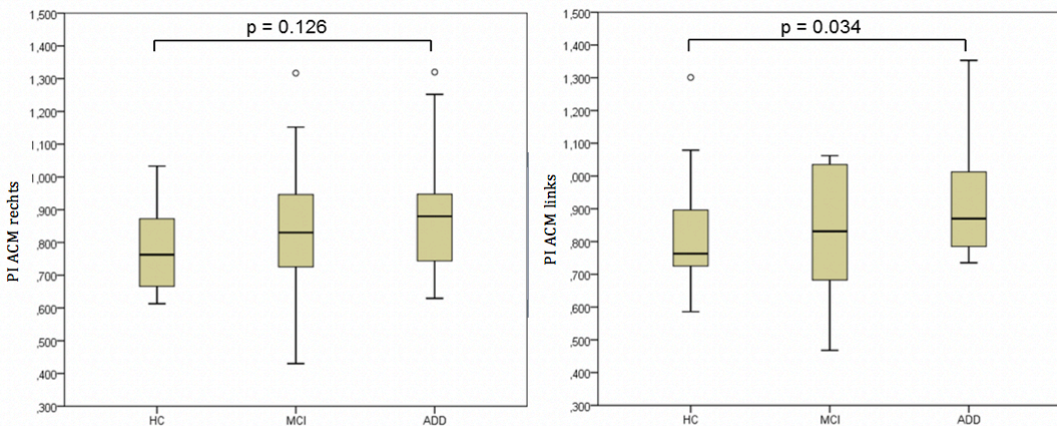


Abb. 1c: Pulsatilitäts-Index A. cerebri media rechts

Abb. 1d: Pulsatilitäts-Index A. cerebri media links

Legende zu Abbildung 1:

RI: Resistance-Index (Widerstands-Index), PI: Pulsatilitätsindex, ACM: Arteria cerebri media, HC: gesunde Kontrollen, MCI: leichte kognitive Beeinträchtigung, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit

Abbildung 2 - RI und PI der A. cerebri media für HC, MCI-nonAD, MCI-AD und ADD

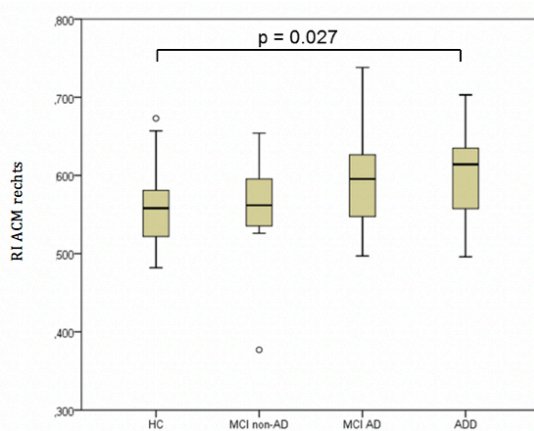


Abb. 2a: Resistance-Index A. cerebri media rechts

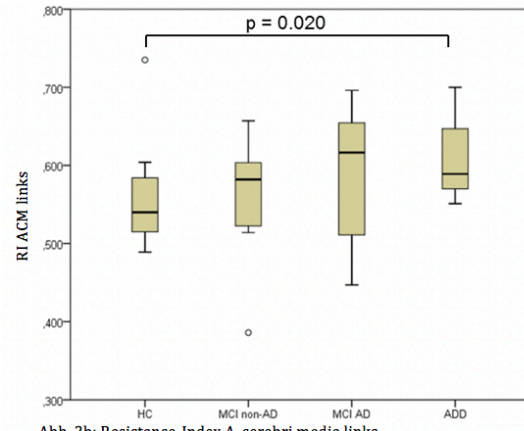


Abb. 2b: Resistance-Index A. cerebri media links

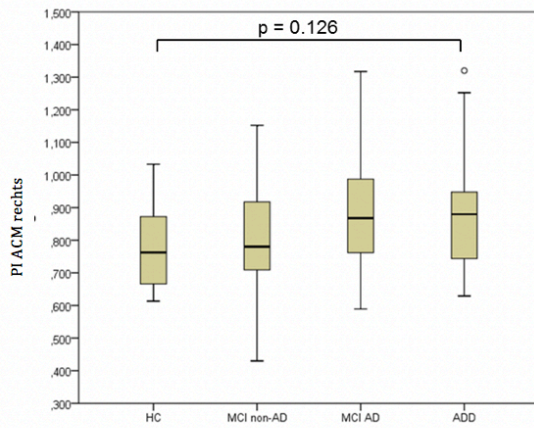


Abb. 2c: Pulsatilitäts-Index A. cerebri media rechts

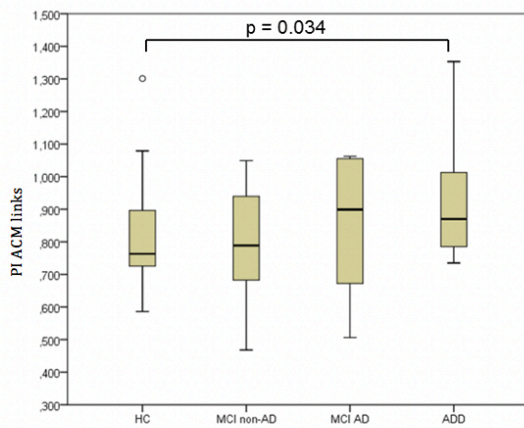


Abb. 2d: Pulsatilitäts-Index A. cerebri media links

Legende zu Abbildung 2:

RI: Resistance-Index (Widerstands-Index), PI: Pulsatilitätsindex, ACM: Arteria cerebri media, HC: gesunde Kontrollen, MCI: leichte kognitive Beeinträchtigung, MCI-nonAD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit negativen Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, MCI-AD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit positiven Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit

### ROC-Kurven für RI und PI ACM

Die AUC für RI ACM und PI ACM für den Vergleich HC mit ADD sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Die besten Trennwerte waren für RI ACM rechts 0,586 und links 0,546 und für PI ACM rechts 0,788 und links 0,769. Unter Verwendung der besten Trennwerte bewegte sich die Sensitivität zwischen 75,0 % und 100 %, während die Spezifität von 53,8 % bis 84,6 % reichte (Tabelle 3).

Tabelle 3 - ROC-Analysen für RI ACM rechts und links sowie PI ACM rechts und links für den Vergleich ADD und HC

	<b>Trennwert</b>	<b>Sensitivität</b>	<b>Spezifität</b>	<b>AUC</b>
Mittlerer RI ACM rechts	0,586	0,750	0,846	0,763
Mittlerer RI ACM links	0,546	1,000	0,538	0,776
Mittlerer PI ACM rechts	0,788	0,750	0,615	0,673
Mittlerer PI ACM links	0,769	0,833	0,615	0,718

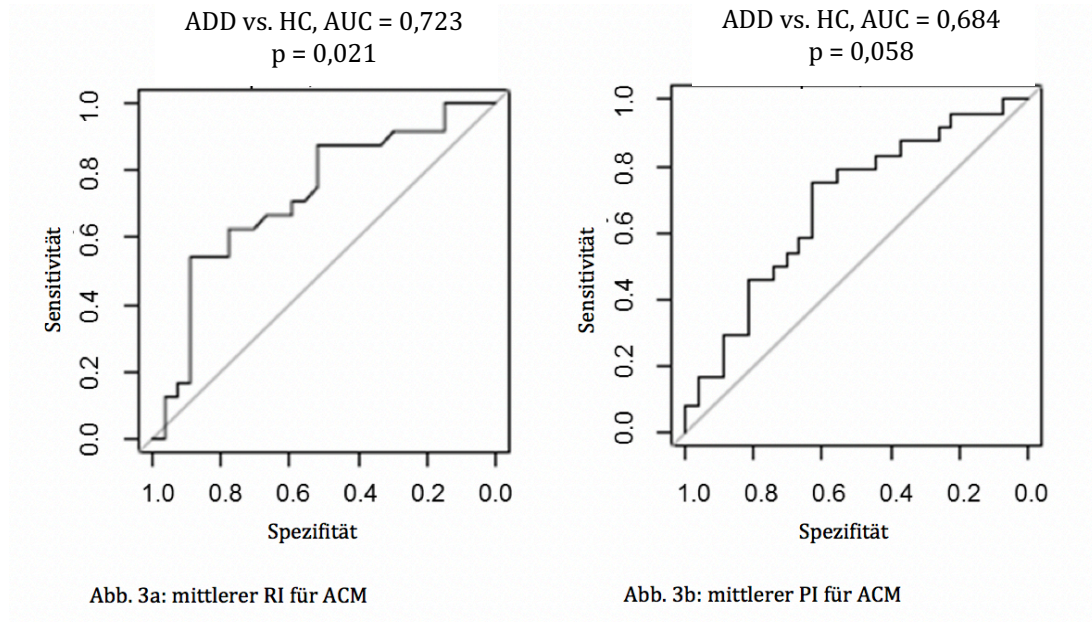
Legende zu Tabelle 3:

RI: Resistance Index (Widerstands-Index), PI: Pulsatilitäts-Index, ACM: Arteria cerebri media, AUC: area under the curve (Fläche unter der Kurve), HC: gesunde Kontrollen, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit

Weiterhin sind die ROC-Analysen für gebündelte Daten für HC und ADD (ROC-Analysis for clustered data) in Abbildung 3 dargestellt. Dabei wurden rechts und links gemessener RI bzw. PI gemeinsam betrachtet.

Die ROC-Analysen für gebündelte Daten für RI ACM rechts und links sowie PI ACM rechts und links zum Gruppenvergleich der Gruppen HC bzw. ADD mit MCI-nonAD bzw. MCI-AD sind in Abbildung 4 dargestellt.

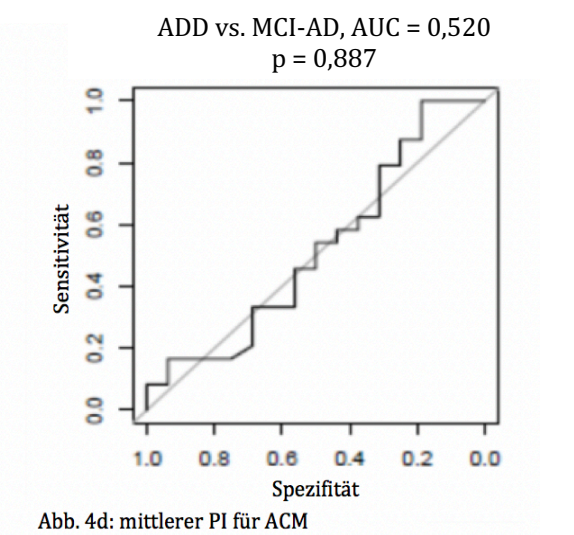
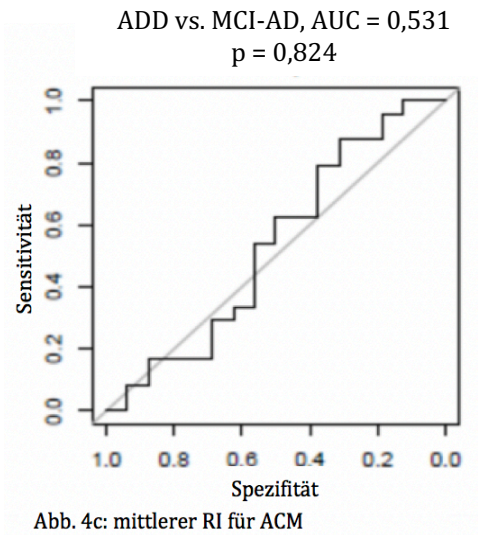
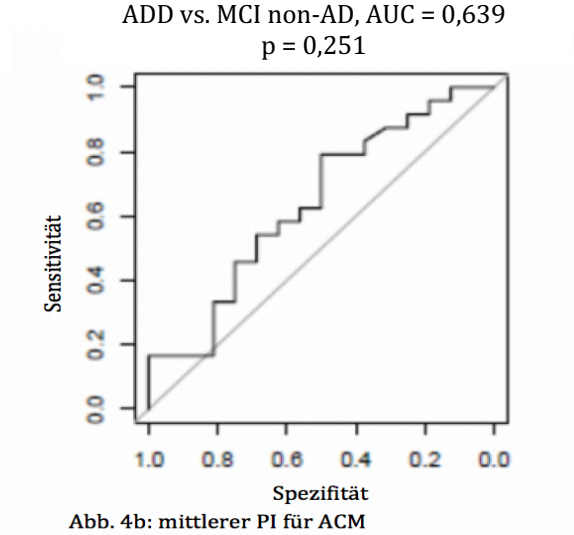
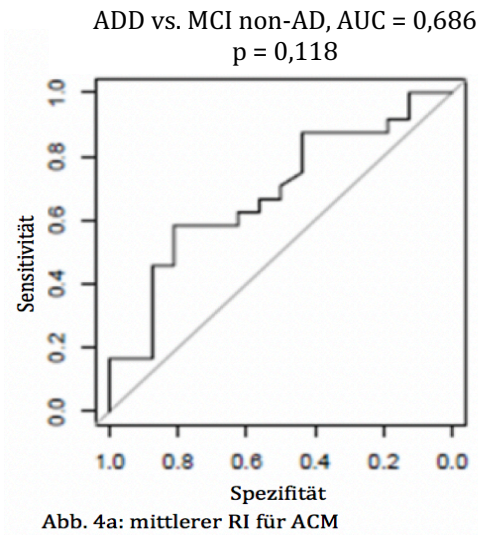
Abbildung 3 - ROC-Kurven für gebündelte Daten für RI ACM und PI ACM zum Vergleich HC und ADD



Legende zu Abbildung 3a und 3b:

ADD: Demenz bei Alzheimer Krankheit, HC: gesunde Kontrollen, AUC: area under the curve (Fläche unter der Kurve), RI: Widerstands-Index, PI: Pulsatilitäts-Index, ACM: Arteria cerebri media, HC: gesunde Kontrollen, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit

Abbildung 4 - ROC-Kurven für gebündelte Daten für RI ACM links und rechts sowie PI ACM links und rechts der Vergleiche zwischen MCI-nonAD, MCI-AD, HC und ADD



HC vs. MCI-nonAD, AUC = 0,559  
p = 0,644

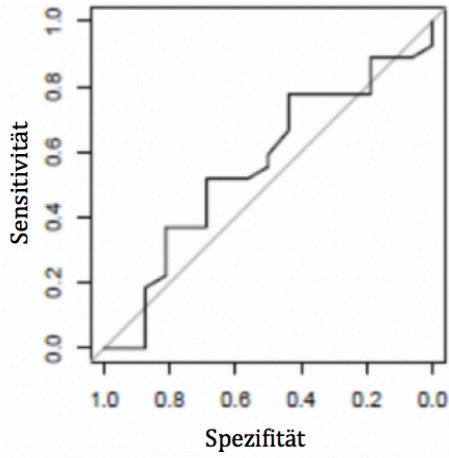


Abb. 4e: mittlerer RI für ACM

HC vs. MCI-nonAD, AUC = 0,514  
p = 0,915

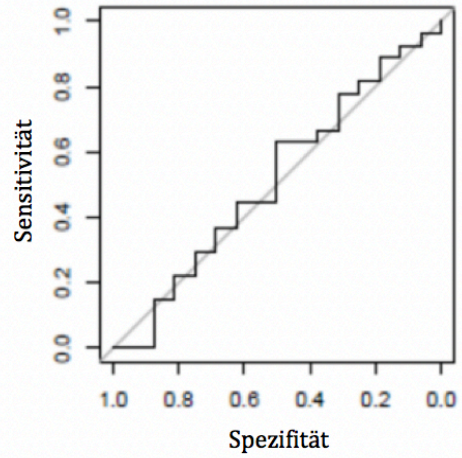


Abb. 4f: mittlerer PI für ACM

HC vs. MCI-AD, AUC = 0,648  
p = 0,276

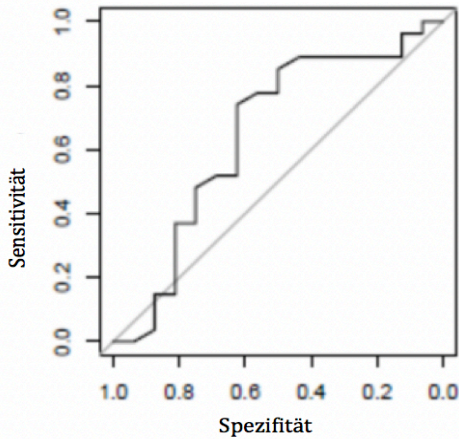


Abb. 4g: mittlerer RI für ACM

HC vs. MCI-AD, AUC = 0,612,  
p = 0,413

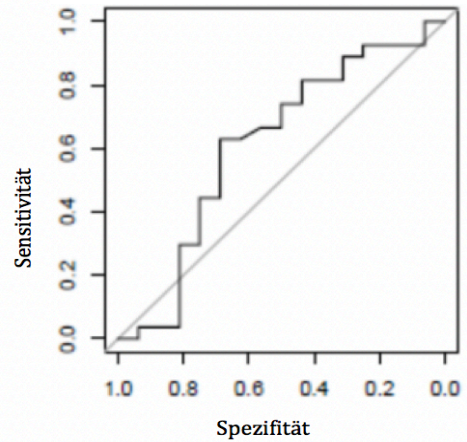
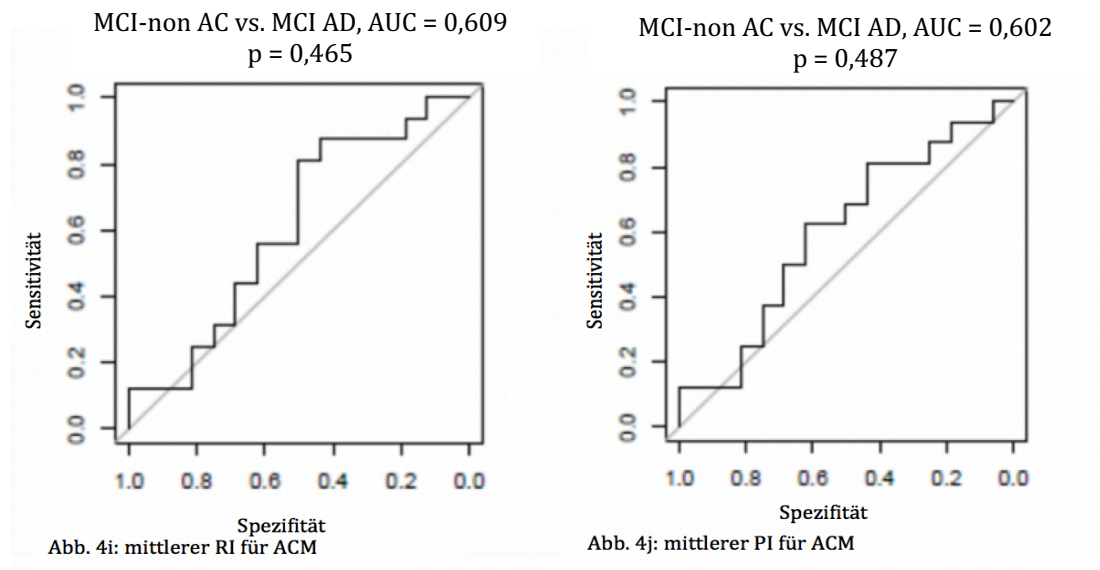


Abb. 4h: mittlerer PI für ACM



#### Legende zu Abbildung 4a-j:

ADD: Demenz bei Alzheimer Krankheit, HC: gesunde Kontrollen, MCI-nonAD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit negativen Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, MCI-AD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit positiven Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, AUC: area under the curve (Fläche unter der Kurve), RI: Widerstands-Index, PI: Pulsatilitäts-Index, ACM: Arteria cerebri media

### **Korrelation zwischen CDR-SOB und RI bzw. PI**

In den Korrelationsanalysen der Gesamtstichprobe zeigte sich, dass CDR-SOB signifikant mit RI ACM rechts und links, sowie mit PI ACM links assoziiert war. Die Korrelationsanalyse zwischen PI ACM rechts mit CDR-SOB wurde nicht signifikant (vgl. Tabelle 4).

Bei ausschließlicher Betrachtung des Alzheimer-Spektrums (HC, MCI-AD und ADD) war CDR-SOB signifikant mit RI der rechten ACM, RI der linken ACM und PI der linken ACM assoziiert (vgl. Tabelle 4).



Tabelle 4 - Korrelationen zwischen CDR-SOB und PI bzw. PI

	Gesamte Stichprobe		Alzheimer-Spektrum	
	R	p-Wert	R	p-Wert
Mittlerer RI ACM rechts	0,610	0,010	0,389	0,012
Mittlerer RI ACM links	0,350	0,013	0,366	0,018
Mittlerer PI ACM rechts	0,242	0,061	0,272	0,060
Mittlerer PI ACM links	0,314	0,023	0,331	0,030

Legende zu Tabelle 4:

RI: Resistance Index (Widerstands-Index), PI: Pulsatilitäts-Index, CDR-SOB: Clinical dementia rating Skala – Summe der Einzelwerte (sum of boxes), ACM: Arteria cerebri media, Alzheimer-Spektrum: MCI-AD und ADD eingeschlossen, MCI-AD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit positiven Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, R: Korrelationskoeffizient

## 3.2 Ergebnisse der retinalen Gefäßanalyse

### Demographische Daten

Die Charakteristika der Patienten aus HC und ADD sind in Tabelle 5, die der Patienten aus MCI und der Subgruppen MCI non-AD und MCI-AD in Tabelle 6a und 6b dargestellt.

Es wurden von 60 eingeschlossenen Patienten 55 untersucht. Die Gruppe HC setzte sich aus 16 Probanden, ADD aus 15 Patienten und MCI aus insgesamt 24 Patienten zusammen. Die MCI-Gruppe ließ sich weiter in MCI-nonAD mit 11 Teilnehmern und MCI-AD mit 13 Teilnehmern einteilen. Fünf Patienten konnten aufgrund zutreffender Ausschlusskriterien nicht untersucht werden.

Die ADD-Patienten waren etwas älter, als die Probanden aus HC und MCI ( $p = 0,024$ ). Hinsichtlich des Geschlechts und der vaskulären Risikofaktoren, wie Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie, unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant.

In den Parametern MMST Z-Werte, CERAD-Testbatterie und globalem CDR sowie CDR-SOB waren die Patienten der Gruppe ADD signifikant schlechter als Teilnehmer der Gruppe HC (jeweils  $p \leq 0,001$ , vgl. Tabelle 5). Außerdem schnitten bei denselben Parametern die Patienten mit MCI signifikant schlechter ab als Patienten der Gruppe HC ( $p \leq 0,001$ ), aber gleichzeitig auch signifikant besser als ADD-Patienten ( $p \leq 0,001$ , vgl. Tabelle 6b).

Tabelle 5 - Demographische Daten von HC und ADD-Stichprobe der retinalen Gefäßanalyse

<b>Variable Absolute (relative) Häufigkeit</b>	<b>HC</b>	<b>ADD</b>	<b>p-Wert</b>
Anzahl	16	15	
Geschlecht (männlich : weiblich)	6 : 10 (37,5 % : 62,5 %)	6 : 9 (40,0 % : 60,0 %)	0,922
Koffein (ja : nein)	16 : 0 (100,0 % : 0,0 %)	11 : 4 (73,3 % : 26,7 %)	0,216
Nikotin (ja : nein)	1 : 15 (6,3 % : 93,8 %)	1 : 14 (6,7 % : 93,3 %)	0,984
Dominantes Auge (rechts : links)	9 : 7 (56,3 % : 43,8 %)	5 : 10 (33,3 % : 66,7 %)	0,281
Diabetes mellitus (ja : nein)	0 : 16 (0,0 % : 100,0 %)	0 : 16 (0,0 % : 100,0 %)	1,0
Arterielle Hypertonie (ja : nein)	6 : 10 (37,5 % : 62,5 %)	11 : 4 (73,3 % : 26,7 %)	0,156
<b>Variable Median (1. - 3. Quartil)</b>			
Alter bei Untersuchung (in Jahren)	68,6 (60,15 – 71,10)	73,7 (67,10 – 79,80)	0,024
Z-Wert MMST	0,0 (-1,33 – 0,50)	-5,0 (-15,78 – -3,17)	< 0,001
CERAD-NAB Summenwert	86,0 (79,00 – 92,50)	45,0 (41,00 – 64,00)	< 0,001
CDR global	0,0 (0,00 – 0,00)	1,0 (1,00 – 1,00)	< 0,001
CDR-SOB	0,0 (0,00 – 0,00)	5,0 (4,50 – 6,00)	< 0,001
Wachdauer vor Untersu- chung (in Stunden)	6,5 (5,63 – 7,25)	6,3 (5,75 – 7,25)	0,800
Schlafdauer vorherige Nacht (in Stunden)	8,0 (7,50 – 8,50)	9,0 (8,50 – 9,50)	0,011
Systolischer Blutdruck (in mmHg)	133,5 (125,5– 142,0)	135,0 (124,3–143,0)	0,851
Diastolischer Blutdruck (in mmHg)	84,0 (78,8–86,3)	83,5 (81,0–87,3)	0,668

Legende zu Tabelle 5:

Die p-Werte wurden für nominal skalierte Variablen mit dem Chi-Quadrat-Test und für metrisch skalierte Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

HC: gesunde Kontrollen, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, MMST: Mini-Mental Status Test, CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease – Neuropsychological Assessment Battery, CDR-SOB: Clinical dementia rating Skala - Summe der Einzelwerte (sum of boxes)

Ergebnisse

Tabelle 6a- Demographische Daten der MCI-Stichprobe der retinalen Gefäßanalyse

<b>Variable absolute (relative) Häufigkeit</b>	<b>MCI gesamt</b>	<b>MCI-nonAD</b>	<b>MCI-AD</b>
Anzahl	24	11	13
Geschlecht (männlich : weiblich)	10 : 14 (41,7 % : 58,3 %)	6 : 5 (54,5 % : 45,5 %)	4 : 9 (30,8 % : 69,2 %)
Koffein (ja : nein)	19 : 5 (79,2 % : 20,8 %)	9 : 2 (81,8 % : 18,2 %)	10 : 3 (76,9 % : 23,1 %)
Nikotin (ja : nein)	4 : 20 (16,7 % : 83,3 %)	3 : 8 (27,3 % : 72,7 %)	1 : 12 (7,7 % : 92,3 %)
Dominantes Auge (rechts : links)	12 : 12 (50,0 % : 50,0 %)	5 : 6 (45,5 % : 54,5 %)	7 : 6 (53,8 % : 46,2 %)
Diabetes mellitus (ja : nein)	2 : 22 (8,3 % : 91,7 %)	2 : 9 (18,2 % : 81,8 %)	0 : 13 (0,0 % : 100,0 %)
Arterielle Hypertonie (ja : nein)	10 : 14 (41,7 % : 58,3 %)	4 : 7 (36,4 % : 63,6 %)	6 : 7 (46,1 % : 53,8 %)
<b>Variable, Median (1. - 3. Quartil)</b>			
Alter bei Untersuchung (in Jahren)	69,2 (63,50 - 73,20)	65,0 (56,60 - 72,00)	70,1 (65,70 - 75,10)
Z-Wert MMST	-2,4 (-4,25 - -1,00)	-1,0 (-3,78 - -0,09)	-2,8 (-5,67 - -2,44)
CERAD-NAB Summenwert	68,5 (60,50 - 76,50)	72,0 (65,00 - 78,00)	66,0 (58,00 - 71,00)
CDR global	0,5 (0,50 - 0,50)	0,5 (0,50 - 0,50)	0,5 (0,50 - 0,50)
CDR-SOB	2,5 (1,50 - 3,25)	2,0 (0,50 - 2,50)	2,5 (1,50 - 3,50)
Wachdauer vor Untersuchung (in Stunden)	6,8 (5,50 - 7,50)	7,1 (5,50 - 8,50)	6,5 (6,00 - 7,25)
Schlafdauer vorherige Nacht (in Stunden)	8,5 (7,00 - 9,00)	8,5 (7,00 - 9,00)	8,3 (7,75 - 9,00)
Systolischer Blutdruck (in mmHg)	133,0 (121,0 - 144,5)	132,0 (121,0 - 134,0)	138,0 (123,0 - 148,0)
Diastolischer Blutdruck (in mmHg)	85,0 (77,3 - 89,0)	82,0 (75,0 - 86,0)	86,0 (79,0 - 90,0)

## Ergebnisse

Tabelle 6b - p-Werte zu demographischen Daten der MCI-Stichprobe der retinalen Gefäßanalyse

Variable	p-Wert MCI gesamt vs. HC	p-Wert MCI gesamt vs. ADD	p-Wert MCI- nonAD vs. HC	p-Wert MCI- nonAD vs. MCI-AD	p-Wert MCI- nonAD vs. ADD	p-Wert MCI-AD vs. HC	p-Wert MCI-AD vs. ADD
Geschlecht (männlich : weiblich)	0,838	0,943	0,481	0,331	0,540	0,779	0,683
Koffein (ja : nein)	0,279	0,765	0,451	0,865	0,721	0,308	0,892
Nikotin (ja : nein)	0,594	0,618	0,368	0,424	0,384	0,948	0,964
Dominantes Auge (rechts : links)	0,754	0,399	0,645	0,733	0,610	0,914	0,363
Diabetes mellitus (ja : nein)	0,508	0,508	0,157	0,199	0,157	1,0	1,0
Arterielle Hypertonie (ja : nein)	1,0	0,117	1,0	0,697	0,130	0,716	0,274
Alter bei Untersuchung (in Jahren)	0,946	0,033	0,544	0,186	0,054	0,503	0,098
Z-Wert MMST	< 0,001	0,001	0,056	0,072	0,001	< 0,001	0,022
CERAD-NAB Summenwert	< 0,001	0,001	0,001	0,361	0,002	< 0,001	0,005
CDR global	< 0,001	< 0,001	< 0,001	1,000	< 0,001	< 0,001	< 0,001
CDR-SOB	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,167	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Wachdauer vor Untersuchung (in Stunden)	0,563	0,516	0,241	0,284	0,338	0,948	0,856
Schlafdauer vorherige Nacht (in Stunden)	0,437	0,089	0,698	0,784	0,115	0,398	0,201
Systolischer Blutdruck (in mmHg)	0,944	0,797	0,294	0,252	0,251	0,559	0,619
Diastolischer Blutdruck (in mmHg)	0,910	0,620	0,451	0,207	0,342	0,398	0,589

Legende zu Tabelle 6a und 6b:

Die p-Werte wurden für nominal skalierte Variablen mit dem Chi-Quadrat-Test und für metrisch skalierte Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

HC: gesunde Kontrollen, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, MCI: leichte kognitive Beeinträchtigung, MCI-nonAD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit negativen Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, MCI-AD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit positiven Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, MMST: Mini-Mental Status Test, CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease - Neuropsychological Assessment Battery, CDR-SOB: Clinical dementia rating Skala - Summe der Einzelwerte (sum of boxes).

### Ergebnisse der statischen Gefäßanalyse

Die Werte des zentral-retinalen arteriolen Äquivalents (CRAE), des zentral-retinalen venolen Äquivalents (CRVE) und der arteriolen-venolen Ratio (AVR) unterscheiden sich zwischen der HC- und ADD-Stichprobe der statischen retinalen Gefäßanalyse nicht signifikant (siehe Tabelle 7). Es konnte allerdings eine leichte numerische Abnahme des CRVEs mit zunehmendem Erkrankungsfortschritt in MCI und ADD festgestellt werden. Verglichen mit AVR-Normwerten aus Hubbard et al. (1999) und K. E. Kotliar et al. (2008) waren die erhobenen Werte für AVR vermindert.

Wird die Stichprobe der transkranialen Dopplersonographie betrachtet (s. Tabelle 1 und Tabelle 2a und 2b) ergibt sich für die AVR bei HC:  $0,769 \pm 0,053$  (0,670 - 0,833) und bei ADD:  $0,792 \pm 0,059$  (0,718 - 0,930) (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (Spannweite)). Der Unterschied der AVRs zwischen der HC- und der ADD-Stichprobe mittels Mann-Whitney-U-Test wurde nicht signifikant ( $p = 0,308$ ).

Tabelle 7 – Statische retinale Gefäßparameter bei HC, MCI und ADD

Variable Median (1. - 3. Quartil)	HC	MCI gesamt	ADD	p-Wert HC vs. ADD	p-Wert MCI gesamt vs. ADD	p-Wert MCI gesamt vs. HC
Anzahl	16	24	15			
CRAE (in MU)	160,6 (152,1 - 166,2)	163,4 (145,7 - 174,9)	161,8 (139,1 - 168,9)	0,458	0,397	0,722
CRVE (in MU)	205,6 (196,8 - 212,2)	204,6 (193,7 - 217,0)	197,6 (185,1 - 211,8)	0,155	0,190	0,699
AVR	0,78 (0,75 - 0,81)	0,77 (0,71 - 0,86)	0,77 (0,76 - 0,84)	0,583	0,795	0,769

Legende zu Tabelle 7:

Die p-Werte wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

HC: gesunde Kontrollen, MCI: leichte kognitive Beeinträchtigung, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, CRAE: zentral-retinales arterioläres Äquivalent, CRVE: zentral-retinales venoläres Äquivalent, AVR: arterioläre-venoläre Ratio, MU: Messeinheit nach Gullstrand = 1 MU entspricht 1  $\mu\text{m}$ , SD: Standardabweichung.

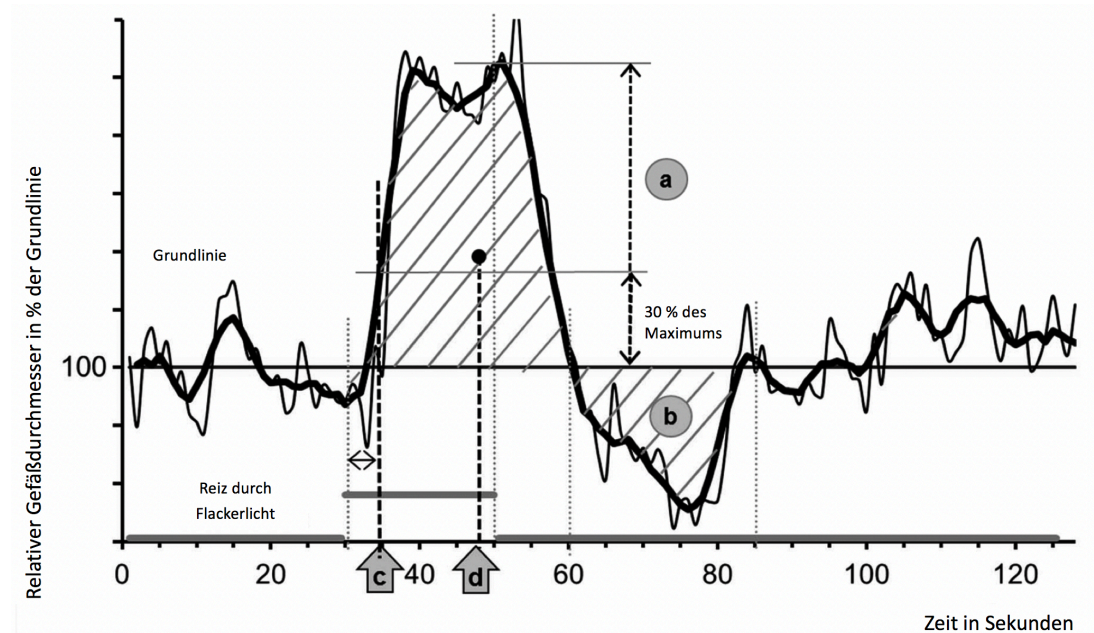
**Ergebnisse der dynamischen Gefäßanalyse**

Die Ergebnisse der dynamischen retinalen Gefäßanalyse sind in Tabelle 8 dargestellt. Außerdem ist ein beispielhafter Kurvenverlauf der dynamischen retinalen Gefäßreaktion auf eine Flackerlichtreizung in Abbildung 5 aufgetragen.

Die Qualität der dynamischen Gefäßmessungen war in allen drei Gruppen vergleichbar gut. Sie erreichte auf einer subjektiven Skala zur qualitativen Beurteilung der Daten von 1,0 (am schlechtesten) bis 5,0 (am besten) im Durchschnitt Werte zwischen 4,0 – 4,5 (vgl. Tabelle 8a und 8b).



Abbildung 5 - Graphische Erläuterung der retinalen Gefäßreaktion auf Stimulation mit Flackerlicht



Legende zu Abbildung 5:

Die dünne schwarze Linie zeigt den medianen Gefäßdurchmesser aus 3 Flackerlichtzyklen. Die fett hervorgehobene schwarze Linie zeigt den fortlaufenden Median, der zur Glättung der Kurve verwendet wurde. Alle Gefäßparameter wurden unter Verwendung dieses fortlaufenden Medians berechnet (detaillierte Beschreibung s. Dynamische retinale Gefäßanalyse mittels Flackerlicht, S. 22). Aus der Flackerlichtkurve können folgende Parameter abgelesen werden:

- a. Mittlere maximale Dilatation als Reizantwort auf Flackerlichtstimulation in % des Grundniveaus.
- b. Fläche unter der Kurve nach Beendigung der Flackerlichtreizung in % \* s.
- c. Zeit bis 30 % der maximalen Dilatation auf aufsteigendem Kurvenverlauf erreicht sind. Der Beginn des Flackerlichts ist als 0 s definiert.
- d. Zeit bis Schwerpunkt der Fläche unter der Kurve (AUC) oberhalb des Grundniveaus erreicht ist. Messung zwischen Beginn des Flackerlichts und erstem Schnittpunkt mit der Grundlinie (Grundniveau) nach maximaler Dilatation.

Ergebnisse

Tabelle 8a - Klinische Daten für HC, MCI gesamt und ADD der dynamisch-retinalen Gefäßanalyse

<b>Variable Median (1. - 3. Quartil)</b>	<b>HC</b>	<b>MCI</b>	<b>ADD</b>
Anzahl	16	24	15
Qualität der Daten	4,5 (4,0 - 5,0)	4,0 (3,0 - 5,0)	4,0 (2,8 - 5,0)
Arteriöler Durchmesser (in MU)	107,6 (101,9 - 119,1)	108,5 (103,9 - 112,5)	111,7 (99,6 - 133,7)
<b>Mittlere maximale arteriöle Dilatation (in % d. Grundniveaus)</b>	2,7 (1,9 - 3,5)	3,8 (2,0 - 5,4)	6,6 (3,9 - 8,7)
Dauer der maximalen arteriölen Dilatation (in s)	17,5 (13,8 - 20,3)	14,5 (11,5 - 19,8)	21,5 (16,5 - 24,3)
Mittlere maximale arteriöle Konstriktion (in % des Grundniveaus)	-1,2 (-1,7 - -0,8)	-1,9 (-2,3 - -1,1)	-1,3 (-2,3 - -0,9)
Dauer der maximalen arteriölen Konstriktion (in s)	52,5 (40,5 - 75,0)	49,0 (37,8 - 60,3)	64,0 (35,5 - 76,3)
Arteriöle AUC nach Flackerlichtreizung (in % * s)	-6,0 (-19,4 - 2,9)	-19,7 (-39,0 - 4,8)	15,7 (-8,7 - 43,9)
Ausmaß der arteriölen Reaktion (in MU)	3,7 (3,1 - 4,4)	5,3 (3,7 - 7,2)	8,1 (5,4 - 9,7)
<b>Zeit bis 30 % der maximalen arteriölen Dilatation (in s)</b>	5,0 (3,0 - 6,0)	5,0 (3,0 - 7,0)	7,0 (6,0 - 11,0)
Zeit bis zum arteriölen Schwerpunkt während Flackerlichtreizung (in s)	16,7 (15,4 - 17,8)	17,7 (16,1 - 19,1)	21,4 (19,8 - 27,7)
Venöler Durchmesser (in MU)	143,5 (135,7 - 155,9)	133,2 (120,5 - 145,2)	140,5 (125,7 - 150,7)
<b>Mittlere maximale venöle Dilatation (in % d. Grundniveaus)</b>	3,7 (2,9 - 4,7)	4,7 (2,9 - 5,2)	5,4 (5,2 - 6,6)
Dauer der maximalen venölen Dilatation (in s)	21,0 (18,3 - 23,3)	20,5 (15,0 - 23,0)	23,0 (20,5 - 24,0)
Mittlere maximale venöle Konstriktion (in % d. Grundniveaus)	-1,0 (-1,6 - -0,5)	-1,1 (-1,7 - -0,5)	-1,2 (-1,5 - -0,7)
Dauer der maximalen venölen Konstriktion (in s)	65,5 (48,5 - 75,5)	71,5 (49,5 - 81,0)	68,0 (53,0 - 84,3)
Venöle AUC nach Flackerlichtreizung (in % * s)	11,3 (-1,9 - 25,8)	11,8 (-6,6 - 25,0)	14,0 (5,8 - 29,8)
<b>Zeit bis 30 % der maximalen venölen Dilatation (in s)</b>	6,0 (5,0 - 8,3)	7,0 (5,0 - 9,0)	7,0 (6,0 - 8,0)
Zeit bis zum venölen Schwerpunkt während Flackerlichtreizung (in s)	21,4 (19,0 - 27,8)	20,9 (18,9 - 23,3)	22,2 (20,6 - 24,3)

Ergebnisse

Tabelle 8b – p-Werte zu klinischen Daten für HC, MCI gesamt und ADD der dynamisch-retinalen Gefäßanalyse

Variable	p-Wert HC vs. ADD	p-Wert MCI gesamt vs. ADD	p-Wert MCI gesamt vs. HC
Qualität der Daten	0,121	0,295	0,424
Arteriöler Durchmesser (in MU)	0,740	0,700	0,881
<b>Mittlere maximale arteriöle Dilatation (in % des Grundniveaus)</b>	0,004 (<0,02)	0,058	0,126
Dauer der maximalen arteriölen Dilatation (in s)	0,101	0,015	0,503
Mittlere maximale arteriöle Konstriktion (in % des Grundniveaus)	0,401	0,466	0,058
Dauer der maximalen arteriölen Konstriktion (in s)	0,922	0,484	0,633
Arteriöle AUC nach Flackerlichtreizung (in % * s)	0,101	0,017	0,202
Ausmaß der arteriölen Reaktion (in MU)	0,007	0,138	0,034
<b>Zeit bis 30 % der maximalen arteriölen Dilatation (in s)</b>	< 0,001 (<0,01)	0,004 (<0,02)	0,853
Zeit bis zum arteriölen Schwerpunkt während Flackerlichtreizung (in s)	0,002	0,005	0,267
Venöler Durchmesser (in MU)	0,232	0,658	0,101
<b>Mittlere maximale venöle Dilatation (in % des Grundniveaus)</b>	0,001 (<0,01)	0,007 (<0,02)	0,557
Dauer der maximalen venölen Dilatation (in s)	0,446	0,123	0,521
Mittlere maximale venöle Konstriktion (in % des Grundniveaus)	0,892	0,875	0,967
Dauer der maximalen venölen Konstriktion (in s)	0,830	0,449	0,967
Venöle AUC nach Flackerlichtende (in % * s)	0,318	0,212	0,774
<b>Zeit bis 30 % der maximalen venölen Dilatation (in s)</b>	0,232	0,700	0,404
Zeit bis zum venölen Schwerpunkt während Flackerlichtreizung (in s)	0,740	0,202	0,576

Legende zu Tabelle 8a und 8b:

Die p-Werte wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Es wurden für alle Vergleiche die exakten p-Werte angegeben. p-Werte, die zur Umgehung einer alpha-Fehler-Kumulierung manuell nach Holm-Bonferroni korrigiert wurden, sind in Klammern angegeben. Die Qualität der Daten wurde anhand einer subjektiven Bewertung zwischen 1,0 – 5,0 beurteilt, wobei 1,0 für sehr schlechte Datenqualität und 5,0 für sehr gute Datenqualität steht.

HC: gesunde Kontrollen, MCI: leichte kognitive Beeinträchtigung, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, MU: Messeinheit nach Gullstrand = 1 MU entspricht 1  $\mu\text{m}$ , SD: Standardabweichung, AUC: Fläche unter der Kurve.

### **Betrachtung der ADD-Stichprobe**

Um die Alphafehler-Kumulierung zu vermeiden, wurden die Parameter *mittlere maximale Dilatation bei Flackerlichtreizung* und *Zeit bis 30% der maximalen Dilatation erreicht sind* nach der Holm-Bonferroni-Methode korrigiert (Glanz, 1999). Die korrigierten p-Werte werden in Klammern angegeben.

Bei ADD-Patienten zeigte sich im Vergleich zu den gesunden Kontrollen eine stark vergrößerte arterioläre sowie venoläre Dilatation auf Flackerlichtreizung. Die arterioläre Reaktion auf Flackerlicht war verzögert und verlor die charakteristische Form einer normalen Reizantwort, wie sie in K. E. Kotliar et al. (2011) und Polak et al. (2002) beschrieben wird.

Retinale Arteriolen zeigten bei ADD eine signifikant erhöhte reaktive Dilatation (Mittlere maximale arterioläre Dilatation) als Reizantwort auf die Flackerlichtstimulation im Vergleich sowohl zu HC ( $p = 0,004$  bzw.  $p < 0,02$  nach Korrektur) als auch zur gesamten MCI-Stichprobe ( $p = 0,058$  bzw.  $p$  nach Korrektur nicht signifikant). Auch die Dilatation retinaler Venolen (Mittlere maximale venoläre Dilatation) war bei der ADD-Stichprobe im Vergleich zur HC-Stichprobe ( $p = 0,001$  bzw.  $p < 0,01$  nach Korrektur) und zur gesamten MCI-Stichprobe ( $p = 0,007$  bzw.  $p < 0,02$  nach Korrektur) signifikant erhöht (vgl. Tabelle 8 a und b, Abbildung 6 und 7).

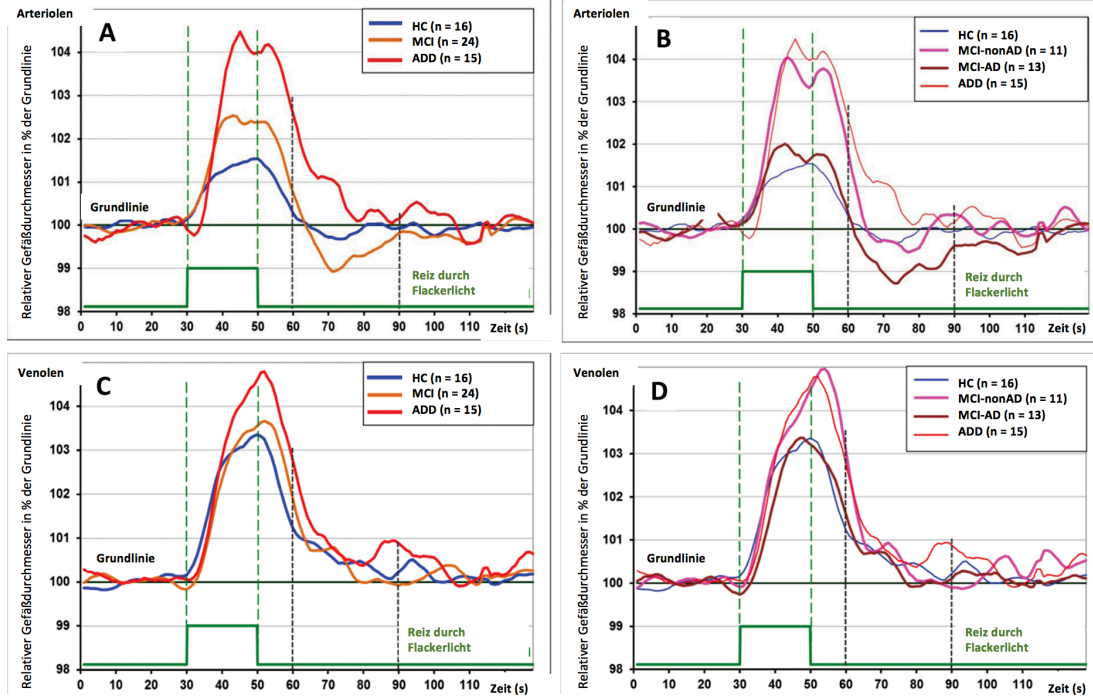
Die arterioläre Reaktion (Zeit bis 30 % der maximalen arteriolären Dilatation) bei ADD war verglichen mit HC ( $p < 0,001$  bzw.  $p < 0,01$  nach Korrektur) und der gesamten MCI-Stichprobe ( $p = 0,004$  bzw.  $p < 0,02$  nach Korrektur) signifikant verlangsamt (vgl. Tabelle 8 a und b, Abbildung 6). Betrachtet man die Untergruppen der MCI-Gruppe war die arterioläre Reizantwort auf Flackerlicht bei ADD-Patienten signifikant gegenüber MCI-AD ( $p < 0,01$ ), MCI-nonAD ( $p < 0,05$ ) verzögert (vgl. Abbildung 7 C).

Der Parameter *Zeit bis Erreichen des Schwerpunktes der AUC* stellt eine weitere Möglichkeit dar, die Latenz der Gefäßreaktion zu vergleichen. Übereinstimmend mit unseren bisherigen Messergebnissen konnte eine signifikante Verzögerung der arteriolen ADD-Gefäßreaktion festgestellt werden (ADD vs. HC  $p < 0,01$ ; ADD vs. MCI-AD  $p < 0,01$ ; vgl. Abbildung 7 D). Die venoläre Gefäßreaktion war zwischen HC und ADD und MCI gesamt und ADD nicht signifikant verlängert ( $p > 0,1$ ).

In der ADD-Stichprobe verschmälerten sich retinale Arteriolen nach Ende der Flackerlichtstimulation numerisch stärker als der arteriolen Gefäßdurchmesser gesunder Kontrollprobanden ( $p = 0,401$ , Mittlere maximale arteriolen Konstriktion). Das Ausmaß der arteriolen Reaktion war in der ADD-Stichprobe signifikant höher als in der HC-Stichprobe ( $p = 0,007$ , Ausmaß der arteriolen Reaktion). Der Unterschied im Ausmaß der arteriolen Reaktion im Vergleich zwischen ADD und der gesamten MCI-Stichprobe wurde nicht signifikant ( $p = 0,138$ ) (vgl. Tabelle 8 b).

Die gesamte MCI-Gruppe zeigte eine signifikant stärkere arteriolen Reizantwort auf Flackerlicht als die HC-Gruppe ( $p = 0,034$ , Ausmaß der arteriolen Reaktion). Außerdem konnte eine numerisch stärkere Konstriktion nach dem Ende der Stimulation bei allen MCI-Patienten als bei HC-Probanden ( $p = 0,058$ , Mittlere maximale arteriolen Konstriktion) festgestellt werden (vgl. Tabelle 8 b).

Abbildung 6 - Arteriöle und venoläre Gefäßreaktion in den Gruppen HC, ADD und MCI



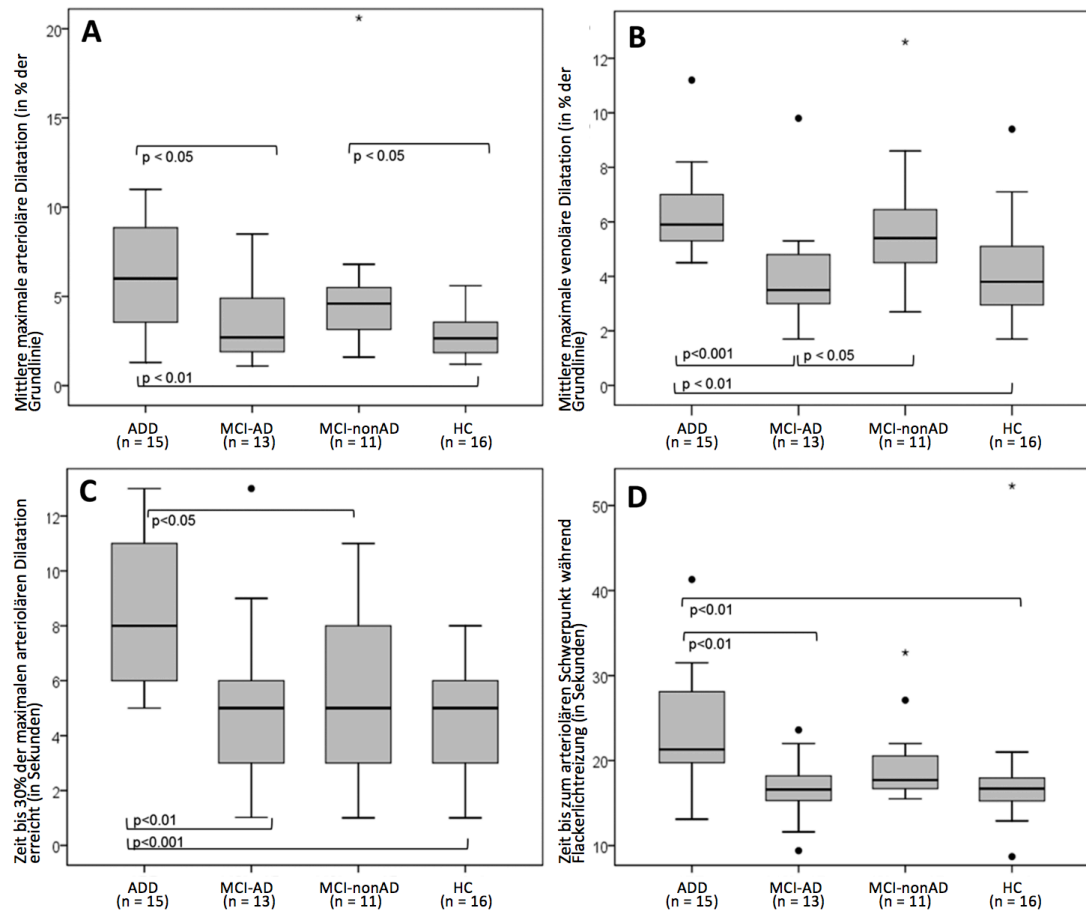
Legende zu Abbildung 6:

Relative Änderung des Gefäßdurchmessers in Prozent des Grundniveaus während der Flackerlichtstimulation (monochromatisch, 12,5 Hz, drei Zyklen à 20 s).

In Abbildung 6 A und 6 C ist die gesamte MCI-Stichprobe dargestellt, in Abbildung 6 B und 6 D wurden die MCI-Untergruppen MCI-nonAD und MCI-AD aufgetragen. Die grauen senkrechten Linien zeigen das Zeitintervall 10 – 40 s nach Beendigung des Flackerlichts, in welchem bei HC arteriöle Konstriktion und vermehrte Abnahme des venolären Durchmessers zu erwarten ist.

HC: gesunde Kontrollen, ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, MCI: leichte kognitive Beeinträchtigung, MCI-nonAD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit negativen Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, MCI-AD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit positiven Biomarkern für Alzheimer-Krankheit.

Abbildung 7 - Maximale arterioläre bzw. venoläre Dilatation und Latenzparameter der Gruppen ADD, MCI-AD, MCI-nonAD und HC



Legende zu Abbildung 7:

In Abbildung 7 A und 7 B ist die maximale arterioläre bzw. venoläre Dilatation dargestellt, in Abbildung 7 C und 7 D die Latenzparameter *Zeit bis Erreichen von 30 % der arteriolen Dilatation* bzw. *Zeit bis zum arteriolen Schwerpunkt während Flackerlichtreizung*.

ADD: Demenz bei Alzheimer-Krankheit, MCI-AD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit positiven Biomarkern für Alzheimer-Krankheit MCI-nonAD: leichte kognitive Beeinträchtigung mit negativen Biomarkern für Alzheimer-Krankheit, HC: gesunde Kontrollen.



### **Betrachtung der MCI- Untergruppen**

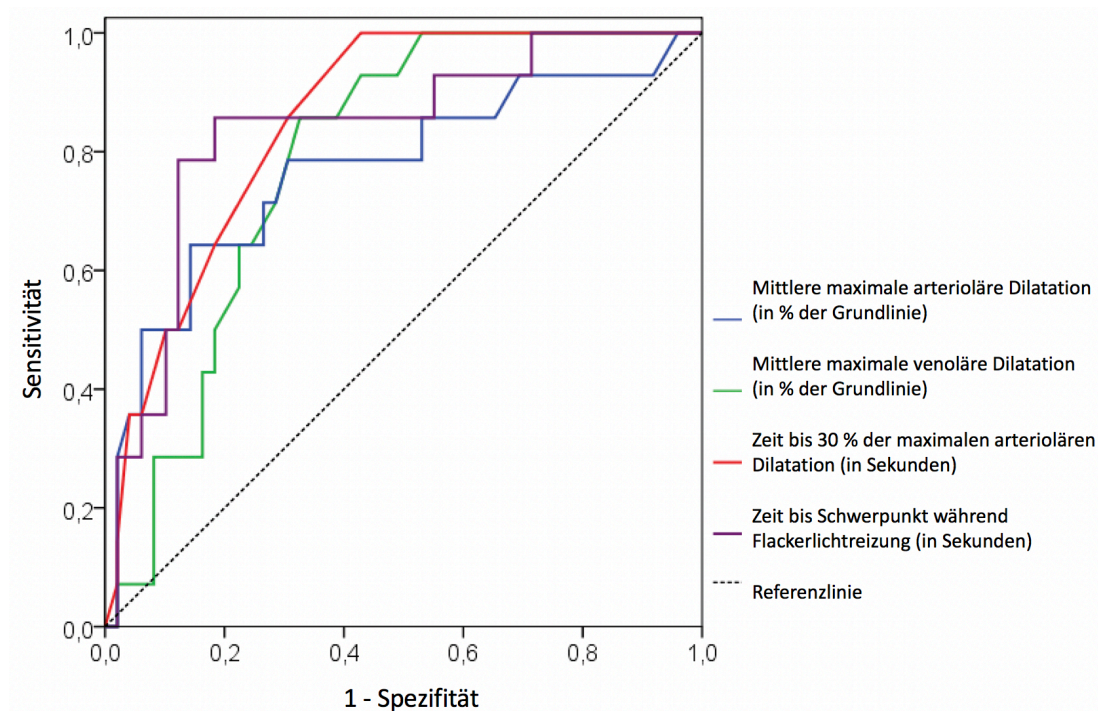
Die in Abbildung 6 B aufgetragenen Reaktionskurven zeigen, dass die arterioläre Reizantwort (Zeit bis 30 % der maximalen arteriolären Dilatation) im Vergleich ADD sowohl mit MCI-nonAD, MCI-AD als auch HC signifikant verlängert war ( $p = 0,007$ ;  $p = 0,033$ ;  $p < 0,001$ ). Sowohl die arterioläre als auch die venoläre Gefäßreaktion (Mittlere maximale arterioläre Dilatation; Mittlere maximale venoläre Dilatation) war bei MCI-AD gegenüber ADD vermindert ( $p = 0,041$ ;  $p < 0,001$ ; vgl. Abbildung 6 B, D; Abbildung 7 A, B). Darüber hinaus war die venoläre Reaktion zwischen MCI-AD und MCI-nonAD signifikant vermindert ( $p = 0,041$ ; vgl. Abbildung 6 D; Abbildung 7 B). Die venoläre Reaktion der MCI-nonAD-Gruppe ähnelte der ADD-Gruppe, wohingegen die MCI-AD Kurvenverläufe den Kurvenverläufen der gesunden Kontrollen glichen (vgl. Abbildung 6 D, Abbildung 7 B).

Der Verlauf der arteriolären Reaktionskurve nach Beendigung des Flackerlichts ist durch eine verstärkte Konstriktion der Gefäße charakterisiert. Die Gefäßverengung, die anhand des Parameters *AUC nach Flackerlichtreizung* bestimmt wurde, war bei MCI-AD-Patienten signifikant gegenüber HC ( $p = 0,032$ ) und ADD ( $p = 0,001$ ; vgl. Abbildung 6 B) verstärkt.

### ROC-Kurvenanalysen zur Beurteilung der wichtigsten Parameter der dynamischen retinalen Gefäßanalyse im Vergleich HC und ADD

Betrachtet wurden folgende Parameter: Als Dilatationsparameter *mittlere maximale arterioläre Dilatation* und *mittlere maximale venoläre Dilatation* und als Latenzparameter *Zeit bis 30% der maximalen arteriolären Dilatation* und *Zeit bis Schwerpunkt während Flackerlichtreizung*. Die ROC-Kurvenanalysen zeigten eine gute Aussagekraft bei Betrachtung der Latenzparameter (AUC > 0,8) sowie eine etwas schlechtere Aussagekraft der Dilatationsparameter (AUC > 0,7) der retinalen Arteriolen und Venolen (vgl. Abbildung 8).

Abbildung 8 - ROC-Kurven für Hauptparameter der dynamisch-retinalen Gefäßanalyse im Vergleich HC und ADD



Legende zu Abbildung 8:

Betrachtet wurde die AUC folgender Hauptparameter, das Konfidenzintervall wurde auf 95 % festgesetzt (Median (1.-3. Quartil)).

- Blau: *Mittlere maximale arterioläre Dilatation:*  
AUC = 0,770 (0,613; 0,927),  $p < 0,005$ .
- Grün: *Mittlere maximale venoläre Dilatation:*  
AUC = 0,786 (0,674; 0,898),  $p < 0,005$ .
- Rot: *Zeit bis Erreichen von 30% der maximalen arteriolären Dilatation:*  
AUC = 0,853 (0,758; 0,947),  $p < 0,001$
- Violett: *Zeit bis Erreichen des Schwerpunkts der AUC während Flackerlicht:*  
AUC = 0,837 (0,714; 0,959),  $p < 0,001$

ROC: Grenzwertoptimierungskurven (receiver operating characteristic curves), AUC: Fläche unter der Kurve

**Korrelationsanalysen zwischen demographischen und klinischen Parametern der dynamischen retinalen Gefäßanalyse**

Die Korrelationsanalysen zwischen den Parametern *Schlafdauer letzte Nacht* und *Mittlere maximale arterioläre Dilatation* wurden nicht signifikant ( $p = 0,33$ , HC:  $r = -0,24$ ,  $p = 0,33$ , ADD:  $r = -0,077$ ,  $p = 0,79$ ). Die Korrelation zwischen *Schlafdauer letzte Nacht* und *Zeit bis Erreichen von 30% der max. Dilatation* erreichte Signifikanz für ADD ( $p = 0,027$ ,  $r = 0,550$ ), allerdings keine Signifikanz für HC ( $p = 0,24$ ,  $r = 0,292$ ).

## **4. Diskussion**

### **4.1 Diskussion der Ergebnisse der Dopplersonographie**

#### **Diskussion von RI und PI**

Ausgehend von der Amyloid-Hypothese nach Hardy und Allsop (1991) untersuchten wir PI und RI der linken und rechten ACM als mögliche Biomarker für AD. Wir prüften die Hypothese, ob Patienten, die im leicht- bis mittelgradigen Stadium der Demenz an Alzheimer erkrankt sind, im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen höhere PI- und RI-Werte der ACM aufweisen. Es konnten bei der ADD-Stichprobe signifikant höhere Werte für RI und PI der Arteria cerebri media rechts sowie links im Vergleich zur HC-Stichprobe gemessen werden. Unsere Hypothese konnte für den Vergleich HC und ADD bestätigt werden. Diese Resultate deuten auf einen erhöhten Gefäßwiderstand bei ADD-Probanden und eine verminderte zerebrale Blutversorgung hin (Heun et al., 1994; Ruitenbergh et al., 2005; Vicenzini et al., 2007). In Folge dessen könnte die perivaskuläre Drainage vermindert sein, was zur Akkumulation von A $\beta$  beitragen und zur Progression der Erkrankung führen würde.

Die RI- und PI-Werte der ACM rechts und links der MCI-Patienten befanden sich zwischen den Werten für HC und ADD, die Unterschiede für RI und PI der ACM zwischen MCI-nonAD und MCI-AD und im Vergleich zu ADD bzw. HC wurden nicht signifikant. Sie zeigten folgende Tendenz: RI und PI der MCI-AD tendierten zu denen von ADD und RI und PI von MCI-nonAD tendierten zu denen von HC. Sollten diese Unterschiede in größeren Stichproben statistische Signifikanz er-

reichen, könnte die Berechnung der PI und RI eine Erkennung der Alzheimer-Krankheit im Frühstadium erlauben.

Gommer et al. (2012) konnten signifikante Unterschiede im RI der ACM zwischen AD-Patienten, MCI und HC feststellen. Wir können diese Ergebnisse mit unseren Resultaten unterstützen.

Bei Roher et al. (2011) konnten erhöhte PI ACM links und rechts bei Patienten mit wahrscheinlicher Alzheimer-Demenz im Vergleich zu gesunden Kontrollen gemessen werden. Die Unterschiede bei PI ACM wurden auf beiden Seiten für eine MCI Untergruppe mit mnestischen Einschränkungen (amnesic MCI, n = 9) im Vergleich zu HC und AD nicht signifikant. Ein möglicher Grund, weshalb in unserer Studie ebenfalls kein signifikanter Unterschied gefunden werden konnte, könnte in der kleinen Gruppengröße mit jeweils acht Probanden in den MCI-Untergruppen liegen. Bei zukünftigen Studien mit größerer Gruppengröße erhoffen wir uns für die MCI-Untergruppen signifikante Gruppenunterschiede der PI und RI der ACM.

Shim et al. (2015) konnten keinen signifikanten Unterschied mit HC, MCI und ADD-Teilnehmern bezüglich PI und RI der ACM feststellen. Es zeigte sich jedoch ein Anstieg der Parameter mit Zunahme der Krankheitsschwere. Die Autoren führen an, dass antihypertensive und Plättchen hemmende Medikation bei der Auswahl der Probanden nicht berücksichtigt wurde. Möglicherweise nehmen diese Medikamente Einfluss auf die Messergebnisse, weshalb Shim et al. (2015) keine signifikanten Gruppenunterschiede feststellen konnten.

Unserer Hypothese nach sind erhöhte RI- und PI-Werte im TCD eine mögliche Folge der A $\beta$ -Ablagerungen in Gefäßwänden zerebraler Gefäße im Rahmen der Alzheimer-Pathologie und haben das Potential in Zukunft als Diagnostikum bei Verdacht auf AD genutzt zu werden.

### **Diskussion der ROC-Analysen**

RI ACM hatte in der kombinierten ROC-Analyse eine bessere diagnostische Aussagekraft als PI ACM (vgl. Abbildung 3 und 4). RI ACM könnte daher als Kriterium zur Diagnose der ADD besser geeignet sein.

Die Vorteile der transkraniellen Dopplersonographie, wie kostengünstige und nicht-invasive Durchführung, machen die Methode als Diagnostikum der AD attraktiv. Es muss sich in weiteren Studien zu PI und RI ACM allerdings noch zeigen, ob sich durch Standardisierung der Untersuchungsmethode eine bessere Sensitivität und Spezifität erzielen lassen.

Einschränkungen der ROC-Analysen der MCI-Gruppenvergleiche ergeben sich aus der kleinen Fallzahl. Dies ist besonders deutlich an den Gruppenvergleichen HC und MCI-nonAD bzw. ADD und MCI-AD zu sehen, deren RI- und PI-Werte nahe beieinanderliegen. Da die AUC der Gruppenvergleiche ADD und MCI-AD sowie HC und MCI-nonAD nahe 0,5 liegt, ist die diagnostische Aussagekraft der Vergleiche ADD vs. MCI-AD und HC vs. MCI-non AD gering (vgl. Abbildung 4 c-f). Es ist zu hoffen, dass sich bei Untersuchung einer größeren Fallzahl die diagnostische Aussagekraft verbessert.

### **Diskussion der Korrelationsanalysen zwischen CDR-SOB und RI bzw. PI**

CDR-SOB als ein Maß der Erkrankungsschwere korrelierte signifikant mit den gemessenen RI- und PI-Werten (s. Tabelle 4). Dies trifft sowohl für die Gesamtstichprobe unter Betrachtung aller Gruppen zu, als auch für die Betrachtung des Alzheimer-Spektrums (HC, MCI-AD und ADD).

Dieser Befund ist gut vereinbar mit der Hypothese, dass im zunehmenden Verlauf der Alzheimer-Krankheit die Wandbeweglichkeit der zerebralen Gefäße abnimmt.

## **Stärken und Schwächen der transkranialen Dopplersonographie**

Eine Stärke der Studie ist die Einteilung der Gruppen hinsichtlich der Erkrankungsschwere. Die CDR-SOB als Maß der Erkrankungsschwere korrelierte signifikant mit RI- und PI-Ergebnissen. Die Gruppen wiesen hinsichtlich Alter, Geschlecht, Nikotinkonsum und Schlafdauer keine signifikanten Unterschiede auf. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Resultate der Gruppen miteinander vergleichbar sind. Somit ist keine Beeinflussung der Parameter RI und PI ACM durch solche Störfaktoren anzunehmen.

Um die Untersuchung durchführen zu können, ist ein suffizientes Knochenfenster nötig. Bisher gibt es keinen etablierten klinischen Test, um den Patienten im Vorfeld auf ein suffizientes Knochenfenster zu prüfen. 10 – 15 % der älteren Menschen besitzen kein geeignetes Knochenfenster. Dieses ist abhängig von der Porosität und Dicke des Os' temporale und der dadurch bedingten Dämpfung der Ultraschallwellen (Purkayastha & Sorond, 2012). 18 Probanden (30%) wiesen bei unserer Untersuchung kein ausreichendes Knochenfenster auf und konnten nicht untersucht werden. Die transkraniale Ultraschalluntersuchung ist für die Diagnostik bei AD nicht für alle Patienten gleichermaßen einsetzbar.

Außerdem ist die TCD-Sonographie in der Qualität ihrer Ergebnisse abhängig von der Qualifikation des Untersuchers, der Präzision der Durchführung sowie seinem anatomischen Wissen. Die zerebrovaskuläre Anatomie unterliegt physiologischen Varianten, deren Kenntnis Einfluss auf die Ergebnisqualität des TCD hat. Der Parameter PI ACM rechts wurde in unserer Untersuchung im Gruppenvergleich HC mit ADD nicht signifikant. Es könnte sich um einen Zufallseffekt handeln oder auf anatomische Varianten zurückzuführen sein. Harris et al. (2018) konnte einen signifikanten Gruppenunterschied für PI der ACM rechts zwischen HC und kognitiv eingeschränkten Probanden feststellen.

Für Probanden, die über ein adäquates Knochenfenster verfügen, könnte die Erhebung des PIs und RIs mittels TCD in Zukunft eine schnell durchführbare und risikoarme diagnostische Untersuchung in Hinblick auf die Alzheimer-Krankheit sein.

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse der retinalen Gefäßanalyse**

### **Diskussion der statischen retinalen Gefäßanalyse**

Retinale Gefäße sind, wie anfänglich bereits erwähnt, in ihrer embryonalen Herkunft und den möglichen Pathologien den Gefäßen des Gehirns sehr ähnlich. Atherosklerose, speziell die in der Einleitung beschriebene SVD, könnte neben den altersbedingten Veränderungen der Gefäßwand und Schädigungen in Folge der Alzheimer-Krankheit ein weiterer Grund für veränderte Parameter in der transkraniellen Dopplersonographie und der dynamischen retinalen Gefäßanalyse sein.

Die AVR stellt einen etablierten klinischen Marker für mikrovaskuläre Dysfunktion dar und war im Vergleich zu bisherigen Studien (Hanssen et al., 2011; Hubbard et al., 1999) in allen drei Gruppen vermindert. Beim Vergleich der Gruppen HC und ADD der Sonographie-Stichprobe bezüglich ihrer AVR und damit hinsichtlich atherosklerotischer Veränderungen wurde in unserer Stichprobe kein statistisch signifikanter Unterschied gefunden ( $p = 0,308$ ). Ein Einfluss der Atherosklerose als Störfaktor auf unsere Ergebnisse ist daher unwahrscheinlich. Auch für die Stichprobe der retinalen Gefäßanalyse zeigte sich kein signifikanter Unterschied für CRAE, CRVE und AVR zwischen den Gruppen (vgl. Tabelle 7). Es konnte eine leichte Abnahme des CRVE mit Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten über MCI und ADD beobachtet werden, der Unterschied wurde je-



doch nicht signifikant. Die AVR war in allen drei Gruppen im Vergleich zu Normalwerten von Hubbard et al. (1999) und K. E. Kotliar et al. (2005) vermindert. In der Literatur wird der Zusammenhang von Atherosklerose und Alzheimer-Krankheit kontrovers diskutiert. Eine neuropathologische Studie von Beach et al. (2007) zeigte signifikant häufiger eine schwere Atherosklerose bei AD als bei gesunden Kontrollen. Das Ergebnis ließ sich nicht durch Unterschiede in Alter, Geschlecht oder Apolipoprotein E- $\epsilon$ 4 erklären. Ein möglicher Grund für die Diskrepanz zu unseren Ergebnissen könnte in einer unterschiedlichen Stichprobenselektion, in schlechterer medizinischer Versorgung von Patienten mit AD in der zitierten Arbeit oder im höheren Alter von deren Teilnehmern liegen: HC =  $84,3 \pm 6,8$  Jahre und ADD =  $82,6 \pm 8,2$  Jahre. Die atherosklerotischen Veränderungen nehmen mit fortschreitendem Alter zu (Grinberg & Thal, 2010). Teilnehmer unserer Studie waren deutlich jünger (HC =  $68,6$  ( $60,2 - 71,1$ ), ADD =  $73,7$  ( $67,1 - 79,8$ ), vgl. Tabelle 5) und haben ein geringes Risiko für das Auftreten einer Atherosklerose der ACM. Hingegen konnte Honig et al. (2005) in seiner neuropathologischen Studie keine Assoziation zwischen neuronalen Plaques, neurofibrillären Bündeln und einer Erkrankung der kleinen Gefäße feststellen.

Die Tatsache, dass sich die in unserer Studie untersuchten Gruppen nicht hinsichtlich Markern für Atherosklerose unterschieden, bekräftigt unsere Annahme, dass die gemessenen Veränderungen in der retinalen Gefäßanalyse und der transkranialen Dopplersonographie in erster Linie durch die Alzheimer-Pathologie hervorgerufen wurden und nicht Folge des Alterungsprozesses oder damit verbundener kardiovaskulärer Komorbiditäten sind. Es erscheint jedoch möglich, dass eine Behinderung im perivaskulären Raum die Entwicklung einer Atherosklerose ebenso unterstützt wie die Akkumulation von A $\beta$ , ohne dass zwingend ein kausaler Zusammenhang zwischen Atherosklerose und AD be-

steht. Um die pathologische Verbindung zwischen dem Auftreten von Atherosklerose und AD genauer zu untersuchen, sollten weitere neuropathologische Studien angestrebt werden.

## **Diskussion der dynamischen retinalen Gefäßanalyse**

### **Diskussion der Dilatations- und Latenzparameter**

Entgegen unserer Hypothese konnte eine verstärkte retinale Gefäßdilatation als Reaktion auf eine Flackerlichtstimulation bei ADD im Vergleich zu HC und MCI gezeigt werden. Die retinale arterioläre Gefäßreaktion auf Flackerlicht war bei ADD gegenüber HC und MCI signifikant verzögert. Im Anschluss kam es zu einer signifikant langsameren Konstriktion bei ADD und MCI im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden. Die retinale venoläre Gefäßreaktion bei ADD und MCI war ebenfalls leicht verlängert, wurde allerdings gegenüber HC nicht signifikant.

Ein möglicher Grund für die übersteigerte Reaktion der retinalen Gefäße könnte eine fehlerhafte Rückkopplungsschleife der Autoregulation auf neurovaskulärer Ebene sein. Bei AD erfordert die Verarbeitung des visuellen Reizes „Flackerlicht“ durch retinale Neuronen vermutlich viel Energie. Es wird eine ausreichende Blutzufuhr benötigt, die sich in der Dilatation der retinalen Gefäße widerspiegelt. Jedoch scheint die kompensatorische Konstriktion der retinalen Gefäße nicht ausreichend zu funktionieren. Die Folge ist eine übersteigerte Dilatation der retinalen Gefäße.

Eine andere mögliche Erklärung könnte die hohe neuronale Aktivität bei AD sein, wie in Busche et al. (2012) beschrieben wird. Neurovaskuläre Rückkopplungsschleifen sind in diesem Erklärungsansatz intakt. Die ausgeprägte Dilatation der Gefäße bei ADD könnte ein Hinweis auf die hohe neuronale Aktivität retinaler Neurone im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf sein. Es wird eine ver-

mehrte Blutversorgung benötigt, die durch verstärkte Dilatation der retinalen Arteriolen gewährleistet wird.

Rombouts et al. (2005) konnten bei einer Untersuchung von ADD Patienten mit funktioneller MRT und BOLD-Kontrast (Blood Oxygenation Level Dependent signals; vom Sauerstoffgehalt der Erythrozyten abhängiges Bildsignal) eine im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden, verminderte und verzögerte hämodynamische Reaktion zerebraler Gefäße messen. Wir konnten anhand der Latenzparameter *Zeit bis Erreichen von 30% der Dilatation* und *Zeit bis Erreichen des Schwerpunkts während Flackerlicht* ebenfalls eine verzögerte Gefäßreaktion bestätigen.

Um die quantitative Verzögerung der Gefäßdilatation darstellen zu können, führten wir die zwei genannten, neuen Latenzparameter ein: *Zeit bis 30% der maximalen Dilatation erreicht sind* und *Zeit bis Schwerpunkt der AUC erreicht ist*. Ersterer stellt die initiale Verzögerung der Gefäßantwort auf Flackerlichtstimulation dar, letzterer die Verzögerung der gesamten dilatativen Reizantwort. Beide Parameter zeigten deutlich eine Verzögerung der arteriolen Reaktion bei ADD im Vergleich zu HC.

Interessanterweise war die arteriolen Reizantwort bei MCI-AD im Vergleich zu MCI-nonAD vermindert und glich in ihrer Form eher der Kurve der HC-Gruppe. Zusätzlich konnten wir eine verstärkte Konstriktion nach Beendigung des Flackerlichts beobachten (vgl. Abbildung 6). Frühere Studien haben gezeigt, dass diese Form des Kurvenverlaufs mit einer gesunden Gefäßreaktion und einer Verbesserung der retinal-arteriolen Funktion einhergeht (K. E. Kotliar et al., 2005; Nagel et al., 2004). Die Veränderung der Gefäßreaktion bei MCI-AD könnte auf die Veränderung der vaskulären Regulationsmechanismen hindeuten. Dies spiegelt der Parameter *AUC 10 - 40 s nach Beendigung des Flackerlichts*

wider. Die Unterschiede zwischen MCI-AD und HC bzw. ADD wurden jeweils signifikant ( $p < 0,05$  bzw.  $p < 0,001$ ).

Mroczkowska et al. (2014) führten eine Pilotstudie mit drei Flackerlicht-Zyklen und einer AD-Stichprobengröße von  $n = 10$  durch. Es zeigte sich eine Verzögerung der maximalen retinal-arteriolen Reaktion auf Stimulation im ersten und letzten Zyklus, wohingegen im dazwischen liegenden Zyklus die maximale Dilatation signifikant schneller ablief als bei gesunden Kontrollprobanden. Dies führte die Autoren zu der Schlussfolgerung, dass bei AD eine retinale Gefäßdysfunktion vorliege. Es ist anzunehmen, dass die Verzögerung der maximalen arteriellen Dysfunktion bei AD-Patienten mit der vorliegenden signifikanten Verlängerung der arteriolen Gefäßreaktion bei ADD-Patienten im Vergleich zu HC-Probanden zusammenhängt.

Golzan et al. (2017) konnte in einer Studie mit 101 Teilnehmern, davon AD  $n = 28$ , keinen signifikanten Unterschied im Ausmaß der retinalen arteriolen oder venolären Dilatation bei Stimulation mit Flackerlicht feststellen. Die Teilnehmer der einzelnen Gruppen unterschieden sich im Alter (HC:  $79 \pm 5$  und AD:  $70 \pm 9$ ) deutlicher als in der vorliegenden Studie (HC: 68,6 (60,2 – 71,1) und ADD: 73,7 (67,1 – 79,8)). Es kommt hinzu, dass die Geschlechterverteilung in der gesunden Kontrollgruppe mit 22 Männern (30,1 %) und 51 Frauen (69,8 %) ungleich verteilt war. Die AD-Gruppe wies mehr Männer (16; 57,1 %) als Frauen (12; 42,8%) auf (Ellis et al., 2009). Welchen Einfluss das Geschlecht auf die Resultate der dynamischen retinalen Gefäßanalyse haben, sollte in nachfolgenden Studien abschließend evaluiert werden.

### **Diskussion der ROC-Kurven der dynamischen Gefäßanalyse**

Die Ergebnisse der ROC-Analysen sind in Abbildung 8 dargestellt. Sie zeigen, dass mit Hilfe der untersuchten Dilatations- und Latenzparameter der retinalen

Gefäßreaktion auf Flackerlichtstimulation eine gute Unterscheidung zwischen HC und ADD möglich ist. Vor allem die Kombination verschiedener Parameter der retinalen Gefäßanalyse scheint ein vielversprechender Biomarker für AD zu sein. Die Methode sollte in zusätzlichen Forschungsarbeiten weiter untersucht werden, um ihr Potential zur Verlaufsbeobachtung und Beschreibung der Alzheimer-Krankheit zu untermauern.

### **Stärken und Schwächen der retinalen Gefäßanalyse**

Bei HC, MCI-nonAD und MCI-AD zeigte die arterioläre Reaktionskurve zwei aufeinanderfolgende Spitzen. Das absolute Maximum der Kurve kann entweder mit der ersten oder der zweiten Spitze erreicht werden. Die Dauer der maximalen arteriolären Reaktion ist je nach individuellem Kurvenverlauf unterschiedlich und stimmt mit bisherigen Forschungsergebnissen von K. E. Kotliar et al. (2005) und K. E. Kotliar et al. (2011) überein. Im Rückblick bestätigt sich die passende Wahl der Latenzparameter.

Eine weitere Stärke der Studie ist die Auswahl der Gruppen. Wir verglichen ADD- mit MCI-Patienten und HC-Probanden, die eine ähnliche Geschlechterverteilung aufwiesen, ähnlich viel Kaffee und Nikotin konsumiert hatten und zum Zeitpunkt der Untersuchung ähnlich viele Stunden wach waren, so dass die gefundenen Gruppenunterschiede nicht durch andere Faktoren als die Alzheimer-Krankheit erklärt werden.

Des Weiteren unterschieden sich die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte sowie die AVR-Resultate zwischen den Gruppen nicht signifikant. Dabei zeigten die Blutdruckwerte eine Erhöhung im Vergleich zu Normalwerten und AVR-Werte eine Verminderung im Vergleich zu Normwerten. Es ist daher davon auszugehen, dass die Probanden einen ähnlichen vaskulären Status aufwiesen. Unsere Ergebnisse legen einen Zusammenhang mit der Alzheimer-Pathologie

nahe und sind nicht auf Störfaktoren wie altersbedingte Gefäßveränderungen oder vaskuläre Dysfunktion zurückzuführen.

Eine Einschränkung unserer Studie stellt die signifikante Altersdifferenz zwischen ADD und den beiden anderen Gruppen, HC und MCI, dar. ADD-Patienten waren etwas älter als die anderen Probanden. Bei älteren Patienten konnte in bisherigen Studien eine progressive Abnahme der arteriolen und venolen Gefäßreaktion auf Flackerlichtstimulation beschrieben werden (Kneser et al., 2009; K. E. Kotliar et al., 2005). Die retinale Gefäßanalyse ergab in der vorliegenden Studie jedoch eine verstärkte Gefäßreaktion bei der ADD-Stichprobe, im Gegensatz zu der erwarteten Reaktionsverminderung. Geht man von einer möglichen Abnahme der Gefäßreaktion aus Altersgründen aus, ist die von uns gezeigte verstärkte Gefäßreaktion der etwas älteren AD-Gruppe noch eine Unterschätzung des tatsächlichen Unterschieds.

Der Parameter *Dauer der maximalen arteriolen Dilatation* unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen ADD, MCI und HC (vgl. Tabelle 8). Die Ursache könnte in der bereits bekannten, hohen interindividuellen Variabilität dieses Parameters liegen (Hubbard et al., 1999).

Darüber hinaus stellt die kleine Stichprobengröße eine weitere Einschränkung dar. Um unsere Ergebnisse in unabhängigen Stichproben zu bestätigen und den Nutzen der dynamischen retinalen Gefäßanalyse zur Diagnosestellung der Alzheimer-Krankheit im Vergleich zu etablierten Biomarkern herauszustellen, sind weitere Studien notwendig.

Die Untersuchungsdurchführung gestaltete sich vor allem bei den ADD-Patienten oftmals schwierig, da sie die Anweisungen nicht korrekt verstanden und ihre Aufmerksamkeit nicht über die gesamte Zeit der Untersuchung aufrechterhalten konnten. Es hat sich daher bewährt, zwei Untersuchungsdurchläufe durchzuführen, um Ausreißer zu minimieren. Die Qualität der Daten spricht für diese Art der Durchführung (vgl. Tabelle 8 a und b).

Beide Untersuchungsmethoden - TCD wie DVA - sind einfach durchzuführende Methoden, die nicht-invasiv und flächendeckend verfügbar sind. Im Vergleich zu etablierten Biomarkern wie PET oder MRT sind sie zudem kostengünstig. Sie stellen eine gut tolerierbare Untersuchungsart dar, die einfach und schnell in Durchführung und Handhabung ist.

Möglicherweise könnte eine Kombination aus verschiedenen Untersuchungsmethoden, wie der retinalen Gefäßanalyse und der transkraniellen Dopplersonographie sinnvoll sein, um aussagekräftige Biomarker für die Diagnosestellung der Alzheimer-Krankheit zu etablieren. Das Potential der beschriebenen Untersuchungen in der Verlaufsbeurteilung muss sich in longitudinalen Studien und die Spezifität in der Unterscheidung zwischen den Prädemenzstadien MCI-AD und MCI-nonAD und zu anderen Demenzerkrankungen, wie der Lewy-Körperchen-Demenz oder der frontotemporalen Demenz, in Zukunft noch zeigen.

## **5. Zusammenfassung**

Verminderte zerebrale perivaskuläre Drainage des  $\beta$ -Amyloids steht im Rahmen der Alzheimer-Pathologie mit den charakteristischen Amyloid-Ablagerungen in engem Zusammenhang. Eine eingeschränkte Gefäßbeweglichkeit aufgrund erhöhter Wandsteifigkeit könnte mit einer verminderten Drainage und verstärkter A $\beta$ -Ablagerung assoziiert sein. Die Beweglichkeit der retinalen und zerebralen Gefäße wurden mit Hilfe von zwei unterschiedlichen Methoden untersucht: der transkraniellen Dopplersonographie (TCD) und der retinalen Gefäßanalyse (RVA). Wir gingen daher davon aus, dass sich die Teilnehmer unserer Studie abhängig vom Grad der Alzheimer-Krankheit in diesen Untersuchungen unterscheiden werden.

Die Teilnehmer der Studie wurden anhand ihrer kognitiven Leistung in gesunde Kontrollprobanden (HC), Patienten mit leichter kognitiver Störung (MCI) und Patienten mit Alzheimer-Demenz (ADD) eingeteilt. Die MCI-Gruppe wurde zusätzlich nach An- bzw. Abwesenheit von Biomarkern der Amyloid-Pathologie und Neurodegeneration in Subgruppen unterteilt.

Mittels TCD wurden Widerstands- (RI) und Pulsatilitätsindices (PI) der Arteria cerebri media (ACM) beider Seiten bestimmt. Eine Erhöhung der Parameter stellt ein Maß für einen erhöhten Gefäßwiderstand zerebraler Gefäße dar. Die Unterschiede zwischen HC und ADD bei den Parametern RI der rechten und linken ACM sowie PI der linken ACM waren signifikant. RI und PI der MCI-AD lagen nahe bei den Ergebnissen aus ADD, wohingegen MCI-nonAD sich nahe den HC-Ergebnissen befanden. RI- und PI-Werte waren signifikant mit der Krankheitsschwere, gemessen an CDR-SOB, assoziiert. Die Gruppen wurden zusätzlich anhand statischer retinaler Gefäßanalyse auf den Störfaktor Atherosklerose



geprüft. Der Einfluss der Atherosklerose auf RI und PI ACM erwies sich als nicht signifikant.

Die Reizantwort retinaler Gefäße auf Flackerlichtstimulation wurde mittels dynamischer RVA anhand verschiedener Parameter untersucht. Retinale arterioläre Gefäße bei ADD zeigten eine verstärkte und verzögerte reaktive Dilatation als Reizantwort auf Flackerlichtstimulation als bei HC. Die MCI-Stichprobe als auch ihre Untergruppen unterschieden sich hinsichtlich des Ausmaßes der Dilatation und der Dauer der arteriolären retinalen Gefäße ebenfalls von HC und ADD. Mögliche Ursachen sind eine übersteigerte neuronale Aktivität retinaler Neurone oder fehlerhaft Rückkopplungsschleifen neurovaskulärer Prozesse.

Bei den zwei vorgestellten Methoden handelt sich um neue Möglichkeiten der Diagnostik im Rahmen der Alzheimer-Krankheit. Es muss sich in Untersuchungen mit größeren Stichproben noch zeigen, ob eine vergleichbar gute Sensitivität wie bei etablierten Biomarkern wie MRT oder PET erreicht werden kann. Das Potential der TCD und DVA bedarf hinsichtlich der Spezifität in der Unterscheidungsfähigkeit zwischen MCI-AD und MCI-nonAD sowie zu anderen Ursachen der Demenz ebenfalls zusätzlicher Evaluation. Gleichzeitig haben sie gegenüber den genannten Biomarkern Vorteile, wie die kostengünstige und einfache Durchführung, die nicht-invasive Durchführung und die flächendeckende Verfügbarkeit.

## **6. Danksagung**

Ich möchte meinen persönlichen Dank aussprechen, besonders an:

Privatdozent Dr. med. Timo Grimmer, Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der TU München, der mich als Betreuer in reger Zusammenarbeit jederzeit von Anfang bis Ende dieser Arbeit unterstützte. Vielen Dank für das in mich gesetzte Vertrauen und für die Überlassung des Themas!

Prof. Dr.-Ing. Dr. habil. Konstantin Kotliar, Department of Medical Engineering and Technomathematics der FH Aachen, für die Überlassung des Themas und das umfassende statistische Wissen.

Dr. med. Marion Ortner, Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der TU München, die mich als Mentorin besonders bei Rekrutierung, Untersuchung und Entwurf der Arbeit intensiv begleitete. Von Herzen vielen Dank!

Dr. med. Christine Hauser, die ihre Zeit für die Durchführung der aufwändigen retinalen Gefäßanalyse gerne einbrachte.

Alle Kolleginnen und Kollegen des Zentrums für kognitive Störungen, insbesondere Dr. Peters und Hrn. Goldhardt, den Pflegern und Pflegerinnen und den Damen des Sekretariats.

Alle Kollegen der neurologischen Abteilung des Klinikums rechts der Isar, vor allem Prof. Dr. Poppert, Fr. Ickenweber, Fr. Leege, Fr. Leonhart und Fr. Riehl, die die Untersuchung mittels TCD so wunderbar ermöglichten.

---

## Danksagung

---

Allen Patienten und ihren Angehörigen, in ganz besonderer Weise aber M.M. und G.S. für die Teilnahme an der Studie und die Bereitstellung ihrer Daten.

Henrik Phlipsen, der mit seinem hervorragenden Sprachverständnis diese Doktorarbeit lektoriert hat. Herzlichen Dank!

# Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

**Es konnten keine Einträge für ein Abbildungsverzeichnis gefunden werden.**

Abbildung 1 - RI und PI der A. cerebri media für HC, MCI gesamt und ADD.....	34
Abbildung 2 - RI und PI der A. cerebri media für HC, MCI-nonAD, MCI-AD und ADD.....	35
Abbildung 3 - ROC-Kurven für gebündelte Daten für RI ACM und PI ACM zum Vergleich HC und ADD.....	37
Abbildung 4 - ROC-Kurven für gebündelte Daten für RI ACM links und rechts sowie PI ACM links und rechts der Vergleiche zwischen MCI-nonAD, MCI- AD, HC und ADD.....	38
Abbildung 5 - Graphische Erläuterung der retinalen Gefäßreaktion auf Stimulation mit Flackerlicht.....	49
Abbildung 6 - Arteriöläre und venöläre Gefäßreaktion in den Gruppen HC, ADD und MCI.....	55
Abbildung 7 - Maximale arteriöläre bzw. venöläre Dilatation und Latenzparameter der Gruppen ADD, MCI-AD, MCI-nonAD und HC.....	56
Abbildung 8 - ROC-Kurven für Hauptparameter der dynamisch-retinalen Gefäßanalyse im Vergleich HC und ADD.....	58

## **Literaturverzeichnis**

Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., . . . Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 7(3), 270-279.

Attems, J., Yamaguchi, H., Saido, T. C., & Thal, D. R. (2010). Capillary CAA and perivascular A $\beta$ -deposition: two distinct features of Alzheimer's disease pathology. *J Neurol Sci*, 299(1-2), 155-162.

Beach, T. G., Wilson, J. R., Sue, L. I., Newell, A., Poston, M., Cisneros, R., . . . Roher, A. E. (2007). Circle of Willis atherosclerosis: association with Alzheimer's disease, neuritic plaques and neurofibrillary tangles. *Acta Neuropathol*, 113(1), 13-21.

Braak, H., & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*, 82(4), 239-259.

Busche, M. A., Chen, X., Henning, H. A., Reichwald, J., Staufenbiel, M., Sakmann, B., & Konnerth, A. (2012). Critical role of soluble amyloid- $\beta$  for early hippocampal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(22), 8740-8745.

Carare, R. O., Bernardes-Silva, M., Newman, T. A., Page, A. M., Nicoll, J. A., Perry, V. H., & Weller, R. O. (2008). Solutes, but not cells, drain from the brain parenchyma along basement membranes of capillaries and arteries: significance for cerebral amyloid angiopathy and neuroimmunology. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 34(2), 131-144.

Claassen, J. A., Diaz-Arrastia, R., Martin-Cook, K., Levine, B. D., & Zhang, R. (2009). Altered cerebral hemodynamics in early Alzheimer disease: a pilot study using transcranial Doppler. *J Alzheimers Dis*, 17(3), 621-629.

Cooper, L. S., Wong, T. Y., Klein, R., Sharrett, A. R., Bryan, R. N., Hubbard, L. D., . . . Sorlie, P. D. (2006). Retinal microvascular abnormalities and MRI-defined subclinical cerebral infarction: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Stroke*, 37(1), 82-86.

- Ellis, K. A., Bush, A. I., Darby, D., De Fazio, D., Foster, J., Hudson, P., . . . Group, A. R. (2009). The Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle (AIBL) study of aging: methodology and baseline characteristics of 1112 individuals recruited for a longitudinal study of Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr*, 21(4), 672-687.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*, 12(3), 189-198.
- Garhofer, G., Bek, T., Boehm, A. G., Gherghel, D., Grunwald, J., Jeppesen, P., . . . Ocular Blood Flow Research, A. (2010). Use of the retinal vessel analyzer in ocular blood flow research. *Acta Ophthalmol*, 88(7), 717-722.
- Garhofer, G., Zawinka, C., Resch, H., Huemer, K. H., Schmetterer, L., & Dorner, G. T. (2004). Response of retinal vessel diameters to flicker stimulation in patients with early open angle glaucoma. *J Glaucoma*, 13(4), 340-344.
- Glantz, S. (1999). *Primer of biostatistics*. New York, St. Louis, San Francisco: McGraw-Hill Education / Medical.
- Golzan, S. M., Goozee, K., Georgevsky, D., Avolio, A., Chatterjee, P., Shen, K., . . . Graham, S. L. (2017). Retinal vascular and structural changes are associated with amyloid burden in the elderly: ophthalmic biomarkers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 9(1), 13.
- Gommer, E. D., Martens, E. G., Aalten, P., Shijaku, E., Verhey, F. R., Mess, W. H., . . . Reulen, J. P. (2012). Dynamic cerebral autoregulation in subjects with Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and controls: evidence for increased peripheral vascular resistance with possible predictive value. *J Alzheimers Dis*, 30(4), 805-813.
- Gosling, R. G., & King, D. H. (1974). Arterial assessment by Doppler-shift ultrasound. *Proc R Soc Med*, 67(6 Pt 1), 447-449.
- Grimmer, T., Faust, M., Auer, F., Alexopoulos, P., Forstl, H., Henriksen, G., . . . Kurz, A. (2012). White matter hyperintensities predict amyloid increase in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 33(12), 2766-2773.
- Grinberg, L. T., & Thal, D. R. (2010). Vascular pathology in the aged human brain. *Acta Neuropathol*, 119(3), 277-290.
- Hardy, J., & Allsop, D. (1991). Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci*, 12(10), 383-388.

- Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297(5580), 353-356.
- Harris, S., Reyhan, T., Ramli, Y., Prihartono, J., & Kurniawan, M. (2018). Middle Cerebral Artery Pulsatility Index as Predictor of Cognitive Impairment in Hypertensive Patients. *Front Neurol*, 9, 538.
- Heun, R., Knappertz, V., & Kraemer, G. (1994). Transcranial Doppler sonography in dementia of Alzheimer type. *Dementia*, 5(6), 327-333.
- Honig, L. S., Kukull, W., & Mayeux, R. (2005). Atherosclerosis and AD: analysis of data from the US National Alzheimer's Coordinating Center. *Neurology*, 64(3), 494-500.
- Hubbard, L. D., Brothers, R. J., King, W. N., Clegg, L. X., Klein, R., Cooper, L. S., . . . Cai, J. (1999). Methods for evaluation of retinal microvascular abnormalities associated with hypertension/sclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Ophthalmology*, 106(12), 2269-2280.
- Ikram, M. K., Ong, Y. T., Cheung, C. Y., & Wong, T. Y. (2013). Retinal vascular caliber measurements: clinical significance, current knowledge and future perspectives. *Ophthalmologica*, 229(3), 125-136.
- Klumb, F. D. (2004). *Dopplersonographie der Vena femoralis und Hydratationszustand bei Hämodialysepatienten*. (Medizinische Dissertation), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale).
- Kneser, M., Kohlmann, T., Pokorny, J., & Tost, F. (2009). Age related decline of microvascular regulation measured in healthy individuals by retinal dynamic vessel analysis. *Med Sci Monit*, 15(8), CR436-441.
- Kotliar, K., Hauser, C., Ortner, M., Muggenthaler, C., Diehl-Schmid, J., Angermann, S., . . . Grimmer, T. (2017). Altered neurovascular coupling as measured by optical imaging: a biomarker for Alzheimer's disease. *Sci Rep*, 7(1), 12906.
- Kotliar, K. E., Lanzl, I. M., Schmidt-Trucksass, A., Sitnikova, D., Ali, M., Blume, K., . . . Hanssen, H. (2011). Dynamic retinal vessel response to flicker in obesity: A methodological approach. *Microvasc Res*, 81(1), 123-128.
- Kotliar, K. E., Mücke, B., Vilser, W., & Lanzl, I. (2005). Aging Effects Measured by Retinal Vessel Analyzer. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 46(13), 3916-3916.

Kotliar, K. E., Mucke, B., Vilser, W., Schilling, R., & Lanzl, I. M. (2008). Effect of aging on retinal artery blood column diameter measured along the vessel axis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 49(5), 2094-2102.

Lanzl, I. M., Seidova, S. F., Maier, M., Lohmann, C., Schmidt-Trucksass, A., Halle, M., & Kotliar, K. E. (2011). Dynamic retinal vessel response to flicker in age-related macular degeneration patients before and after vascular endothelial growth factor inhibitor injection. *Acta Ophthalmol*, 89(5), 472-479.

Lim, J. K., Li, Q. X., He, Z., Vingrys, A. J., Wong, V. H., Currier, N., . . . Nguyen, C. T. (2016). The Eye As a Biomarker for Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*, 10, 536.

Mawuenyega, K. G., Sigurdson, W., Ovod, V., Munsell, L., Kasten, T., Morris, J. C., . . . Bateman, R. J. (2010). Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science*, 330(6012), 1774.

McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack, C. R., Jr., Kawas, C. H., . . . Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 7(3), 263-269.

Miles, W. R. (1929). Ocular dominance demonstrated by unconscious sighting. *Journal of Experimental Psychology*, 12, 113-126.

Miles, W. R. (1930). Ocular dominance in human adults. *Journal of General Psychology*, 3, 412-429.

Mimenza-Alvarado, A., Aguilar-Navarro, S. G., Yeverino-Castro, S., Mendoza-Franco, C., Avila-Funes, J. A., & Roman, G. C. (2018). Neuroimaging Characteristics of Small-Vessel Disease in Older Adults with Normal Cognition, Mild Cognitive Impairment, and Alzheimer Disease. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra*, 8(2), 199-206.

Morris, J. C. (1993). The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology*, 43(11), 2412-2414.

Morris, J. C., Heyman, A., Mohs, R. C., Hughes, J. P., van Belle, G., Fillenbaum, G., . . . Clark, C. (1989). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*, 39(9), 1159-1165.



- Mroczkowska, S., Benavente-Perez, A., Patel, S., Qin, L., Bentham, P., & Gherghel, D. (2014). Retinal vascular dysfunction relates to cognitive impairment in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, *28*(4), 366-367.
- Nagel, E., Vilser, W., & Lanzl, I. (2004). Age, blood pressure, and vessel diameter as factors influencing the arterial retinal flicker response. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, *45*(5), 1486-1492.
- Nguyen, T. T., Kawasaki, R., Wang, J. J., Kreis, A. J., Shaw, J., Vilser, W., & Wong, T. Y. (2009). Flicker light-induced retinal vasodilation in diabetes and diabetic retinopathy. *Diabetes Care*, *32*(11), 2075-2080.
- Patton, N., Aslam, T., Macgillivray, T., Pattie, A., Deary, I. J., & Dhillon, B. (2005). Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: a rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. *J Anat*, *206*(4), 319-348.
- Planiol, T., Pourcelot, L., & Itti, R. (1973). [The carotid and cerebral circulations. Advances in its study by external physical methods. Principles, normal recordings, adopted parameters]. *Nouv Presse Med*, *2*(37), 2451-2456.
- Polak, K., Schmetterer, L., & Riva, C. E. (2002). Influence of flicker frequency on flicker-induced changes of retinal vessel diameter. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, *43*(8), 2721-2726.
- Pourcelot, L. (1975). [Indications of Doppler's ultrasonography in the study of peripheral vessels]. *Rev Prat*, *25*(59), 4671-4680.
- Purkayastha, S., & Sorond, F. (2012). Transcranial Doppler Ultrasound: Technique and Application. *Semin Neurol*, *32*(4), 411-420.
- Reitz, C., & Mayeux, R. (2014). Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol*, *88*(4), 640-651.
- Roher, A. E., Garami, Z., Alexandrov, A. V., Kokjohn, T. A., Esh, C. L., Kalback, W. M., . . . Beach, T. G. (2006). Interaction of cardiovascular disease and neurodegeneration: transcranial Doppler ultrasonography and Alzheimer's disease. *Neurol Res*, *28*(6), 672-678.
- Roher, A. E., Garami, Z., Tyas, S. L., Maarouf, C. L., Kokjohn, T. A., Belohlavek, M., . . . Emmerling, M. R. (2011). Transcranial doppler ultrasound blood flow velocity and pulsatility index as systemic indicators for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, *7*(4), 445-455.

- Roman, G. C., Tatemichi, T. K., Erkinjuntti, T., Cummings, J. L., Masdeu, J. C., Garcia, J. H., . . . et al. (1993). Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology*, *43*(2), 250-260.
- Rombouts, S. A., Goekoop, R., Stam, C. J., Barkhof, F., & Scheltens, P. (2005). Delayed rather than decreased BOLD response as a marker for early Alzheimer's disease. *Neuroimage*, *26*(4), 1078-1085.
- Ruitenbergh, A., den Heijer, T., Bakker, S. L., van Swieten, J. C., Koudstaal, P. J., Hofman, A., & Breteler, M. M. (2005). Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann Neurol*, *57*(6), 789-794.
- Salminen, A., Ojala, J., Kauppinen, A., Kaarniranta, K., & Suuronen, T. (2009). Inflammation in Alzheimer's disease: amyloid-beta oligomers trigger innate immunity defence via pattern recognition receptors. *Prog Neurobiol*, *87*(3), 181-194.
- Schley, D., Carare-Nnadi, R., Please, C. P., Perry, V. H., & Weller, R. O. (2006). Mechanisms to explain the reverse perivascular transport of solutes out of the brain. *J Theor Biol*, *238*(4), 962-974.
- Seifertl, B. U., & Vilser, W. (2002). Retinal Vessel Analyzer (RVA)--design and function. *Biomed Tech (Berl)*, *47 Suppl 1 Pt 2*, 678-681.
- Shim, Y., Yoon, B., Shim, D. S., Kim, W., An, J. Y., & Yang, D. W. (2015). Cognitive correlates of cerebral vasoreactivity on transcranial Doppler in older adults. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, *24*(6), 1262-1269.
- Thal, D. R. (2009). The pre-capillary segment of the blood-brain barrier and its relation to perivascular drainage in Alzheimer's disease and small vessel disease. *ScientificWorldJournal*, *9*, 557-563.
- Thal, D. R., Grinberg, L. T., & Attems, J. (2012). Vascular dementia: different forms of vessel disorders contribute to the development of dementia in the elderly brain. *Exp Gerontol*, *47*(11), 816-824.
- Thal, D. R., Rub, U., Orantes, M., & Braak, H. (2002). Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*, *58*(12), 1791-1800.

Vicenzini, E., Ricciardi, M. C., Altieri, M., Puccinelli, F., Bonaffini, N., Di Piero, V., & Lenzi, G. L. (2007). Cerebrovascular reactivity in degenerative and vascular dementia: a transcranial Doppler study. *Eur Neurol*, *58*(2), 84-89.

Villegas-Llerena, C., Phillips, A., Garcia-Reitboeck, P., Hardy, J., & Pocock, J. M. (2016). Microglial genes regulating neuroinflammation in the progression of Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurobiol*, *36*, 74-81.

Weller, R. O. (1998). Pathology of cerebrospinal fluid and interstitial fluid of the CNS: significance for Alzheimer disease, prion disorders and multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*, *57*(10), 885-894.

Weller, R. O., Massey, A., Newman, T. A., Hutchings, M., Kuo, Y. M., & Roher, A. E. (1998). Cerebral amyloid angiopathy: amyloid beta accumulates in putative interstitial fluid drainage pathways in Alzheimer's disease. *Am J Pathol*, *153*(3), 725-733.

Weller, R. O., Yow, H. Y., Preston, S. D., Mazanti, I., & Nicoll, J. A. (2002). Cerebrovascular disease is a major factor in the failure of elimination of Aβ from the aging human brain: implications for therapy of Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*, *977*, 162-168.

Wong, T. Y., Klein, R., Couper, D. J., Cooper, L. S., Shahar, E., Hubbard, L. D., . . . Sharrett, A. R. (2001). Retinal microvascular abnormalities and incident stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Lancet*, *358*(9288), 1134-1140.

Zhang, E. T., Richards, H. K., Kida, S., & Weller, R. O. (1992). Directional and compartmentalised drainage of interstitial fluid and cerebrospinal fluid from the rat brain. *Acta Neuropathol*, *83*(3), 233-239.